



Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων



Πανεπιστήμιο
ΕΚΠΑ



Πανεπιστήμιο
ΑΠΘ



Πανεπιστήμιο
Πατρών



Πανεπιστήμιο
Κρήτης

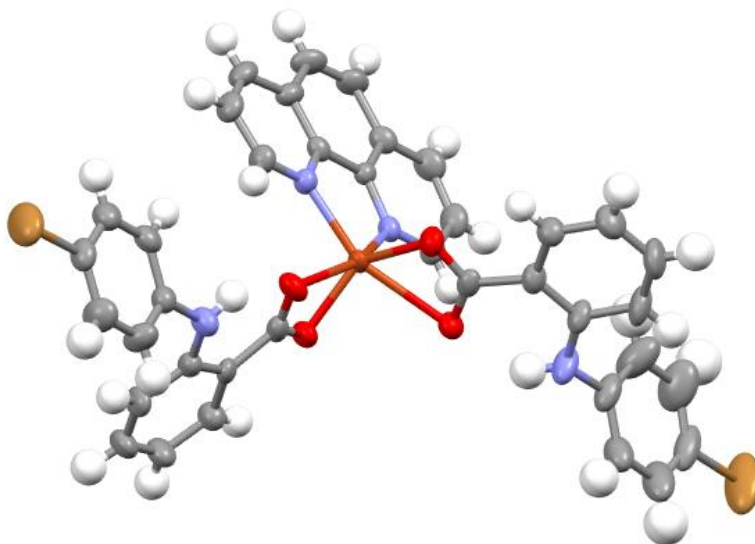


Πανεπιστήμιο
Κύπρου

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ
ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

«Σύμπλοκες Ενώσεις του Ψευδαργύρου(II) με το 4'-Βρωμο-φαιναμικό Οξύ:
Χαρακτηρισμός της Δομής και Μελέτη της Βιολογικής Δράσης»



ΟΛΓΑ ΤΟΥΛΟΥΠΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026



Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων



Πανεπιστήμιο
ΕΚΠΑ



Πανεπιστήμιο
ΑΠΘ



Πανεπιστήμιο
Πατρών



Πανεπιστήμιο
Κρήτης

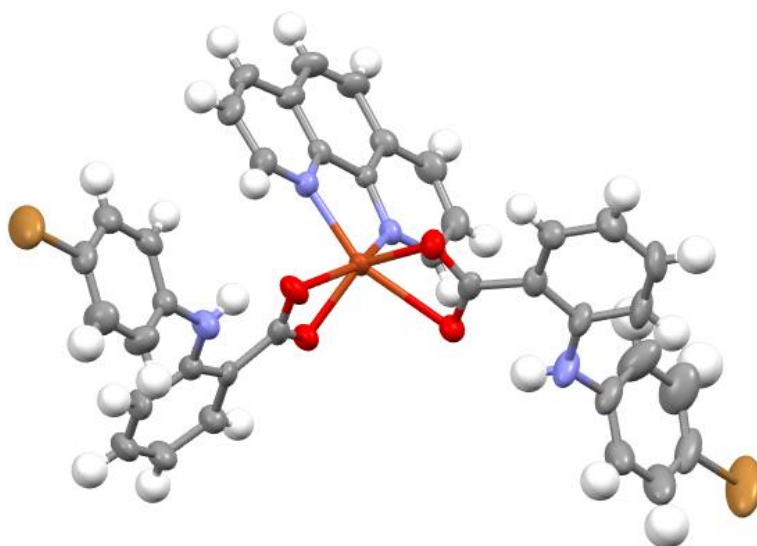


Πανεπιστήμιο
Κύπρου

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ
ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

**«Σύμπλοκες Ενώσεις του Ψευδαργύρου(II) με το 4'-Βρωμο-φαιναμικό Οξύ:
Χαρακτηρισμός της Δομής και Μελέτη της Βιολογικής Δράσης»**



ΟΛΓΑ ΤΟΥΛΟΥΠΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026

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

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Καθηγητής ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΨΩΜΑΣ

Θέμα: «Σύμπλοκες Ενώσεις του Ψευδαργύρου(II) με το 4'-Βρωμο-φαιναμικό Οξύ:
Χαρακτηρισμός της Δομής και Μελέτη της Βιολογικής Δράσης»

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

1. Γεώργιος Ψωμάς (επιβλέπων), Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Α.Π.Θ.
2. Αντώνιος Χατζηδημητρίου, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Α.Π.Θ.
3. Σωτήριος Χατζηκακού, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις

Ο Διευθυντής του Δ.Π.Μ.Σ.

Καθηγητής _____

Ο/Η Γραμματέας

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
A. Θεωρητικό μέρος	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Βιοανόργανη Χημεία	8
1.2 Στοιχεία μετάπτωσης.....	12
1.2.1 Τα στοιχεία της 12 ^{ης} ομάδας του περιοδικού πίνακα	12
2. ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ	17
2.1 Ιστορική αναδρομή.....	17
2.2 Γενικά χαρακτηριστικά του ψευδαργύρου	18
2.2.1 Ενώσεις του ψευδαργύρου	19
2.3 Βιολογικός ρόλος του ψευδαργύρου	21
2.3.1 Ο ρόλος του ψευδαργύρου στα μεταλλοένζυμα	23
2.3.2 Ιδιότητες των ενζύμων του ψευδαργύρου.....	24
2.3.3 Μηχανισμοί δράσης των ενζύμων του ψευδαργύρου	25
2.4 Ένζυμα του ψευδαργύρου	26
2.4.1 Καρβονική ανυδράση.....	26
2.4.2 Καρβοξυπεπτιδάση	30
2.4.3 Θερμολυσίνη	32
2.4.4 Αλκοολική αφυδρογονάση.....	33
2.4.5 α-αμυλάση.....	34
2.4.6 Σουπεροξειδική δισμουτάση Cu-Zn	35
2.4.7 DNA- και RNA-πολυμεράση.....	37
2.4.8 Πρωτεΐνες Zn-fingers.....	38
3. ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ	40
3.1 Ιστορική αναδρομή.....	40
3.2 Ο ρόλος των μετάλλων στη θεραπευτική.....	41
3.3 Ο ψευδάργυρος στη θεραπευτική	44
3.3.1 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντιδιαβητικά φάρμακα	45

3.3.2 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντιφλεγμονώδη και αντισπασμωδικά φάρμακα.....	46
3.3.3 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση	47
3.3.4 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn και η νόσος του Alzheimer	50
3.3.5 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντικαρκινική δράση.....	50
3.3.6 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με φάρμακα κατά των τοπικών εγκαυμάτων	52
3.3.7 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με φάρμακα κατά της υπερουραιμίας	53
4. ΜΗ-ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΦΑΡΜΑΚΑ	54
4.1 Εισαγωγή.....	54
4.2 Μηχανισμός δράσης	56
4.3 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ.....	58
4.4 Σύμπλοκα του Zn(II) με φαιναμικά οξέα	59
B. Πειραματικό μέρος	62
5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	63
6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ – ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	64
6.1 Αντιδραστήρια - Διαλύτες.....	64
6.2 Όργανα και τεχνικές - αρχές μεθόδου.....	65
6.2.1 Φασματοσκοπία υπερύθρου (Infrared spectroscopy, IR)	65
6.2.2 Κρυσταλλογραφία ακτίνων-X (X-ray diffraction analysis).....	66
6.2.3 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (Ultraviolet-visible spectroscopy, UV-vis)	67
6.2.4 Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)	69
6.2.5 Φασματοσκοπία φθορισμού (Fluorescence spectroscopy, FL)	70
6.2.6 Ιξωδομετρία (Viscometry).....	71
6.3 Πειραματική πορεία σύνθεσης του ligand και των συμπλόκων.....	71
6.3.1 Σύνθεση του 4'-Br-fenH	71
6.3.2 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	72
6.3.3 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	72
6.3.4 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	72
6.3.5 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	72
6.3.6 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	73
7. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	74
7.1 Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR)	74
7.2 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (1H NMR)	77

7.3	Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ.....	78
7.3.1	Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	78
7.3.2	Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	79
7.3.3	Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	80
7.3.4	Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	82
7.3.5	Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	82
8.	ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ	84
8.1	Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA	84
8.1.1	Μελέτη της αλληλεπίδρασης με το DNA με φασματοσκοπία UV-vis.....	87
8.1.2	Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA με ιξωδομετρία	89
8.1.3	Μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων με το αιθίδιο βρωμίδιο	90
8.2	Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με τις αλβουμίνες του ορού αίματος ...	93
8.2.1	Μελέτη της αλληλεπίδρασης με την BSA.....	96
8.2.2	Μελέτη της αλληλεπίδρασης με την HSA	98
8.2.3	Προσδιορισμός της θέσης δέσμευσης των συμπλόκων στις αλβουμίνες	100
8.3	Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων.....	103
9.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	107
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	108
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	119

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Αντικείμενο της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας αποτελεί η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός και η μελέτη της βιολογικής δράσης συμπλόκων ενώσεων του $Zn(II)$ με το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ, ένα βρωμο-υποκατεστημένο παράγωγο του φαιναμικού οξέος, παρουσία ή απουσία *N*-δοτών ή *N,N'*-δοτών. Για τον χαρακτηρισμό χρησιμοποιήθηκαν φασματοσκοπικές τεχνικές και η κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ σε μονοκρυστάλλο. Επίσης, μελετήθηκε η ικανότητα αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το calf-thymus DNA (CT DNA) με φασματοσκοπία UV-vis, ιξωδομετρία και ανταγωνιστική δράση των συμπλόκων με το αιθίδιο βρωμίδιο (EB). Ακόμη, διερευνήθηκε η αλληλεπίδραση των ενώσεων με την αλβουμίνη βόειου (Bovine serum albumin, BSA) και ανθρώπινου ορού (Human serum albumin, HSA) με φασματοσκοπία φθορισμού. Ειδικότερα, διερευνήθηκε και η πιθανή θέση (εκλεκτικής) σύνδεσης των συμπλόκων στις BSA και HSA μέσω πειραμάτων ανταγωνιστικής σύνδεσης παρουσία ιβουπροφαίνης (ibuprofen) και βαρφαρίνης (warfarin). Τέλος, το ερευνητικό μέρος της εργασίας ολοκληρώθηκε με την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον επιβλέποντα καθηγητή της διπλωματικής μου εργασίας κ. Γεώργιο Ψωμά, καθηγητή του Τμήματος Χημείας Α.Π.Θ για τη βοήθεια και τη συνεχή καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής, τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας, καθώς και για την υπομονή και την κατανόησή του.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής της μεταπτυχιακής διατριβής κ. Σωτήριο Χατζηκακού, καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και κ. Αντώνιο Χατζηδημητρίου, καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Α.Π.Θ., τον οποίο ευχαριστώ θερμά και για την επίλυση των κρυσταλλικών δομών.

Ακόμη, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Δρ. Γεώργιο Μαλή, την υποψήφια διδάκτορα Ελένη Αρναούτη και όλη την ομάδα του εργαστηρίου Ανόργανης Χημείας Α.Π.Θ., μεταπτυχιακούς συμφοιτητές και υποψήφιους διδάκτορες για την πολύτιμη βοήθειά τους και το ευχάριστο περιβάλλον εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένεια μου για την αμέριστη υποστήριξή τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΑΠΘ. Στο πλαίσιο αυτής πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός συμπλοκών ενώσεων του Zn(II) με το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ, ένα βρωμο-υποκατεστημένο παράγωγο του φαιναμικού οξέος, παρουσία ή απουσία του *N*-δότη ιμιδαζόλιο (Himi) και των *N,N'*-δοτών, 1,10-φαινανθρολίνη (phen), 2,2'-διπυριδίνη (bipy) και 2,2'-διπυριδυλαμίνη (bipyam). Για το χαρακτηρισμό των ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν φασματοσκοπικές τεχνικές (IR και NMR) και η κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ σε μονοκρύσταλλο. Προκειμένου να αξιολογηθεί η βιολογική δράση των συμπλόκων, μελετήθηκε η ικανότητα αλληλεπίδρασής τους με το CT DNA με φασματοσκοπία UV-vis, ιξωδομετρία και μέσω ανταγωνιστικής δράσης με το αιθίδιο βρωμίδιο (EB) με φασματοσκοπία φθορισμού. Επιπλέον, διερευνήθηκε η αλληλεπίδραση των ενώσεων με την αλβουμίνη βόειου (BSA) και ανθρώπινου ορού (HSA) με φασματοσκοπία φθορισμού, καθώς και η πιθανή θέση (εκλεκτικής) σύνδεσης των συμπλόκων μέσω πειραμάτων ανταγωνιστικής σύνδεσης παρουσία ιβουπροφαίνης και βαρφαρίνης. Τέλος, το ερευνητικό μέρος της εργασίας ολοκληρώθηκε με την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων έναντι των ριζών DPPH, ABTS και της ικανότητάς τους να ανάγουν το H₂O₂.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Σύμπλοκες ενώσεις του Zn(II), μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, φαιναμικά οξέα, *N,N'*-δότες, αλληλεπίδραση με το DNA, αλληλεπίδραση με αλβουμίνες, αντιοξειδωτική δράση.

ABSTRACT

The present MSc Thesis was conducted at the Laboratory of Inorganic Chemistry of the Department of Chemistry at the Aristotle University of Thessaloniki. In the context of this research, the synthesis and the characterization of Zn(II) complexes with 4'-bromo-fenamic acid, a bromo-substituted derivative of fenamic acid, in the presence or absence of the N-donor imidazole (Himi) and the N,N'-donors 1,10-phenanthroline (phen), 2,2'-bipyridine (bipy), and 2,2'-bipyridylamine (bipyam) was carried out. The characterization of the synthesized compounds was performed with spectroscopic techniques (IR and NMR) as well as single-crystal X-ray crystallography. To evaluate the biological activity of the complexes, their interaction capability with CT DNA was investigated via UV-vis spectroscopy, viscometry, and competitive binding assays with ethidium bromide (EB) with fluorescence spectroscopy. Furthermore, the interaction of the compounds with bovine serum albumin (BSA) and human serum albumin (HSA) was examined via fluorescence spectroscopy, alongside the determination of the potential (selective) binding sites of the complexes through competitive binding experiments in the presence of ibuprofen and warfarin. Finally, the experimental framework of this thesis was concluded with the evaluation of the antioxidant activity of the complexes against DPPH and ABTS radicals, as well as their capacity to reduce H_2O_2 .

KEYWORDS: Zn(II) complexes, non-steroidal anti-inflammatory drugs, fenamic acids, N,N'-donors, DNA interaction, albumin interaction, antioxidant activity.

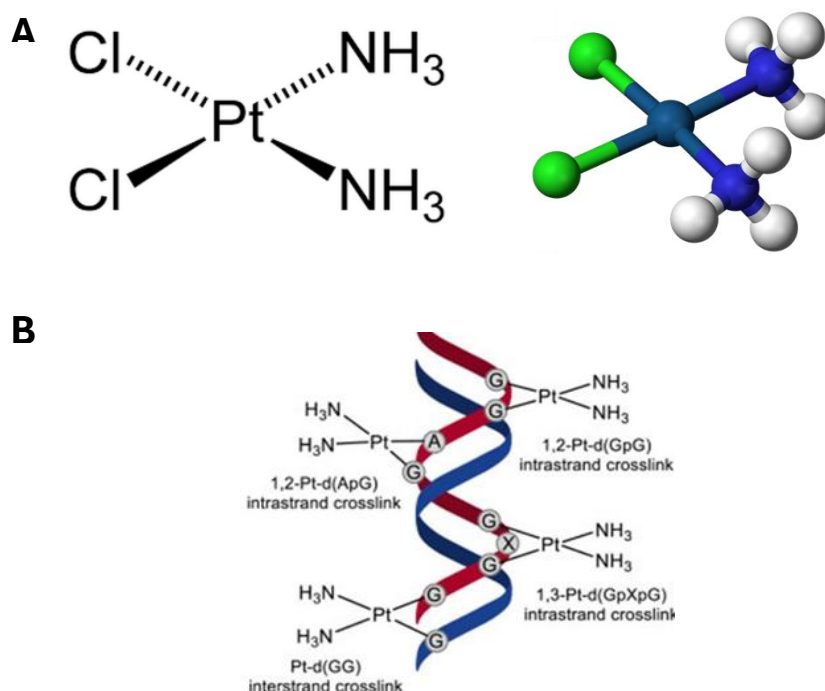
A. Θεωρητικό μέρος

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Βιοανόργανη Χημεία

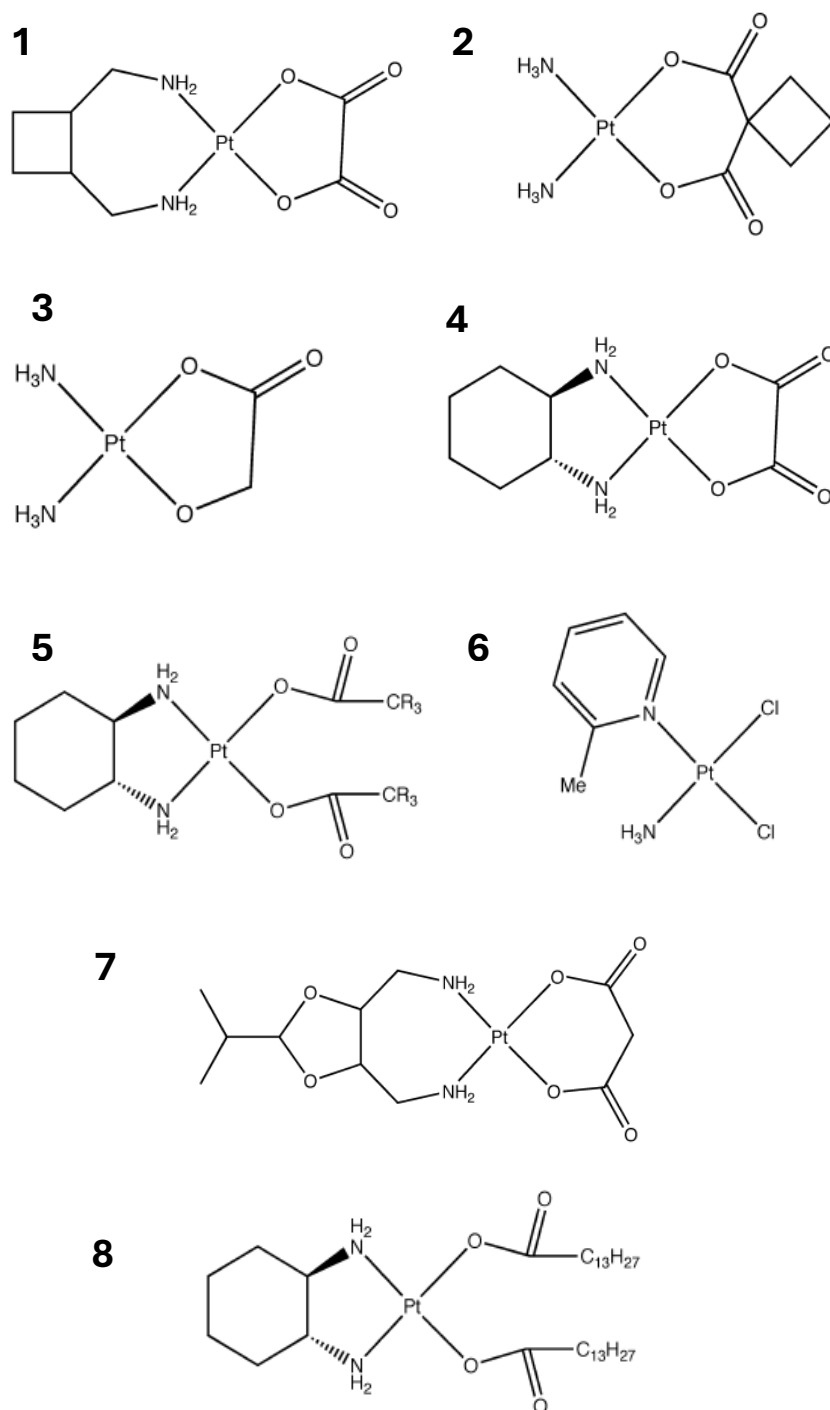
Η Βιοανόργανη Χημεία είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο που συσχετίζει την Ανόργανη Χημεία με τη Βιοχημεία και συγκεκριμένα τη βιολογική δράση ενός ανόργανου συστήματος, με βάση τις δομικές, ηλεκτρονιακές και χημικές του ιδιότητες. Είναι γεγονός ότι τον τελευταίο περίπου μισό αιώνα η σπουδαιότητα των μετάλλων στη βιολογία, το περιβάλλον και την ιατρική έχει γίνει ιδιαίτερα εμφανής [1]. Τα ανόργανα μόρια, συμπεριλαμβανομένων των ιόντων μετάλλων και των ενώσεων συναρμογής, είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ζωής σε πολλούς οργανισμούς, διότι λειτουργούν ως βασικά συστατικά των μοριακών μεταφορέων και των ενζύμων [2]. Έρευνες της Βιοανόργανης Χημείας περιλαμβάνουν τη χρήση μεταλλικών ιόντων για τη σύνθεση θεραπευτικών ενώσεων, ενώσεων μεταφοράς φαρμάκων και διαγνωστικών ενώσεων, ενώ ορισμένες ανόργανες ενώσεις χρησιμοποιούνται ήδη με επιτυχία στη θεραπεία του καρκίνου, της παθολογικής αναιμίας και της νόσου Αλτσχάιμερ. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι τα μέταλλα των μεταβατικών στοιχείων παρουσιάζουν ποικιλία στον αριθμό συναρμογής, τον αριθμό οξείδωσης και τη γεωμετρία τους ενώ παράλληλα έχουν την ικανότητα να συνδέονται με διάφορα ligands [3].

Το πιο ευρέως διαδεδομένο αντικαρκινικό φάρμακο είναι το μεταλλοφάρμακο cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum(II), cis-DDP), το οποίο συντέθηκε με επιτυχία στα τέλη της δεκαετίας του 1960 και αποτέλεσε έναυσμα για την περαιτέρω ανάπτυξη του τομέα της Ανόργανης Φαρμακευτικής Χημείας. Το μόριο cisplatin περιέχει δυο ιόντα Cl^- και δυο ligand NH_3 που περιβάλλουν ένα κεντρικό ιόν λευκοχρύσου. Οι τέσσερις δεσμοί που περιβάλλουν το κεντρικό ιόν μετάλλου σχηματίζουν επίπεδη τετραγωνική δομή. Η αντικαρκινική του δράση οφείλεται στο ιόν λευκοχρύσου Pt(II) , το οποίο προσδένεται στις αζωτούχες βάσεις του DNA, συγκεκριμένα στη γουανίνη και την αδενίνη, παρεμποδίζοντας έτσι την αντιγραφή του DNA και οδηγώντας στην απόπτωση του κυττάρου.



Εικόνα 1: Α) Η επίπεδη τετραγωνική δομή του cisplatin. **Β)** Οι πιθανοί τρόποι συναρμογής του cisplatin με το DNA [4].

Το cisplatin είναι από τα πλέον αποτελεσματικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα. Ωστόσο εμφανίζει ορισμένα μειονεκτήματα όπως είναι η μη-εκλεκτική δράση έναντι τόσο των καρκινικών όσο και των υγιών κυττάρων με αποτέλεσμα να προκαλεί πολλές ανεπιθύμητες παρενέργειες όπως νεφροτοξικότητα, απώλεια αισθήσεων, ναυτία, κ.ά. Ακόμα έχει παρατηρηθεί ότι μετά από χορήγηση ενός αριθμού δόσεων του φαρμάκου, μέρος των καρκινικών κυττάρων εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε αυτό. Εξαιτίας των παρενεργειών που προκαλεί, συντέθηκαν νέα αντικαρκινικά φάρμακα του λευκόχρυσου που προκαλούν μειωμένη κυτταροτοξικότητα, αλλά διαθέτουν παρόμοια θεραπευτική δράση με αυτή του cisplatin. Μερικά παραδείγματα είναι το carboplatin, το nedaplatin, το heptaplatin, το lobaplatin, το oxaliplatin, το picoplatin, το aroplatin και τέλος το miriplatin [5].



Εικόνα 2: Οι συντακτικοί τύποι των αντικαρκινικών φαρμάκων του λευκοχρύσου lobaplatin (**1**), carboplatin (**2**), nedaplatin (**3**), oxaliplatin (**4**), miriplatin (**5**), picoplatin (**6**), heptaplatin (**7**) και aroplatin (**8**) [6].

Η συμπεριφορά ενός μεταλλικού συμπλόκου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως είναι το ίδιο το μέταλλο που χρησιμοποιείται, τα ligands με τα οποία συναρμόζεται καθώς και το περιβάλλον στο οποίο βρίσκεται. Η τοξικότητα που παρατηρείται, αποτελεί το πιο σημαντικό επιχείρημα κατά της χρήσης των μεταλλικών ενώσεων ως φάρμακα. Για τον λόγο αυτό, η πρόβλεψη και ο έλεγχος της συμπεριφοράς των συμπλόκων είναι μία από τις

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το 99.9% ενός ανθρώπινου οργανισμού απαρτίζεται συνολικά από 11 μόνο στοιχεία, με το ~99% να αποτελείται από H, O, C, και N καθώς από αυτά αποτελούνται όλες οι δομικές μονάδες των βιομορίων (αμινοξέα, πρωτεΐνες, λιπίδια κλπ.). Για τον λόγο αυτό, τα τέσσερα αυτά στοιχεία βρίσκονται σε μεγάλη αφθονία. Επίσης υπάρχουν και άλλα αμέταλλα στοιχεία όπως είναι ο P, το Cl, το F, το S, το Si, το Se και το I, τα οποία συμμετέχουν σε διάφορες βιολογικές διεργασίες [1]. Ωστόσο, εκτός από τα αμέταλλα υπάρχουν και μεταλλικά στοιχεία που βρίσκονται στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως είναι το Co, ο Cu, το Ni, το Mo, ο Zn και το Cr που βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες και καλούνται **ιχνοστοιχεία**, καθώς οι απαιτήσεις της πρόσληψής τους είναι πολύ μικρότερες σε σχέση με άλλα στοιχεία. Για παράδειγμα, το κοβάλτιο αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό μέταλλο για τον οργανισμό, όμως μόνο 2 mg αυτού βρίσκονται στο ανθρώπινο σώμα. Είναι απαραίτητο ως συστατικό του συμπλόκου της βιταμίνης B12 (κοβαλαμίνη) και βρίσκεται στο ενεργό της κέντρο, ενώ ταυτόχρονα πραγματοποιεί θεμελιώδεις βιολογικές διεργασίες, όπως είναι η μεταφορά ομάδων μεθυλίου στο DNA [8]. Αντιθέτως το Na, το K, το Mg και το Ca βρίσκονται σε σχετικά μεγάλες ποσότητες, απουσία των οποίων δεν μπορεί να υπάρξει ζωή. Όσον αφορά τα μεταβατικά μέταλλα ο σίδηρος είναι το πιο άφθονο, φτάνοντας τα 3,8 g στους άντρες και τα 2,3 g στις γυναίκες. Αποτελεί απαραίτητο χημικό στοιχείο για τον άνθρωπο καθώς μεταφέρει οξυγόνο σε όλο το σώμα και συμμετέχει σε μεταλλοπρωτεΐνες αποθήκευσης σιδήρου [9].

Εικόνα 3: Τα στοιχεία που βρίσκονται στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα στοιχεία που απεικονίζονται με μπλε χρώμα είναι τα ιχνοστοιχεία ενώ με πράσινο χρώμα απεικονίζονται τα στοιχεία που βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες.

1.2 Στοιχεία μετάπτωσης

Μεγάλο μέρος των στοιχείων που βρίσκονται στον ανθρώπινο οργανισμό ανήκουν στα στοιχεία μετάπτωσης ή αλλιώς μεταβατικά στοιχεία. Γενικά, τα στοιχεία μετάπτωσης εμφανίζουν πολλές κοινές ιδιότητες μεταξύ τους, με σημαντικότερη τον μεταλλικό τους χαρακτήρα. Είναι σχεδόν όλα σκληρά και ανθεκτικά στερεά με υψηλά σημεία τήξης και ζέσης και έχουν την ικανότητα να άγουν την θερμότητα και τον ηλεκτρισμό. Κάθε μεταβατικό στοιχείο, με εξαίρεση ορισμένα στοιχεία όπως ο Zn, το Cd και ο Hg, βρίσκεται σε διάφορες οξειδωτικές βαθμίδες σχηματίζοντας συνήθως έγχρωμες ενώσεις. Ακόμα έχουν μεγάλη τάση σχηματισμού συμπλόκων ή και κραμάτων είτε μεταξύ τους είτε με άλλα μεταλλικά στοιχεία [10].

1.2.1 Τα στοιχεία της 12^{ης} ομάδας του περιοδικού πίνακα

Η 12^η ομάδα του περιοδικού πίνακα αποτελείται από τέσσερα στοιχεία, τον ψευδάργυρο (Zn), το κάδμιο (Cd), τον υδράργυρο (Hg) και το κοπερνίκιο (Cn). Καθένα από αυτά έχει μια συμπληρωμένη υποστιβάδα (n-1)d συν δύο ns ηλεκτρόνια. Ενώ τα στοιχεία της 11^{ης} ομάδας Cu και Au σχηματίζουν ιόντα ή σύμπλοκα στα οποία χάνονται ένα, δύο ή και τρία ηλεκτρόνια, δηλαδή ενώσεις σε οξειδωτικές βαθμίδες +1 και +2 για τον Cu, +2 και +3 για τον Au, τέτοιες ενώσεις δεν έχουν απομονωθεί ποτέ για τα μέταλλα της 12^{ης} ομάδας. Οι μοναδικές αποκλίσεις από την αυστηρά δισθενή βαθμίδα είναι (α) τα ιόντα, εκ των οποίων μόνο το Hg_2^{2+} είναι σταθερό υπό κανονικές συνθήκες, και (β) ενώσεις που περιέχουν ιόντα Hg_3^{2+} και Hg_4^{2+} .

Παρά το γεγονός ότι τα στοιχεία αυτά σχηματίζουν χαρακτηριστικά κατιόντα με φορτίο +2, δεν έχουν πολλά κοινά με τα στοιχεία της 2^{ης} ομάδας, δηλαδή το Be, το Mg, το Ca και το Ra, εκτός από κάποιες ομοιότητες μεταξύ των Zn, Be και Mg. Έτσι, το BeO, το Be(OH)₂ και το BeS έχουν ίδιες δομές, με το ZnO, το Zn(OH)₂ και το ZnS, αντίστοιχα, ενώ υπάρχει και κάποια ομοιότητα μεταξύ των Zn^{2+} και Mg^{2+} όσον αφορά τη χημεία των συμπλόκων τους σε διάλυμα. Η κύρια αιτία των διαφορών μεταξύ των ιόντων της Ομάδας IIA (2^η) και της Ομάδας IIB (12^η) αποδίδεται στην υψηλή πολωσιμότητα της πλήρους υποστιβάδας 3d¹⁰ των ιόντων της 12^{ης} Ομάδας σε σύγκριση με την μη-πολώσιμη ηλεκτρονιακή διαμόρφωση ευγενούς αερίου των ιόντων της 2^{ης} Ομάδας. Αυτός ο ειδικός συνδυασμός «μαλακού οξέος» και ο υψηλός λόγος φορτίου προς ακτίνα φαίνεται να είναι υπεύθυνος για τον μοναδικό ρόλο που παίζει ο ψευδάργυρος στη βιοχημεία [10].

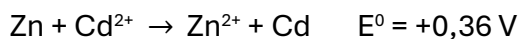
1 H 1.008																	18 He 4.0026
3 Li 6.94	4 Be 9.0122											5 B 10.81	6 C 12.011	7 N 14.007	8 O 15.999	9 F 18.998	10 Ne 20.180
11 Na 22.990	12 Mg 24.305											13 Al 26.982	14 Si 28.085	15 P 30.974	16 S 32.06	17 Cl 35.45	18 Ar 39.948
19 K 39.098	20 Ca 40.078	21 Sc 44.956	22 Ti 47.867	23 V 50.942	24 Cr 51.996	25 Mn 54.938	26 Fe 55.845	27 Co 58.933	28 Ni 58.693	29 Cu 63.546	30 Zn 65.38	31 Ga 69.723	32 Ge 72.630	33 As 74.922	34 Se 78.97	35 Br 79.904	36 Kr 83.798
37 Rb 85.468	38 Sr 87.62	39 Y 88.906	40 Zr 91.224	41 Nb 92.906	42 Mo 95.95	43 Tc (98)	44 Ru 101.07	45 Rh 102.91	46 Pd 106.42	47 Ag 107.87	48 Cd 112.41	49 In 114.82	50 Sn 118.71	51 Sb 121.76	52 Te 127.60	53 I 126.90	54 Xe 131.29
55 Cs 132.91	56 Ba 137.33	57-71 *	72 Hf 178.49	73 Ta 180.95	74 W 183.84	75 Re 186.21	76 Os 190.23	77 Ir 192.22	78 Pt 195.08	79 Au 196.97	80 Hg 200.59	81 Tl 204.38	82 Pb 207.2	83 Bi 208.98	84 Po (209)	85 At (210)	86 Rn (222)
87 Fr (223)	88 Ra (226)	89-103 #	104 Rf (265)	105 Db (268)	106 Sg (271)	107 Bh (270)	108 Hs (277)	109 Mt (276)	110 Ds (281)	111 Rg (280)	112 Cn (285)	113 Nh (286)	114 Fl (289)	115 Mc (289)	116 Lv (293)	117 Ts (294)	118 Og (294)
* Lanthanide series			57 La 138.91	58 Ce 140.12	59 Pr 140.91	60 Nd 144.24	61 Pm (145)	62 Sm 150.36	63 Eu 151.96	64 Gd 157.25	65 Tb 158.93	66 Dy 162.50	67 Ho 164.93	68 Er 167.26	69 Tm 168.93	70 Yb 173.05	71 Lu 174.97
# Actinide series			89 Ac (227)	90 Th 232.04	91 Pa 231.04	92 U 238.03	93 Np (237)	94 Pu (244)	95 Am (243)	96 Cm (247)	97 Bk (247)	98 Cf (251)	99 Es (252)	100 Fm (257)	101 Md (258)	102 No (259)	103 Lr (262)

Εικόνα 4: Η 12^η ομάδα του περιοδικού πίνακα.

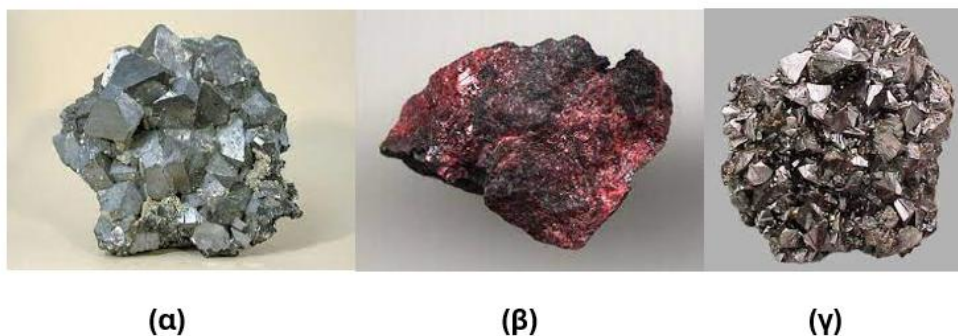
1.2.2 Εμφάνιση, απομόνωση και ιδιότητες των στοιχείων

Τα στοιχεία έχουν σχετικά χαμηλή αφθονία στη φύση (της τάξης των ppm στον φλοιό της Γης για τον Zn και το Cd), αλλά είναι γνωστά από καιρό, επειδή λαμβάνονται εύκολα από τα μεταλλεύματα τους.

Ο ψευδάργυρος υπάρχει ευρέως και κύρια πηγή του είναι ο σφαλερίτης, (ZnFe)S, ο οποίος βρίσκεται συχνά με τον γαληνίτη (PbS). Τα ορυκτά του καδμίου είναι σπάνια, αλλά, ως αποτέλεσμα της ομοιότητας του Zn με το Cd, υπάρχει ως προϊόν ισόμορφης αντικατάστασης σε όλα σχεδόν τα μεταλλεύματα του Zn. Οι μέθοδοι απομόνωσης περιλαμβάνουν επίπλευση και φρύξη, οι οποίες αποφέρουν τα οξειδία και στη συνέχεια τα ZnO και PbO ανάγονται με άνθρακα. Το κάδμιο είναι πάντα παραπροϊόν και συνήθως διαχωρίζεται από τον Zn με απόσταξη ή καθίζηση από διαλύματα θειικών με χρήση σκόνης Zn [11].

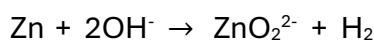


Το οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO) χρησιμοποιείται ως συστατικό φραγής της ακτινοβολίας UV στα πλαστικά, στον βουλκανισμό του καουτσούκ, ως βαφή λευκού χρώματος σε επικαλύψεις χαρτιού αλλά και σε ιατρικές εφαρμογές, όπως είναι διάφορες αντιβακτηριακές κρέμες. Το μόνο σημαντικό μέταλλευμα του υδραργύρου είναι ο κιννάβαρης (HgS). Αυτό το μέταλλευμα με φρύξη δίνει το οξείδιο το οποίο, με τη σειρά του, αποσυντίθεται στους 500°C περίπου και ο υδράργυρος εξατμίζεται [11].



Εικόνα 5: Τα ορυκτά **(α)** γαληνίτης, **(β)** κιννάβαρης και **(γ)** σφαλερίτης.

Ο ψευδάργυρος και το κάδμιο είναι λευκά, γυαλιστερά μέταλλα που θαμπώνουν. Ο υδράργυρος είναι γυαλιστερό υγρό σε συνήθεις θερμοκρασίες. Όλα αυτά τα στοιχεία είναι αξιοσημείωτα πτητικά για βαρέα μέταλλα, με τον υδράργυρο να είναι μοναδικός. Ο υδράργυρος δίνει μονοατομικό ατμό και διαθέτει αξιόλογη τάση ατμών (10^{-3} mm) στους 20°C . Είναι επίσης απρόσμενα διαλυτός σε πολικά και μη υγρά. Λόγω της υψηλής πτητικότητας και της μέτριας τοξικότητάς του, ο υδράργυρος πρέπει πάντα να διατηρείται σε σφραγισμένα δοχεία και ο χειρισμός του να γίνεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Γίνεται εξαιρετικά επικίνδυνος στη βιόσφαιρα, διότι υπάρχουν βακτήρια που τον μετατρέπουν στο τοξικό ιόν CH_3Hg^+ . Ο υδράργυρος καταστρέφεται εύκολα σε υδατικά διαλύματα αλάτων του, όταν βρίσκεται υπό τη μορφή Hg^{2+} , λόγω αναγωγής του από ίχνη αναγωγικών και εντέλει διάσπασης του Hg_2^{2+} . Τόσο ο Zn όσο και το Cd είναι πολύ ηλεκτροθετικά και αντιδρούν εύκολα με μη-οξειδωτικά οξέα, απελευθερώνοντας H_2 και παρέχοντας δισθενή ιόντα. Ο Hg είναι αδρανής ως προς τα μη-οξειδωτικά οξέα. Ο ψευδάργυρος διαλύεται επίσης σε ισχυρές βάσεις λόγω της ικανότητάς του να σχηματίζει ψευδαργυρικά ιόντα που συμβολίζονται συνήθως ως ZnO_2^{2-} .



Το κάδμιο δε διαλύεται σε βάσεις. Αμφότερα Zn και Cd αντιδρούν εύκολα με O_2 όταν θερμαίνονται και σχηματίζουν τα αντίστοιχα οξειδία. Μολονότι ο Hg και το O_2 μαζί είναι ασταθή σε σχέση με το HgO στους 25°C , η ταχύτητα της αντίδρασης είναι εξαιρετικά αργή. Η αντίδραση προχωρά με αξιοποιήσιμες ταχύτητες στους $300\text{-}350^{\circ}\text{C}$, αλλά πάνω από τους 400°C περίπου η τιμή ΔG γίνεται θετική και το HgO αποσυντίθεται γρήγορα στα στοιχεία του. Και τα τρία στοιχεία αντιδρούν με αλογόνα και αμέταλλα όπως S, Se και P [11].

Στον **πίνακα 1** συνοψίζονται ορισμένες βασικές ιδιότητες των στοιχείων της 12^{ης} Ομάδας.

Πίνακας 1: Μερικές ιδιότητες των στοιχείων της 12^{ης} Ομάδας [10].

Ιδιότητα	Zn	Cd	Hg
Εξωτερική διαμόρφωση	3d ¹⁰ 4s ²	4d ¹⁰ 5s ²	5d ¹⁰ 6s ²
Ενθαλπίες ιοντισμού (KJ mol ⁻¹)			
1 ^η	906	876	1007
2 ^η	1734	1630	1809
3 ^η	3831	3615	3300
Σημείο τήξης (°C)	419	321	-38,87
Σημείο ζέσης (°C)	907	767	357
Θερμότητα εξάχνωσης (KJ mol ⁻¹)	130,8	112	61,3
E ⁰ για M ²⁺ + 2e ⇌ M (V)	-0,762	-0,402	0,854
Ιοντική ακτίνα (Α.Ε. 6) του M ²⁺ (Å)	0,88	1,09	1,16

Τα στοιχεία Zn και Cd σχηματίζουν πολλά κράματα. Μερικά, όπως ο ορείχαλκος, ο οποίος είναι ένα κράμα χαλκού-ψευδαργύρου, έχουν τεχνολογική σημασία. Ο υδράργυρος συνδυάζεται με πολλά άλλα μέταλλα, μερικές φορές με δυσκολία, αλλά μερικές φορές, όπως με το Na ή το K, πολύ έντονα, δίνοντας αμαλγάματα. Πολλά αμαλγάματα έχουν μεταβλητή σύσταση, ενώ άλλα είναι χημικές ενώσεις, όπως το Hg₂Na. Μερικά από τα στοιχεία μετάπτωσης δεν σχηματίζουν αμαλγάματα και ο σίδηρος χρησιμοποιείται συνήθως για δοχεία Hg. Αμαλγάματα νατρίου και ο αμαλγαματοποιημένος Zn χρησιμοποιούνται συχνά ως μέσα σε υδατικά διαλύματα [11].

Όσον αφορά τη στερεοχημεία, τα ιόντα M²⁺ με τις d¹⁰ διαμορφώσεις τους δεν παρουσιάζουν στερεοχημικές προτιμήσεις που προκύπτουν από την επίδραση της σταθεροποίησης του πεδίου των ligand. Επομένως, εμφανίζουν μια ποικιλία αριθμών ένταξης και γεωμετρίας που βασίζονται στην αλληλεπίδραση των ηλεκτροστατικών δυνάμεων, της ομοιοπολικότητας και του παράγοντα μεγέθους. Λόγω μεγέθους, το Cd²⁺ απαντάται συχνότερα με αριθμό συναρμογής 6 από ό,τι ο Zn²⁺. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι τόσο ο ZnCl₂ όσο και το CdCl₂ έχουν δομές που βασίζονται σε πυκνή παράταξη ιόντων Cl⁻, αλλά ο Zn²⁺ καταλαμβάνει τετραεδρικά διάκενα, ενώ το Cd²⁺ καταλαμβάνει οκταεδρικά διάκενα. Οι αριθμοί συναρμογής 4, 5 και 6 είναι συνηθισμένοι και για τα τρία στοιχεία, όπως φαίνεται στον **πίνακα 2** που ακολουθεί και περιγράφει τη στερεοχημεία τους, αν και η γραμμική συναρμογή (αριθμός συναρμογής 2) παρατηρείται συχνά για τον Hg²⁺ και έχει αποδοθεί σε σχετικιστικές επιδράσεις στο τροχιακό 6s [10].

Πίνακας 2: Η στεreoχημεία των δισθενών ψευδαργύρου, καδμίου και υδραργύρου [10].

Αριθμός συναρμογής	Γεωμετρία	Παραδείγματα
2	Γραμμική	$\text{Zn}(\text{CH}_3)_2$, HgO , $\text{Hg}(\text{CN})_2$, $\text{Cd}[\text{N}(\text{SiMe}_3)_2]_2$
3	Επίπεδη τριγωνική	$[\text{Me}_3\text{S}]^+\text{HgX}_3^-$, $[\text{MeHg bipy}]^+$, $\text{Hg}(\text{SiMe}_3)_3^-$, $\text{Zn}_2(\mu\text{-OH})_2[\text{C}(\text{SiMe}_2\text{Ph})_3]_2$
4	Τετραεδρική	$[\text{Zn}(\text{CN})_4]^{2-}$, $\text{ZnCl}_2(\text{s})$, ZnO , $[\text{Cd}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, $\text{HgCl}_2(\text{OAsPh}_3)_2$
5	Τριγωνική διπυραμίδα (tbp)	$(\text{terpy})\text{ZnCl}_2$, $[\text{Zn}(\text{SCN}) \text{tren}]^+$, $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6][\text{CdCl}_5]$
	Τετραγωνική πυραμίδα (sp)	$\text{Zn}(\text{acac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
6	Οκταεδρική	$[\text{Zn}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ (μόνο στερεό), CdO , CdCl_2 , $[\text{Hg}(\text{en})_3]^{2+}$, $[\text{Hg}(\text{C}_5\text{H}_4\text{NO})_6]^{2+}$
7	Πενταγωνική διπυραμίδα	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{dapp})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$
	Παραμορφωμένη πενταγωνική διπυραμιδική	$\text{Cd}(\text{quin})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2$
8	Παραμορφωμένη τετραγωνική αντιπρισματική	$[\text{Hg}(\text{NO}_3)_4]^{2-}$
	Δωδεκαεδρική	$\{\text{Ph}_4\text{As}\}_2[\text{Zn}(\text{NO}_3)_4]$

2. ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ

2.1 Ιστορική αναδρομή

Ο ψευδάργυρος αν και δεν είχε αναγνωριστεί εξαρχής ως ξεχωριστό στοιχείο, φαίνεται ότι χρησιμοποιείται εδώ και τουλάχιστον 2.300 χρόνια, αφού ο ορείχαλκος, ένα κράμα χαλκού και ψευδαργύρου, ήταν γνωστός στους αρχαίους Ρωμαίους. Σήμερα, ο ψευδάργυρος είναι το τέταρτο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μέταλλο στη Γη και μόλις το δεύτερο σε αφθονία d μέταλλο στη βιολογία [12]. Η ανακάλυψη της βιολογίας του ψευδαργύρου διακρίνεται σε τρεις φάσεις και καταδεικνύει μια συνεχώς αυξανόμενη ποικιλία λειτουργιών:

1) Η αναγνώριση ότι ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητος για όλες τις μορφές ζωής.

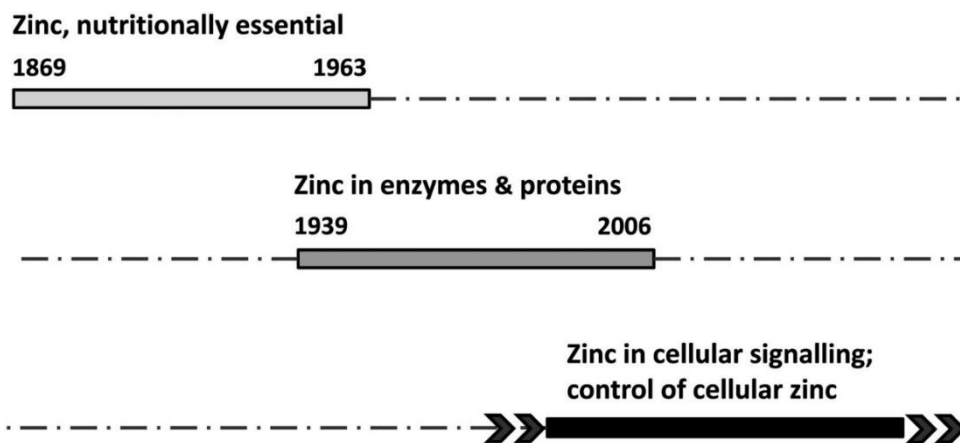
Το 1869, ο Jules Raulin απέδειξε για πρώτη φορά την αναγκαιότητα του ψευδαργύρου για την ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus niger*. Όσον αφορά τον άνθρωπο, το 1962 ανακαλύφθηκε από τον Prasad ότι ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τον ανθρώπινο οργανισμό και συγκεκριμένα το δεύτερο σε αφθονία μετά τον σίδηρο [13].

2) Η ανίχνευση ψευδαργύρου σε ένζυμα και άλλες πρωτεΐνες ως βάση για τις καταλυτικές και δομικές τους λειτουργίες.

Το 1940 ανακαλύφθηκε η παρουσία ψευδαργύρου στο ένζυμο καρβονική ανυδράση και το 1955 η καρβοξυπεπτιδάση έγινε το δεύτερο αναγνωρισμένο ένζυμο ψευδαργύρου. Στη συνέχεια, μετά από εκτενείς αναλύσεις αποδείχτηκε η παρουσία ψευδαργύρου ως καταλυτικού και δομικού συμπαραγόντα σε μερικές εκατοντάδες ένζυμα. Τα ένζυμα αυτά είναι πολλών ειδών, συμπεριλαμβανομένων αλκοολικών δεϋδρογονασών, αλδολασών, πεπτιδασών, καρβοξυπεπτιδασών, φωσφατασών, DNA και RNA πολυμερασών [10]. Αργότερα, στις αρχές της δεκαετίας του 1980, ο τομέας απέκτησε εκ νέου ενδιαφέρον καθώς ανακαλύφθηκαν ειδικές πρωτεΐνες, οι λεγόμενες πρωτεΐνες «δάκτυλοι ψευδαργύρου» (zinc fingers), οι οποίες έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν την ακολουθία των βάσεων του DNA συμβάλλοντας έτσι στον ρυθμιστικό έλεγχο της γενετικής μεταγραφής. Οι πρόοδοι στη δομική βιολογία και η ταχεία αύξηση της διαθεσιμότητας βάσεων δεδομένων γονιδίων/πρωτεϊνών κατέστησαν πλέον δυνατή την πρόβλεψη θέσεων δέσμευσης ψευδαργύρου από μοτίβα δέσμευσης μετάλλων που ανιχνεύονται σε αλληλουχίες. Αυτή η διαδικασία οδήγησε στην αξιοσημείωτη εκτίμηση ότι το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί ~3000 πρωτεΐνες ψευδαργύρου.

3) Ο ρόλος των ιόντων ψευδαργύρου(II) στην κυτταρική ρύθμιση.

Κατά την τρίτη και πλέον σύγχρονη ερευνητική φάση, διαπιστώθηκε ότι τα ιόντα Zn^{2+} λειτουργούν ως ρυθμιστικοί παράγοντες, ανάλογα με τα ιόντα Ca^{2+} , διαδραματίζοντας καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση των κυτταρικών μηχανισμών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος των ιόντων Zn^{2+} ως σηματοδότες (signaling molecules) στη μεταφορά πληροφοριών εντός των κυττάρων αλλά και μεταξύ αυτών [14].



Εικόνα 6: Οι τρεις φάσεις στις οποίες διακρίνεται η ανακάλυψη της βιολογίας του ψευδαργύρου [14].

2.2 Γενικά χαρακτηριστικά του ψευδαργύρου

Ο Zn με ατομικό αριθμό 30 είναι το πρώτο στοιχείο της 12^{ης} Ομάδας του Περιοδικού Πίνακα και έχει διαμόρφωση $[Ar]3d^{10}4s^2$. Είναι διαμαγνητικό μέταλλο και έχει αργυρόλευκο χρώμα που θαμπώνει από την υγρασία του αέρα. Αποτελεί το 24^ο πιο άφθονο στοιχείο που απαντάται στον στερεό φλοιό της Γης. Το σημείο τήξης του είναι 419°C. Λόγω του χαμηλού σημείου τήξης και ζέσης, είναι πιο δραστήσιος από τα στοιχεία της 11^{ης} Ομάδας. Επιπλέον, καθώς οι ενώσεις του είναι άχρωμες και διαμαγνητικές, είναι «αόρατος» στις περισσότερες φασματοσκοπικές μεθόδους. Η έλλειψη χρώματος οφείλεται στα συμπληρωμένα d τροχιακά του. Αυτά τα συμπληρωμένα d τροχιακά του ψευδαργύρου, τον αποτρέπουν από οξείδωση και αναγωγή και παίζουν βασικό ρόλο στη λειτουργικότητα του ψευδαργύρου στα βιολογικά συστήματα. Αντίθετα, οι οξειδοαναγωγικές ιδιότητες των γειτονικών του ιόντων μεταβατικών μετάλλων, όπως του Cu και του Fe, είναι ουσιώδεις για τη λειτουργία τους. Στον **πίνακα 3** που ακολουθεί αναφέρονται φυσικές σταθερές του Zn [15].

Πίνακας 3: Ιδιότητες του ψευδαργύρου [15].

Ιδιότητα	Zn
Ατομικός αριθμός	30
Ηλεκτρονιακή διαμόρφωση	[Ar]3d ¹⁰ 4s ²
Ατομικό Βάρος	65,39
Ατομική Ακτίνα (Å)	1,38
Σημείο τήξης (°C)	419
Σημείο Ζέσης (°C)	908
E ⁰ (Volt) Zn ²⁺ /Zn	-0,76
Ενέργεια 1 ^{ου} ιοντισμού (E ₁₁) (eV)	9,39
Ενέργεια 2 ^{ου} ιοντισμού (E ₁₂) (eV)	17,96
Ενέργεια 3 ^{ου} ιοντισμού (E ₁₃) (eV)	39,70
Ηλεκτραρνητικότητα	1,65

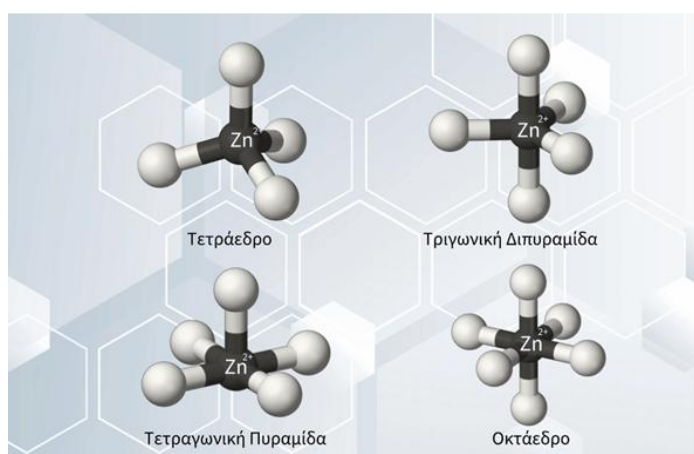
2.2.1 Ενώσεις του ψευδαργύρου

Η μοναδική οξειδωτική βαθμίδα του ψευδαργύρου είναι η +2. Λόγω της πολύ υψηλής τιμής της τρίτης ενέργειας ιονισμού είναι πρακτικά αδύνατο να βρεθεί σε μεγαλύτερη οξειδωτική βαθμίδα από τη +2. Ενώσεις του Zn(I) δεν υπάρχουν σε κανονικές συνθήκες παρόλο που η ένωση ZnH και τα αλογονούχα ZnX είναι γνωστά από τα φάσματά τους. Ωστόσο πιθανολογείται η ύπαρξη της οξειδωτικής βαθμίδας +1 σε ελάχιστα οργανομεταλλικές ενώσεις με τύπο RZn₂R. Επίσης κατά την ανάμιξη ατμών μεταλλικού ψευδαργύρου και διβρωμιούχου ψευδαργύρου σχηματίζεται ZnBr. Στη συνήθη θερμοκρασία, τα μονοαλογονούχα μετατρέπονται αμέσως σε ψευδάργυρο και αλογονούχο Zn(II). Ο ψευδάργυρος έχει αριθμό οξείδωσης +2 στα αέρια αλογονούχα και σε ορισμένα οργανομεταλλικά παράγωγα [15]. Τα σύμπλοκα του Zn(II) είναι διαμαγνητικά και, εξαιτίας της 3d¹⁰ ηλεκτρονιακής κατανομής του ιόντος, η στερεοχημεία παραμένει ανεπηρέαστη από την ενέργεια σταθεροποίησης του πεδίου των ligand (LFSE) η οποία είναι μηδενική. Επομένως, ο αριθμός συναρμογής και η στερεοχημεία εξαρτώνται αποκλειστικά από το μέγεθος του κατιόντος και των στερεοχημικών παρεμποδίσεων των ligand. Ακόμα τα σύμπλοκα του Zn(II) είναι ιδιαίτερα ευκίνητα, όπως φαίνεται και από τον ρυθμό ανταλλαγής μορίων νερού σε υδατοσύμπλοκα, ο οποίος είναι ~10⁸ s⁻¹ [16]. Έτσι, το ιόν του ψευδαργύρου σχηματίζει πληθώρα σύμπλοκων ενώσεων, οι οποίες αναφέρονται μαζί με τη γεωμετρία τους στον **πίνακα 4**.

Πίνακας 4: Αριθμός συναρμογής και γεωμετρία διάφορων ενώσεων του Zn(II) [10].

Αριθμός συναρμογής	Γεωμετρία	Παραδείγματα
2	Γραμμική	$\text{Zn}(\text{CH}_3)_2$, ZnCl_2 , ZnEt_2
3	Επίπεδη τριγωνική	$\text{Zn}_2(\mu\text{-OH})_2[\text{C}(\text{SiMe}_2\text{Ph})_3]_2$
4	Τετραεδρική	$[\text{Zn}(\text{CN})_4]^{2-}$, $\text{ZnCl}_2(\text{s})$, ZnO , $[\text{ZnCl}_4]^{2-}$, $[\text{Zn}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$
	Επίπεδη τετραγωνική	$[\text{Zn}(\text{TPP})]^{2+}$
5	Τριγωνική διπυραμίδα (tbp)	$(\text{terpy})\text{ZnCl}_2$, $[\text{Zn}(\text{SCN})\text{tren}]^+$, $[\text{Zn}(\text{tren})\text{NCS}]^+$
	Τετραγωνική πυραμίδα (sp)	$\text{Zn}(\text{acac})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
6	Οκταεδρική	$[\text{Zn}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ (μόνο στερεό), $[\text{Zn}(\text{en})_3]^{2+}$
7	Πενταγωνική διπυραμίδα	$[\text{Zn}(\text{H}_2\text{dapp})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$
8	Δωδεκαεδρική	$\{\text{Ph}_4\text{As}\}_2[\text{Zn}(\text{NO}_3)_4]$

Γενικά τα στοιχεία της 12^{ης} ομάδας του περιοδικού πίνακα, στην οποία ανήκει και ο ψευδάργυρος, σχηματίζουν σύμπλοκα με ligands που έχουν μεγάλο μέγεθος και πολώνονται εύκολα όπως είναι τα διάφορα θειούχα, χλωριούχα και φωσφορούχα παράγωγα. Συγκεκριμένα, ο ψευδάργυρος σχηματίζει με ευκολία τετραεδρικά σύμπλοκα, κυρίως με το φωσφόρο, τα αλογόνα καθώς επίσης και με μεγάλο αριθμό Ο-δοτών. Επιπρόσθετα, σχηματίζει μεγάλο αριθμό σταθερών συμπλόκων ενώσεων με N- και S- δότες. Με το οξυγόνο και το άζωτο ως άτομα-δότες σχηματίζει σύμπλοκα που έχουν αριθμό συναρμογής 5 και 6, ενώ με δότη το θείο παρατηρείται μεγαλύτερη ιδιομορφία στη γεωμετρία συναρμογής. Ακόμα, τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί ότι το ιόν Zn(II) σχηματίζει με ευκολία 1D, 2D και 3D πολυμερή συναρμογής [16].



Εικόνα 7: Οι συνηθέστερες γεωμετρίες συναρμογής σύμπλοκων ενώσεων του Zn (II) [16].

Ο Zn χρησιμοποιείται για την προστασία από την ατμοσφαιρική διάβρωση των άλλων μετάλλων και κυρίως του σιδήρου και των χαλύβων. Αυτή η διεργασία της επικάλυψης του σιδηρούχου μετάλλου με στρώμα ψευδαργύρου είναι γνωστή ως γαλβανισμός. Ο

γαλβανισμός γίνεται είτε με την εμβάπτιση του σιδήρου ή των χαλύβδινων φύλλων μέσα σε λιωμένο Zn (γαλβανισμένη λαμαρίνα) είτε ηλεκτρολυτικά. Ο Zn χρησιμοποιείται επίσης ως συστατικό των ξηρών ηλεκτρικών στοιχείων (μπαταρίες).

Πολλά κράματα περιέχουν ψευδάργυρο, όπως για παράδειγμα ο ορείχαλκος, ένα κράμα ψευδάργυρου και χαλκού. Τα κράματά του παρουσιάζουν μεγάλο βιομηχανικό ενδιαφέρον, ιδιαίτερα μετά την παρασκευή πολύ καθαρού Zn, επειδή οι προσμίξεις προκαλούν την εύκολη διάβρωσή τους. Τα κύρια πλεονεκτήματά τους είναι το χαμηλό σημείο τήξης, η ρευστότητα κατά την απόχυση, οι μηχανικές τους ιδιότητες και το σχετικά χαμηλό κόστος [15].

2.3 Βιολογικός ρόλος του ψευδαργύρου

Το 1962 ανακαλύφθηκε ότι ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τον άνθρωπο. Πιο συγκεκριμένα, αποτελεί το δεύτερο σε αφθονία ιχνοστοιχείο μετά τον σίδηρο με ποσοστό περίπου 2 g ανά 70 kg σωματικού βάρους. Βρίσκεται σε όλα τα όργανα, τους ιστούς και τα υγρά του ανθρώπινου σώματος. Το μεγαλύτερο ποσοστό του ψευδαργύρου, πάνω από το 85%, εντοπίζεται στους σκελετικούς μύες και στα κόκαλα. Η μεταφορά του μέσα στο ανθρώπινο σώμα γίνεται κυρίως μέσω του πλάσματος όπου μεταφέρεται στο έντερο, στο πάγκρεας, στο ήπαρ, στα λευκά αιμοσφαίρια, στους μύες, στους νεφρούς και στα οστά [17]. Ανήκει στα απαραίτητα ιχνοστοιχεία καθώς λαμβάνει μέρος σε πολλές κυτταρικές διεργασίες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι είναι ένα στοιχείο που στις ενώσεις του έχει ιδιαίτερα ευνοϊκά χαρακτηριστικά, όπως η σταθερή οξειδωτική του κατάσταση και οι ποικίλες γεωμετρίες συναρμογής, καθώς λαμβάνει αριθμούς συναρμογής οι οποίοι κυμαίνονται μεταξύ 4 και 6 [16].

Ο ψευδάργυρος ρυθμίζει τον μεταβολισμό των κυττάρων και λαμβάνει μέρος στη σύνθεση των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA) διαμέσου μεταλλοενζύμων, όπως οι RNA πολυμεράσες, οι αντίστροφες μεταγραφάσες και ο μεταγραφικός παράγοντας IIA. Είναι απαραίτητος για τη δράση περισσότερων των 200 μεταλλοενζύμων τα οποία συμμετέχουν σε διάφορα μεταβολικά μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένου και του νευρικού κεντρικού συστήματος αλλά και ως δομικό στοιχείο των ειδικού τύπου πρωτεϊνών «zinc finger» που ρυθμίζουν την μεταγραφή του DNA. Η αναγκαιότητά του για την ανάπτυξη και την λειτουργία τόσο του εγκεφάλου όσο και του νευρικού συστήματος αποδίδεται στο ότι ο ψευδάργυρος παίζει σημαντικό ρόλο στη διαίρεση των κυττάρων και τον μεταβολισμό πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων, καθώς

αποτελεί δομικό στοιχείο του παράγοντα ανάπτυξης των νεύρων ενώ συμβάλλει και στη μεταβίβαση μηνυμάτων. Επίσης, ενώνεται εύκολα με πρωτεΐνες και η παρουσία του κρίνεται αναγκαία για τη δράση ρυθμιστικών πρωτεϊνών, όπως παραγόντων αντιγραφής. Σημαντική ποσότητα ψευδαργύρου βρίσκεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια ως βασικό συστατικό της καρβονικής ανυδράσης, ένα ένζυμο που βοηθάει στον μεταβολισμό του CO₂. Ακόμα, ψευδάργυρος περιέχεται στα εγκεφαλικά κύτταρα των θηλαστικών, στο ανοσοποιητικό σύστημα, στο έντερο και στους σιελογόνους αδένες. Ο ψευδάργυρος ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα καθώς απαιτείται για τη δημιουργία των Τ-λεμφοκυττάρων, των λευκών κυττάρων του σώματος που επιτίθενται στους ιούς και τα παθογόνα βακτήρια, βοηθώντας να καταπολεμήσουμε τις λοιμώξεις [17], [18].

Οι κυριότερες πηγές Zn στη διατροφή του ανθρώπου είναι τα οστρακοειδή, το συκώτι, το κρέας, η μαγιά μπύρας, το γάλα, τα αυγά και τα ψάρια. Ακολουθώντας μία ισορροπημένη διατροφή με ποικιλία τροφίμων λαμβάνονται επαρκείς ποσότητες ψευδαργύρου και έτσι η ανάγκη για συμπληρωματική χορήγηση είναι σπάνια.

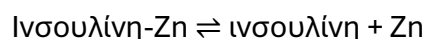
Ωστόσο μπορεί να παρατηρηθεί έλλειψη ψευδαργύρου αν για κάποιο λόγο η πρόσληψή του ή η απορρόφησή του από το σώμα δεν είναι επαρκής. Αυτό συχνά οφείλεται στην κατάχρηση αλκοολούχων ποτών, σε ειδικές δίαιτες ή διατροφές πλούσιες σε φυτικά οξέα αλλά μπορεί να προκληθεί και από ιατρικούς λόγους, όπως είναι ασθένειες του ήπατος, χρόνιες νεφρικές ανεπάρκειες καθώς και γαστρεντερικές ανωμαλίες. Σε περίπτωση ανεπάρκειας ψευδαργύρου εμφανίζονται πολλαπλές διαταραχές όπως μειωμένη ανάπτυξη, ανωμαλίες στο ανοσολογικό σύστημα και στη σύνθεση του DNA και του RNA, ορισμένες δερματίτιδες, καθυστερημένη ανάπτυξη των οστών, τριχόπτωση, εξασθενημένη οξύτητα γεύσης και στειρότητα. Ακόμα είναι πιθανό να παρατηρηθούν αλλαγές στη συμπεριφορά, όπως κακή διάθεση, ψυχικές διαταραχές και δυσκολία στην ικανότητα για μάθηση. Τα προβλήματα που προκύπτουν από την ανεπάρκεια ψευδαργύρου είναι ιδιαίτερα σημαντικά και για αυτό πολλές φορές κρίνεται αναγκαία η χορήγηση συμπληρωματικής ποσότητας. Παρόλα αυτά, πρόσληψη ψευδαργύρου μεγαλύτερη από 200 mg είναι πολύ τοξική και προκαλεί έμετο και ναυτία, ενώ η μακροχρόνια συμπληρωματική χρήση του μπορεί να αναστείλει την απορρόφηση του χαλκού και του σιδήρου. Επιπλέον η υπερβολική αύξηση της συγκέντρωσης του ψευδαργύρου στα εγκεφαλικά κύτταρα προκαλεί νευροτοξικότητα ενώ παρεμποδίζεται και πάλι ο μεταβολισμός του χαλκού και του σιδήρου. Αυτό συμβαίνει, διότι ο χαλκός, ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος ανταγωνίζονται για το ίδιο μονοπάτι εισόδου από το έντερο στην κυκλοφορία του αίματος, οπότε μια υπερβολική πρόσληψη ενός

μετάλλου θα ταράξει την απορρόφηση των άλλων. Η ανταγωνιστική δράση του Cu ως προς τον Zn αποδίδεται κυρίως στο γεγονός ότι ο Cu σχηματίζει σύμπλοκα μεγαλύτερης σταθερότητας με ορισμένες πρωτεΐνες, αμινοξέα και πεπτίδια από ότι ο Zn [17].

2.3.1 Ο ρόλος του ψευδαργύρου στα μεταλλοένζυμα

Οι ιδιότητες των μεταλλοενζύμων του ψευδαργύρου στηρίζονται στο ότι το ίδιο το μέταλλο έχει διαφορετικούς εξειδικευμένους ρόλους ανάλογα με το ένζυμο. Πιο συγκεκριμένα, ο ρόλος του ψευδαργύρου μπορεί να είναι δομικός, καταλυτικός, ρυθμιστικός ή μη-καταλυτικός.

Ο δομικός ρόλος του ψευδαργύρου παρατηρείται σε ορισμένα ένζυμα, στην κυτταρική μεμβράνη, στα β-κύτταρα και στη χοριοειδή περιοχή του ματιού. Σε αυτή την περίπτωση, ο ψευδάργυρος απαιτείται μόνο για τη δομική σταθερότητα της πρωτεΐνης και είναι απαραίτητος για τη δραστηριότητα σε βαθμό που επηρεάζεται μόνο από το αποτέλεσμα του ενζύμου. Αυτή η δομική σταθερότητα που προσφέρει στις πρωτεΐνες οφείλεται στο γεγονός ότι έχει την ικανότητα να σχηματίζει σύμπλοκα συναρμοζόμενος με άτομα O, N και S, τα οποία ανήκουν σε ομάδες διαφόρων αμινοξέων. Έτσι σχηματίζει δεσμούς-γέφυρες και σταθεροποιεί τη δομή των πρωτεϊνών, καθώς οι δεσμοί αυτοί είναι σταθεροί σε αναγωγικές συνθήκες. Κατά ανάλογο τρόπο σταθεροποιείται και η δομή των κυτταρικών μεμβρανών. Όσον αφορά τα β-κύτταρα στα οποία παράγεται ινσουλίνη, πιστεύεται ότι ο ψευδάργυρος σταθεροποιεί τη δομή της ινσουλίνης, καθώς *in vitro* η ινσουλίνη κρυσταλλώνεται παρουσία ψευδαργύρου. Ωστόσο, *in vivo* ο ψευδάργυρος είναι χαλαρά συνδεδεμένος με την ινσουλίνη και ισχύει η ισορροπία:



Επομένως, η περίσσεια ψευδαργύρου ευνοεί τον σχηματισμό του σταθεροποιημένου συμπλόκου ινσουλίνης-Zn.

Ο ψευδάργυρος εκτός από το δομικό του ρόλο έχει και καταλυτική ή αλλιώς ενζυμική δράση, δηλαδή είναι απαραίτητος για το ένζυμο και σχετίζεται άμεσα με την καταλυτική του ικανότητα. Μεγάλος αριθμός αντιδράσεων καταλύεται από ένζυμα του ψευδαργύρου, η παρουσία του οποίου είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς όταν αφαιρείται το άτομο του Zn από το μόριο του ενζύμου, το αποένζυμο, αυτό που απομένει δηλαδή, γίνεται ανενεργό. Ωστόσο η καταλυτική δράση μπορεί να επανέλθει με προσθήκη Zn. Μερικά παραδείγματα μεταλλοενζύμων στα οποία ο ρόλος του ψευδαργύρου είναι καταλυτικός είναι οι καρβοξυπεπτιδάσες, η καρβονική ή αλλιώς ανθρακική ανυδράση, οι αλκοολικές

αφυδρογονάσεις, η αλκοολική δεϋδρογονάση, η σουπεροξειδική δισμουτάση, η RNA πολυμεράση και οι αλκαλικές φωσφατάσες.

Επιπλέον ο ψευδάργυρος μπορεί να ρυθμίζει μόνο την ενζυμική δραστηριότητα ή τη σταθερότητα της πρωτεΐνης χωρίς όμως να είναι απαραίτητος. Ρυθμιστικός είναι ο ρόλος του στις αμινοπεπτιδάσες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να απομακρύνουν πολλά αμινοξέα από το N-τέλος της αμιδικής αλυσίδας. Συγκεκριμένα καταλύουν την ειδική υδρόλυση του N-τελικού αμινοξέος από πρωτεΐνες, πεπτίδια και αμίδια αμινοξέων. Οι αμινοπεπτιδάσες που έχουν ψευδάργυρο περιέχουν 2 άτομα Zn ανά μόριο.

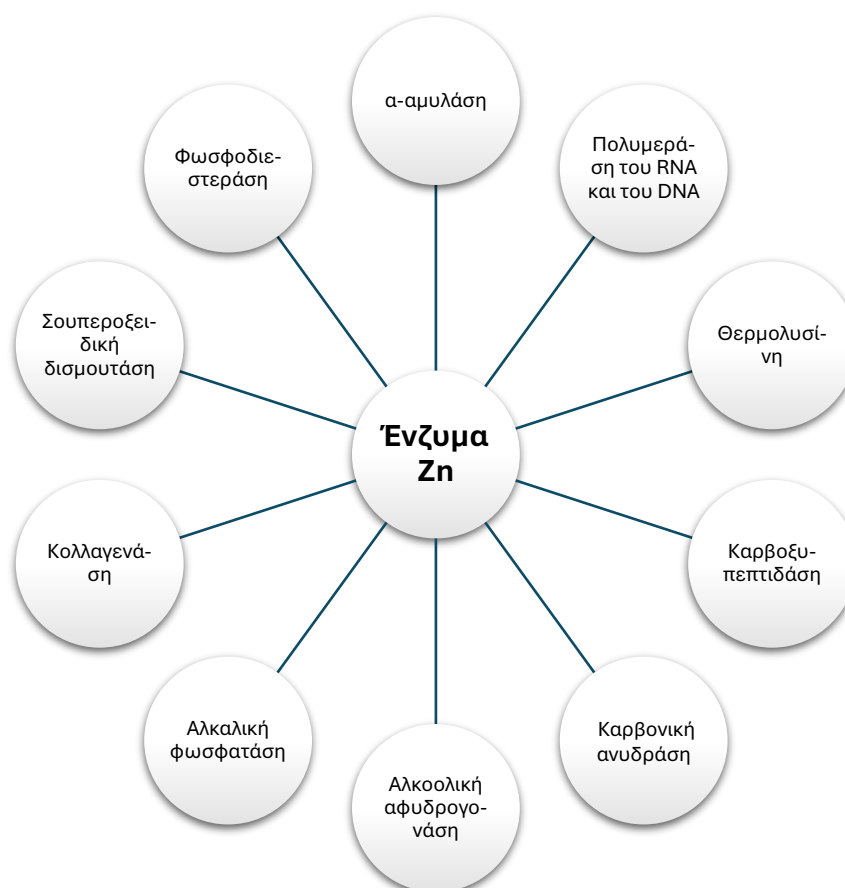
Τέλος, όταν η δράση του ψευδαργύρου είναι άγνωστη, ο ρόλος του χαρακτηρίζεται μη-καταλυτικός. Οι αλκοολικές αφυδρογονάσεις καταλύουν την αντίδραση μετατροπής της αιθανόλης και άλλων πρωτοταγών αλκοολών στις αντίστοιχες αλδεΐδες. Βρέθηκε ότι περιέχουν δύο άτομα Zn, από τα οποία το ένα είναι απαραίτητο για τη δραστηριότητα του ενζύμου, ενώ η δράση του άλλου είναι ακόμα άγνωστη, για αυτό και το άτομο αυτό έχει χαρακτηριστεί ως μη-καταλυτικό [17].

2.3.2 Ιδιότητες των ενζύμων του ψευδαργύρου

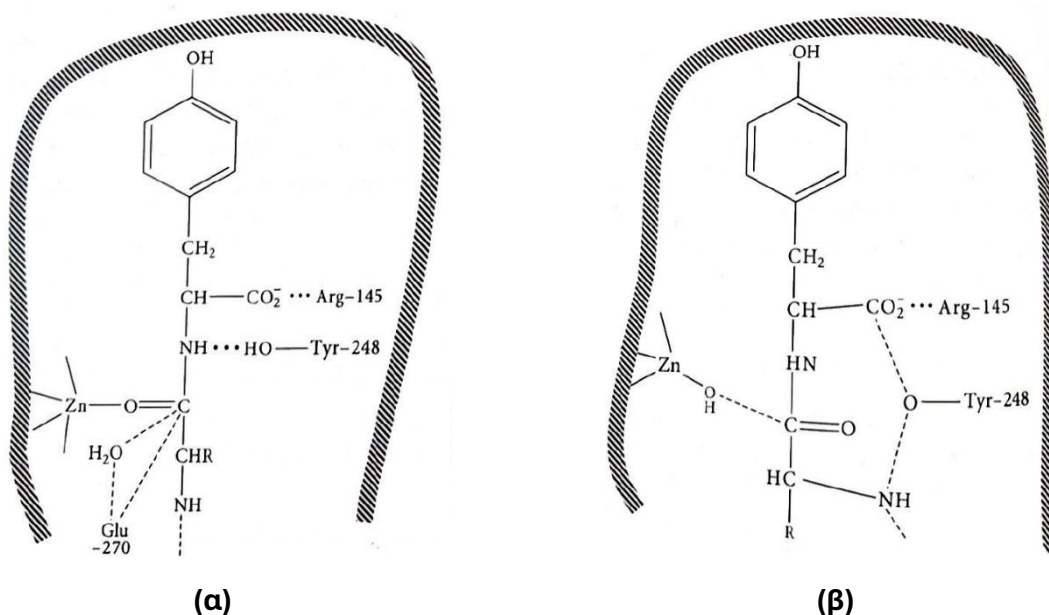
Πολλές φορές τα μέταλλα που περιέχονται στα μεταλλοένζυμα λαμβάνουν μέρος στην καταλυτική διαδικασία, είτε δεσμεύοντας άμεσα τα αντιδρώντα και τα προϊόντα, είτε ενεργοποιώντας ένα υπόστρωμα στην ενεργή θέση ή και τα δύο. Τα μεταλλοένζυμα που περιέχουν Zn δεν εμφανίζουν οξειδοαναγωγικές ιδιότητες και δρουν ως οξέα κατά Lewis. Το γεγονός αυτό οφείλεται στην ηλεκτρονιακή διαμόρφωση του ατόμου του ψευδαργύρου που είναι $[Ar]3d^{10}4s^2$. Καθώς τα d τροχιακά του είναι συμπληρωμένα, δεν παρατηρούνται ανακατανομές των d ηλεκτρονίων, αν και υπάρχει διαφοροποίηση των d τροχιακών λόγω του πεδίου των ligand. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο μεταλλικό κέντρο του ψευδαργύρου, που αποτελεί την ενεργή περιοχή του ενζύμου, πραγματοποιείται με μεγάλη ταχύτητα η ανταλλαγή των ligand. Αυτό σημαίνει ότι το υπόστρωμα και τα προϊόντα απομακρύνονται εύκολα. Μερικά χαρακτηριστικά του ψευδαργύρου είναι ότι δεν υδρολύεται σε χαμηλές τιμές pH και δε σχηματίζει υδροξυ-σύμπλοκα. Επιπλέον, η τιμή της pK_a του εφυδατωμένου ιόντος Zn^{2+} είναι περίπου 8,8, δηλαδή τα εφυδατωμένα μεικτά σύμπλοκα του ψευδαργύρου μπορούν να δράσουν σε πολλά βιολογικά υγρά, όταν αυτά έχουν παρόμοια τιμή pH. Έχουν ανακαλυφθεί περισσότερα από 200 μεταλλοένζυμα στα οποία περιέχεται ψευδάργυρος, με κυριότερα τις αλκοολικές αφυδρογονάσεις, τις καρβοξυπεπτιδάσες και την καρβονική ανυδράση [17].

2.3.3 Μηχανισμοί δράσης των ενζύμων του ψευδαργύρου

Όσον αφορά τον τρόπο με τον οποίο δρουν πολλά μεταλλοένζυμα του ψευδαργύρου, προτείνονται δύο είδη μηχανισμών, ο μηχανισμός ‘Zn-καρβονυλίου’ και ο μηχανισμός ‘Zn-υδροξειδίου’. Στην πρώτη περίπτωση το υπόστρωμα συναρμόζεται στον ψευδάργυρο μέσω ενός καρβονυλικού οξυγόνου, δηλαδή τα ιόντα Zn^{2+} δρουν ως οξέα κατά Lewis και δέχονται ζεύγος ηλεκτρονίων από το O του καρβονυλίου. Στη συνέχεια το υπόστρωμα αντικαθιστά το H_2O που είναι συναρμοσμένο στον ψευδάργυρο. Στο μηχανισμό ‘Zn-υδροξειδίου’, το συναρμοσμένο H_2O αποπρωτονιώνεται και το υδροξείδιο ενώνεται με τον άνθρακα του καρβονυλίου του πεπτιδικού υποστρώματος ή δρα ως δέκτης πρωτονίων στην περίπτωση της αλκοολικής αφυδρογονάσης. Ο ρόλος του Zn είναι να ελαττώσει την pK_a της αντίδρασης συναρμογής του νερού στο 7, έτσι ώστε το ένζυμο να βρίσκεται με την υδροξυλιωμένη μορφή σε φυσιολογικές τιμές pH [17].



Εικόνα 8: Μερικά από τα κυριότερα μεταλλοένζυμα του Zn.

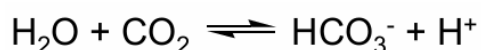


Εικόνα 9: Μηχανισμοί δράσης των ενζύμων του ψευδαργύρου. **(α)** Μηχανισμός 'Zn-καρβονυλίου' και **(β)** Μηχανισμός 'Zn-υδροξειδίου' [17].

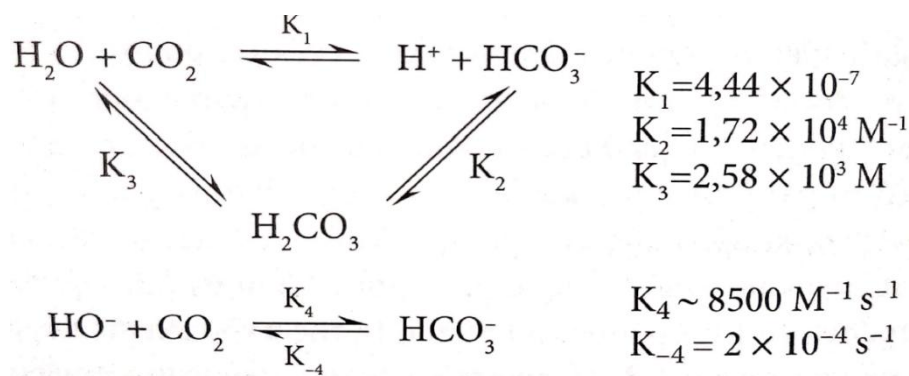
2.4 Ένζυμα του ψευδαργύρου

2.4.1 Καρβονική ανυδράση

Ένα από τα σημαντικότερα μεταλλοένζυμα του ψευδαργύρου είναι η καρβονική ανυδράση, η οποία συναντάται σε όλους τους ιστούς των θηλαστικών, τα φυτά, τα φύκια και τα βακτήρια. Οι καρβονικές ανυδράσες ταυτοποιήθηκαν πρώτη φορά το 1933 στα ερυθρά αιμοσφαίρια των βοοειδών και αποτελούν μία κατηγορία ενζύμων που καταλύουν την ισορροπία υδρόλυσης του CO_2 .



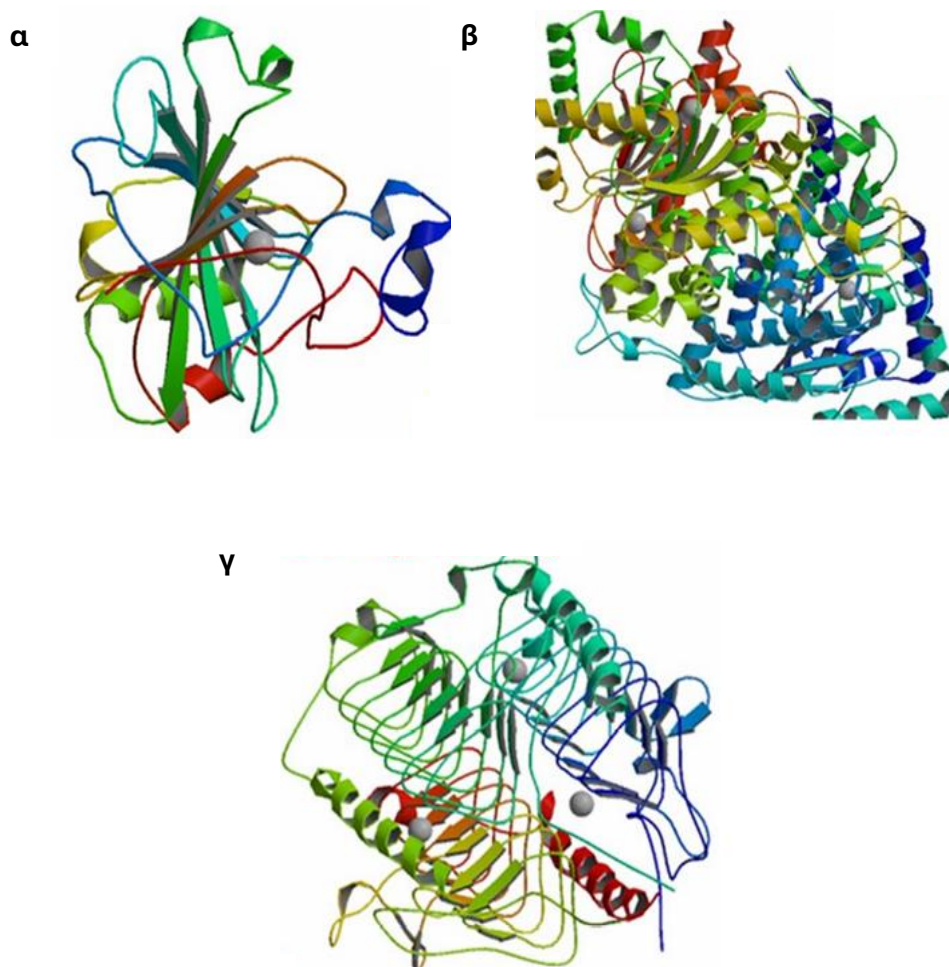
Οι βιολογικές οξειδώσεις των οργανικών ενώσεων των τροφών παράγουν μεγάλες ποσότητες CO_2 , το οποίο πρέπει να απομακρυνθεί γρήγορα από τον οργανισμό. Ωστόσο, η υδρόλυση του CO_2 είναι μία αργή διαδικασία που εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το pH. Για τον λόγο αυτό είναι απαραίτητη η κατάλυση της αντίδρασης από την καρβονική ανυδράση, καθώς έτσι επιταχύνεται κατά 10^7 φορές. Παρακάτω απεικονίζονται οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την υδρόλυση του CO_2 , καθώς και οι αντίστοιχες σταθερές ισορροπίας:



Εικόνα 10: Αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά την υδρόλυση του CO_2 [17].

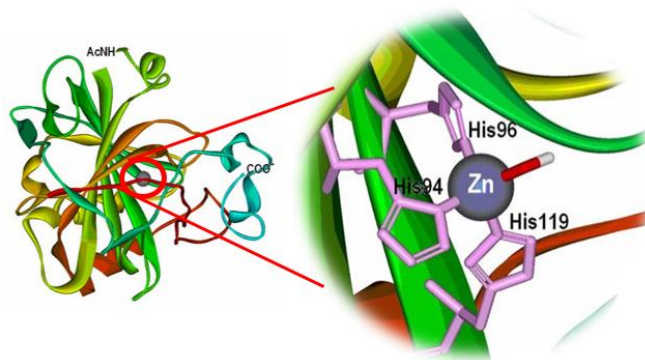
Οι καρβονικές ανυδράσεις αποτελούν πολύ σημαντικά βιολογικά ένζυμα όχι μόνο λόγω της παραπάνω αντίδρασης που καταλύουν αλλά και επειδή έχουν ουσιαστικό ρόλο σε διάφορες διαδικασίες. Μερικές από αυτές είναι η φωτοσύνθεση, όπου συμβάλλουν στην αποτελεσματική απορρόφηση του CO_2 , ο έλεγχος του pH, η (απο-)ασβεστοποίηση, δηλαδή ο σχηματισμός και η διάσπαση ασβεστούχων σκελετών, και η αναπνοή, όπου είναι απαραίτητες για την ταχύτατη απόθεση του CO_2 . Επιπλέον, η καρβονική ανυδράση καταλύει αντιδράσεις όπου οι ενώσεις υδρολύονται ή εφυδατώνονται, όπως είναι για παράδειγμα η ενυδάτωση της ακεταλδεϋδης και η υδρόλυση του 4-νιτροφαινυλοοξικού εστέρα. Η ιδιαίτερα σημαντική βιολογική σημασία αυτής της κατηγορίας ενζύμων φαίνεται και από το γεγονός ότι στα ερυθρά αιμοσφαίρια του ανθρώπου μία από τις μορφές της καρβονικής ανυδράσης αποτελεί την δεύτερη σε αφθονία πρωτεΐνη μετά την αιμοσφαιρίνη.

Χρησιμοποιώντας μελέτες περιθλάσης ακτίνων-Χ στην κρυσταλλική κατάσταση ή/και δεδομένα NMR για διαλύματα, έχουν χαρακτηριστεί δομικά πολλά μεταλλοένζυμα του Zn, μεταξύ αυτών και η καρβονική ανυδράση η οποία συναντάται με διάφορες μορφές. Η ποικιλία αυτή οφείλεται κυρίως στη διαφορετική δράση που μπορεί να έχει στον κάθε οργανισμό αλλά και στο διαφορετικό pH (ισοένζυμα της καρβονικής ανυδράσης). Υπάρχουν τρεις τύποι καρβονικής ανυδράσης: η άλφα που συναντάται στα θηλαστικά, η βήτα που εντοπίζεται στα φυτά και η γάμα που περιέχεται σε βακτήρια που αναπτύσσονται σε θερμές πηγές [17].



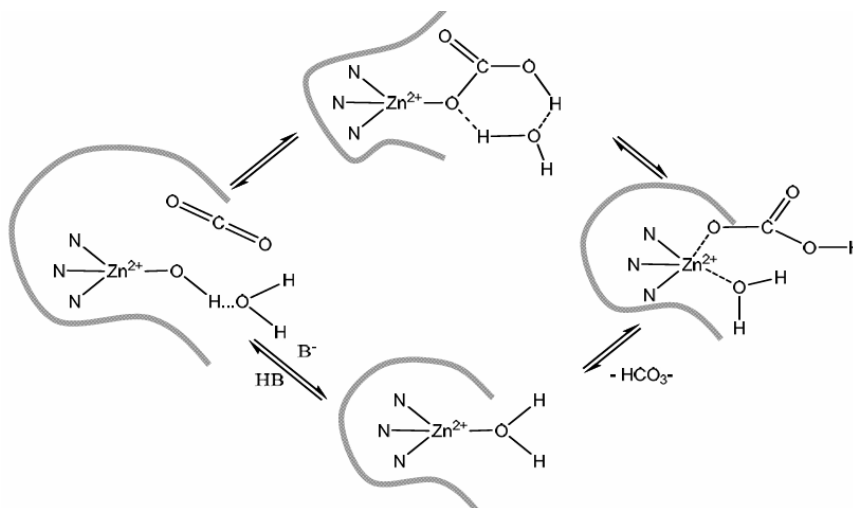
Εικόνα 11: Τύποι καρβονικής ανυδράσης.

Η ανθρώπινη καρβονική ανυδράση τύπου II είναι ενδιάμεσου μεγέθους, με μοριακό βάρος 30.000 και αποτελείται από 259 αμινοξέα. Περιέχει ένα ιόν ψευδαργύρου (Zn^{2+}) που είναι συναρμοσμένο με τρεις ουδέτερες ιστιδίνες (His) και ένα H_2O , το οποίο συνδέεται με δεσμούς υδρογόνου με άλλα αμινοξέα και μόρια νερού. Τα μόρια H_2O συγκρατούνται με δεσμούς υδρογόνου και σχηματίζουν ένα δίκτυο μορίων νερού, το οποίο είναι απαραίτητο τόσο για τη δομή του ενζύμου καθώς προσφέρει σταθεροποίηση, όσο και για τη λειτουργία του, καθώς οι καρβονικές ανυδράσες είναι ένζυμα που καταλύουν αντιδράσεις υδρόλυσης. Η γεωμετρία γύρω από τον ψευδάργυρο είναι παραμορφωμένη τετραεδρική, όπως φαίνεται στην **εικόνα 12**.



Εικόνα 12: Δομική απεικόνιση της ανθρώπινης καρβονικής ανυδράσης τύπου II (αριστερά) και το μεταλλικό της κέντρο (δεξιά) όπου φαίνεται το άτομο Zn συνδεδεμένο με τις τρεις ιστιδίνες [17].

Ο προτεινόμενος μηχανισμός δράσης της καρβονικής ανυδράσης είναι μηχανισμός ‘Zn-υδροξειδίου’. Αρχικά πραγματοποιείται αποπρωτονίωση του H_2O που είναι συναρμοσμένο στον Zn, η οποία προκαλείται από την ιστιδίνη. Έτσι, σχηματίζεται η ομάδα υδροξυλίου, η οποία είναι συναρμοσμένη στον ψευδάργυρο και αποτελεί το κέντρο της πυρηνόφιλης προσβολής στο άτομο C του CO_2 . Με αυτή την πυρηνόφιλη προσβολή και τη δημιουργία δεσμών υδρογόνου προκύπτει το ανθρακικό οξύ, το οποίο απομακρύνεται στο επόμενο στάδιο.



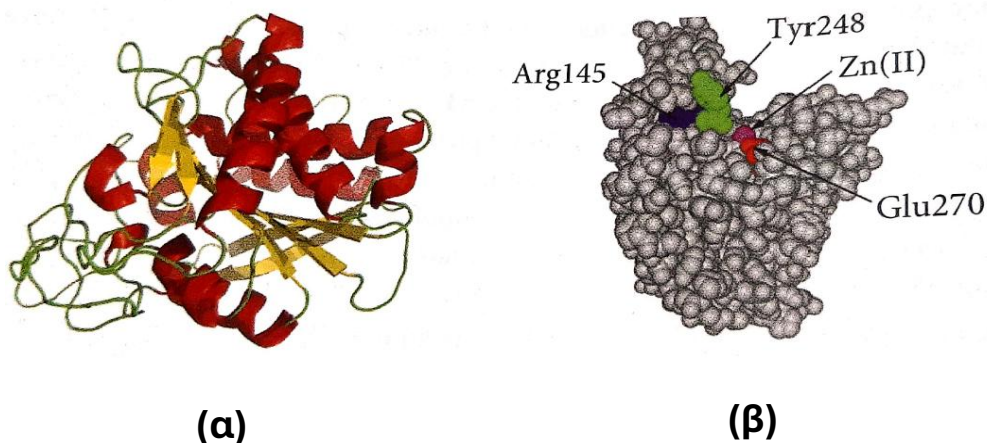
Εικόνα 13: Προτεινόμενος μηχανισμός δράσης της καρβονικής ανυδράσης [17].

Εκτός από την κατάλυση της υδρόλυσης του CO_2 , η καρβονική ανυδράση έχει σημαντικό ρόλο σε διάφορες βιολογικές διαδικασίες, όπως η ρύθμιση του pH και η ισορροπία των υγρών σε πολλά μέρη του σώματος. Ακόμα συμβάλλει στο να καταστούν τα παγκρεατικά υγρά αλκαλικά και το σάλιο ουδέτερο, ενώ είναι απαραίτητη και για την έκκριση

οξέος στο βλεννογόνο του στομάχου. Τέλος, συμμετέχει στον έλεγχο της ρευστοσυσσώρευσης του υγρού που διατηρεί το σχήμα των ματιών (γλαύκωμα) [17].

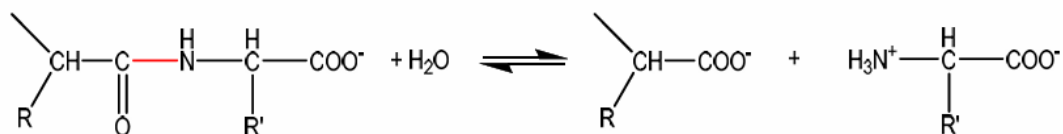
2.4.2 Καρβοξυπεπτιδάση

Οι καρβοξυπεπτιδάσες είναι μία οικογένεια ενζύμων που ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των πεπτιδασών, μία κατηγορία ενζύμων την οποία ήδη απαρτίζουν περίπου 2.000 ένζυμα, ενώ εκτιμάται ότι υπάρχουν συνολικά περισσότερα από 25.000. Οι πεπτιδάσες χωρίζονται σε δύο υποκατηγορίες, τις ενδοπεπτιδάσες και τις εξωπεπτιδάσες. Οι ενδοπεπτιδάσες δρουν στις εσωτερικές περιοχές των πεπτιδικών άκρων, μακριά από τα άκρα. Αντίθετα, οι εξωπεπτιδάσες δρουν μόνο γύρω από τις τερματικές περιοχές των πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Τόσο οι ενδοπεπτιδάσες όσο και οι εξωπεπτιδάσες έχουν την ικανότητα να προσδένονται στο υπόστρωμα και στη συνέχεια να καταλύουν την υδρόλυση συγκεκριμένων πεπτιδικών δεσμών. Όσον αφορά τις εξωπεπτιδάσες, αυτές χωρίζονται σε τρεις υποκατηγορίες, τις καρβοξυπεπτιδάσες, οι οποίες προσβάλλουν την καρβοξυλική άκρη της αλυσίδας, τις αμινοπεπτιδάσες, οι οποίες προσβάλλουν την αμινική άκρη της αλυσίδας και τις διπεπτιδάσες, οι οποίες διασπούν δεσμούς διπεπτιδίων [19]. Οι καρβοξυπεπτιδάσες απελευθερώνονται από ανενεργές πρόδρομες ενώσεις που βρίσκονται στο πάγκρεας των ζώων. Η καρβοξυπεπτιδάση Α που δρα στο λεπτό έντερο, έχει μελετηθεί διεξοδικά και βρέθηκε ότι αποτελείται από 307 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 34.500. Έχει ελλειψοειδές σχήμα και είναι αρκετά συμπαγής. Περιέχει ένα δισθενές ιόν ψευδαργύρου στο ενεργό της κέντρο, το οποίο είναι καθοριστικής σημασίας για την ενζυμική κατάλυση. Ο ψευδάργυρος έχει αριθμό συναρμογής 5 και είναι συναρμοσμένος με τρία αμινοξέα της πρωτεΐνης, δύο ιμιδαζόλια προερχόμενα από τις His-69 και His-196, την διδραστικά συναρμοσμένη καρβοξυλική ομάδα της Glu-72 και ένα H₂O. Ακόμα, γύρω από τον ψευδάργυρο βρίσκονται οι Glu-270, Tyr-248 και Arg-145, οι οποίες εμπλέκονται κυρίως κατά τον μηχανισμό δράσης του ενζύμου (**εικόνα 14β**) [17], [20].



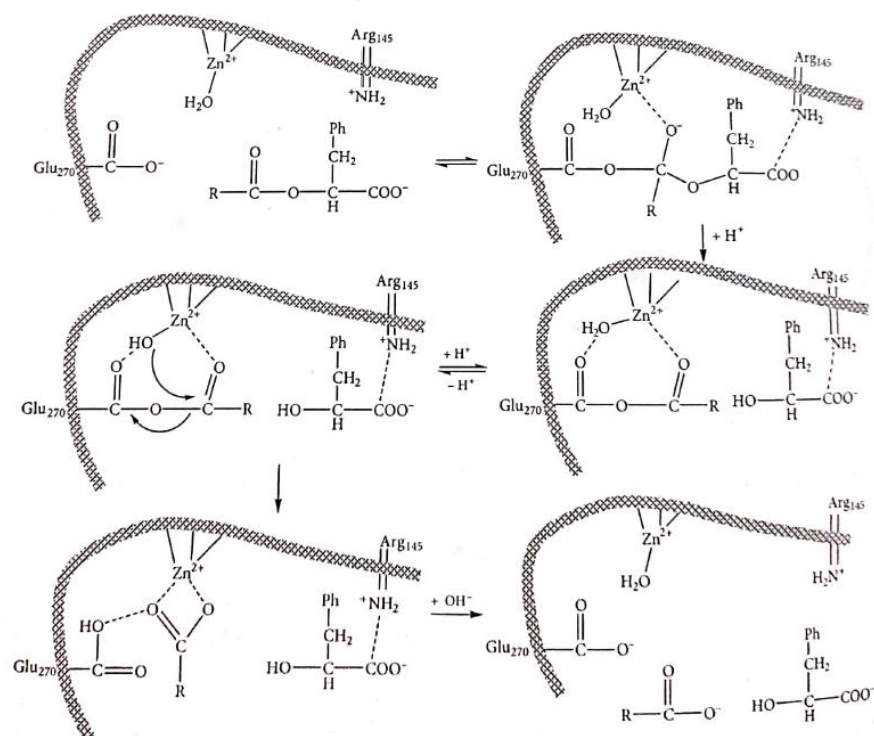
Εικόνα 14: (α) Πολυπεπτιδική αλυσίδα της καρβοξυπεπτιδάσης Α και (β) Τα αμινοξέα που βρίσκονται γύρω από τον ψευδάργυρο [17].

Ο βιολογικός ρόλος της καρβοξυπεπτιδάσης είναι η λύση του C-τελικού πεπτιδικού δεσμού πρωτεϊνών, πολυπεπτιδίων και N-ακυλο-αμινοξέων, όταν η παράπλευρη αλυσίδα του C-άκρου είναι αρωματική ή διακλαδισμένη αλειφατική με L-διαμόρφωση, σύμφωνα με την αντίδραση:



Είναι μία από τις σημαντικότερες εξωπεπτιδάσες, καθώς εντοπίζεται στο πάγκρεας και συμμετέχει στη διαδικασία της πέψης των εισερχόμενων πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια του μεταβολικού κύκλου. Το ένζυμο εμφανίζει και δράση εστεράσης, καθώς εκτός από πεπτίδια, μπορεί να καταλύσει αντιδράσεις υδρόλυσης και με άλλα υποστρώματα, όπως για παράδειγμα οι εστέρες. Επιπλέον, συμμετέχει στη διάσπαση της τοξικής μεθοτρεξάτης σε μη-τοξικές ουσίες και αποτελεί συστατικό του μίγματος της αλόης σε περιπτώσεις δυσπεψίας.

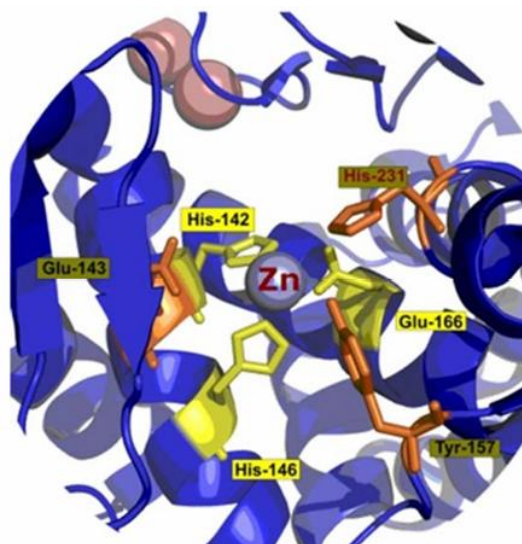
Έχει μελετηθεί σε βάθος ο καταλυτικός της μηχανισμός, καθώς είναι ένα από τα πιο αντιπροσωπευτικά παραδείγματα της οικογένειας των μεταλλοενζύμων, τα οποία καταλύουν αντιδράσεις υδρόλυσης του ψευδαργύρου. Αρχικά ο ηλεκτρονιόφιλος ψευδάργυρος συναρμόζεται με το καρβονυλικό οξυγόνο του πεπτιδικού ή του εστερικού υποστρώματος. Έπειτα το ενεργοποιημένο καρβονύλιο υφίσταται πυρηνόφιλη προσβολή από τη Glu-270 και έτσι σχηματίζεται ένας ενδιάμεσος ανυδρίτης, ο οποίος υδρολύεται από το συναρμωσμένο στον ψευδάργυρο υδροξείδιο ή H_2O και προκύπτει το τελικό προϊόν. Επομένως, πρόκειται για μηχανισμό ‘Zn-καρβονυλίου’ [17].



Εικόνα 15: Μηχανισμός δράσης της καρβοξυπεπτιδάσης Α [17].

2.4.3 Θερμολυσίνη

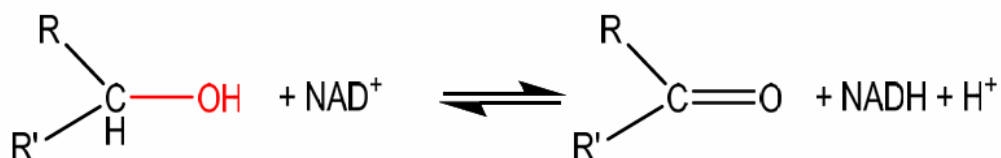
Η θερμολυσίνη είναι μία ενδοπεπτιδάση του ψευδαργύρου, η οποία καταλύει την υδρόλυση πεπτιδικών δεσμών που περιέχουν υδρόφοβα αμινοξέα όπως είναι για παράδειγμα η λευκίνη (Leu), η ισολευκίνη (Ile), η βαλίνη (Val) και η φαινυλαλανίνη (Phe). Έχει μοριακό βάρος 34.600 και περιέχει ένα ιόν δισθενούς ψευδαργύρου (Zn^{2+}) και τέσσερα ιόντα Ca^{2+} , τα οποία προσφέρουν στο ένζυμο θερμική σταθερότητα. Το ενεργό της κέντρο εμφανίζει αρκετές δομικές ομοιότητες με αυτό της καρβοξυπεπτιδάσης, καθώς ο ψευδάργυρος συνδέεται με την His-142, την His-146, την Glu-166 και ένα H_2O , ενώ η Glu-143 υποβοηθά στην προσβολή του ύδατος στο υπόστρωμα. Ωστόσο, μία δομική διαφορά που παρατηρείται από την καρβοξυπεπτιδάση είναι ότι η Glu-143 βρίσκεται αρκετά μακριά από τον καρβονυλικό C του υποστρώματος, έτσι ώστε να επιτρέπει τη μεσολάβηση ενός H_2O [17].



Εικόνα 16: Το ενεργό κέντρο της θερμολυσίνης [17].

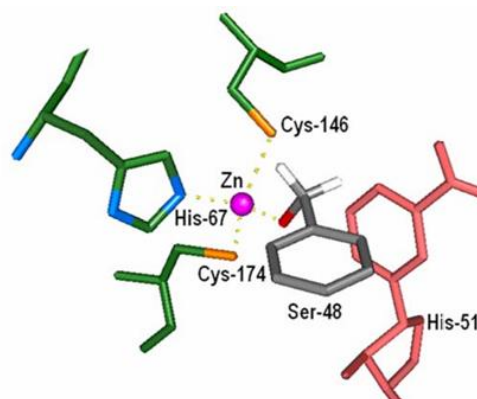
2.4.4 Αλκοολική αφυδρογονάση

Οι αλκοολικές αφυδρογονάσες απαντώνται σε διάφορα είδη οργανισμών, όπως ζώα, φυτά, μύκητες, βακτήρια και η δράση τους εξαρτάται από την ύπαρξη του νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου NAD(H). Καταλύουν την αντιστρεπτή οξείδωση των πρωτοταγών ή δευτεροταγών αλκοολών προς αλδεΐδες ή κετόνες, αντίστοιχα, παράλληλα με την αναγωγή του NAD⁺ προς NADH, σύμφωνα με την αντίδραση:



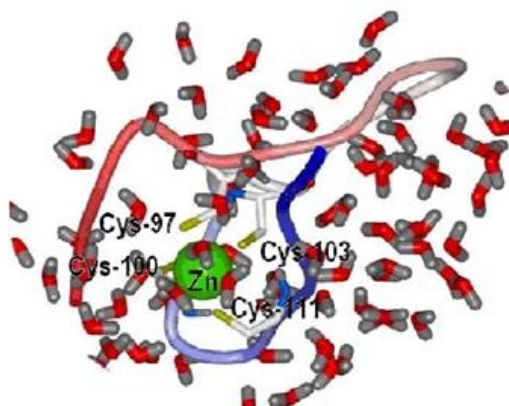
Οι αλκοολικές αφυδρογονάσες είναι διμερή, με μοριακό βάρος 80.000 και αποτελούνται από δύο όμοιες υπομονάδες. Καθεμία από αυτές περιέχει δύο άτομα ψευδαργύρου και ένα μόριο NAD(H). Υπάρχουν δύο διαφορετικά άτομα Zn, από τα οποία το ένα είναι απαραίτητο για την κατάλυση ενώ το άλλο έχει κυρίως δομικό ρόλο, δηλαδή προσφέρει δομική σταθερότητα. Στον άνθρωπο οι αλκοολικές αφυδρογονάσες βοηθούν στη μείωση της αναλογίας τοξικών αλκοολών καθώς επίσης και την αναγέννηση λειτουργικών μονάδων αλκοολών, αλδεϋδών και κετονών για τη συμμετοχή σε βιοσυνθετικές διεργασίες.

Με τη βοήθεια κρυσταλλογραφικών μελετών, βρέθηκε ότι ο ψευδάργυρος που έχει καταλυτικό ρόλο είναι συναρμοσμένος με μία ιστιδίνη (His-67) μέσω του αζώτου του ιμιδαζολίου, με δύο κυστεΐνες (Cys-146 και Cys-174) μέσω του θείου και με ένα H₂O, το οποίο με δεσμούς υδρογόνου συνδέεται με τη Ser-48 και την His-51. Πρόκειται, λοιπόν, για ένα τετρασυναρμοσμένο ιόν που εμφανίζει παραμορφωμένη τετραεδρική γεωμετρία [21].



Εικόνα 17: Το ενεργό κέντρο της αλκοολικής αφυδρογονάσης με το καταλυτικό άτομο ψευδαργύρου [17].

Το δεύτερο κέντρο ψευδαργύρου, δηλαδή το δομικό ιόν Zn^{2+} (μη-καταλυτικό), είναι και αυτό τετρασυναρμοσμένο, με τη διαφορά ότι περιβάλλεται αποκλειστικά από κυστεΐνες (Cys-97, Cys-100, Cys-103 και Cys-111).

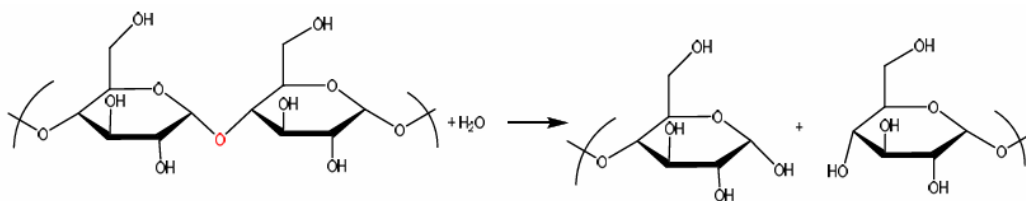


Εικόνα 18: Το δομικό κέντρο ψευδαργύρου της αλκοολικής αφυδρογονάσης [17].

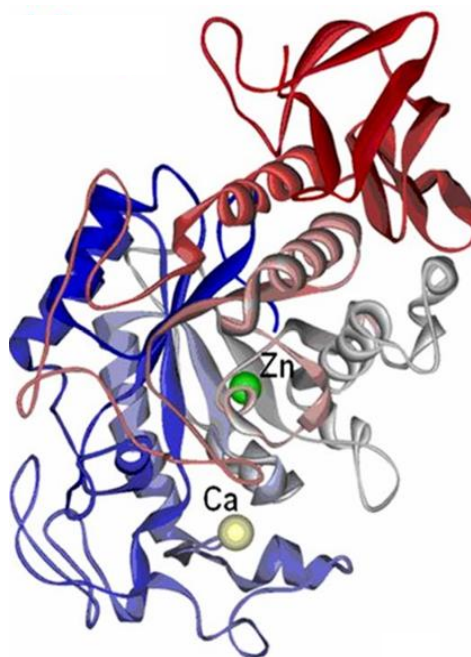
Κάθε υπομονάδα αποτελείται από δύο άνισους τομείς. Στον μεγαλύτερο τομέα, η ενεργή περιοχή βρίσκεται στο κάτω μέρος μίας υδρόφοβης περιοχής σε απόσταση 25 Å από την πρωτεϊνική επιφάνεια, ενώ ο μη-καταλυτικός ψευδάργυρος είναι κατά 25 Å μακρύτερα και πιο κοντά στην εξωτερική επιφάνεια, παραμένοντας ωστόσο μακριά από τον διαλύτη. Όσον αφορά τον μικρότερο τομέα, αυτός παρέχει τις θέσεις για τη δέσμευση του συνενζύμου [21].

2.4.5 α-αμυλάση

Η α-αμυλάση είναι ένα ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση των πολυσακχαριτών, όπως το άμυλο και το γλυκογόνο, προς γλυκόζη και μαλτόζη, για παραγωγή ενέργειας σύμφωνα με την αντίδραση:



Στον άνθρωπο συναντώνται δύο είδη, η αμυλάση του σιελογόνου αδένος και η παγκρεατική αμυλάση. Το ένζυμο αποτελείται από ιόν ψευδαργύρου που έχει δομικό ρόλο αλλά και από Ca^{2+} που είναι απαραίτητο για την καταλυτική δράση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η απομόνωση της α-αμυλάσης από τον μικροοργανισμό *Bacillus subtilis*, όπου πιστεύεται ότι ο ψευδάργυρος ενώνει δύο μονοπυρηνικά σύμπλοκα [17].



Εικόνα 19: Η δομή της α-αμυλάσης [17].

2.4.6 Σουπεροξειδική δισμουτάση Cu-Zn

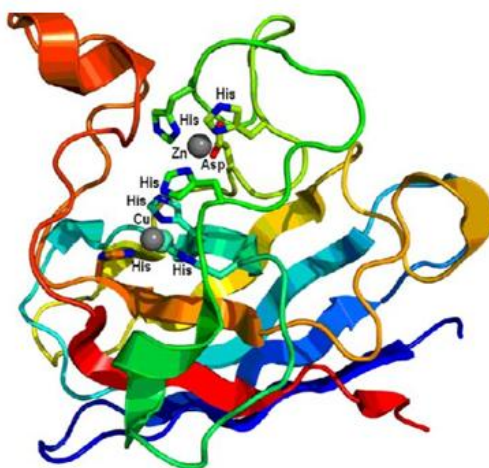
Η σουπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase, SOD) είναι ένα αρκετά διαδεδομένο ένζυμο στη φύση, που εντοπίζεται σε φυτά, μύκητες, βακτήρια και σπονδυλωτά. Η SOD που απομονώθηκε από ευκαρυωτικούς οργανισμούς περιέχει Cu και Zn, ενώ αυτή που προέρχεται από άλλες πηγές περιέχει σίδηρο ή μαγγάνιο. Παρόλα αυτά, τα δύο είδη εμφανίζουν ομοιότητα στην αλληλουχία των αμινοξέων. Πρόκειται για ένα ένζυμο που καταλύει τη διάσπαση του σουπεροξειδικού ιόντος σύμφωνα με την αντίδραση:



Οι αερόβιοι οργανισμοί περιέχουν μεγάλες ποσότητες SOD, καθώς είναι απαραίτητη για την προστασία των κυττάρων από τα παραπροϊόντα του O_2 της αναπνοής. Η προστασία

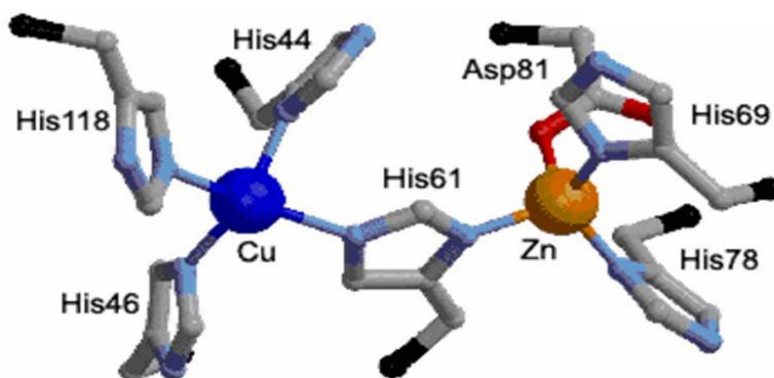
ολοκληρώνεται με τη βοήθεια ενός ακόμα ενζύμου, της καταλάσης, η οποία καταλύει την διάσπαση του H_2O_2 . Παρόλο που το H_2O_2 διασπάται ακαριαία, η καταλυτική δράση της SOD είναι ιδιαίτερα σημαντική, διότι επιταχύνει τη διάσπασή του κατά δέκα φορές. Ουσιαστικά, η SOD αλλά και η καταλάση αποτελούν τα φυσικά αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στον οργανισμό, αφού προστατεύουν το DNA από τις σουπεροξειδικές ρίζες $O_2^{\bullet-}$ και τα προϊόντα τους.

Ο άνθρωπος, ως ευκαρυωτικός οργανισμός, περιέχει τη SOD Cu-Zn, η οποία έχει μοριακό βάρος 31.400. Αποτελείται από δύο πανομοιότυπες υπομονάδες, όπου η καθεμία περιέχει ένα ιόν Zn^{2+} και ένα ιόν Cu^{2+} . Ο ψευδάργυρος είναι συναρμοσμένος με τρεις ιμιδαζολικούς υποκαταστάτες (His-61, His-69 και His-78) και ένα δότη οξυγόνου (Asp-81) και εμφανίζει τετραεδρική γεωμετρία. Ο χαλκός συναρμόζεται με τέσσερα ιμιδαζόλια (His-44, His-46, His-61 και His-118) και ένα H_2O σε παραμορφωμένη γεωμετρία.



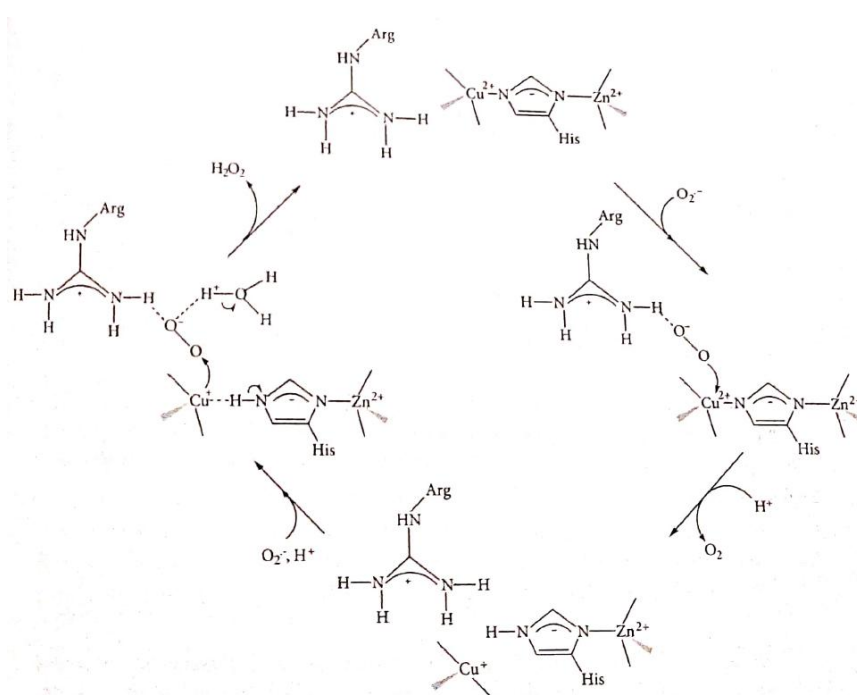
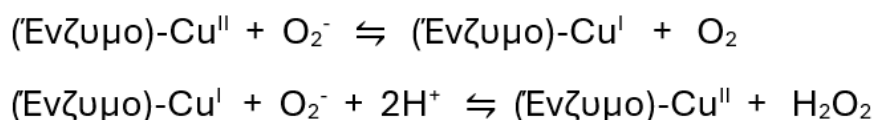
Εικόνα 20: Η σουπεροξειδική δισμουτάση Cu-Zn [17].

Ο χαλκός έχει καταλυτικό ρόλο, δηλαδή εμπλέκεται άμεσα στην καταλυτική διαδικασία, ενώ ο ψευδάργυρος έχει δομικό ρόλο στον σχηματισμό και τη σταθεροποίηση της ενεργής περιοχής του ενζύμου. Επίσης, αυξάνει έμμεσα τη δραστηριότητα του χαλκού.



Εικόνα 21: Το ενεργό κέντρο της SOD με το καταλυτικό άτομο Cu και το δομικό κέντρο Zn.

Η καταλυτική διάσπαση του σουπεροξειδίου περιλαμβάνει επιμέρους στάδια. Αρχικά, η SOD που βρίσκεται στη βασική της μορφή, δεσμεύει μία ρίζα $O_2^{\cdot-}$ και ένα πρωτόνιο (H^+) και ο χαλκός ανάγεται από Cu^{2+} σε Cu^{1+} . Παράλληλα απελευθερώνεται O_2 . Στη συνέχεια, το ένζυμο δεσμεύει άλλη μία ρίζα $O_2^{\cdot-}$ και ένα H^+ και επιστρέφει στην αρχική του κατάσταση, δηλαδή ο χαλκός οξειδώνεται σε Cu^{2+} . Έτσι, παράγεται και το H_2O_2 [17].



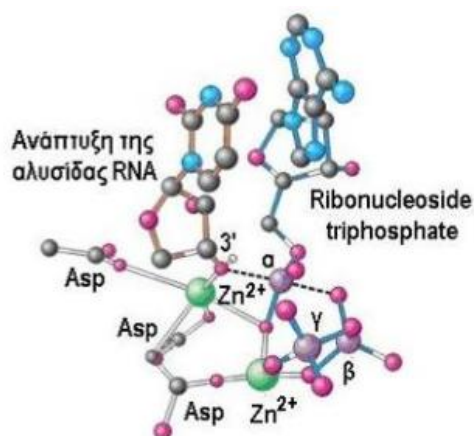
Εικόνα 22: Η δράση της σουπεροξειδικής δισμουτάσης Cu-Zn [17].

2.4.7 DNA- και RNA-πολυμεράση

Οι πολυμεράσες νουκλεϊκών οξέων, όπως η DNA- και η RNA-πολυμεράση που περιέχουν Zn, καταλύουν την αντίδραση αύξησης της αλυσίδας του DNA και του RNA, αντίστοιχα, και για αυτό αποτελούν μία πολύ σημαντική οικογένεια ενζύμων. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η RNA-πολυμεράση που απομονώθηκε από το *Escherichia coli* περιέχει δύο ιόντα Zn^{2+} ανά μόριο. Πρόκειται για ένα αρκετά μεγάλο ένζυμο, καθώς έχει μοριακό βάρος 500.000.

Ο ρόλος του ψευδαργύρου είναι καταλυτικός και είναι ανάλογος με αυτόν που έχει προταθεί για την καρβονική ανυδράση. Ο μηχανισμός δράσης που ακολουθείται είναι ο 'Zn-υδροξειδίου'. Πιο συγκεκριμένα, ο ψευδάργυρος συναρμόζεται με το τελικό $3'-OH$,

διευκολύνοντας έτσι την αποπρωτονίωσή του και προετοιμάζει το έδαφος για την πυρηνόφιλη προσβολή από την α-φωσφορική ομάδα του εισερχόμενου νουκλεοτιδίου [17].

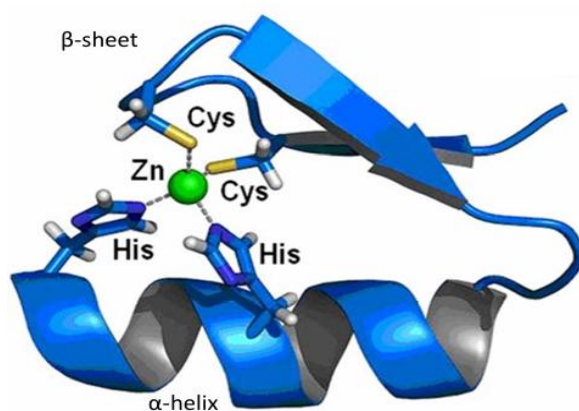


Εικόνα 23: Το μεταλλικό κέντρο της RNA-πολυμεράσης [17].

2.4.8 Πρωτεΐνες Zn-fingers

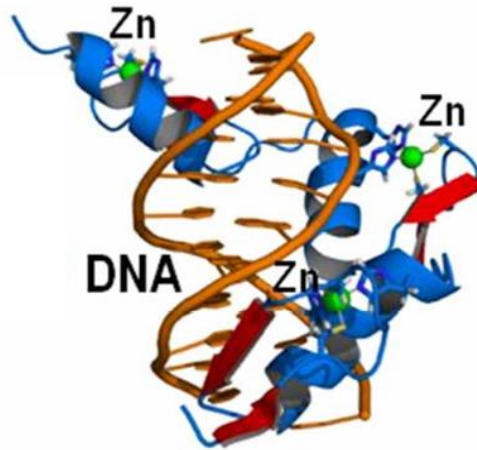
Στις αρχές της δεκαετίας του 1980 ανακαλύφθηκαν ειδικές πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν την ακολουθία των βάσεων του DNA, με σκοπό την εκλεκτική ενεργοποίηση και τον ρυθμιστικό έλεγχο της γενετικής μεταγραφής. Πρόκειται για πρωτεΐνες που περιέχουν περιοχές 30 αμινοξέων περίπου. Οι δομικές μονάδες χαρακτηρίστηκαν ως ‘δάκτυλοι ψευδαργύρου’ (zinc fingers, zif), διότι η πεπτιδική τους διαμόρφωση έχει σχήμα δακτύλου. Οι περιοχές αυτές είναι πλούσιες σε ιστιδίνη και κυστεΐνη, αμινοξέα με τα οποία ο ψευδάργυρος εμφανίζει μεγάλη συγγένεια.

Το μέταλλο είναι συναρμοσμένο με δύο ουδέτερες ιστιδίνες σε α-έλικα (α-helix) και με δύο αποπρωτονιωμένες κυστεΐνες σε β-επιφάνεια (β-sheet), όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 24: Η σφαίρα συναρμογής γύρω από τον ψευδάργυρο [17].

Λόγω αυτής της διαμόρφωσης, οι πρωτεΐνες έχουν την ικανότητα να αναδιπλωθούν κοντά στο δίκλωνο DNA και οι πραγματικές περιοχές *zif* μπορούν να δημιουργήσουν πολλές επαφές με τις βάσεις. Με αυτό τον τρόπο επιτρέπεται αμοιβαία αναγνώριση. Τόσο η ποικιλία των δομών που εμφανίζουν όσο και η σταθερότητά τους, αποτελούν τα βασικά πλεονεκτήματα των πρωτεϊνών Zn-fingers [17].



Εικόνα 25: Αλληλεπίδραση DNA με πρωτεΐνη Zn-finger [17].

3. ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ

3.1 Ιστορική αναδρομή

Η χρήση των μετάλλων στη θεραπευτική ξεκινά από την αρχαιότητα. Ήδη το 3.000 π.Χ., οι Αιγύπτιοι χρησιμοποιούσαν τον χαλκό για να αποστειρώσουν το νερό, ενώ αργότερα το 1.500 π.Χ. χρησιμοποιήθηκε ο ψευδάργυρος για την επούλωση τραυμάτων. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, ο Paul Ehrlich, ο οποίος θεωρείται και ως ιδρυτής της σύγχρονης χημειοθεραπείας, ανακάλυψε την οργανομεταλλική ένωση του αρσενικού Salvarsan, που χρησιμοποιήθηκε τότε ως φάρμακο για τη θεραπεία της σύφιλης. Με την ανακάλυψη αυτή έστρεψε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στη διερεύνηση της σχέσης των μετάλλων με διάφορες ασθένειες, καθώς και τη μελέτη αυτών και των ενώσεών τους ως πιθανοί φαρμακευτικοί παράγοντες. Κομβικό σημείο στην ανάπτυξη του πεδίου της Ανόργανης Βιολογικής Χημείας αποτέλεσε η ανακάλυψη της αντικαρκινικής δράσης του *cis-diamminedichloroplatinum(II)*, γνωστού και ως *cisplatin*, από τον Barnett Rosenberg. Κατά τη δεκαετία του 1960, κατά τη διάρκεια πειραμάτων που έκαναν ο Rosenberg και οι συνεργάτες του, βρέθηκε ότι παρουσία διαλύματος *cisplatin* αναστέλλεται η κυτταρική διαίρεση των βακτηρίων *Escherichia coli*, παρότι το μέγεθός τους αυξάνεται κατά 300 φορές. Έπειτα από επιπρόσθετες μελέτες, ο Rosenberg κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το *cisplatin* εμφάνιζε αντικαρκινική δράση. Το 1972 ξεκίνησαν οι κλινικές δοκιμές σύμπλοκων ενώσεων του λευκοχρύσου σε ανθρώπους, ενώ το 1978 εγκρίθηκε από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (FDA) η χορήγηση του *cisplatin* σε ασθενείς για αντικαρκινική θεραπεία. Από την έγκρισή του μέχρι και σήμερα, το *cisplatin* θεωρείται η κυριότερη μεταλλική ένωση με φαρμακευτική δράση, καθώς είναι δραστικό απέναντι σε διάφορους τύπους όγκων, όπως είναι ο καρκίνος των ωοθηκών, των όρχεων, του οισοφάγου, του πνεύμονα και της ουροδόχου κύστης. Ωστόσο, τόσο το *cisplatin* όσο και άλλες ενώσεις του λευκοχρύσου με αντικαρκινική δράση εμφανίζουν ορισμένα μειονεκτήματα που αφορούν κυρίως την τοξικότητά τους.

Σήμερα υπάρχει πληθώρα ενώσεων που έχουν ως βάση μέταλλα και χρησιμοποιούνται στη διάγνωση (ως μέσα ραδιοευαισθητοποίησης και μέσα απεικόνισης MRI) και τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Τέτοια παραδείγματα είναι η χρήση τους ως αντιβακτηριακά, αντιικά, αντικαταθλιπτικά, αντιαρθριτικά, αντιμικροβιακά, αντιμυκητιακά μέσα καθώς και για την ενεργοποίηση άλλων φαρμάκων [22]. Στον **πίνακα 5**, αναφέρονται

χαρακτηριστικά στοιχεία του περιοδικού πίνακα, των οποίων οι ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία ασθενειών.

Πίνακας 5: Ορισμένα στοιχεία με τις αντίστοιχες φαρμακευτικές εφαρμογές των ενώσεών τους [17].

Μέταλλο	Ένωση	Εφαρμογές
Κοβάλτιο (Co)	Coenzyme vitamin B ₁₂ [Cobaltamin S]	Διατροφικό συμπλήρωμα βιταμίνης, διάγνωση και θεραπεία ολέθριας αναιμίας
Χαλκός (Cu)	[Cu ₂ (Indomethacin) ₄ (DMF) ₂]	Μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο, τοπική ανακούφιση από τον πόνο και τις φλεγμονές
	CuCO ₃	Διατροφικό συμπλήρωμα
	Cu ²⁺ bis(thiosemicarbazone) [Cu(KTS)]	Αντικαρκινικό
Σίδηρος (Fe)	Na ₂ [Fe(NO)(CN) ₅]	Για την αγγειοδιαστολή και την υπόταση
	Υπερπαραμαγνητικά νανοσωματίδια οξειδίου του Fe με δεξτράνη	Μέσο αντίθεσης MRI, ενεργοποίηση της Bleomycin
	Ένωση του Fe με σιδηριοξαμίνη	Απολυμαντικό-ανθελνοσιακό
Λίθιο (Li)	Li ₂ CO ₃	Αντικαταθλιπτικό
Μαγνήσιο (Mg)	MgO	Αντιόξινο, ήπιο καθαρτικό
Βανάδιο (V)	VO(maltate) ₂	Για τον διαβήτη τύπου II
Ψευδάργυρος (Zn)	ZnO, ZnCO ₃ , Zn undecanoate [Calamine]	Δερματική αλοιφή, αντιμυκητιακό
Γάλλιο (Ga)	Ga(NO ₃) ₃ [Ganite]	Υπερασβεσταιμία
Αρσενικό (As)	As ₂ O ₃	Αντικαρκινικό φάρμακο σε οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία
Ρουθένιο (Ru)	[(CH ₃ CO ₂) ₄ Ru ₂ (H ₂ O) ₂]	Σύνδεση στο DNA
	[RuCl ₂ (arene)(PTA)] (ενώσεις RAPTA)	Αντικαρκινικά μέσα
	K[Ru(Hedta)Cl] [JM1226, JM6245]	Απομάκρυνση νιτρικού οξειδίου-καρδιαγγειακό σύστημα
Τιτάνιο (Ti)	TiCp ₂ Cl ₂ [titanocene]	Αντικαρκινικό μέσο

3.2 Ο ρόλος των μετάλλων στη θεραπευτική

Τα μέταλλα, ως ελεύθερα ιόντα ή με τη μορφή ενώσεών τους, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο σε πλήθος βιολογικών διεργασιών που επιτελεί ο ανθρώπινος οργανισμός. Η συμμετοχή τους στη ρύθμιση κυτταρικών και μεταβολικών διεργασιών είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς σε περίπτωση ανεπάρκειά τους προκαλούνται δυσλειτουργίες. Για παράδειγμα, η έλλειψη σιδήρου μπορεί να οδηγήσει σε σιδηροπενία ή υποσιδηραιμία. Συμπτώματα που μπορεί να υποδηλώνουν ανεπάρκεια σιδήρου περιλαμβάνουν αδυναμία, τριχόπτωση και κόπωση. Επίσης, η ανεπάρκεια πρόσληψης ψευδαργύρου μπορεί να προκαλέσει καθυστέρηση στην ανάπτυξη, ενώ ορισμένα καρδιακά νοσήματα στα βρέφη οφείλονται σε έλλειψη χαλκού.

Ωστόσο, τα μεταλλικά ιόντα μπορούν να προκαλέσουν τοξικότητα στον άνθρωπο με χαρακτηριστικά παραδείγματα τα βαρέα μέταλλα, όπως είναι ο υδράργυρος και ο μόλυβδος. Εκτός από τα βαρέα μέταλλα, τοξικότητα μπορεί να προκληθεί και από την υπερβολική συγκέντρωση ορισμένων απαραίτητων μετάλλων στον οργανισμό. Η έκθεση του οργανισμού σε αυξημένες συγκεντρώσεις μετάλλων μπορεί να προκύψει μέσω της αναπνοής, της απορρόφησης από το δέρμα αλλά και από τις τροφές. Τα τελευταία χρόνια, η τοξικότητα που προκαλείται μέσω της αναπνοής, προσέλκυσε ιδιαίτερο ενδιαφέρον εξαιτίας των επιπτώσεων που έχουν οι χημικοί και οι περιβαλλοντικοί ρύποι στη δημόσια υγεία. Συνεπώς, η μελέτη της τοξικότητας των μετάλλων αποτελεί ζήτημα υψίστης σημασίας για το πεδίο της Βιοανόργανης Χημείας.

Οι ανόργανες φαρμακευτικές ενώσεις μπορούν να περιέχουν είτε χημικά στοιχεία που είναι απαραίτητα για την ζωή είτε μη-απαραίτητα ή/και τοξικά στοιχεία, τα οποία χρησιμοποιούνται για συγκεκριμένο φαρμακευτικό σκοπό. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι σύμπλοκες ενώσεις του λευκοχρύσου που έχουν αντικαρκινική δράση, καθώς και οι ενώσεις που περιέχουν γαδολίνιο και χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά μέσα. Ως τοξικά χαρακτηρίζονται τα στοιχεία τα οποία εφόσον καταφέρουν να εισχωρήσουν στον οργανισμό μέσω της κατάποσης ή της αναπνοής, έχουν τη δυνατότητα να συναρμολογούν με βιομόρια και να μεταβάλλουν ή να αναστείλουν πλήρως την δράση τους. Η πιο ευρέως γνωστή κατηγορία τοξικών μετάλλων είναι αυτή των βαρέων μετάλλων, με τα πιο επιβλαβή να είναι τα As, Pb, Cr, Cd και Hg [23].

Πέρα από την μελέτη της βιολογικής δράσης και της τοξικότητας των στοιχείων, το ερευνητικό ενδιαφέρον εστιάστηκε και στην ανάπτυξη συμπλόκων ενώσεων μετάλλων με φαρμακευτικές ιδιότητες. Οι κυριότερες κατηγορίες μεταλλοφαρμάκων είναι:

1. **Αντικαρκινικά:** Η συγκεκριμένη κατηγορία βρίσκεται στο προσκήνιο της επιστημονικής έρευνας, με πλήθος μελετών να εστιάζουν στην περαιτέρω ανάπτυξή της, καθώς ο καρκίνος αποτελεί μία πολύ σοβαρή ασθένεια που πολλές φορές είναι θανατηφόρα. Χωρίζονται σε τρεις επιμέρους κατηγορίες, οι οποίες είναι τα **χημειοθεραπευτικά**, τα **ραδιοφάρμακα** και τα **φωτοχημειοθεραπευτικά**. Όσον αφορά τα χημειοθεραπευτικά ξεχωρίζει το cisplatin, καθώς το ίδιο και διάφορες παραλλαγές του που συντέθηκαν μεταγενέστερα, χρησιμοποιούνται παγκοσμίως για τη θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου. Εκτός από τα σύμπλοκα του λευκοχρύσου, έχουν παρασκευασθεί και πολλές ενώσεις του Ru με αντικαρκινική δράση. Πρόκειται για ενώσεις του Ru με διακυλοσουλφοξείδια, με αμίνες ή/και με καρβοξυλικά ligand, και οι ενώσεις RAPTA.

Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν τα ραδιοφάρμακα, τα οποία εκπέμπουν διάφορες μορφές ραδιενέργειας και χρησιμοποιούνται κυρίως στα τελευταία στάδια μεταστατικών καρκίνων, προκειμένου να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής των ασθενών. Τέλος, τα φωτοχημειοθεραπευτικά, όπως υποδηλώνεται και από το όνομά τους, χρησιμοποιούνται κατά τη φωτοδυναμική θεραπεία. Το πιο διαδεδομένο φάρμακο που χρησιμοποιείται ως φωτοευαισθητοποιητής ανήκει στην οικογένεια των φωτοπορφυρίνων.

2. *Αντιδιαβητικά*: Σύμπλοκα του βαναδίου εμφανίζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα ως προς την αντιδιαβητική τους δράση, καθώς ανακαλύφθηκε ότι τα ιόντα βαναδίου έχουν ινσουλινομιμητικές ιδιότητες. Διάφορες ενώσεις των V^{IV} και V^V έχουν μελετηθεί ως προς την ινσουλινομίμηση, ενώ πραγματοποιούνται κλινικές δοκιμές για το ορθοβαναδικό νάτριο και την ένωση bis(maltolato)oxovanadium(IV).
3. *Αντιμικροβιακά και παρασιτοκτόνα*: Τα πρώτα αντιμικροβιακά και παρασιτοκτόνα φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ενώσεις του As, με πιο γνωστό το salvarsan, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για θεραπεία της αφρικανικής τρυπανοσωμίας και της σύφιλης. Ωστόσο σήμερα, λόγω της αναγνωρισμένης τοξικότητας του αρσενικού, τα περισσότερα από αυτά έχουν αντικατασταθεί από άλλα φάρμακα που είναι λιγότερο επιβλαβή για την υγεία. Άλλες ενώσεις που εμφανίζουν αξιόλογη αντιμικροβιακή δράση έχουν ως βάση το αντιμόνιο. Παρά τις τοξικές παρενέργειές τους, χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία παρασιτικών μολύνσεων όπως η λεϊσμανίαση, μία παρασιτική λοίμωξη που προκαλείται από διάφορα είδη των πρωτόζωων *Leishmania*.
4. *Αντιαρθρικά*: Κατά το παρελθόν, ενώσεις του χαλκού με τις εμπορικές ονομασίες Cupralene, Dicuprene και Permalon έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση της αρθρίτιδας. Επίσης, ορισμένες ενώσεις του Au, όπως είναι το τριαιθυλοφωσφινικό συμπλόκου aurofin, το οποίο χορηγείται από το στόμα, αξιοποιούνται ως αντι-αρθρικά. Τέλος, πραγματοποιούνται μελέτες που εξετάζουν την δράση διαφόρων σύμπλοκων ενώσεων ως μιμητικά της σουπεροξειδικής δισμουτάσης, με στόχο τη θεραπεία της αρθρίτιδας και άλλων παθήσεων, όπως είναι οι λοιμώξεις και οι δερματοπάθειες.
5. *Φάρμακα για τη θεραπεία καρδιαγγειακών παθήσεων*: Οι καρδιαγγειακές παθήσεις αποτελούν μία από τις βασικότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με τον περιορισμένο αριθμό διαγνωστικών αλλά και θεραπευτικών μεθόδων, ώθησε την επιστημονική κοινότητα προς το καινοτόμο πεδίο της

νανοϊατρικής. Ενθαρρυντικά αποτελέσματα παρουσιάζουν νανοσωματίδια Au και CeO_2 για βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας, νανοσωματίδια CuSO_4 για τη μείωση της αρτηριοσκλήρυνσης, και τέλος, νανοσωματίδια FeO τα οποία παρουσίασαν θετική συνεισφορά σε μεθόδους ανίχνευσης αθηρωματικής πλάκας.

6. *Αντικατάσταση:* Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα εγκεκριμένα μεταλλοφάρμακα για την αντιμετώπιση των ιογενών λοιμώξεων. Ωστόσο, δυο ενώσεις παρουσιάζουν αξιοσημείωτη πρόοδο καθώς έχουν περάσει τα πρώτα στάδια των κλινικών μελετών. Το CTC-96 (doxovir), σύμπλοκο του Co(II) , συνιστά μια πολλά υποσχόμενη περίπτωση, έχοντας ήδη επιδείξει θετικά αποτελέσματα στη φάση II των δοκιμών κατά του απλού επιχειλίου έρπη και στη φάση I για συγκεκριμένες οφθαλμικές μολύνσεις.
7. *Ψυχοτρόπα:* Για πολλά χρόνια, οι μανιοκαταθλιπτικές ψυχώσεις αντιμετωπίζονταν με τη χορήγηση αλάτων του λιθίου, με κυριότερο το Li_2CO_3 . Παρά τις θεραπευτικές ιδιότητες του, εμφανίζει ορισμένα μειονεκτήματα που αφορούν την σχετικά υψηλή τοξικότητα του μετάλλου. Για τον λόγο αυτό απαιτείται η χορήγηση του να γίνεται σε προσεκτικά ελεγχόμενες δόσεις. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η έλλειψη Zn μπορεί να σχετίζεται με την κατάθλιψη και άλλες νευροψυχιατρικές παθήσεις. Συνεπώς, η κατάλληλη ρύθμιση των επιπέδων Zn στον οργανισμό πιθανόν να επιφέρει βελτίωση της κατάστασης του ασθενούς.
8. *Βιταμίνες-συμπληρώματα:* Η συμπληρωματική χορήγηση ιχνοστοιχείων και βιταμινών αποτελεί πλέον συνήθη πρακτική για την κάλυψη διατροφικών ελλείψεων και την ενίσχυση των φυσιολογικών λειτουργιών του σώματος. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στη χορήγηση ιχνοστοιχείων όπως ο Fe, ο Zn και ο Cu [3], [24], [25].

3.3 Ο ψευδάργυρος στη θεραπευτική

Ο ψευδάργυρος παρουσιάζει ιδιαίτερο βιολογικό ενδιαφέρον καθώς βρίσκεται στο ενεργό κέντρο πολλών ενζύμων, τα οποία καταλύουν θεμελιώδεις βιοχημικές διεργασίες. Ποικίλες ενώσεις του ψευδαργύρου αξιοποιούνται ως αντιμυκητιακοί παράγοντες και ως δερματική αλοιφή με την εμπορική ονομασία *Calamine*. Η calamine χρησιμοποιείται ως αντι-κνησμώδης παράγοντας για τη θεραπεία παθήσεων, όπως τα εξανθήματα, το δηλητήριο κισσού, τα τσιμπήματα εντόμων, την ανεμοβλογιά και τα εγκαύματα από τον ήλιο. Επιπρόσθετα, βρίσκει εφαρμογή ως ήπιο αντισηπτικό για την πρόληψη λοιμώξεων που μπορεί να προκληθούν από το ξύσιμο της πληγείσας περιοχής. Το σύμπλοκο $[\text{Zn}(\text{CQ})_2(\text{H}_2\text{O})]$,

όπου CQ = κλιοκινόλη, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία διάφορων λοιμώξεων και έχει επιδείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση της νόσου του Alzheimer σε προκλινικό επίπεδο και πρόσφατα σε κλινικές δοκιμές. Η χορήγηση ψευδαργύρου υπό τη μορφή του σκευάσματος “BabyZinc” σε παιδιά που υπέφεραν από την θανατηφόρα διάρροια (diarrhea) οδήγησε σε σημαντική μείωση των ποσοστών παιδικής θνησιμότητας σε χώρες όπως το Μπαγκλαντές.



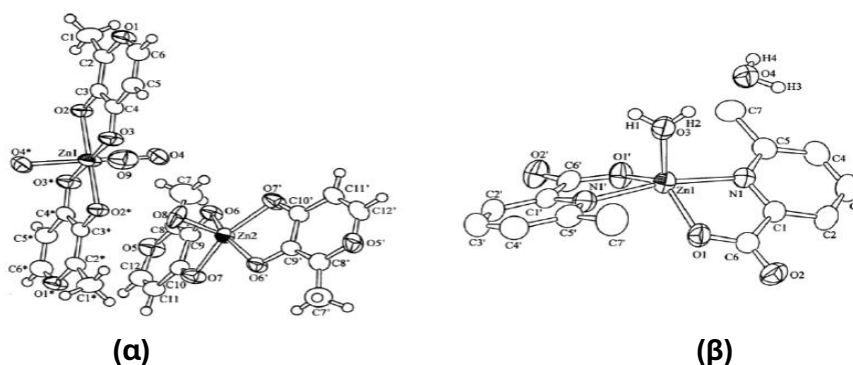
Εικόνα 26: Φαρμακευτικά σκευάσματα του ψευδαργύρου.

Στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί πληθώρα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τη σύνθεση, τον χαρακτηρισμό και τη μελέτη σύμπλοκων ενώσεων του ψευδαργύρου, τόσο με φάρμακα ως ligand, όσο και ενώσεων που εμφανίζουν κάποια βιολογική δράση. Ειδικότερα, μελετήθηκαν σύμπλοκα του ψευδαργύρου με αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιμικροβιακή και αντιδιαβητική δράση, καθώς και σύμπλοκα με φάρμακα κατά των τοπικών εγκαυμάτων, της υπερουραιμίας και της νόσου του Alzheimer [17], [26], [27].

3.3.1 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντιδιαβητικά φάρμακα

Τα επίπεδα του ψευδαργύρου στον οργανισμό ρυθμίζονται με μεγάλη ακρίβεια, καθώς διαταραχές στην ομοιόστασή του έχουν συσχετισθεί με σακχαρώδη διαβήτη. Πρόκειται για μία ασθένεια που χαρακτηρίζεται από υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα, αποτέλεσμα της μειωμένης έκκρισης (διαβήτη τύπου I) ή μειωμένης δράσης (διαβήτη τύπου II) της ινσουλίνης [28]. Ο ψευδάργυρος βρίσκεται στην ινσουλίνη συναρμοσμένος με τρία άτομα αζώτου των ιστιδινών και τρία H_2O , με δομή παραμορφωμένου οκταέδρου που θεωρείται ως η λειτουργική δομή. Οι επιστήμονες μελέτησαν την αντιδιαβητική και ινσουλινομιμητική δράση του ψευδαργύρου και πράγματι αποδείχθηκε ότι το άτομο του Zn

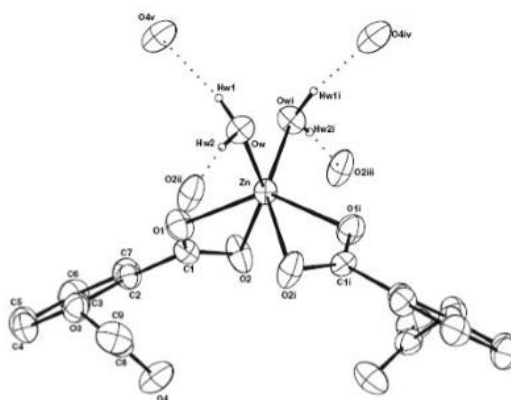
διαδραματίζει καθοριστικό δομικό και φαρμακευτικό ρόλο στη μιμητική δράση της ινσουλίνης. Μέσω της σύνθεσης και του χαρακτηρισμού σύμπλοκων ενώσεων του Zn, επιχειρήθηκε η βελτιστοποίηση της μιμητικής δράσης της ινσουλίνης. Οι έρευνες αυτές πραγματοποιήθηκαν με σκοπό τον έλεγχο της σταθεροποίησης της γλυκόζης στο αίμα στα επιτρεπτά επίπεδα. Έτσι, παρασκευάστηκαν δύο σύμπλοκα, το $[\text{Zn}(\text{6mpa})_2(\text{H}_2\text{O})]$ όπου 6mpaH = 6-μεθυλο-πικολινικό οξύ, και το $\text{trans-}[\text{Zn}(\text{ma})_2(\text{H}_2\text{O})_2][\text{Zn}(\text{ma})_2(\text{H}_2\text{O})]_2(\text{H}_2\text{O})$ όπου Hma = μαλτόλη, τα οποία απεικονίζονται στην παρακάτω εικόνα [29].



Εικόνα 27: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου (α) $\text{trans-}[\text{Zn}(\text{ma})_2(\text{H}_2\text{O})_2][\text{Zn}(\text{ma})_2(\text{H}_2\text{O})]_2(\text{H}_2\text{O})$ και (β) $[\text{Zn}(\text{6mpa})_2(\text{H}_2\text{O})]$ [29].

3.3.2 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντιφλεγμονώδη και αντισπασμωδικά φάρμακα

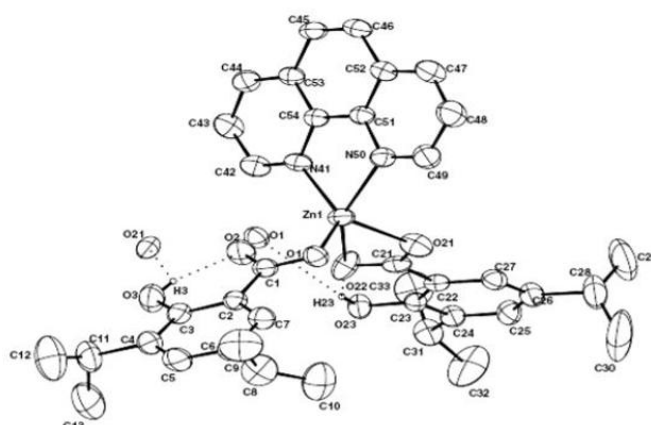
Ένα ευρέως διαδεδομένο αντιφλεγμονώδες φάρμακο είναι το σύμπλοκο του ψευδαργύρου $[\text{Zn}(\text{aspirinate})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, με ligand το αποπρωτονιωμένο ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ασπιρίνη). Το σύμπλοκο αυτό παρουσιάζει καλύτερες θεραπευτικές ιδιότητες και αυξημένη αποτελεσματικότητα, ενώ ταυτόχρονα προκαλεί σε μικρότερο ποσοστό έλκος στομάχου συγκριτικά με την ασπιρίνη [30].



Εικόνα 28: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[\text{Zn}(\text{aspirinate})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ [30].

Επιπλέον, στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός του συμπλόκου $[Zn(C_7H_4NO_5)_2(H_2O)_4]$ με ligand το αποπρωτονιωμένο 3-νιτρο-4-υδροξυβενζοϊκό οξύ. Η δομή του συμπλόκου επιλύθηκε με περίθλαση ακτίνων-Χ και βρέθηκε ότι ο ψευδάργυρος έχει αριθμό συναρμογής έξι. Παρατηρήθηκε ότι το σύμπλοκο εμφανίζει σημαντική βελτίωση των αντισπασμωδικών ιδιοτήτων σε σχέση με αυτές του ελεύθερου 3-νιτρο-4-υδροξυβενζοϊκού οξέος [31].

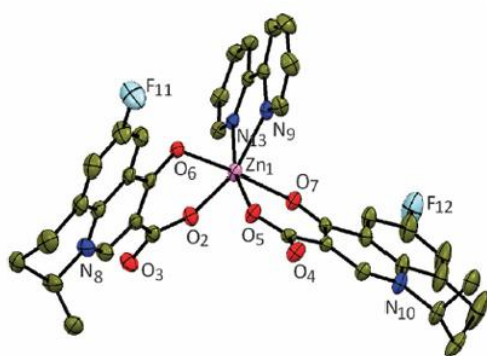
Το 3,5-δισοπροπυλοσαλικυλικό οξύ (3,5-dipsH) είναι ένα φάρμακο που έχει αντισπασμωδικές ιδιότητες. Χρησιμοποιήθηκε ως 3-νιτρο-4-υδροξυβενζοϊκό μαζί με την 1,10-φαινανθρολίνη (phen) για την παρασκευή του συμπλόκου $[Zn(3,5-dips)_2(phen)]$, το οποίο όμως δεν εμφανίζει ιδιαίτερα βελτιωμένη βιολογική δράση συγκριτικά με το ελεύθερο φάρμακο [30].



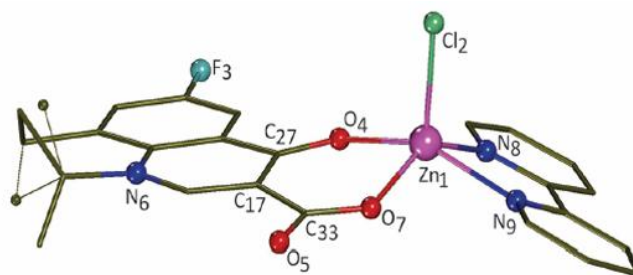
Εικόνα 29: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(3,5-dips)_2(phen)]$ [30].

3.3.3 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντιμικροβιακή και αντιβακτηριακή δράση

Αρκετά σύμπλοκα του ψευδαργύρου έχουν μελετηθεί ως προς τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Μία ιδιαίτερα σημαντική κατηγορία είναι αυτή των συμπλόκων του Zn(II) με τις κινολόνες, οι οποίες είναι ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιμικροβιακά φάρμακα και διακρίνονται για την αποτελεσματικότητά τους έναντι πολλών τύπων μολυσματικών ασθενειών, κυρίως εκείνων που προκαλούνται από βακτήρια. Οι κινολόνες εξουδετερώνουν τα βακτήρια, παρεμβαίνοντας στην σύνθεση του DNA και αναστέλλοντας την αντιγραφή του. Σε πολλές περιπτώσεις τα σύμπλοκα έχουν εμφανίσει παρόμοια ή και βελτιωμένη αντιμικροβιακή δράση σε σχέση με τις ελεύθερες κινολόνες [32], [33]. Ειδικότερα, σύμπλοκα του Zn με την κινολόνη flumequine (Hflmq) παρουσία της 2,2'-διπυριδίνης (bipy), τα $[Zn(flmq)_2(bipy)]$ και $[Zn(flmq)_2(bipy)Cl]$ έχουν παρουσιάσει αντιμικροβιακή δράση [34].



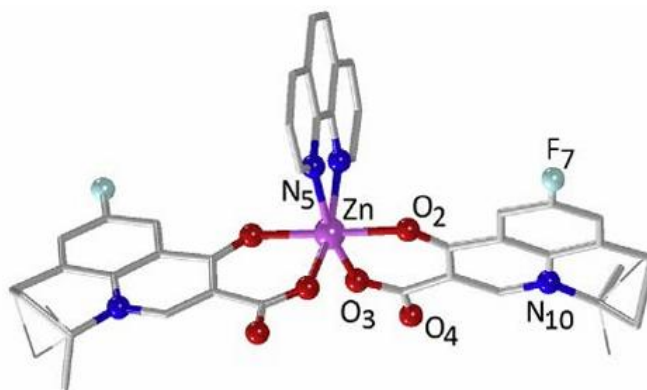
(α)



(β)

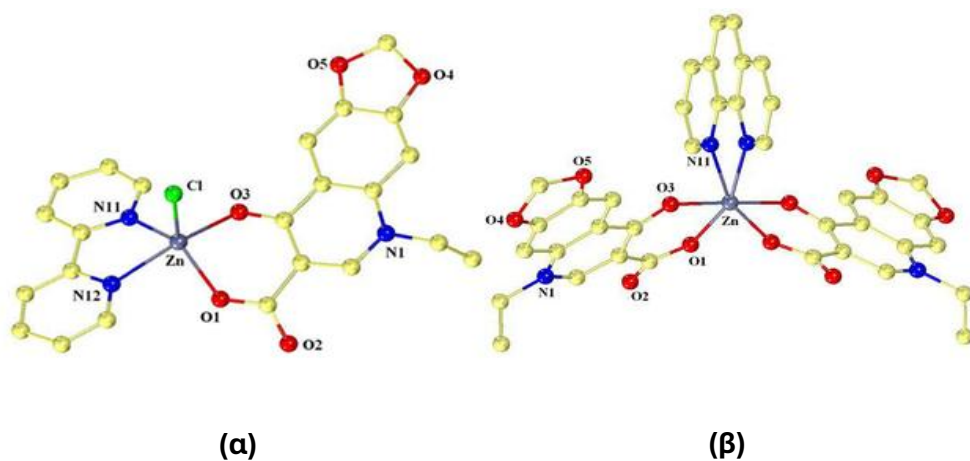
Εικόνα 30: Κρυσταλλική δομή των συμπλόκων (α) $[Zn(flmaq)_2(bipy)]$ και (β) $[Zn(flmaq)_2(bipy)Cl]$ [34].

Το σύμπλοκο $[Zn(flmaq)_2(phen)]$ εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση έναντι δύο Gram(-) βακτηριών (*X. Campestris* και *E. coli*) και τριών Gram(+) (*B. subtilis*, *B. Cereus* και *S. aureus*), που είναι υψηλότερη από αυτή του ελεύθερου φαρμάκου [35], [36].



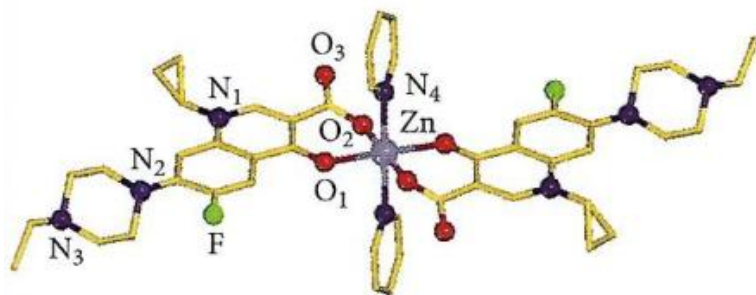
Εικόνα 31: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(flmaq)_2(phen)]$ [35].

Επιπλέον έχουν παρασκευαστεί σύμπλοκα του ψευδαργύρου και με άλλες κινολόνες, όπως είναι για παράδειγμα το oxolinic acid (Hoxo), το οποίο όπως και η flumequine βρίσκουν εφαρμογή στη θεραπεία λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, ενώ παράλληλα χρησιμοποιούνται εκτενώς στην κτηνιατρική για τη θεραπεία ασθενειών των ζώων που προκαλούνται από μεγάλη ποικιλία Gram(-) αρνητικών βακτηριών. Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται οι κρυσταλλικές δομές δύο συμπλόκων με το oxolinic acid [35], [26], [27].

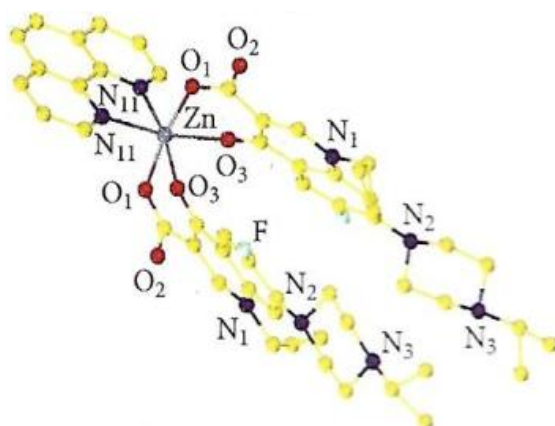


Εικόνα 32: Κρυσταλλική δομή των συμπλόκων (α) $[\text{Zn}(\text{oxo})(\text{bipy})\text{Cl}]$ και (β) $[\text{Zn}(\text{oxo})_2(\text{phen})]$ [17].

Τέλος, το enrofloxacin (Herx) είναι μία κινολόνη δεύτερης γενιάς που χρησιμοποιείται ευρέως στην κτηνιατρική ως αντιβακτηριακός παράγοντας, καθώς εμφανίζει υψηλή δραστηριότητα έναντι τόσο των θετικών όσο και των αρνητικών Gram βακτηρίων [37], [38]. Ενδεικτικά αναφέρονται δύο σύμπλοκα του ψευδαργύρου με το enrofloxacin, το $[\text{Zn}(\text{erx})_2(\text{py})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{MeOH}$ και το $[\text{Zn}(\text{erx})_2(\text{phen})]$ [17].



Εικόνα 33: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[\text{Zn}(\text{erx})_2(\text{py})_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O} \cdot \text{MeOH}$ [17].



Εικόνα 34: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[\text{Zn}(\text{erx})_2(\text{phen})]$ [17].

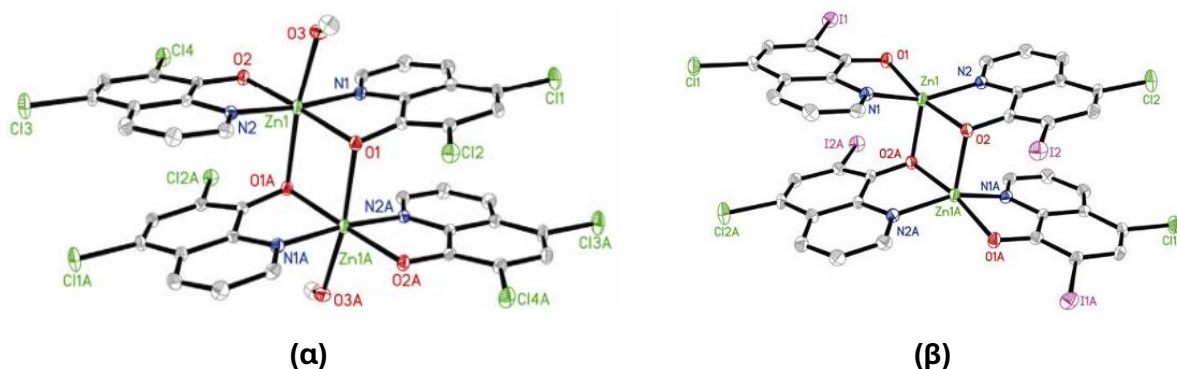
3.3.4 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn και η νόσος του Alzheimer

Η νόσος του Alzheimer (AD) αποτελεί την πλέον διαδεδομένη νευροεκφυλιστική ασθένεια που πλήττει το 10% των ατόμων ηλικίας άνω των 65 και το 50% των ατόμων ηλικίας άνω των 80 ετών. Χαρακτηρίζεται από προοδευτική βλάβη των νευρικών ιστών, γεγονός που οδηγεί σε σοβαρές δυσλειτουργίες. Οι ασθενείς εμφανίζουν απώλεια μνήμης και νοητικής ικανότητας, καθώς και αποπροσανατολισμό και σύγχυση, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό η λειτουργικότητά τους [39], [40].

Η κλιοκινόλη είναι μία ουσία που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία διαφόρων λοιμώξεων και έχει παρουσιάσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της νόσου του Alzheimer σε προκλινικές και πρόσφατες κλινικές δοκιμές. Στο πλαίσιο αυτό, συντέθηκε ένα σύμπλοκο του ψευδαργύρου με την κλιοκινόλη (5-chloro-7-iodo-8-hydroxyquinoline = CQ), το $[Zn(CQ)_2(H_2O)]$, όπου ο Zn έχει αριθμό συναρμογής πέντε. Η δραστηριότητα του συμπλόκου οφείλεται στο ότι το φάρμακο αυτό ενεργοποιεί τη μεταφορά του ψευδαργύρου από το εσωτερικό των κυττάρων στην Αβ πρωτεΐνη. Μέσω αυτής της μεταφοράς προκαλείται ελάττωση της νευροτοξικότητας του εγκεφάλου [41], [42].

3.3.5 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με αντικαρκινική δράση

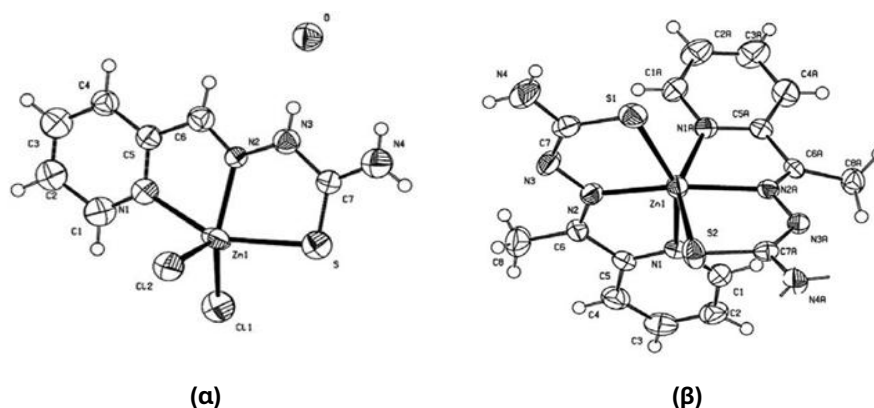
Η ανακάλυψη του cisplatin σηματοδότησε μία νέα εποχή στη χρήση μεταλλοφαρμάκων κατά του καρκίνου. Σύγχρονες μελέτες, ωστόσο, εστιάζουν στον περιορισμό των παρενεργειών που προκαλούν τα φάρμακα του λευκοχρύσου μέσω της αξιοποίησης άλλων μετάλλων όπως είναι ο ψευδάργυρος. Με γνώμονα τον πρωταρχικό ρόλο που διαδραματίζει ο ψευδάργυρος στις διάφορες κυτταρικές διεργασίες, συντέθηκαν σύμπλοκα του ψευδαργύρου με φάρμακα που παρουσιάζουν αντικαρκινική δράση [43]. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν δύο σύμπλοκα με την 5-chloro-7-iodo-8-hydroxyquinoline (CQ), το $[Zn_2(CQ)_4(CH_3OH)_2]$ και $[Zn_2(CQ)_4]$. Το $[Zn_2(CQ)_4(CH_3OH)_2]$ είναι ένα διπυρηνικό σύμπλοκο, όπου το άτομο του Zn που συνδέεται με ένα άτομο O της μεθανόλης σχηματίζει χηλικό δακτύλιο με δύο κινολιν-8-ολικά ligands. Επιπλέον, ο Zn συνδέεται με το άτομο O ενός άλλου κινολιν-8-ολικού ligand. Η διπυρηνική δομή σχηματίζεται από δύο μ_2 -O άτομα, ο Zn έχει αριθμό συναρμογής έξι και εμφανίζει οκταεδρική γεωμετρία.



Εικόνα 35: Κρυσταλλική δομή των συμπλόκων **(α)** $[\text{Zn}_2(\text{CQ})_4(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ και **(β)** $[\text{Zn}_2(\text{CQ})_4]$ [43].

Όσον αφορά το δεύτερο σύμπλοκο $[\text{Zn}_2(\text{CQ})_4]$, ο Zn έχει αριθμό συναρμογής πέντε και εμφανίζει γεωμετρία τετραγωνικής πυραμίδας. Πιο συγκεκριμένα, το άτομο του Zn σχηματίζει χηλικό δακτύλιο με δύο κινολιν-8-ολικά ligands, ενώ δεν συναρμόζεται με μεθανόλη. Επίσης, ο Zn συνδέεται στο άτομο O ενός άλλου κινολιν-8-ολικού ligand και η διπυρηνική δομή σχηματίζεται και πάλι από δύο $\mu_2\text{-O}$ άτομα. Οι *in vitro* μελέτες κυτταροτοξικότητας έδειξαν ότι τα σύμπλοκα αυτά διαθέτουν σημαντικές αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες αλλά εμφανίζουν αυξημένη κυτταροτοξικότητα [43].

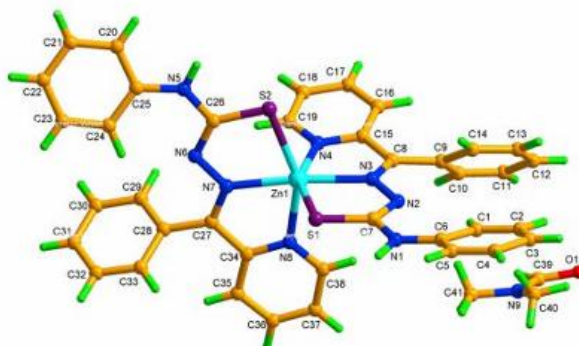
Ακόμα, σύμπλοκες ενώσεις του ψευδαργύρου με σεμικαρβαζόνες παρουσίασαν βελτιωμένη αντικαρκινική δράση *in vitro* έναντι διάφορων καρκινικών σειρών που προέρχονται από τον άνθρωπο. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αποτελούν οι σεμικαρβαζόνες HFotsc και Hatsc, οι οποίες σχηματίζουν σύμπλοκα με τον ψευδάργυρο. Οι ενώσεις $[\text{ZnCl}_2(\text{HFotsc})(\text{H}_2\text{O})]$ και $[\text{Zn}(\text{atsc})_2]$ εξετάστηκαν ως προς την *in vitro* αντικαρκινική τους δράση απέναντι σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα (π.χ. μαστού, αίματος) αλλά κρίνεται σκόπιμη η περαιτέρω *in vitro* και *in vivo* διερεύνησή τους [44].



Εικόνα 36: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου **(α)** $[\text{ZnCl}_2(\text{HFotsc})(\text{H}_2\text{O})]$ και **(β)** $[\text{Zn}(\text{atsc})_2]$ [44].

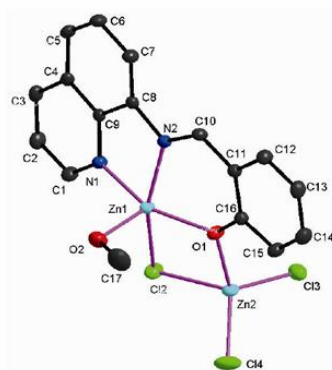
Αξίζει να αναφερθεί και το σύμπλοκο $[\text{Zn}(\text{L})_2(\text{DMF})]$ όπου HL= 2-βενζοϋλοπυριδίνη N(4)-φαινυλο-θειοσεμικαρβαζόνη και ανήκει στις θειοσεμικαρβαζόνες. Σύμφωνα με τις

μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, η ένωση αυτή παρουσιάζει αντικαρκινική δράση σε κύτταρα K562 της λευχαιμίας. Πρόκειται για ένα μονοπυρηνικό σύμπλοκο όπου ο Zn έχει οκταεδρική γεωμετρία και οι δύο θειοσεμικαρβαζόνες συναρμόζονται μέσω ενός πυριδινικού αζώτου και του θειολικού ατόμου θείου [45].



Εικόνα 37: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(L)_2(DMF)]$ [45].

Τέλος, ένα ακόμη σύμπλοκο του Zn που εμφανίζει αντικαρκινική δράση είναι το $[Zn_2(\mu_2-Cl)Cl_2(\mu_2-O-ClQP)(CH_3OH)]$. Για την παρασκευή του χρησιμοποιήθηκε ως ligand η βάση Schiff 4-χλωρο-2-(κινολιν-8-υλιμονομεθυλο)-φαινόλη (HClQP). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις μελέτες ανέδειξαν μεγάλο βαθμό παρεμπόδισης της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων συγκριτικά με το ελεύθερο φάρμακο αλλά και με το cisplatin. Παράλληλα, η ένωση επιδεικνύει αξιοσημείωτη εκλεκτική κυτταροτοξικότητα έναντι ποικίλων ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων σε αντίθεση με τα φυσιολογικά ηπατικά κύτταρα [46].

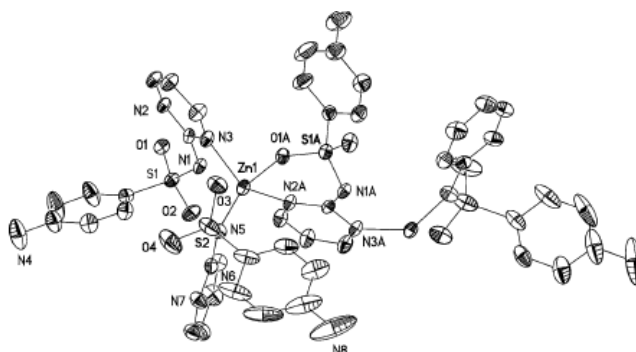


Εικόνα 38: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn_2(\mu_2-Cl)Cl_2(\mu_2-O-ClQP)(CH_3OH)]$ [46].

3.3.6 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με φάρμακα κατά των τοπικών εγκαυμάτων

Σύμπλοκες ενώσεις του Zn(II) με σουλφανιλαμίδες χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη θεραπεία των εγκαυμάτων. Πιο συγκεκριμένα, η ένωση $[Zn(sd)_2]$ όπου Hsd = 2-σουλφανιλαμιδοπυριμιδίνη (sulfadiazine) χρησιμοποιείται με την πολυμερή της μορφή ως

φαρμακευτική αλοιφή. Στον πολυμερισμό του φαρμάκου οφείλεται η αργή απελευθέρωση του ψευδαργύρου κατά τη θεραπεία των εγκαυμάτων.

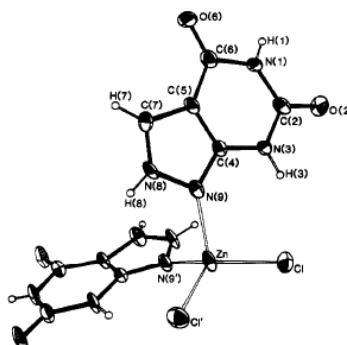


Εικόνα 39: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(sd)_2]$ [47].

Επίσης, μετά από έρευνες σε ποντίκια ανακαλύφθηκε ότι τα σύμπλοκα ψευδαργύρου $[Zn(sd)_2(CH_3NH_2)_2]$ και $[Zn(sd)_2(C_2H_8N_2)_3]$ παρουσιάζουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα στη θεραπεία και την επούλωση των πληγών από εγκαύματα [47].

3.3.7 Σύμπλοκες ενώσεις του Zn με φάρμακα κατά της υπερουραιμίας

Η υπερουραιμία ορίζεται ως η παθολογική κατάσταση κατά την οποία ένας άνθρωπος έχει αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος στο αίμα του. Η αύξηση αυτή ενδέχεται να προκαλέσει διάφορα προβλήματα υγείας, όπως είναι η ουρική αρθρίτιδα και οι πέτρες στα νεφρά [48]. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί η υπερουραιμία, μελετήθηκε και παρασκευάστηκε το σύμπλοκο $[Zn(alloxanthine)_2Cl_2]$. Η αλλοξανθίνη (alloxanthine = pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-2,6-dione = οξυπουρινόλη) είναι μία ένωση παρόμοια με την αλλοπουρινόλη που χρησιμοποιείται ως φάρμακο κατά της υπερουραιμίας και ποικίλων αρθριτικών νόσων [49].



Εικόνα 40: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(alloxanthine)_2Cl_2]$ [49].

4. ΜΗ-ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΦΑΡΜΑΚΑ

4.1 Εισαγωγή

Τα μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (Non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAID = ΜΣΑΦ) είναι μία κατηγορία φαρμάκων με αναλγητική, αντιφλεγμονώδη και αντιπυρετική δράση, τα οποία χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του πόνου και άλλων συμπτωμάτων της φλεγμονής. Η φλεγμονή αποτελεί μία φυσιολογική αντίδραση άμυνας του οργανισμού έναντι κάποιου εξωγενούς ή ενδογενούς δυνητικά βλαπτικού ερεθίσματος. Μεταξύ των βασικότερων εξωγενών ερεθισμάτων συγκαταλέγονται τα μικρόβια και οι ιοί (λοίμωξη), η ακτινοβολία (φλεγμονή του δέρματος) και η κάκωση των ιστών που προκαλείται μετά από χειρουργείο ή κάποιο τραυματισμό. Τα κυριότερα ενδογενή ερεθίσματα είναι η ουρική και ψευδοουρική αρθρίτιδα και διάφορα άλλα ανοσολογικά ερεθίσματα. Το εύρος της φλεγμονής ποικίλει σημαντικά, εκτεινόμενο από μία τοπική αντίδραση σε έναν επηρεασμένο ιστό ή σε μία άρθρωση, μέχρι μία πιο γενικευμένη αντίδραση ολόκληρου του σώματος [50], [51]. Μέσω της φλεγμονώδους απόκρισης, ο οργανισμός στοχεύει στην εξουδετέρωση του παθογόνου ερεθίσματος και στην αποκατάσταση της βλάβης που το προκάλεσε. Χαρακτηριστικά συμπτώματα της φλεγμονής είναι ο πόνος, το οίδημα, η ερυθρότητα, η αύξηση της θερμοκρασίας και η διαταραχή της λειτουργικότητας του ιστού. Ωστόσο, η θεραπεία δεν αποσκοπεί στην εξάλειψη της φλεγμονής, καθώς αποτελεί μία χρήσιμη βιολογική διεργασία, αλλά στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χορήγηση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, τα οποία είναι είτε η κορτιζόνη είτε τα ΜΣΑΦ, που καταργούν την παραγωγή προσταγλανδινών (Prostaglandins, PGs) μέσω αναστολής των ενζύμων φωσφολιπάση ή κυκλοοξυγενάση (Cyclooxygenase, COX). Έχει βρεθεί ότι η κυκλοοξυγενάση έχει δύο ισοένζυμα, το ισοένζυμο COX-1 και το ισοένζυμο COX-2. Οι προσταγλανδίνες είναι ακόρεστα καρβοξυλικά οξέα και δρουν σε τοπικό επίπεδο ως χημικοί μεταβολίτες πολλών βιολογικών διεργασιών. Οι κυριότερες προσταγλανδίνες που επηρεάζονται από τα ΜΣΑΦ είναι η προσταγλανδίνη PGE₂, η θρομβοξάνη TxA₂ και η προστακυκλίνη PGI₂ [50].

Τα ΜΣΑΦ εμφανίζουν παρόμοια δράση με την ασπιρίνη, η οποία έχει ως δραστική ουσία το ακετυλοσαλικυλικό οξύ (2-acetoxybenzoic acid) και χρησιμοποιείται ευρέως ως αναλγητικό, αντιπυρετικό και αντιφλεγμονώδες. Το σαλικυλικό οξύ και τα παράγωγά του, που απομονώνονται από φυσικές πηγές, χρησιμοποιούνταν εδώ και πολλά χρόνια ως φάρμακα. Το σαλικυλικό οξύ συντέθηκε το 1860 στη Γερμανία και χρησιμοποιήθηκε ως εξωτερικό

αντισηπτικό, αντιπυρετικό και ως φάρμακο για τη θεραπεία των ρευματισμών. Σχεδόν 40 χρόνια αργότερα, η ασπιρίνη αναπτύχθηκε ως μία πιο εύγευστη μορφή του σαλικυλικού οξέος. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, η ασπιρίνη χρησιμοποιούνταν για τρεις κυρίως θεραπευτικούς σκοπούς και συγκεκριμένα ως αναλγητικό, ως αντιφλεγμονώδες και ως αντιπυρετικό. Στη συνέχεια, ανακαλύφθηκαν και άλλα φάρμακα που εμφάνιζαν παρόμοια δράση με την ασπιρίνη, όπως είναι η αντιπυρίνη, η φαινυλβουταζόνη, η φαινακετίνη, η ακεταμινοφαίνη (παρακεταμόλη) και πιο πρόσφατα τα φαιναμικά, η ιβουπροφαίνη, η ναπροξένη και η ινδομεθασίνη. Τα φάρμακα αυτά είναι ΜΣΑΦ [52]. Πρόκειται συνήθως για ασθενή οργανικά οξέα, με $pK_a \sim 3-5$, τα οποία απορροφώνται σε υψηλό βαθμό από το λεπτό έντερο και το στομάχι. Τα περισσότερα μεταβολίζονται στο ήπαρ με οξείδωση και αποβάλλονται φυσιολογικά από τα ούρα.

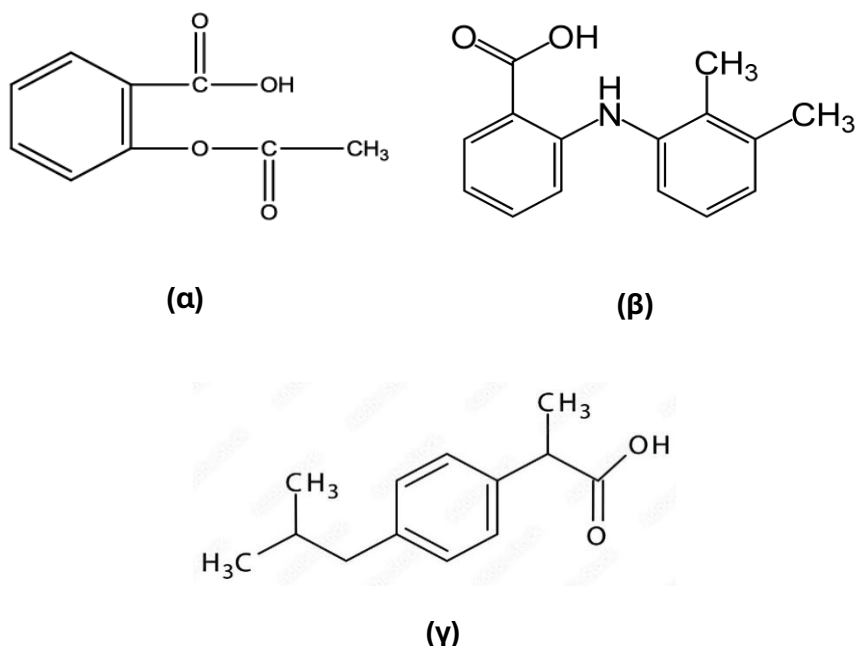
Με βάση τη χημική τους δομή τα ΜΣΑΦ μπορούν να διακριθούν στις εξής κατηγορίες:

- Παράγωγα του σαλικυλικού οξέος: aspirin, salsalate, benorilate, diflunisal.
- Ανθρανιλικά οξέα: mefenamic acid, tolfenamic acid, flufenamic acid, niflumic acid.
- Φαινυλαλκανοϊκά οξέα: ibuprofen, naproxen, fenoprofen, ketoprofen, carprofen, etodolac, ketorolac, diclofenac, flurbiprofen, tolmetin, sulindac, indomethacin.
- Οξικάμες: lornoxicam, isoxicam, meloxicam, piroxicam, tenoxicam.
- Κοξίμπες: σουλφοναμίδια (celecoxib), φουρανόνες (rofecoxib), προπαναμίδια (parecoxib).

Πλέον τα ΜΣΑΦ έχουν διαχωριστεί και από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας σε δύο μεγάλες κατηγορίες, ανάλογα με την αναστολή της COX:

- Τα κλασικά ΜΣΑΦ, τα οποία αναστέλλουν και τα δύο ισοένζυμα της COX (COX-1 και COX-2), όπως η ασπιρίνη σε μεγάλες δόσεις, το naproxen, το diclofenac, η ibuprofen κτλ.
- Τις κοξίμπες, οι οποίες είναι ειδικοί ή εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2, όπως το celecoxib, το parecoxib κτλ [53].

Ανάλογα με τη χορηγούμενη δοσολογία, τα φάρμακα αυτά είναι ικανά να καταστείλουν τα συμπτώματα της φλεγμονής (πόνος, ερυθρότητα, πρήξιμο), να μειώσουν τον πυρετό και να ανακουφίσουν τον ασθενή από τον πονοκέφαλο. Ωστόσο, πέρα από τις θεραπευτικές τους ιδιότητες, εμφανίζουν ορισμένες παρενέργειες που εξαρτώνται από τη δοσολογία. Για παράδειγμα, σε υπερβολικές ποσότητες πρόσληψης μπορούν ακόμη και να καταστούν καταστροφικά για τους νεφρούς [52].

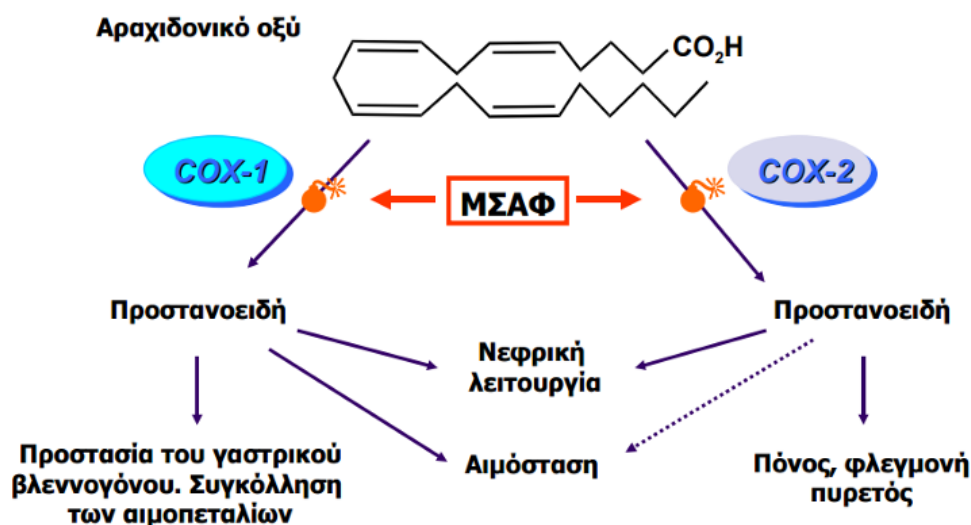


Εικόνα 41: Δομές ορισμένων ΜΣΑΦ: **(α)** *Aspirin*, **(β)** *Mefenamic acid* και **(γ)** *Ibuprofen* [54], [55].

4.2 Μηχανισμός δράσης

Ο μηχανισμός δράσης των ΜΣΑΦ σχετίζεται με την αναστολή παραγωγής των προσταγλανδινών (PGs), για την οποία μεσολαβεί η κυκλοοξυγενάση (COX). Οι προσταγλανδίνες παράγονται από το αραχιδονικό οξύ με τη δράση των ισοενζύμων της κυκλοοξυγενάσης (COX-1 και COX-2) [56]. Αρχικά, το μόριο του φαρμάκου προσεγγίζει το κύτταρο-στόχο, διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη και εισέρχεται στον καταλυτικό διάυλο του ενζύμου COX. Στη συνέχεια, προσδένεται σε συγκεκριμένα αμινοξέα του τοιχώματος του διαύλου, προκαλώντας με αυτό τον τρόπο την πλήρη απόφραξή του. Κατόπιν διέγερσης του συγκεκριμένου κυττάρου από κάποιο φυσιολογικό ή παθολογικό ερέθισμα, παράγεται το αραχιδονικό οξύ, το οποίο προσπαθεί να εισέλθει στην COX για να μπορέσουν να παραχθούν οι απαραίτητες προσταγλανδίνες. Ωστόσο, το αραχιδονικό οξύ δεν θα καταφέρει να εισέλθει στην COX, καθώς ο διάυλος είναι κλειστός από το μόριο του φαρμάκου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην παραχθούν οι προσταγλανδίνες [52].

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΣΑΦ



Εικόνα 42: Διαγραμματική απεικόνιση μηχανισμού δράσης ΜΣΑΦ [57].

Η κυκλοοξυγενάση-1 (COX-1) είναι δομικό ένζυμο σχεδόν όλων των κυττάρων του οργανισμού, με εξαίρεση τα ερυθρά αιμοσφαίρια και παράγει τις προσταγλανδίνες, που είναι υπεύθυνες για τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων. Αντιθέτως, η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2) δεν υπάρχει φυσιολογικά στα κύτταρα, αλλά παράγεται σε καταστάσεις στρες του οργανισμού [52]. Τα κλασικά ΜΣΑΦ αναστέλλουν την παραγωγή και των δύο ισοενζύμων της κυκλοοξυγενάσης. Η δράση της COX-2 πυροδοτείται από φλεγμονώδη ερεθίσματα και κυτοκίνες σε μεταναστευτικά ή άλλα κύτταρα. Για το λόγο αυτό, οι αντιφλεγμονώδεις δράσεις των ΜΣΑΦ οφείλονται στην αναστολή της COX-2. Από την άλλη, σε ορισμένες περιπτώσεις χρήσης των ΜΣΑΦ παρατηρούνται ανεπιθύμητες παρενέργειες, κυρίως στο γαστρεντερικό σύστημα (έλκη) και στους νεφρούς (οιδήματα, υπέρταση), γεγονός που οφείλεται στην αναστολή της COX-1. Επομένως, ιδανικό αντιφλεγμονώδες φάρμακο αποτελεί αυτό που μπορεί να αναστείλει την COX-2 χωρίς να επηρεάσει την COX-1 [52], [50]. Το σύνολο των ΜΣΑΦ αναστέλλουν σε διαφορετικό βαθμό την COX-1 και την COX-2. Έτσι, η διαφοροποίησή τους βασίζεται στον λόγο αναστολής της COX-2 ως προς την COX-1. Όσο μικρότερη δόση φαρμάκου απαιτείται για την αναστολή της COX-2 και όσο μεγαλύτερη για την αναστολή της COX-1, τόσο πιο αποτελεσματικό και ασφαλές είναι το φάρμακο. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος εμφάνισης ανεπιθύμητων παρενεργειών κατά τη θεραπεία με ΜΣΑΦ, θα πρέπει να αποφεύγεται η ταυτόχρονη χορήγηση διαφορετικών φαρμάκων, δεδομένου ότι ο συνδυασμός τους δεν επιφέρει επιπρόσθετο θεραπευτικό όφελος.

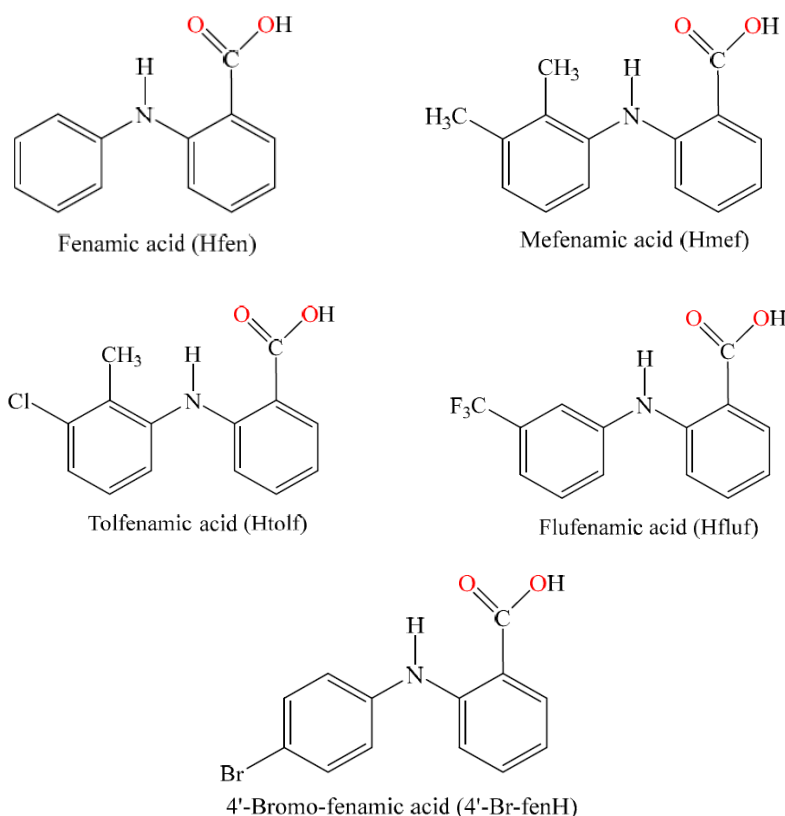
Επιπλέον, η χορήγηση πρέπει να περιορίζεται αυστηρά εντός των εγκεκριμένων ορίων της μέγιστης θεραπευτικής δόσης [50], [58].

Εκτός όμως από την αναλγητική, αντιπυρετική και αντιφλεγμονώδη δράση τους, έχει μελετηθεί και η χρήση των ΜΣΑΦ στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Πλήθος μελετών κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα ΜΣΑΦ πιθανώς να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία κατά του καρκίνου, καθώς έχουν τη δυνατότητα να αυξήσουν την απόπτωση και την απόκριση στις συνηθισμένες θεραπείες, καθιστώντας παράλληλα λιγότερο πιθανή την εισβολή και τη μετάσταση [59].

Τέλος, σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι ορισμένα ΜΣΑΦ δύνανται να καταστείλουν την παραγωγή ή να δράσουν ενάντια στις ελεύθερες ρίζες. Παράλληλα, έχει διαπιστωθεί ότι η βιολογική και φαρμακευτική απόκριση των ΜΣΑΦ ενισχύεται σημαντικά μέσω της συναρμογής του με μεταλλοϊόντα [60].

4.3 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ

Το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ (4'-Br-fenH) ανήκει στην κατηγορία των φαιναμικών οξέων. Το φαιναμικό οξύ είναι παράγωγο του ανθρανιλικού οξέος και αποτελεί τη βασική δομή για μία σημαντική οικογένεια ΜΣΑΦ. Μερικά παράγωγα αυτού είναι το μεφαιναμικό οξύ, το τολφαιναμικό οξύ και το φλουφαιναμικό οξύ [55].



Εικόνα 43: Δομές του φαιναμικού οξέος και μερικών παραγώγων του [61].

Τα φαιναμικά οξέα διαθέτουν αξιοσημείωτες αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές και αντιπυρετικές ιδιότητες και συνταγογραφούνται για τη θεραπεία της αρθρίτιδας και της δυσμηνόρροιας. Επιπλέον, παρουσιάζουν πολύπλευρη βιολογική δραστηριότητα, γεγονός που επιτρέπει την αξιοποίησή τους σε ένα ευρύ φάσμα θεραπευτικών τομέων, όπως για παράδειγμα η αντιμετώπιση του καρκίνου, των βακτηριακών λοιμώξεων και των νευροεκφυλιστικών ασθενειών [62], [63]. Τα τελευταία χρόνια έχουν διερευνηθεί μεταλλικά σύμπλοκα των φαιναμικών οξέων με $Zn(II)$, $Co(II)$, $Ni(II)$, $Cu(II)$ και $Mn(II)$. Τα σύμπλοκα αυτά έχουν επιδείξει βελτιωμένες βιολογικές ιδιότητες σε σχέση με τα ελεύθερα φαιναμικά οξέα, εκδηλώνοντας ενισχυμένη αντιοξειδωτική, αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη και αντιπολλαπλασιαστική δράση [64].

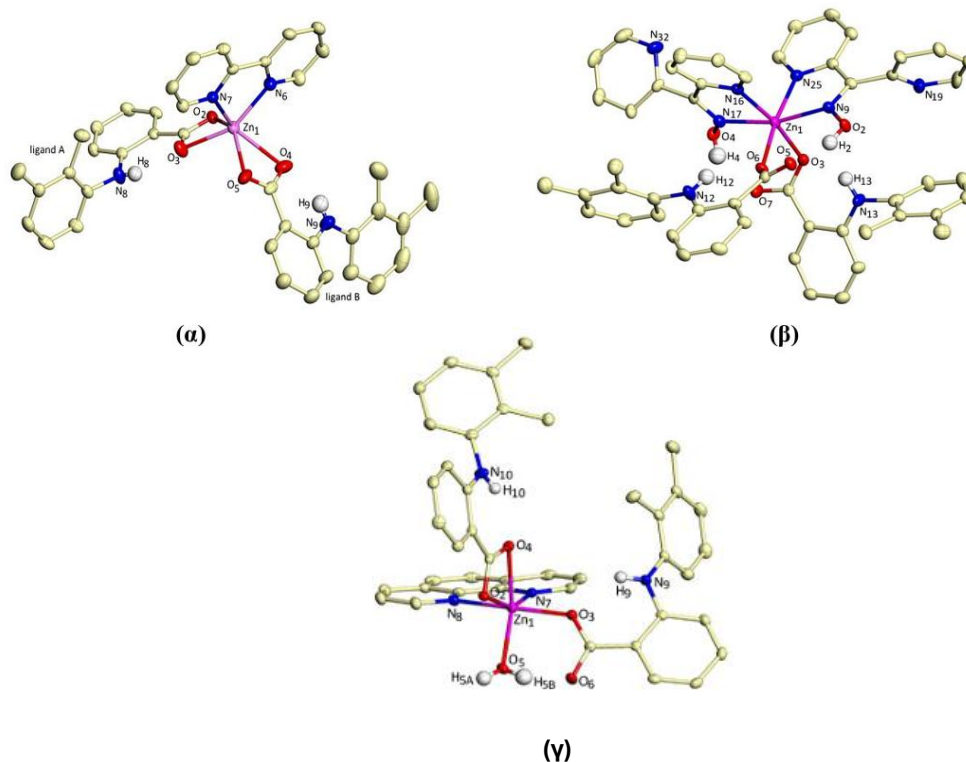
Το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ (4'-Br-fenH) είναι ένα βρωμο-παράγωγο του φαιναμικού οξέος (Hfen). Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι αποτελεί βασικό ενδιάμεσο στη σύνθεση ετεροκυκλικών ενώσεων όπως οι ακριδίνες και οι ακριδόνες. Αντιθέτως, μία άλλη μελέτη περιγράφει τη χρήση του Br στο 4'-Br-fenH ως αποχωρούσα ομάδα για την παραγωγή συνδεδεμένων ετεροκυκλικών φαιναμικών αιθυλεστέρων. Τέλος, έχει βρεθεί ότι παρουσιάζει αντιμυκητιακές και αντιδιαρροϊκές ιδιότητες [65], [66], [67].

4.4 Σύμπλοκα του $Zn(II)$ με φαιναμικά οξέα

Στο πλαίσιο της Βιοανόργανης Χημείας, τα φάρμακα με βάση τα μέταλλα έχουν εδραιωθεί εδώ και δεκαετίες στη θεραπεία διαφόρων ασθενειών. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι ο συνδυασμός μεταλλικών ιόντων με φάρμακα ή ενώσεις που παρουσιάζουν κάποια βιολογική δράση οδηγεί πολλές φορές σε νέες ενώσεις με βελτιωμένες ιδιότητες [53], [68].

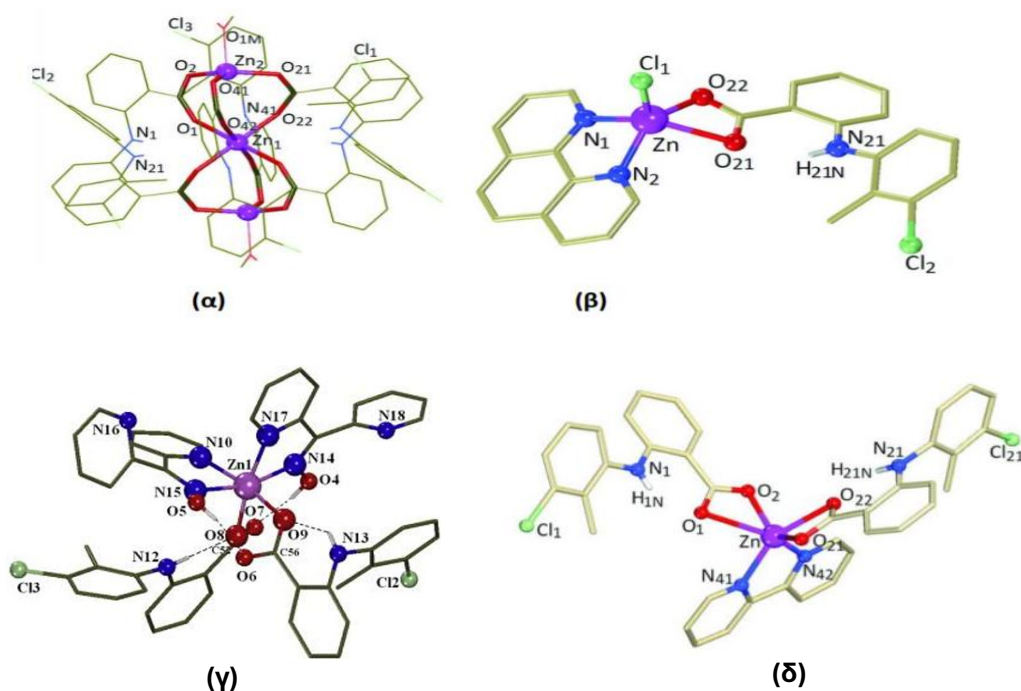
Ο ψευδάργυρος είναι ένα από τα κυριότερα ιχνοστοιχεία που υπάρχουν στον ανθρώπινο οργανισμό και για αυτό έχουν συντεθεί πολλές ενώσεις του με τα φαιναμικά οξέα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το ΜΣΑΦ mefenamic acid, το οποίο παρουσία ή απουσία διαφόρων N,N' -δοτών, όπως είναι η 2,2'-bipyridine (bipy), η 2,2'-bipyridylamine (bipyam), η 1,10-phenanthroline (phen) και η 2,2'-dipyridylketone oxime (Hrko) έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή συμπλόκων του $Zn(II)$. Τα σύμπλοκα αυτά είναι τα $[Zn(mef-O)_2(H_2O)_4]$, $[Zn(mef-O,O')_2(bipy)]$, $[Zn(mef-O,O')_2(bipyam)]$, $[Zn(mef-O)_2(HrkoN,N')_2] \cdot EtOH$ και $[Zn(mef-O)(mef-O,O')(phen)(H_2O)]$. Οι εν λόγω ενώσεις αποτελούν μονοπυρηνικά σύμπλοκα του ψευδαργύρου και η δομή μερικών από αυτές έχει χαρακτηριστεί με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Έπειτα από πειραματικές μελέτες διαπιστώθηκε ότι τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με το CT DNA πιθανότατα με παρεμβολή. Η

αλληλεπίδραση αυτή ευνοείται σημαντικά από την παρουσία του Ηρκο συγκριτικά με άλλα παρόμοια σύμπλοκα ιόντων ψευδαργύρου, κοβαλτίου και χαλκού. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί υψηλή αλληλεπίδραση με τις αλβουμίνες BSA και HSA, ενώ παράλληλα διαθέτουν αντιοξειδωτική δράση και ικανότητα δέσμευσης ελεύθερων ριζών [69].



Εικόνα 44: Κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων **(α)** $[\text{Zn}(\text{mef-O},\text{O}')_2(\text{bipy})]$, **(β)** $[\text{Zn}(\text{mef-O})_2(\text{HrkoN},\text{N}')_2]\cdot\text{EtOH}$ και **(γ)** $[\text{Zn}(\text{mef-O})(\text{mef-O},\text{O}')(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]$ [69].

Ακόμα, έχουν συντεθεί πληθώρα σύμπλοκα του ψευδαργύρου με το ΜΣΑΦ tolfenamic acid (Htolf) όπως είναι τα μονοπυρηνικά σύμπλοκα $[\text{Zn}(\text{tolf})(\text{phen})\text{Cl}]$, $[\text{Zn}(\text{tolf})(\text{bipy})\text{Cl}]$, $[\text{Zn}(\text{tolf})_2(\text{phen})]$, $[\text{Zn}(\text{tolf-O})_2(\text{HrkoN},\text{N}')_2]$, $[\text{Zn}(\text{tolf})_2(\text{bipy})]$ και το τριπυρηνικό $[\text{Zn}_3(\text{tolf})_6(\text{CH}_3\text{OH})_2]$. Οι ενώσεις αυτές έχουν χαρακτηριστεί δομικά και παράλληλα έχει διερευνηθεί η βιολογική τους δράση. Τα αποτελέσματα που αφορούν την αντιοξειδωτική ικανότητα των συμπλόκων κρίνονται ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, καθώς εμφάνισαν ενισχυμένη δραστηριότητα έναντι καθιερωμένων ενώσεων αναφοράς όπως το Trolox [70], [71].



Εικόνα 45: Κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων **(α)** $[\text{Zn}_3(\text{tolf})_6(\text{CH}_3\text{OH})_2]$, **(β)** $[\text{Zn}(\text{tolf})(\text{phen})\text{Cl}]$, **(γ)** $[\text{Zn}(\text{tolf}-\text{O})_2(\text{HrkoN}, \text{N}')_2]$ και **(δ)** $[\text{Zn}(\text{tolf})_2(\text{bipy})]$ [70], [71].

Τέλος, έχουν παρασκευαστεί σύμπλοκα του ψευδαργύρου με το ΜΣΑΦ flufenamic acid (Hfluf), όπως το $[\text{Zn}(\text{fluf}-\text{O}, \text{O}')_2(\text{bipyam})]$. Το σύμπλοκο αυτό, όπως και τα παραπάνω, έχει χαρακτηριστεί δομικά και έχει μελετηθεί η βιολογική του δράση. Έτσι, διαπιστώθηκε ότι μπορεί να συνδεθεί με αλβουμίνες ορού και να αλληλεπιδράσει με το CT DNA μέσω παρεμβολής [72].

B. Πειραματικό μέρος

5. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

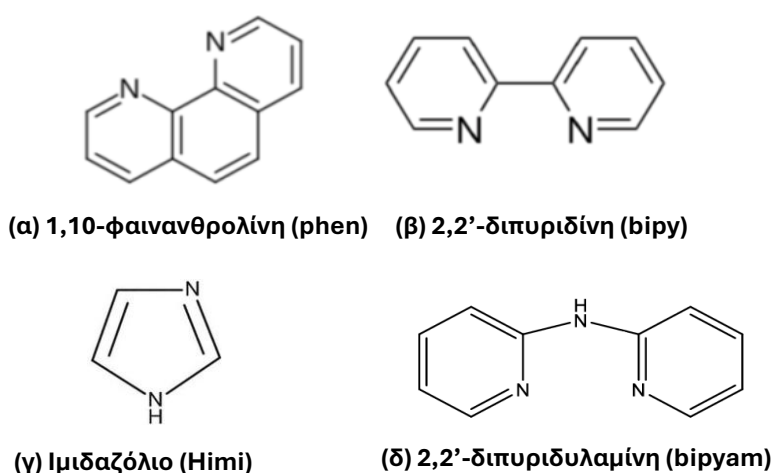
Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός συμπλόκων ενώσεων του ψευδαργύρου(II) με το 4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ (4'-Br-fenH) παρουσία ή απουσία *N*-δοτών ή *N,N'*-δοτών. Επίσης, στόχο αποτελεί η μελέτη της αλληλεπίδρασής τους με το calf-thymus DNA (CT DNA) και την αλβουμίνη βόειου (BSA) και ανθρώπινου ορού (HSA). Συγκεκριμένα, στη μελέτη των BSA και HSA περιλαμβάνεται και ο προσδιορισμός της πιθανής θέσης σύνδεσης των συμπλόκων μέσω πειραμάτων ανταγωνιστικής σύνδεσης παρουσία των δεικτών ιβουπροφαίνη (ibuprofen) και βαρφαρίνη (warfarin). Τέλος, το ερευνητικό μέρος της εργασίας ολοκληρώνεται με την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων.

6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ – ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

6.1 Αντιδραστήρια - Διαλύτες

Για τη σύνθεση του 4'-Br-fenH χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια 2-chlorobenzoic acid, 4-bromoaniline, CuSO_4 , K_2CO_3 και ο διαλύτης DMF. Για τη σύνθεση των συμπλόκων ενώσεων του Zn(II) χρησιμοποιήθηκε το άλας $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, ο *N*-δότης imidazole (Himi) της εταιρείας Sigma-Aldrich και οι *N,N'*-δότες 1,10-phenanthroline (phen) της εταιρείας Aldrich-Chemie, 2,2'-bipyridine (bipy) της εταιρείας Alfa Aesar και 2,2'-bipyridylamine (bipyam) της εταιρείας Sigma-Aldrich. Οι διαλύτες μεθανόλη (MeOH), διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) αγοράστηκαν από την εταιρεία Chemlab. Τα αντιδραστήρια trisodium citrate, NaCl, CT DNA, BSA, HSA και ethidium bromide (EB) που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις βιολογικές μελέτες ήταν από την εταιρεία Merck.

Για την παρασκευή του διαλύματος DNA, διαλύθηκε κατάλληλη ποσότητα CT DNA σε ρυθμιστικό διάλυμα, το οποίο περιείχε 150 mM NaCl και 15 mM trisodium citrate και pH = 7.0, κατόπιν ρύθμισής του με διάλυμα HCl 0.1 M. Ο λόγος των εντάσεων απορρόφησης του DNA στα 260 και 280 nm βρέθηκε μεγαλύτερος του 1.8, γεγονός που πιστοποιεί την καθαρότητα του διαλύματός του. Επίσης, με μέτρηση της απορρόφησης στα 260 nm και χρησιμοποιώντας τον τύπο Lambert-Beer $A = \varepsilon \cdot c \cdot d$, όπου $\varepsilon = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση του διαλύματος DNA που προέκυψε κατόπιν 1:20 αραίωσης κατ' όγκο του αρχικού διαλύματος.



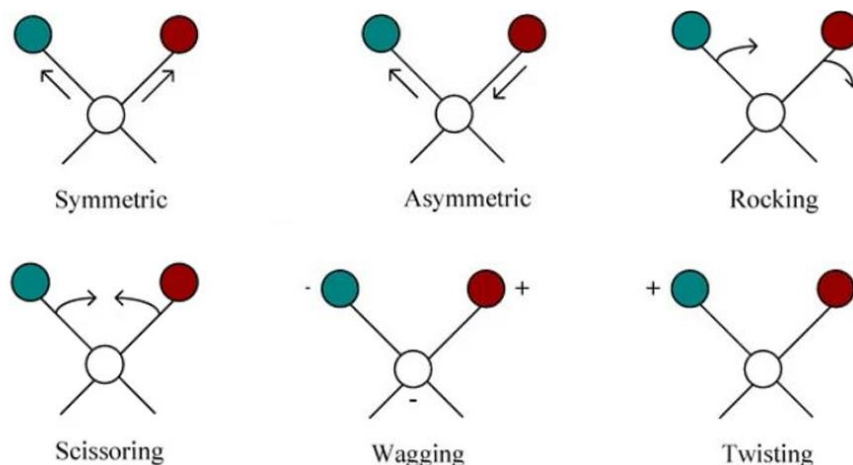
Εικόνα 46: Οι συντακτικοί τύποι των *N,N'*-δοτών και του *N*-δότη που χρησιμοποιήθηκαν.

6.2 Όργανα και τεχνικές - αρχές μεθόδου

Η μελέτη και ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν πραγματοποιήθηκε με τη χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών και μη, όπως είναι η φασματοσκοπία υπερύθρου (infrared spectroscopy, IR), η κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ (X-ray diffraction analysis), η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (ultraviolet-visible spectroscopy, UV-vis), ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (nuclear magnetic resonance, NMR), η φασματοσκοπία φθορισμού (fluorescence spectroscopy) και τέλος η ιξωδομετρία (viscometry).

6.2.1 Φασματοσκοπία υπερύθρου (Infrared spectroscopy, IR)

Ένα φάσμα υπερύθρου όπως και κάθε φάσμα απορρόφησης είναι η καταγραφή της απορροφούμενης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από μία ουσία ως συνάρτηση του μήκους κύματος. Τα άτομα σε ένα μόριο δεν είναι στατικά άλλα κινούνται συνεχώς και οι δεσμοί μεταξύ τους υφίστανται διάφορες δονήσεις τάσεως και κινήσεις κάμψεως που ονομάζονται δονήσεις δεσμού. Το κύμα μιας ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μπορεί να μεταφέρει ενέργεια στη δονητική κίνηση ενός δεσμού μόνο εάν υπάρχει ταύτιση μεταξύ της συχνότητας της ακτινοβολίας και της συχνότητας της δόνησης. Στην περίπτωση, αυτή η συχνότητα και η ένταση δόνησης του δεσμού αυξάνονται και παρατηρείται απορρόφηση της ακτινοβολίας. Η περιοχή του υπέρυθρου φάσματος εκφρασμένη σε κυματάρια (ο κυματάριας είναι το αντίστροφο του μήκους κύματος) κυμαίνεται μεταξύ 600 cm^{-1} και 3400 cm^{-1} . Οι παράγοντες που προσδιορίζουν τη θέση απορρόφησης σε ένα φάσμα IR είναι η ισχύς του δεσμού, οι μάζες των ατόμων που συμμετέχουν στον δεσμό και το είδος της παρατηρούμενης δόνησης. Το φάσμα IR μιας ένωσης περιέχει πολλές περισσότερες απορροφήσεις από αυτές που μπορεί εύκολα να ερμηνευτούν, οπότε είναι σημαντικό να προσδιορίζεται ποιες είναι οι σημαντικές. Σπάνια το φάσμα IR προσδιορίζει ολοκληρωτικά τη δομή μιας ένωσης. Οι πληροφορίες που παρέχει είναι διαγνωστικές, δηλαδή βεβαιώνουν την παρουσία μιας καθορισμένης λειτουργικής μονάδας στην ένωση που μελετάται και περιορίζει τις υπό εξέταση δομές [73]. Τα φάσματα υπερύθρου (IR) των συμπλόκων που παρασκευάστηκαν λήφθηκαν στην περιοχή $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ σε φασματόμετρο Thermo Scientific Nicolet iS20 FTIR.



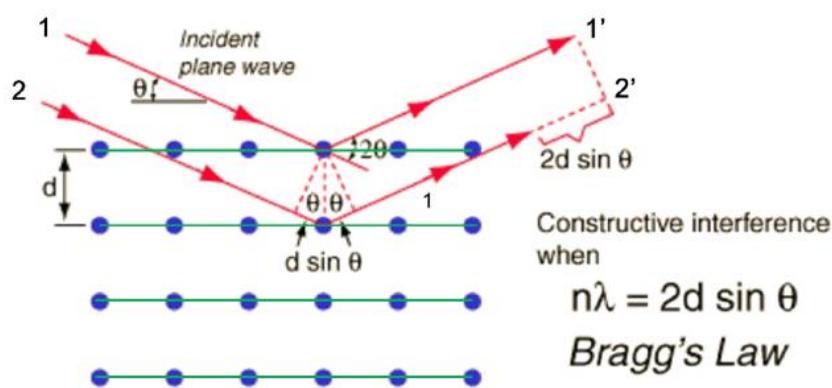
Εικόνα 47: Συμμετρική και αντισυμμετρική δόνηση τάσης, δονήσεις κάμψης εντός επιπέδου - αιώρησης (Rocking) και ψαλιδιού (Scissoring) και δονήσεις κάμψης εκτός επιπέδου - σείσης (Wagging) και συστροφής (Twisting) [74].

6.2.2 Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ (X-ray diffraction analysis)

Η βασική τεχνική για τον προσδιορισμό της δομής και της κρυσταλλικότητας των στερεών υλικών αποτελεί η περίθλαση ακτίνων-Χ (XRD). Παρέχει πληροφορίες για τη δομή, την κρυσταλλικότητα και τη χημική σύσταση των υλικών. Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, μία παράλληλη δέσμη ακτίνων εξέρχεται από πηγή μονοχρωματικής ακτινοβολίας και προσπίπτει υπό γωνία θ στο κρυσταλλικό πλέγμα του στερεού. Η αλληλεπίδραση των ακτίνων-Χ με τα δομικά σωματίδια (άτομα, μόρια ή ιόντα) του υλικού έχει ως αποτέλεσμα την τυχαία περίθλασή τους. Συνήθως οι ακτίνες που έχουν υποστεί περίθλαση αλληλοαναιρούνται διότι έχουν διαφορά φάσης και μειώνεται η έντασή τους, με αποτέλεσμα να μην ανιχνεύεται κάποια δέσμη των ακτίνων καθώς η σκέδαση δαπανάται μέσα στο στερεό (συμβαίνει στα άμορφα στερεά). Σε περιπτώσεις όμως που η διαφορά φάσης των περιθλώμενων ακτίνων είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, λαμβάνεται ισχυρή ανακλώμενη δέσμη ακτίνων με γωνία ανάκλασης ίση με την γωνία πρόσπτωσης. Η γωνία θ συνδέεται με το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας λ και την απόσταση των κρυσταλλογραφικών επιπέδων του υπό εξέταση στερεού d_{hkl} στην εξίσωση Bragg (1913):

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin(\theta)$$

Κάθε κρυσταλλικό στερεό εμφανίζει αντιπροσωπευτικές κορυφές ανάλογα με την γωνία θ , καθώς αυτή εξαρτάται από την απόσταση των κρυσταλλικών επιπέδων του στερεού. Επίσης η ένταση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας εξαρτάται από το είδος-φύση των δομικών του σωματιδίων [75].



Εικόνα 48: Οι περιθλώμενες ακτίνες **1'** και **2'** θα παρατηρηθούν (ανιχνευτούν) μόνο και μόνο όταν η διαφορά φάσης τους είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος, λ . Με μπλε είναι πλεγματικά σημεία και οι πράσινες γραμμές αντιστοιχούν σε επίπεδα κάθετα στο επίπεδο της εικόνας [75].

6.2.3 Φασματοσκοπία Υπεριώδους-Ορατού (Ultraviolet-visible spectroscopy, UV-vis)

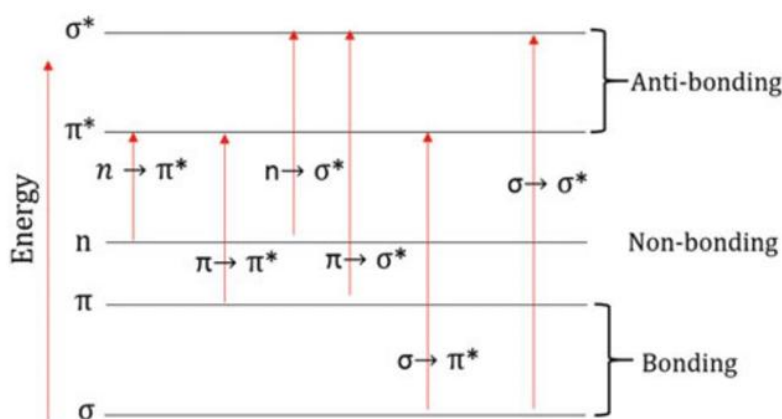
Η φασματοσκοπία UV-vis βασίζεται στο φαινόμενο της απορρόφησης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, όπου η ποσότητα αυτής που απορροφάται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της διαλυμένης ουσίας του δείγματος που αναλύεται. Επομένως, η απορρόφηση του φωτός αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση της συγκέντρωσης της υπό ανάλυση ένωσης. Στην περιοχή του υπεριώδους-ορατού, η απορρόφηση της ακτινοβολίας εξαρτάται άμεσα από την ηλεκτρονική διαμόρφωση των ενώσεων που απορροφούν είτε αυτά είναι άτομα, μόρια, ιόντα ή σύμπλοκα.

Κάθε ηλεκτρονική ενεργειακή στάθμη συνίσταται από επιμέρους δονητικά ενεργειακά επίπεδα, τα οποία με τη σειρά τους αποτελούνται από περιστροφικά επίπεδα. Σε ένα μόριο, τα ηλεκτρόνια εμπλέκονται με περισσότερους από έναν πυρήνες, συμμετέχοντας έτσι στον σχηματισμό δεσμών με διάφορα άτομα. Υπό την αλληλεπίδραση κατάλληλης ακτινοβολίας, τα ηλεκτρόνια αυτά υφίστανται μεταπτώσεις σε διάφορα ενεργειακά επίπεδα. Για να μπορέσει όμως ένα φωτόνιο να προκαλέσει μια μετάπτωση μεταξύ των επιπέδων αυτών, καθώς αλληλεπιδρά με ένα μόριο, θα πρέπει η διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο επιπέδων να είναι ίση με την ενέργεια του φωτονίου. Κατά την ανάλυση, η απορροφούμενη ακτινοβολία της υπό μελέτη ένωσης καταγράφεται συναρτήσει του μήκους κύματος και λαμβάνεται το αντίστοιχο φάσμα UV-vis. Πρόκειται για τη γραφική παράσταση της έντασης της απορρόφησης σε σχέση με το μήκος κύματος.

Όταν ένα μόριο απορροφά ακτινοβολία, τα ηλεκτρόνια σθένους του διεγείρονται και μεταπίπτουν από τη θεμελιώδη σε μία διεγερμένη κατάσταση. Έπειτα από την απορρόφηση ενέργειας, οι ηλεκτρονικές μεταπτώσεις πραγματοποιούνται από τη διεγερμένη κατάσταση

που διαθέτει τα υψηλότερα μοριακά τροχιακά (μη-δεσμικά). Το μήκος κύματος της απορροφούμενης ακτινοβολίας εξαρτάται από τη διαφορά ενέργειας μεταξύ του τροχιακού (E_2) στο οποίο βρίσκεται αρχικά το ηλεκτρόνιο (θεμελιώδης κατάσταση) και του τροχιακού (E_1) που μεταβαίνει (διεγερμένη κατάσταση).

Στις ενώσεις, τα ηλεκτρόνια συμμετέχουν στη δημιουργία ισχυρών σ -δεσμών, ασθενών π -δεσμών, αλλά και σε ζεύγη που είναι μη-δεσμικά (non-bonding). Με βάση το είδος του δεσμού, οι παρατηρούμενες ηλεκτρονικές μεταπτώσεις στη φασματοσκοπία UV-vis είναι οι $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ και $n \rightarrow \pi^*$ (**εικόνα 49**). Οι $\sigma \rightarrow \sigma^*$ μεταπτώσεις απαιτούν μεγάλο ποσό ενέργειας και άρα εμφανίζονται στην άπω-υπεριώδη περιοχή (120–200 nm). Αντίθετα, τόσο οι μεταπτώσεις $\pi \rightarrow \pi^*$ όσο και οι $n \rightarrow \sigma^*$ προϋποθέτουν χαμηλότερη ενέργεια και επομένως συμβαίνουν σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, συγκεκριμένα στα 160–190 nm και 150–250 nm, αντίστοιχα. Τέλος, οι μεταπτώσεις $n \rightarrow \pi^*$ είναι κι αυτές χαμηλής ενέργειας και εμφανίζονται σε μήκη κύματος μέχρι και 280 nm.



Εικόνα 49: Σχηματική απεικόνιση των διάφορων ηλεκτρονικών μεταπτώσεων.

Στην περίπτωση των συμπλόκων ενώσεων, εκτός από τις ενεργειακές καταστάσεις των ligand που σχετίζονται με τις προαναφερθείσες μεταπτώσεις, εξετάζονται και οι αντίστοιχες καταστάσεις των τροχιακών του μετάλλου. Σε ένα φάσμα UV-vis παρατηρούνται d-d διεγέρσεις, ταινίες μεταφοράς φορτίου (Charge transfer, CT) και intraligand μεταπτώσεις (IL) ανάλογα με την αρχική και την τελική κατάσταση του ηλεκτρονίου. Αρχικά, οι d-d μεταπτώσεις οφείλονται σε μετακινήσεις ηλεκτρονίων που πραγματοποιούνται μεταξύ τροχιακών του μετάλλου και εμφανίζονται σε μεγαλύτερο μήκος κύματος (μικρότερη ενέργεια). Επιπλέον, οι ταινίες μεταφοράς φορτίου αναφέρονται σε διεγέρσεις μεταξύ των τροχιακών του μετάλλου και των ligands. Ονομάζονται έτσι διότι το τροχιακό στο οποίο βρίσκεται το ηλεκτρόνιο στη διεγερμένη κατάσταση εντοπίζεται σε άλλη περιοχή του μορίου από εκείνη στην οποία άνηκε στη θεμελιώδη κατάσταση. Ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες,

τις ταινίες μεταφοράς από το μέταλλο στο ligand (MLCT) και τις ταινίες από το ligand στο μέταλλο (LMCT). Σε μικρότερα μήκη κύματος συναντώνται οι intraligand διεγέρσεις που συμβαίνουν μεταξύ των ενεργειακών επιπέδων των ligands [76].

Στο ένα φάσμα UV-vis μπορούν να ανιχνευθούν τέσσερα είδη μετατόπισης απορρόφησης. Αρχικά, υπάρχει η βαθυχρωμική ή ερυθρή μετατόπιση (bathochromic shift, red-shift), η οποία γίνεται αντιληπτή λόγω της μετατόπισης του $\lambda_{\max}$ σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, ενώ η υψιχρωμική ή κυανή μετατόπιση (hypsochromic shift, blue-shift) χαρακτηρίζεται από μετατόπιση του $\lambda_{\max}$ σε μικρότερες τιμές. Επιπλέον, στην περίπτωση που η απορρόφηση της ένωσης αυξάνεται, τότε πρόκειται για υπερχρωμική μετατόπιση (hyperchromic shift), ενώ αν παρουσιάζει ελάττωση τότε η μετατόπιση ονομάζεται υποχρωμική (hypochromic shift) [77].

Τα φάσματα UV-vis λήφθηκαν σε διάλυμα DMSO σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Hitachi U-2001 στην περιοχή 200-1100 nm, κάνοντας χρήση των κυψελίδων χαλαζία οπτικής διαδρομής 1 cm.

6.2.4 Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)

Ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός συνιστά μία φασματοσκοπική τεχνική, η οποία χρησιμοποιείται για την ανίχνευση πυρήνων που παρουσιάζουν μία μαγνητική ιδιότητα, το πυρηνικό spin. Η ένωση τοποθετείται μέσα σε μαγνητικό πεδίο και απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε συχνότητες που τη χαρακτηρίζουν. Συγκεκριμένα στη φασματοσκοπία υδρογόνου ^1H NMR, τα παρατηρούμενα σήματα δίνουν συγκεκριμένες πληροφορίες:

- Η θέση των σημάτων δείχνει πόσο προστατευμένος ή αποπροστατευμένος είναι ένας πυρήνας πρωτονίου (χημική μετατόπιση).
- Ο αριθμός των σημάτων δείχνει πόσα διαφορετικά είδη πρωτονίων βρίσκονται στην ένωση.
- Η ένταση των σημάτων δείχνει τον αριθμό των πρωτονίων του ίδιου τύπου.
- Η σχάση των σημάτων δείχνει τον αριθμό των πρωτονίων σε γειτονικά άτομα.

Στην παρούσα εργασία, η φασματοσκοπία ^1H NMR χρησιμοποιήθηκε με σκοπό την παρακολούθηση της συμπεριφοράς των συμπλόκων σε διάλυμα [73], [78]. Η λήψη του φάσματος έγινε σε διάλυμα DMSO- d_6 και το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Agilent 500/54 (500 MHz).

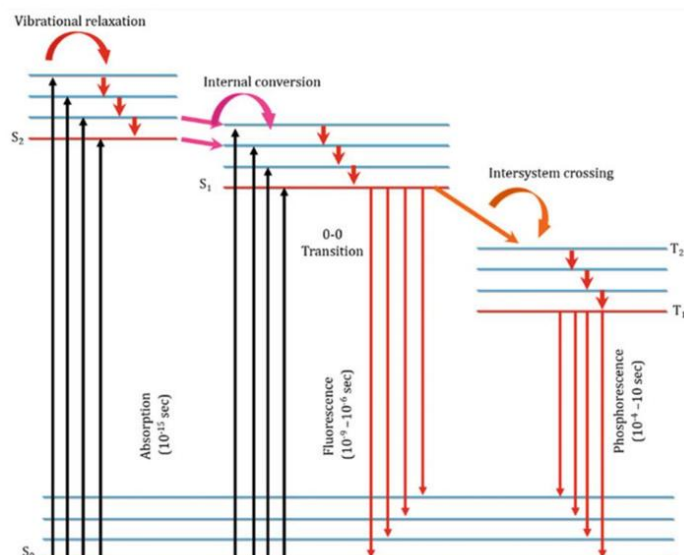
6.2.5 Φασματοσκοπία φθορισμού (Fluorescence spectroscopy, FL)

Η φασματοσκοπία φθορισμού στηρίζεται στο φαινόμενο της φωταύγειας. Ως *φωταύγεια* ορίζεται το φαινόμενο της εκπομπής ακτινοβολίας, κατά το οποίο τα μόρια απορροφούν ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος, με αποτέλεσμα να διεγείρονται από τη θεμελιώδη σε μία διεγερμένη κατάσταση και επιστρέφουν στην πρώτη, εκπέμποντας ακτινοβολία μεγαλύτερου μήκους κύματος από αυτό της απορρόφησης. Ο φθορισμός και ο φωσφορισμός αποτελούν δύο μορφές φωταύγειας. Όσον αφορά τον φθορισμό, χαρακτηρίζεται από ακαριαία εκπομπή της ακτινοβολίας, αμέσως μετά την απορρόφησή της και αποτελεί φαινόμενο μικρής διάρκειας. Αντίθετα, κατά τον φωσφορισμό παρατηρείται παρατεταμένη εκπομπή ακτινοβολίας, η οποία συνεχίζεται ακόμη και μετά τη διακοπή της απορρόφησής της, παρουσιάζοντας σημαντικά μεγαλύτερο χρόνο ζωής.

Όταν ένα ηλεκτρόνιο διεγείρεται από ένα ζεύγος ηλεκτρονίων, πραγματοποιείται μετάβαση από τη θεμελιώδη απλή κατάσταση, S_0 , είτε προς απλές διεγερμένες καταστάσεις ($S_1, S_2, \dots, S_n$), είτε προς τριπλές διεγερμένες καταστάσεις ($T_1, T_2, \dots, T_n$). Καθεμία από τις καταστάσεις αυτές περιλαμβάνει δονητικά και περιστροφικά επίπεδα. Αξίζει να σημειωθεί ότι, στην περίπτωση της απλής διεγερμένης κατάστασης, το διεγερμένο ηλεκτρόνιο διατηρεί αντιπαράλληλο spin ως προς το άλλο ηλεκτρόνιο της θεμελιώδους κατάστασης, ενώ στην τριπλή διεγερμένη κατάσταση το spin του γίνεται παράλληλο με αυτό.

Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί να πραγματοποιηθεί η αποδιέγερση του ηλεκτρονίου. Ειδικότερα, κατά τη διαδικασία της δονητικής χαλάρωσης (vibrational relaxation), η πλεονάζουσα ενέργεια μεταφέρεται από το διεγερμένο μόριο στα μόρια του διαλύτη, με αποτέλεσμα το μόριο να επιστρέφει στην πρώτη δονητική στάθμη της διεγερμένης κατάστασης. Ακολούθως, το μόριο μεταβαίνει, μέσω εσωτερικής μετατροπής (internal conversion), από την απλή διεγερμένη κατάσταση στην οποία βρίσκεται σε άλλη ίδιας πολλαπλότητας. Εάν το ηλεκτρόνιο βρεθεί στο πρώτο δονητικό επίπεδο της νέας απλής διεγερμένης κατάστασης, μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε φθορισμός (fluorescence), δηλαδή εκπομπή φωτονίου και επιστροφή στη θεμελιώδη κατάσταση, είτε διασυστηματική διασταύρωση (intersystem crossing). Στην περίπτωση αυτή, μεταφέρεται ενέργεια από την απλή στην τριπλή κατάσταση και ταυτόχρονα αλλάζει το spin. Τέλος, η αποδιέγερση από την τριπλή κατάσταση συντελείται με φωσφορισμό [77].

Η λήψη των φασμάτων φθορισμού πραγματοποιήθηκε με φθορισμόμετρο τύπου Hitachi F-7000.



Εικόνα 50: Σχηματική απεικόνιση των ηλεκτρονικών επιπέδων και μεταπτώσεων κατά τον φθορισμό και τον φωσφορισμό [77].

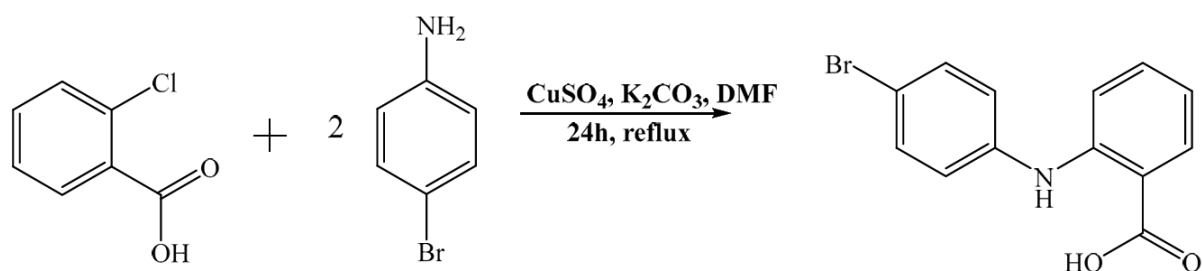
6.2.6 Ιξωδομετρία (Viscometry)

Για την μέτρηση του ιξώδους χρησιμοποιήθηκε το περιστροφικό ιξωδόμετρο τύπου ALPHAL της Fungilab, εφοδιασμένο με 18-mL LCP spindle στα 100 rpm.

6.3 Πειραματική πορεία σύνθεσης του ligand και των συμπλόκων

6.3.1 Σύνθεση του 4'-Br-fenH

Για τη σύνθεση του 4'-Br-fenH ζυγίστηκαν 0,86 g (5,5 mmol) 2-χλωρο-βενζοϊκού οξέος (2-chloro-benzoic acid), 1,89 g (11 mmol) 4-βρωμο-ανιλίνης (4-bromo-aniline), 0,275 g (2,8 mmol) K_2CO_3 , 0,025 g $CuSO_4$ και διαλύθηκαν σε ~5 mL DMF. Το μίγμα τοποθετήθηκε σε διάταξη reflux, θερμάνθηκε υπό ανάδευση μέχρι τους 150°C και αφέθηκε για 24 h (overnight). Στη συνέχεια, προστέθηκαν ~5 mL HCl 1M και αφέθηκε πάλι για 24 h σε θερμοκρασία δωματίου. Το ίζημα που δημιουργήθηκε απομακρύνθηκε με διήθηση και το διάλυμα αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για την αργή εξάτμιση του διαλύτη. Παραλήφθηκε σκούρο γκρι ίζημα ποσότητας 0,860 g (απόδοση 64%).



6.3.2 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)

Σε 13 mL MeOH διαλύεται το 4'-Br-fenH (0,050 g, 0,2 mmol). Έπειτα, προστίθενται σε αυτό 200 μ L KOH 1 M (0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 1h. Στη συνέχεια, το $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (0,1 mmol) διαλυμένο σε MeOH (3 mL) προστίθεται υπό ανάδευση. Το σχηματιζόμενο διάλυμα αφήνεται για ανάδευση για 0,5 h. Το ίζημα που δημιουργείται, παραλαμβάνεται μετά την εξάτμιση του διαλύτη σε θερμοκρασία δωματίου. Παραλήφθηκε μπεζ ίζημα 0,016 g (απόδοση 23%).

6.3.3 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)

Σε 13 mL MeOH διαλύεται το 4'-Br-fenH (0,050 g, 0,2 mmol). Έπειτα, προστίθενται σε αυτό 200 μ L KOH 1 M (0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 1h. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστίθεται υπό ανάδευση σε διάλυμα MeOH (3 mL) που περιέχει $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (0,026 g, 0,1 mmol) ταυτόχρονα με διάλυμα MeOH (3 mL) του *N,N'*-δότη phen (0,018 g, 0,1 mmol). Το σχηματιζόμενο διάλυμα αφήνεται για ανάδευση για 0,5 h. Κίτρινοι κρύσταλλοι κατάλληλοι (0,028 g, απόδοση 34%) για επίλυση της δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ απομονώθηκαν μετά την αργή εξάτμιση του διαλύτη σε θερμοκρασία δωματίου.

6.3.4 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)

Σε 13 mL MeOH διαλύεται το 4'-Br-fenH (0,050 g, 0,2 mmol). Έπειτα, προστίθενται σε αυτό 200 μ L KOH 1 M (0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 1h. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστίθεται υπό ανάδευση σε διάλυμα MeOH (3 mL) που περιέχει $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (0,026 g, 0,1 mmol) ταυτόχρονα με διάλυμα MeOH (3 mL) του *N,N'*-δότη bipy (0,016 g, 0,1 mmol). Το διάλυμα αφήνεται για ανάδευση για 0,5h. Μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για επίλυση της δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ απομονώθηκαν μετά την αργή εξάτμιση του διαλύτη σε θερμοκρασία δωματίου. Παραλήφθηκε υποκίτρινο προϊόν (0,023 g, απόδοση 28%).

6.3.5 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)

Σε 13 mL MeOH διαλύεται το 4'-Br-fenH (0,050 g, 0,2 mmol). Έπειτα, προστίθενται σε αυτό 200 μ L KOH 1 M (0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 1h. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστίθεται υπό ανάδευση σε διάλυμα MeOH (3 mL) που περιέχει $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (0,026 g, 0,1 mmol) ταυτόχρονα με διάλυμα MeOH (3 mL) του *N*-δότη Himi (0,0136 g, 0,2 mmol).

Το διάλυμα αφήνεται για ανάδευση για 0,5h. Το ίζημα που δημιουργείται, παραλαμβάνεται μετά την εξάτμιση του διαλύτη σε θερμοκρασία δωματίου. Παραλήφθηκε ανοιχτό γκρι ίζημα (0,022 g, απόδοση 28%).

6.3.6 Σύνθεση του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)

Σε 13 mL MeOH διαλύεται το 4'-Br-fenH (0,050 g, 0,2 mmol). Έπειτα, προστίθενται σε αυτό 200 μ L KOH 1 M (0,2 mmol) και το διάλυμα αναδεύεται για 1h. Στη συνέχεια, το διάλυμα προστίθεται υπό ανάδευση σε διάλυμα MeOH (3 mL) που περιέχει $Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (0,026 g, 0,1 mmol) ταυτόχρονα με διάλυμα MeOH (3 mL) του *N,N'*-δότη bipyam (0,017 g, 0,1 mmol). Το διάλυμα αφήνεται για ανάδευση για 0,5h. Μονοκρύσταλλοι κατάλληλοι για επίλυση της δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ απομονώθηκαν μετά την αργή εξάτμιση του διαλύτη σε θερμοκρασία δωματίου. Παραλήφθηκε κεραμέρυθρο προϊόν (0,021g, απόδοση 26%).

7. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Οι σύμπλοκες ενώσεις που παρασκευάστηκαν χαρακτηρίστηκαν με τις παρακάτω μεθόδους:

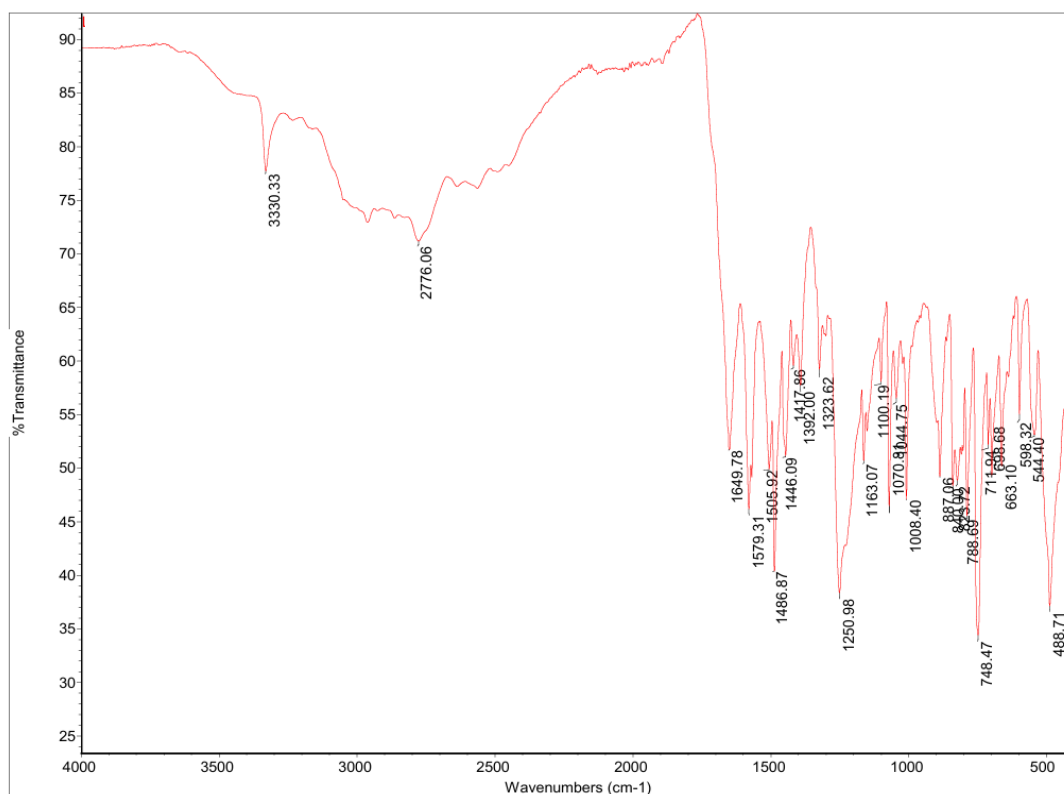
- Φασματοσκοπία υπέρυθρου (IR)
- Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (^1H NMR)
- Κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ

7.1 Φασματοσκοπία υπέρυθρου (IR)

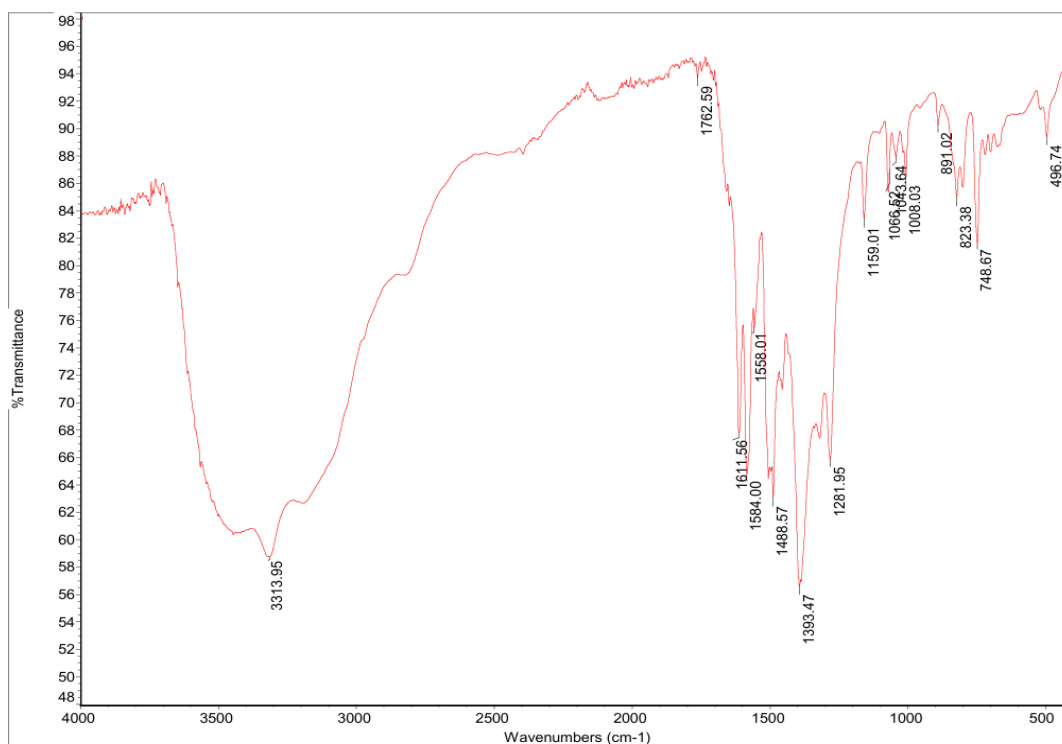
Η φασματοσκοπία υπέρυθρου (IR) χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων ή/και ατόμων που περιέχονται σε μία ένωση, η οποία απορροφά στην υπέρυθρη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Η υπέρυθρη ακτινοβολία εκτείνεται σε μήκη κύματος από 0,8 μm έως 200 μm και ταξινομείται σε 3 επιμέρους περιοχές, το εγγύς υπέρυθρο ($12.500\text{--}4.000\text{ cm}^{-1}$), το μέσο υπέρυθρο ($4.000\text{--}667\text{ cm}^{-1}$) και το άπω υπέρυθρο ($667\text{--}100\text{ cm}^{-1}$). Συνήθως, χρησιμοποιείται η έννοια του κυματάριθμου (cm^{-1}), ο οποίος είναι ανάλογος της συχνότητας και της ενέργειας και αντιστρόφως ανάλογος του μήκους κύματος [73]. Η φασματοσκοπία υπέρυθρου χρησιμοποιείται για ενώσεις που εμφανίζουν διπολική ροπή. Κατά την αλληλεπίδραση της υπέρυθρης ακτινοβολίας με την ένωση, προκαλούνται μεταβολές στη διπολική της ροπή, δημιουργώντας έτσι δονήσεις στο μόριο. Η αποτύπωση αυτών των δονήσεων στο φάσμα IR επιτρέπει την ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο [79].

Στο φάσμα του 4'-Br-fenH παρατηρήθηκαν τρεις χαρακτηριστικές κορυφές. Η πρώτη κορυφή στα 3330 cm^{-1} αφορά τη δόνηση τάσης του δεσμού O-H του καρβοξυλίου, η δεύτερη στα 1649 cm^{-1} αντιστοιχεί στο διπλό δεσμό C=O του καρβοξυλίου και η τρίτη στα 1250 cm^{-1} αντιστοιχεί στον απλό δεσμό C-O του καρβοξυλίου.

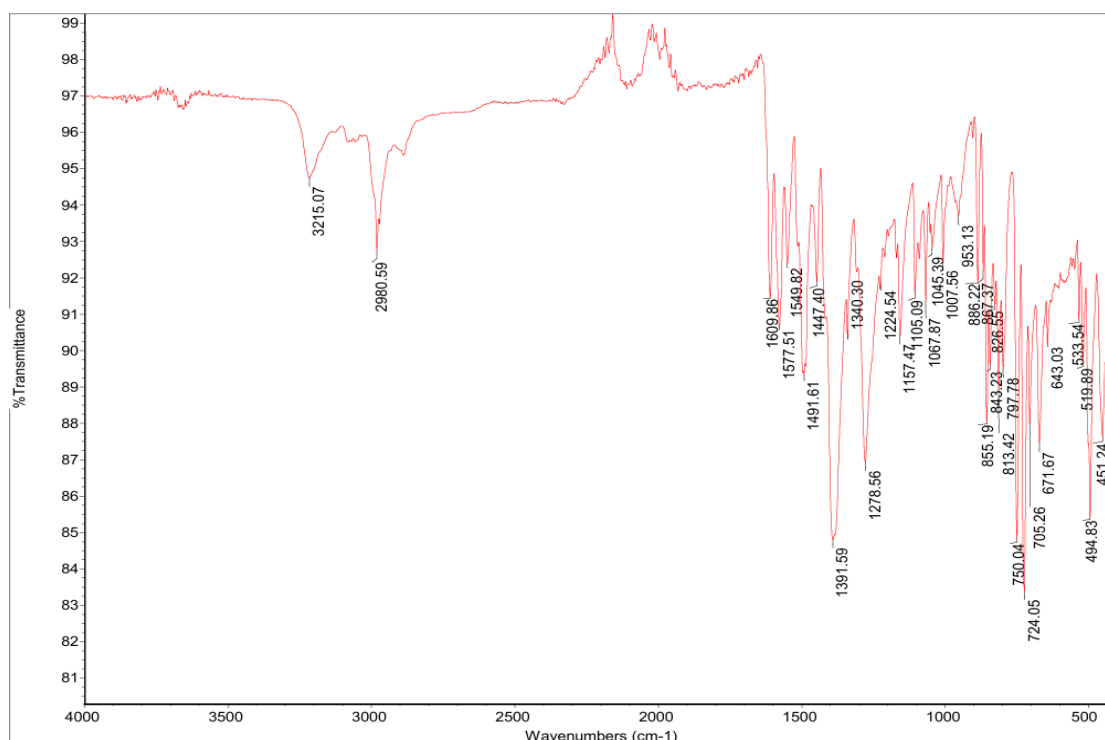
Το φάσματα IR του ligand φαίνεται στην **εικόνα 51** και των συμπλόκων **(1)** και **(2)** στις **εικόνες 52 και 53**. Τα φάσματα IR των υπόλοιπων συμπλόκων παρατίθενται στο Παράρτημα στην **εικόνα 76**.



Εικόνα 51: Φάσμα IR του 4'-Br-fenH.



Εικόνα 52: Φάσμα IR του συμπλόκου [Zn(4'-Br-fen)₂(MeOH)₄].



Εικόνα 53: Φάσμα IR του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$.

Πίνακας 6: Χαρακτηριστικές κορυφές (σε cm^{-1}) των συμπλόκων **(1)-(5)** στο φάσμα IR.

Σύμπλοκο	$\nu_{asym}(COO)$	$\nu_{sym}(COO)$	$\Delta\nu(COO)$	$\rho(C-H)_{N-/N,N'-\delta\acute{o}t\eta}$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	1612	1393	219	-
$[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	1577	1391	186	724
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	1575	1387	188	760
$[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	1578	1385	193	748
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	1576	1381	195	760

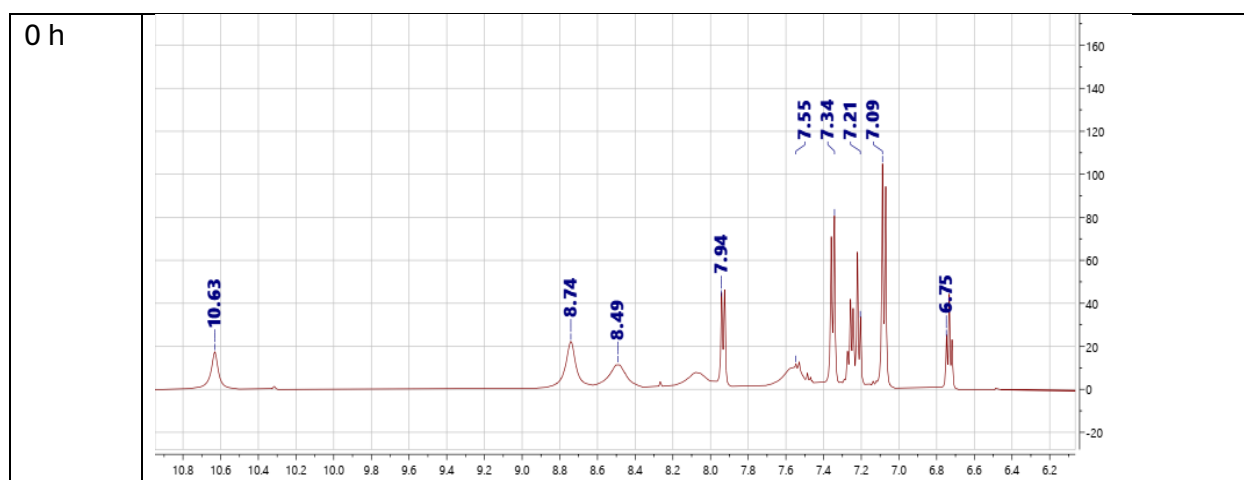
Όσον αφορά τα σύμπλοκα **(1)-(5)** δεν παρατηρείται η χαρακτηριστική κορυφή του δεσμού O-H του καρβοξυλίου του ligand, οπότε επιβεβαιώνεται ότι έχει πραγματοποιηθεί η αποπρωτονίωσή του και η συναρμογή του στο ιόν του μετάλλου. Ωστόσο, στο σύμπλοκο **(1)** εμφανίζεται μία ευρεία κορυφή στα 3313 cm^{-1} που οφείλεται στο δεσμό O-H του υδροξυλίου της MeOH. Παράλληλα, οι κορυφές των δονήσεων τάσης των δεσμών $(C=O)_{carboxyl}$ και $(C-O)_{carboxyl}$ μετατοπίζονται από τα 1650 στα $1575\text{-}1612\text{ cm}^{-1}$ και από τα 1250 στα $1381\text{-}1393\text{ cm}^{-1}$ και χαρακτηρίζονται ως αντισυμμετρική ($\nu_{asym}(COO)$), και συμμετρική ($\nu_{sym}(COO)$), αντίστοιχα, δόνηση τάσης. Ο υπολογισμός της διαφοράς $\Delta\nu(COO) = \nu_{asym}(COO) - \nu_{sym}(COO)$, επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων για τον πιθανό τρόπο συναρμογής μέσω της καρβοξυλικής ομάδας του ligand με το ιόν Zn^{2+} . Συγκεκριμένα όταν το $\Delta\nu(COO)$ είναι μεγαλύτερο από 190 cm^{-1} , το ligand συναρμόζεται μονοδραστικά με το μέταλλο, ενώ

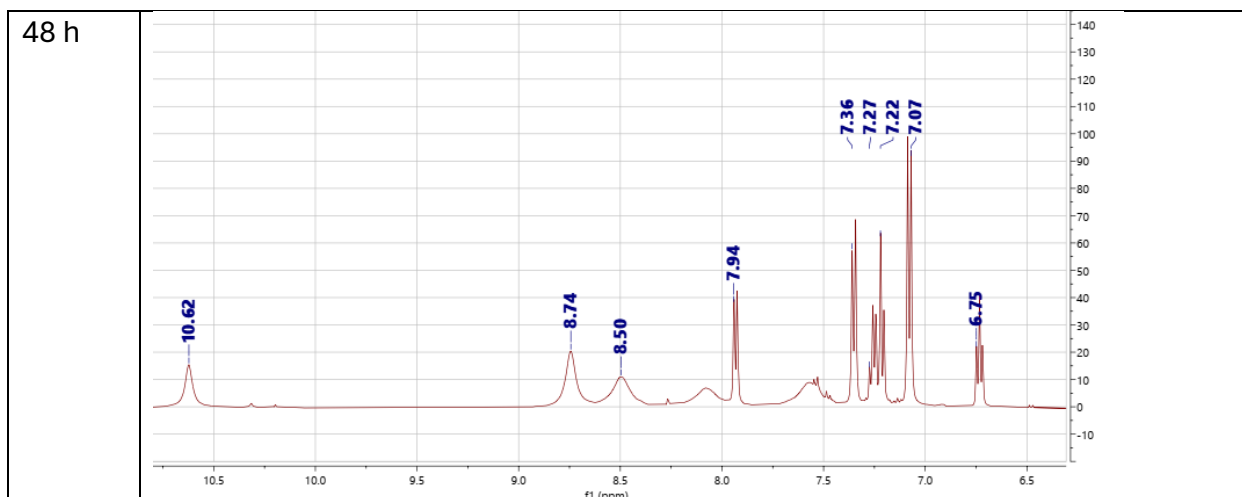
για τιμές $\Delta\nu(\text{COO})$ μεταξύ $170\text{-}190\text{ cm}^{-1}$, προτείνεται διδραστικός τρόπος συναρμογής [69]. Αναφορικά με το σύμπλοκο **(1)** το $\Delta\nu(\text{COO}) = 219\text{ cm}^{-1}$, γεγονός που δείχνει ότι το αποπρωτονιωμένο ligand συναρμόζεται στον Zn^{2+} με μονοδραστικό τρόπο. Για τα σύμπλοκα **(2)-(5)**, η $\Delta\nu(\text{COO})$ έχει τιμές $186\text{-}195\text{ cm}^{-1}$, ένδειξη ότι η καρβοξυλική ομάδα του 4'-Br-fen ligand συναρμόζεται ασύμμετρα διδραστικά χηλικά, σε συμφωνία και με τα αποτελέσματα της κρυσταλλογραφίας ακτίνων-Χ.

Επιπλέον, στην περιοχή $724\text{-}760\text{ cm}^{-1}$ εμφανίζονται κορυφές οι οποίες μπορούν να αποδοθούν στις εκτός του επιπέδου δονήσεις παραμόρφωσης των δεσμών C-H των αρωματικών υδρογόνων του *N*-δότη (Himi) και των *N,N'*-δοτών (phen, bipy, bipyam). Ειδικότερα, στο σύμπλοκο **(2)** που περιέχει phen η κορυφή παρατηρείται στα 724 cm^{-1} , στα σύμπλοκα **(3)** με bipy και **(5)** με bipyam στα 760 cm^{-1} και τέλος στο σύμπλοκο **(4)** με Himi στα 748 cm^{-1} .

7.2 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (^1H NMR)

Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού ^1H NMR χρησιμοποιήθηκε με σκοπό την παρακολούθηση της σταθερότητας των συμπλόκων του Zn σε διάλυμα. Τα φάσματα ^1H NMR των συμπλόκων του Zn καταγράφηκαν σε διάλυμα DMSO-d_6 και οι χημικές μετατοπίσεις των φασμάτων ^1H NMR για τα σύμπλοκα του Zn(II) δίνονται στον **πίνακα 7**. Η αρίθμηση για τις αντίστοιχες θέσεις H των συναρμοσμένων ligands δίνεται στην **εικόνα 77** του Παραρτήματος. Επίσης, στην **εικόνα 54** φαίνονται τα φάσματα που λήφθηκαν σε χρόνο 0 h και 48 h για το σύμπλοκο $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ **(3)**, ενώ τα αντίστοιχα φάσματα για τα υπόλοιπα σύμπλοκα παρατίθενται στις **εικόνες 78-82** του Παραρτήματος.





Εικόνα 54: Φάσματα ^1H -NMR σε 0h και 48h του $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ σε DMSO-d_6 .

Πίνακας 7: Χημικές μετατοπίσεις δ (σε ppm) στα φάσματα ^1H NMR των συμπλόκων του Zn(II) .

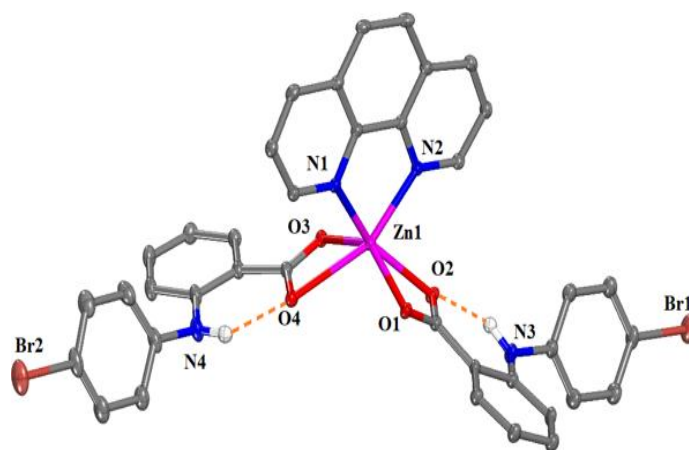
Πρωτόνιο	$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (1)	$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (2)	$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ (3)	$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{Himi})_2]$ (4)	$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (5)
H_1	10.39	10.46	10.63	10.63	10.38
H_2	7.39	7.36	7.34	7.36	7.39
H_3	7.29	7.26	7.27-7.30	7.20-7.30	7.31
H_4	6.76	6.71	6.75	6.72	6.75
H_5	7.23	7.25	7.21	7.20-7.30	7.22-7.28
H_6	7.11	7.05	7.09	7.09	7.10
H_7	7.96	7.93	7.94	7.94	7.96
H_8	3.33	9.20	8.74	8.74	9.97
H_9	3.33	8.08	7.55	7.00-7.10	7.57
H_{10}		8.90	8.10	7.00-7.10	7.74
H_{11}		8.27	8.49	8.10	6.95
H_{12}		8.27			8.27

Οι χημικές μετατοπίσεις δ (ppm) επιβεβαιώνουν την ύπαρξη των ligand σε όλα τα σύμπλοκα καθώς εμφανίζονται όλες οι αναμενόμενες κορυφές τους στο φάσμα ^1H NMR. Στα φάσματα ^1H NMR που ελήφθησαν για το κάθε σύμπλοκο στις χρονικές στιγμές 0 και 48 h, δεν παρατηρήθηκε καμία κορυφή που να αποδίδεται σε πιθανή διάσπαση του συμπλόκου, και κατά συνέπεια τα σύμπλοκα στο διάλυμα DMSO παραμένουν σταθερά με τον χρόνο.

7.3 Κρυσταλλογραφία ακτίνων-X

7.3.1 Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (2)

Το σύμπλοκο $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (2) είναι μονοπυρηνικό και η δομή του απεικονίζεται στην **εικόνα 55**. Στον **πίνακα 8** παρατίθενται μήκη και γωνίες επιλεγμένων δεσμών.



Εικόνα 55: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (**2**). Τα αρωματικά άτομα H παραλείπονται για λόγους ευκρίνειας της δομής. Οι πορτοκαλί διακεκομμένες γραμμές υποδηλώνουν δεσμούς H.

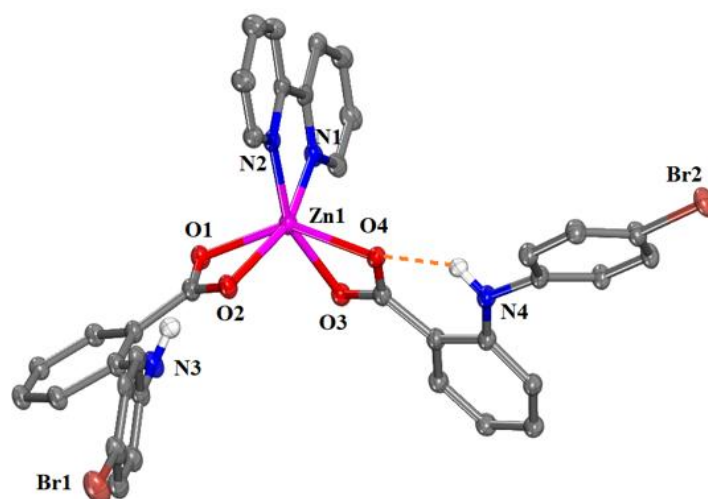
Πίνακας 8: Μήκη (Å) και γωνίες (°) επιλεγμένων δεσμών του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (**2**).

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Γωνία	(°)	Γωνία	(°)
Zn1—O1	1.990 (2)	O1—Zn1—O2	59.05 (9)	O3—Zn1—N1	99.61 (10)
Zn1—O2	2.388 (2)	O1—Zn1—O3	132.41 (10)	O4—Zn1—N1	85.54 (9)
Zn1—O3	1.997 (2)	O2—Zn1—O3	96.39 (9)	O1—Zn1—N2	109.33 (10)
Zn1—O4	2.460 (2)	O1—Zn1—O4	91.71 (9)	O2—Zn1—N2	86.02 (9)
Zn1—N1	2.119 (3)	O2—Zn1—O4	111.74 (9)	O3—Zn1—N2	108.53 (10)
Zn1—N2	2.113 (3)	O3—Zn1—O4	57.99 (9)	O4—Zn1—N2	157.79 (9)
		O1—Zn1—N1	114.81 (10)	N1—Zn1—N2	79.31 (10)
		O2—Zn1—N1	161.04 (9)		

Το κάθε 4'-Br-fen ligand συναρμόζεται με το Zn(II) ασύμμετρα διδραστικά χηλικά μέσω των δύο καρβοξυλικών οξυγόνων (O1 και O2, O3 και O4). Τη σφαίρα συναρμογής συμπληρώνουν τα δύο άτομα N (N1 και N2) της 1,10-φαινανθρολίνης (phen). Το Zn^{2+} έχει αριθμό συναρμογής έξι και εμφανίζει παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Τέλος, σχηματίζονται intra-ligand δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των αμινικών υδρογόνων και των καρβοξυλικών οξυγόνων των 4'-Br-fen ligand.

7.3.2 Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (**3**)

Το σύμπλοκο $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (**3**) είναι μονοπυρηνικό και η δομή του απεικονίζεται στην **εικόνα 56**. Στον **πίνακα 9** παρατίθενται μήκη και γωνίες επιλεγμένων δεσμών της σφαίρας συναρμογής.



Εικόνα 56: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (**3**). Τα αρωματικά άτομα H παραλείπονται για λόγους ευκρίνειας της δομής. Οι πορτοκαλί διακεκομμένες γραμμές υποδηλώνουν δεσμούς H.

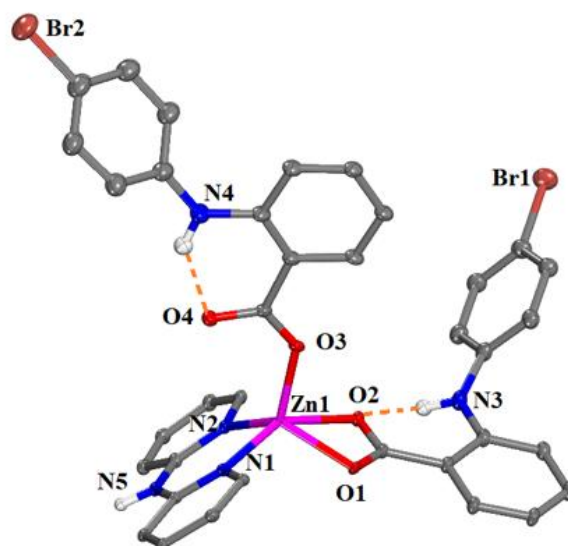
Πίνακας 9: Μήκη (Å) και γωνίες (°) επιλεγμένων δεσμών του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (**3**).

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Γωνία	(°)	Γωνία	(°)
Zn1—O1	2.089 (3)	O1—Zn1—O2	59.73 (8)	O2—Zn1—N1	161.29 (8)
Zn1—O2	2.309 (2)	O1—Zn1—O3	94.32 (9)	O3—Zn1—N1	91.56 (12)
Zn1—O3	2.147 (2)	O2—Zn1—O3	100.31 (10)	O4—Zn1—N1	105.55 (10)
Zn1—O4	2.174 (2)	O1—Zn1—O4	140.56 (8)	O1—Zn1—N2	107.46 (9)
Zn1—N1	2.086 (3)	O2—Zn1—O4	92.90 (9)	O2—Zn1—N2	95.05 (10)
Zn1—N2	2.089 (3)	O3—Zn1—O4	60.94 (8)	O3—Zn1—N2	157.66 (8)
		O1—Zn1—N1	105.30 (9)	O4—Zn1—N2	102.41 (10)
				N1—Zn1—N2	78.19 (11)

Το κάθε 4'-Br-fen ligand συναρμόζεται με το Zn(II) ασύμμετρα διδραστικά χηλικά μέσω των δύο καρβοξυλικών οξυγόνων (O1 και O2, O3 και O4). Τη σφαίρα συναρμογής συμπληρώνουν τα δύο άτομα N (N1 και N2) της 2,2'-διπυριδίνης (bipy). Ο αριθμός συναρμογής του Zn(II) είναι έξι και η γεωμετρία του είναι παραμορφωμένη οκταεδρική. Τέλος, σχηματίζεται ένας intra-ligand δεσμός υδρογόνου μεταξύ του αμινικού υδρογόνου και του καρβοξυλικού οξυγόνου του ενός 4'-Br-fen ligand.

7.3.3 Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (**5**)

Το σύμπλοκο $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (**5**) είναι μονοπυρηνικό και η δομή του απεικονίζεται στην **εικόνα 57**. Στον **πίνακα 10** που ακολουθεί παρατίθενται μήκη και γωνίες επιλεγμένων δεσμών.



Εικόνα 57: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (**5**). Τα αρωματικά άτομα H παραλείπονται για λόγους ευκρίνειας της δομής. Οι πορτοκαλί διακεκομμένες γραμμές υποδηλώνουν δεσμούς H.

Πίνακας 10: Μήκη (Å) και γωνίες (°) επιλεγμένων δεσμών του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (**5**).

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Γωνία	(°)	Γωνία	(°)
Zn1—O1	2.040 (2)	O1—Zn1—O2	58.90 (10)	O3—Zn1—N1	111.95 (13)
Zn1—O2	2.268 (3)	O1—Zn1—O3	102.82 (11)	O1—Zn1—N2	128.41 (12)
Zn1—O3	1.905 (3)	O2—Zn1—O3	95.22 (11)	O2—Zn1—N2	89.08 (12)
Zn1—N1	2.042 (3)	O1—Zn1—N1	97.28 (12)	O3—Zn1—N2	120.78 (12)
Zn1—N2	2.022 (3)	O2—Zn1—N1	147.96 (11)	N1—Zn1—N2	91.08 (13)

Το ένα 4'-Br-fen ligand συναρμόζεται με τον Zn ασύμμετρα διδραστικά χηλικά μέσω των δύο καρβοξυλικών οξυγόνων (O1 και O2), ενώ το άλλο 4'-Br-fen ligand συναρμόζεται μονοδραστικά μέσω του O3. Τη σφαίρα συναρμογής του πεντα-συναρμοσμένου Zn1 συμπληρώνουν τα δύο άτομα N (N1 και N2) της 2,2'-διπυριδυλαμίνης (bipyam).

Όταν ο αριθμός συναρμογής είναι πέντε, υπάρχουν δύο πιθανές γεωμετρίες γύρω από το μεταλλικό ιόν, η τετραγωνική πυραμίδα και η τριγωνική διπυραμίδα. Για το σύμπλοκο (**5**), υπολογίστηκε ο δείκτης τριγωνικότητας, που ορίζεται ως εξής:

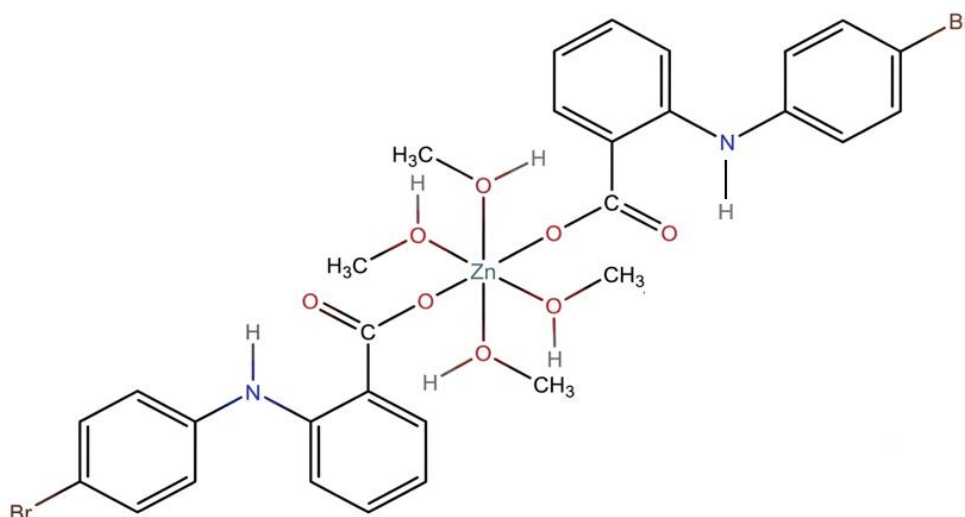
$$\tau = \frac{\beta - \alpha}{60} = \frac{147.96 - 128.41}{60} = 0.33$$

όπου β και α είναι οι δύο μεγαλύτερες γωνίες στη σφαίρα συναρμογής του μετάλλου με $\beta > \alpha$. Για $\tau = 0$ η γεωμετρία είναι τετραγωνική πυραμίδα, ενώ για $\tau = 1$ τριγωνική διπυραμίδα [9]. Για το σύμπλοκο βρέθηκε $\tau = 0.33$, γεγονός που υποδηλώνει ότι η γεωμετρία γύρω από τον Zn(II) είναι παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική.

Τέλος, σχηματίζονται intra-ligand δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των αμινικών υδρογόνων και των καρβοξυλικών οξυγόνων των ligands.

7.3.4 Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (**1**)

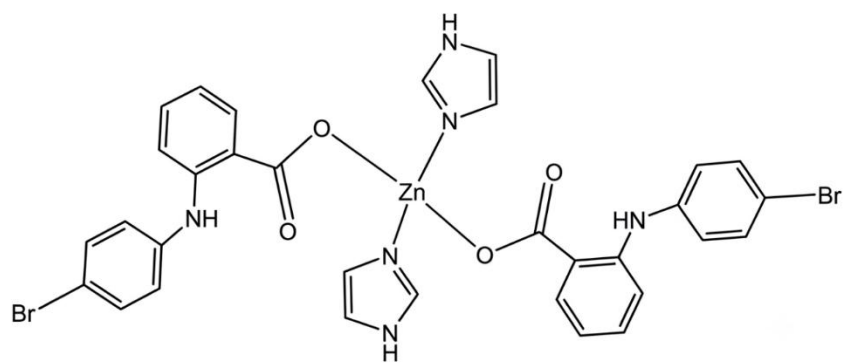
Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα, προτείνεται η πιθανή δομή για το σύμπλοκο (**1**) για το οποίο δεν κατέστη εφικτή η απομόνωση μονοκρυστάλλων κατάλληλων για επίλυση δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Η ένωση παρουσιάζει παρόμοια δομή με το σύμπλοκο του Co(II) $[\text{Co}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$, το οποίο έχει το ίδιο ligand και εμφανίζει παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία [61]. Το σύμπλοκο $[Zn(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ είναι μονοπυρηνικό και το Zn(II) έχει αριθμό συναρμογής έξι, και συναρμόζεται με ένα καρβοξυλικό O από τα δύο μονοδραστικά 4'-Br-fen ligand και τέσσερα ligand MeOH. Το Zn(II) εμφανίζει παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία.



Εικόνα 58: Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (**1**).

7.3.5 Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(4'\text{-Br-fen})_2(\text{Himi})_2]$ (**4**)

Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα ($\Delta\nu(\text{COO}) = 193 \text{ cm}^{-1}$), προτείνεται η πιθανή δομή για το σύμπλοκο (**4**) για το οποίο δεν κατέστη εφικτή η απομόνωση μονοκρυστάλλων κατάλληλων για επίλυση δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Η ένωση παρουσιάζει παρόμοια δομή με το σύμπλοκο $[\text{Co}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{Himi})_2]$, το οποίο περιέχει το ίδιο ligand 4'-Br-fen, καθώς και με τα σύμπλοκα $[\text{Co}(\text{dicl})_2(\text{Himi})_2]$ ($\text{Hdicl} = \text{diclofenac}$), $[\text{Co}(\text{tolf})_2(\text{Himi})_2]$ και $[\text{Co}(\text{mef})_2(\text{Himi})_2]$ [61], [80], [81]. Το σύμπλοκο $[Zn(4'\text{-Br-fen})_2(\text{Himi})_2]$ είναι μονοπυρηνικό και το Zn(II) έχει αριθμό συναρμογής τέσσερα, συναρμόζεται με τα μονοδραστικά 4'-Br-fen ligand και με δύο ligand Himi.

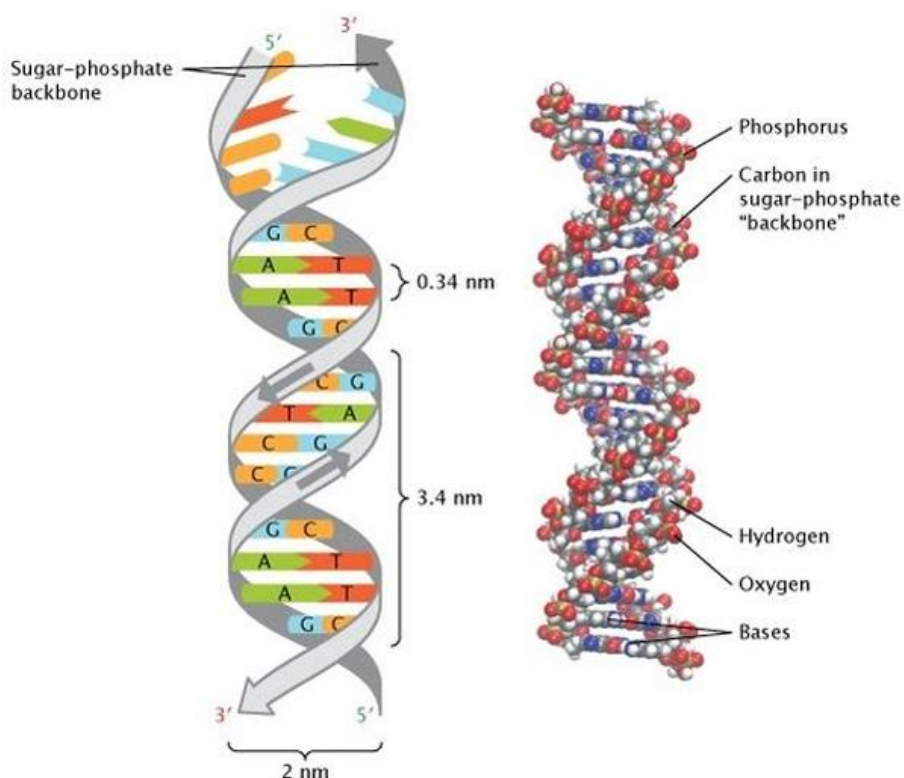


Εικόνα 59: Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (**4**).

8. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ

8.1 Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA

Μεταξύ των σημαντικότερων επιστημονικών επιτευγμάτων του 20^{ου} αιώνα συγκαταλέγεται και η ανακάλυψη της τρισδιάστατης δομής του DNA από τους Watson και Crick το 1953. Πρόκειται για ένα νουκλεϊκό οξύ, το οποίο περιέχει τις γενετικές πληροφορίες που καθορίζουν τη βιολογική ανάπτυξη όλων των κυτταρικών μορφών ζωής. Η δευτεροταγής δομή του DNA σταθεροποιείται κυρίως μέσω π-π αλληλεπιδράσεων των αρωματικών δακτυλίων των νουκλεοβάσεων [82], [83].

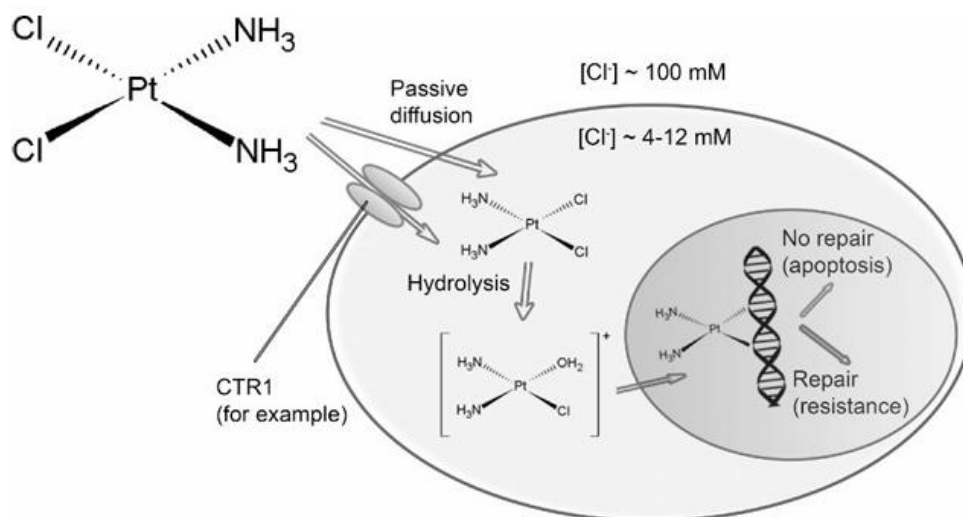


Εικόνα 60: Δομή διπλής έλικας του DNA [84].

Η αλληλεπίδραση χημικών ενώσεων με το DNA πραγματοποιείται με διάφορους τρόπους και μπορεί να είναι μόνιμη ή αντιστρεπτή. Συγκεκριμένα, η αντιστρεπτή σύνδεση συνεπάγεται την ανάπτυξη μη-ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, ενώ η μόνιμη χαρακτηρίζεται από τη δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ του μορίου και του DNA. Στις μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνονται οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, η συναρμογή στην αύλακα και η παρεμβολή. Ωστόσο, οι σύμπλοκες ενώσεις μπορούν να προκαλέσουν και ρήξη στο DNA (σπάσιμο κλώνων ή αλυσίδας) [85], [86].

- Ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις

Σε αυτή την περίπτωση πραγματοποιείται αντικατάσταση ενός ή/και περισσότερων ευκίνητων ligands του συμπλόκου από το άτομο N μίας νουκλεοβάσης του DNA, όπως είναι για παράδειγμα το άζωτο-7 της γουανίνης. Το cisplatin $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, ένα αντικαρκινικό φάρμακο του λευκοχρύσου, δρα με αυτόν τον τρόπο. Συγκεκριμένα, αποβάλλει δύο ανιόντα Cl^- και συναρμόζεται στην έλικα του DNA μέσω του Pt ως $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$, προκαλώντας έτσι κάμψη κατά 26° στην κύρια αύλακα του DNA [85].



Εικόνα 61: Μηχανισμός δράσης του *cisplatin* [87].

- Μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις

Στην κατηγορία των μη-ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων εμπίπτουν οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, η παρεμβολή καθώς και η επιφανειακή σύνδεση των συμπλόκων στη μικρή ή τη μεγάλη αύλακα του DNA. Η σταθερότητα του συστήματος DNA-συμπλόκου ενισχύεται σημαντικά από την ανάπτυξη μη-ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, όπως είναι οι δεσμοί υδρογόνου, οι π-π αλληλεπιδράσεις και οι δυνάμεις van der Waals [85].

I. Παρεμβολή (intercalation)

Κατά την παρεμβολή πραγματοποιείται μερική εισχώρηση των αρωματικών ετεροκυκλικών δακτυλίων των ligand ανάμεσα σε γειτονικές βάσεις του DNA (**εικόνα 62**). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση των ζευγών βάσεων του DNA περισσότερο από $3,4 \text{ \AA}$, ενώ ταυτόχρονα ξετυλίγεται τοπικά η διπλή έλικα [88], [86].

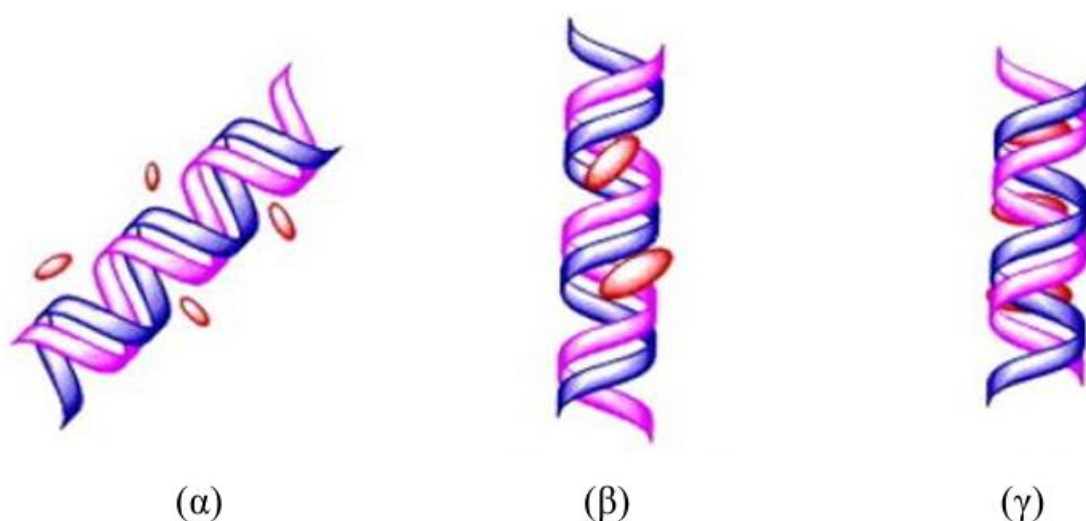
II. Σύνδεση στην αύλακα (groove-binding)

Σε αυτόν τον τύπο αλληλεπίδρασης πραγματοποιείται υδρόφοβη μετακίνηση του ligand από το διάλυμα προς την έλικα, με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται μη-ομοιοπολικές μοριακές αλληλεπιδράσεις. Τέτοιες είναι οι δεσμοί van der Waals με τα τοιχώματα της

αύλακας και οι δεσμοί υδρογόνου με τα ζεύγη αδενίνης-θυμίνης (**εικόνα 62**). Το αντιβιοτικό netropsin αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα ένωσης που αλληλεπιδρά με το DNA μέσω σύνδεσης στην αύλακα [85].

III. Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση (external binding)

Η συγκεκριμένη κατηγορία αφορά αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής φύσης. Ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις λαμβάνουν χώρα όταν κατιονικά σύμπλοκα συναρμόζονται εξωτερικά στην επιφάνεια του DNA και οφείλονται σε δυνάμεις Coulomb που αναπτύσσονται μεταξύ των φωσφορικών ομάδων του DNA και των θετικά φορτισμένων συμπλόκων (**εικόνα 62**) [86].



Εικόνα 62: Τύποι αλληλεπιδράσεων με το DNA. (α) Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση, (β) Σύνδεση στην αύλακα και (γ) Παρεμβολή [89].

- Ρήξη

Τα σύμπλοκα που προκαλούν ρήξη στο DNA έχουν δράση χημικής νουκλεάσης. Αρχικά, αποδομούν το DNA και εισχωρούν σε αυτό έπειτα από διάρρηξή του είτε μέσω των φωσφορικών μονοεστέρων είτε τροποποιώντας τα σάκχαρα στην 3'- και την 5'- θέση. Η ρήξη του DNA επιτυγχάνεται μέσω οξειδωτικού ή υδρολυτικού μηχανισμού ή/και φωτολυτικά. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον κατακερματισμό του DNA και τη διάσπασή του σε μικρότερα θραύσματα. Εκτός από τον κατακερματισμό, όμως, συμβαίνει και απομάκρυνση των δύο κλώνων του δίκλωνου DNA, καθώς σπάζουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών βάσεων που τους ενώνουν. Συνεπώς, ολόκληρο ή μέρος του δίκλωνου DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο [85].

8.1.1 Μελέτη της αλληλεπίδρασης με το DNA με φασματοσκοπία UV-vis

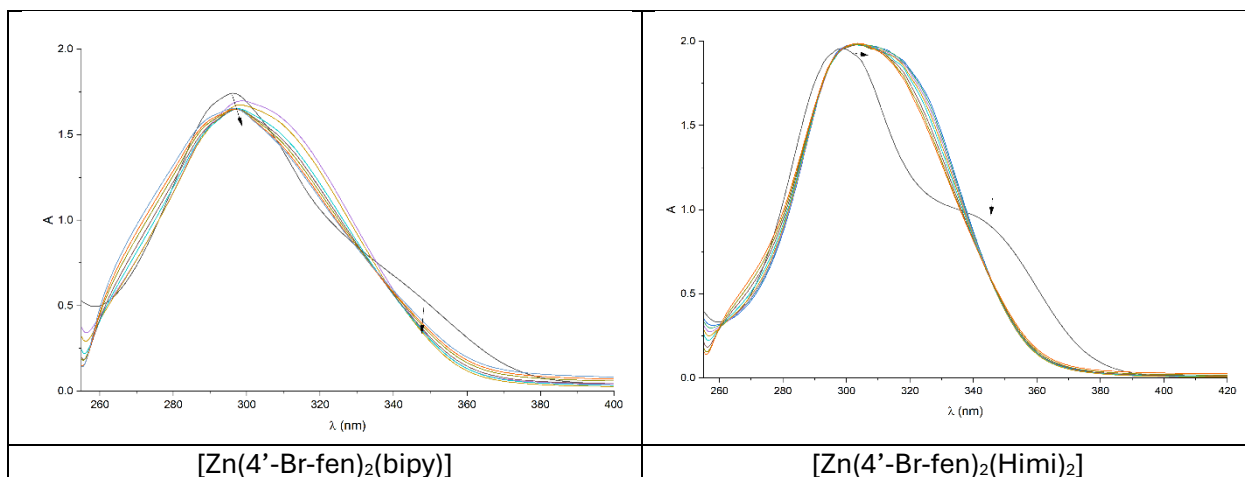
Με τη φασματοσκοπία UV-vis καθίσταται δυνατή η διερεύνηση του τρόπου αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το CT DNA, καθώς και ο υπολογισμός της σταθεράς σύνδεσης K_b , προκειμένου να προσδιοριστεί η ισχύς της σύνδεσης των ενώσεων σε αυτό. Για αυτόν τον λόγο πραγματοποιούνται διαδοχικές προσθήκες αυξανόμενων ποσοτήτων DNA στο διάλυμα του συμπλόκου και λαμβάνεται το αντίστοιχο φάσμα απορρόφησης. Μεταβολές στο φάσμα όπως αυτές που παρατηρούνται στο μέγιστο της απορρόφησης και στο μήκος κύματος που αυτό εμφανίζεται, παρέχουν πληροφορίες για τον τρόπο αλληλεπίδρασης του DNA με τις ενώσεις. Πιο συγκεκριμένα, μείωση της απορρόφησης (υποχρωμία) και ταυτόχρονα μετατόπιση του λ_{max} σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (βαθυχρωμία) αποτελούν ένδειξη παρεμβολής. Αντιθέτως, η αύξηση της απορρόφησης (υπερχρωμία) αντιστοιχεί είτε σε συναρμογή στην αύλακα είτε σε εξωτερική συναρμογή. Τέλος, η υψιχρωμία, δηλαδή η μετατόπιση του λ_{max} σε μικρότερα μήκη κύματος είναι ένδειξη αποσταθεροποίησης της έλικας του DNA [85], [90].

Για τον υπολογισμό της σταθεράς σύνδεσης K_b αξιοποιήθηκαν τα διαγράμματα $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ συναρτήσει της $[DNA]$ και η εξίσωση Wolfe-Shimer. Ο λόγος της τεταγμένης επί την αρχή προς την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων των παραπάνω διαγραμμάτων δίνει την K_b .

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

όπου $[DNA]$: η συγκέντρωση του DNA, ϵ_A : ο λόγος της απορρόφησης προς την 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 K_b : η σταθερά σύνδεσης στο DNA [17].

Στην **εικόνα 63** παρατίθενται τα φάσματα UV-vis των συμπλόκων $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ και $[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ σε DMSO (και για τα υπόλοιπα σύμπλοκα στο Παράρτημα στην **εικόνα 83**), παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων CT DNA. Στα φάσματα των συμπλόκων **(1)-(4)**, η προσθήκη CT DNA προκαλεί υποχρωμία της ταινίας, γεγονός που αποτελεί ένδειξη παρεμβολής. Στα περισσότερα σύμπλοκα εκδηλώνεται βαθυχρωμία, που σημαίνει πιθανή σταθεροποίηση της έλικας του DNA [61].



Εικόνα 63: Φάσματα UV-vis των συμπλόκων $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (**3**) και $[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (**4**) σε διάλυμα DMSO παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων CT DNA. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη CT DNA.

Πίνακας 11: Μέγιστα μήκη κύματος λ_{max} (σε nm), ποσοστά υπερχρωμίας ή υποχρωμίας ($\Delta A/A_o$, σε %), ερυθρή ή κυανή μετατόπιση ($\Delta\lambda$, σε nm), σταθερές σύνδεσης στο DNA K_b .

Ένωση	λ_{max} (nm) ($\Delta A/A_o$ (%) ^α , $\Delta\lambda$ (nm) ^β	K_b (M ⁻¹)
4'-Br-fenH	301 (+8 ^α , +9 ^β), 347 (-40 ^α , εξαφ ^γ)	$4.42(\pm 0.30) \times 10^4$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	298 (-3, 0)	$3.64(\pm 0.44) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	273 (-13, -6), 294 (-8, 0)	$3.47(\pm 0.22) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	296 (-6, +2)	$1.57(\pm 0.24) \times 10^6$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	299 (0, +4), 342 (-50, εξαφ)	$1.17(\pm 0.02) \times 10^6$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	270 (+48, 0), 314 (+27, 0)	$2.72(\pm 0.35) \times 10^5$

^α “+” δηλώνει υπερχρωμία και “-” υποχρωμία

^β “+” δηλώνει red-shift και “-” δηλώνει blue-shift

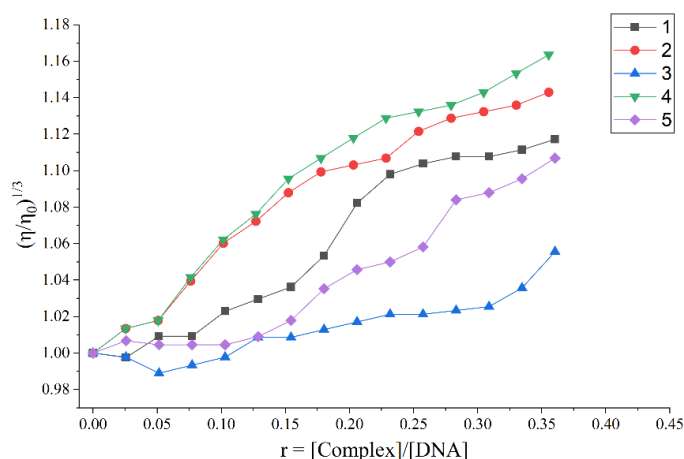
^γ “εξαφ” δηλώνει ότι η ταινία εξαφανίστηκε

Οι τιμές της σταθεράς σύνδεσης K_b των συμπλόκων (**1**)-(5), καθώς και του ελεύθερου 4'-Br-fenH παρατίθενται στον **πίνακα 11**. Επίσης στην **εικόνα 84** του Παραρτήματος φαίνονται τα αντίστοιχα διαγράμματα για τον υπολογισμό της K_b . Σύμφωνα με τα δεδομένα του πίνακα, όλα τα σύμπλοκα εμφανίζουν υψηλότερη τιμή K_b από το ελεύθερο 4'-Br-fenH με το σύμπλοκο (**3**) να εμφανίζει τη μεγαλύτερη K_b μεταξύ των ενώσεων. Ακόμη, οι τιμές K_b για όλα τα σύμπλοκα είναι της ίδιας τάξης με εκείνες συμπλόκων ενώσεων του Co(II) με το ίδιο ligand 4'-Br-fen⁻¹ ($10^5 - 10^6$ M⁻¹) [61]. Όσον αφορά σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως το niflumic acid, το flufenamic acid, το mefenamic acid και το oxaprozin, η K_b έχει τιμές που κυμαίνονται μεταξύ $10^4 - 10^5$ M⁻¹, με ορισμένα να φτάνουν έως και 10^6 M⁻¹, τιμές παρόμοιες με αυτές που παρουσίασαν τα σύμπλοκα με το 4'-Br-fen [69], [91], [92], [93].

8.1.2 Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA με ιξωδομετρία

Η ιξωδομετρία αποτελεί μία ακόμη μέθοδο διερεύνησης του τρόπου αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το CT DNA. Στο πλαίσιο αυτό, μετρήθηκε το ιξώδες διαλύματος DNA κατά την διαδοχική προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων. Κατά την αλληλεπίδραση των ενώσεων με το DNA μεταβάλλεται το μήκος του, γεγονός που συνεπάγεται και την μεταβολή του ιξώδους του καθώς το τελευταίο εξαρτάται άμεσα από αυτό. Ειδικότερα, στην περίπτωση της παρεμβολής, η εισχώρηση των ενώσεων ανάμεσα στα ζεύγη των βάσεων προκαλεί επιμήκυνση του DNA και συνεπώς αύξηση του ιξώδους του. Αντίθετα, αν η ένωση συνδέεται εξωτερικά με το DNA, είτε στην αύλακα είτε ηλεκτροστατικά, δεν παρατηρείται αξιοσημείωτη μεταβολή (ή παρατηρείται ελάχιστη μείωση) του μήκους του DNA. Έτσι, το ιξώδες ελαττώνεται ελαφρώς ή παραμένει πρακτικά αμετάβλητο. Τέλος, σε περίπτωση ρήξης του DNA προκύπτουν θραύσματα μικρότερου μήκους και το ιξώδες ελαττώνεται σημαντικά [85], [94].

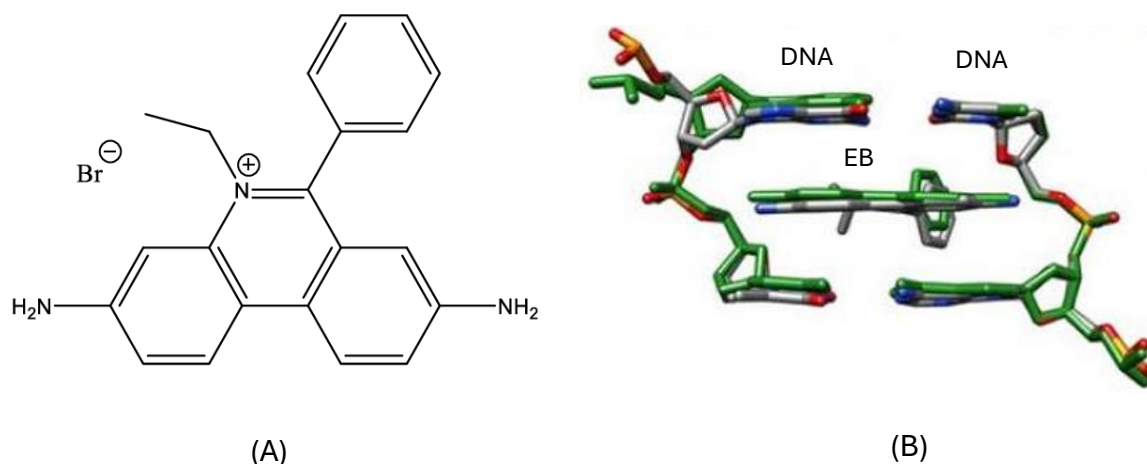
Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το DNA μελετήθηκε με ιξωδομετρία. Μετρήθηκε το ιξώδες διαλύματος buffer (150 mM NaCl και 15 mM κιτρικό νάτριο σε pH 7.0) του CT DNA (0,1 mM) κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1)-(5)** συγκέντρωσης 10^{-4} M σε DMSO σε θερμοκρασία δωματίου. Σύμφωνα με το διάγραμμα της **εικόνας 64**, στα σύμπλοκα **(1)**, **(2)**, **(4)** και **(5)** παρατηρείται αύξηση του ιξώδους. Η αύξηση αυτή υποδηλώνει ότι τα σύμπλοκα πιθανώς αλληλεπιδρούν με το DNA μέσω παρεμβολής. Ωστόσο, στο σύμπλοκο **(3)** εμφανίζεται μία μικρή ελάττωση κατά τις πρώτες προσθήκες, η οποία μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η ένωση αρχικά προσεγγίζει την έλικα του DNA εξωτερικά. Στη συνέχεια, το ιξώδες αυξάνεται οπότε συμπεραίνεται ότι και αυτό το σύμπλοκο πιθανώς αλληλεπιδρά με το DNA μέσω παρεμβολής [17].



Εικόνα 64: Διάγραμμα $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ συναρτήσει του $r = [\text{complex}]/[\text{DNA}]$ κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1)-(5)**.

8.1.3 Μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων με το αιθίδιο βρωμίδιο

Για να διαπιστωθεί επακριβώς ή να επιβεβαιωθεί ο τρόπος σύνδεσης μίας ένωσης με το DNA, πραγματοποιείται μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης με μία ένωση αναφοράς, για την οποία είναι γνωστός ο τρόπος που συνδέεται στο DNA. Βασική προϋπόθεση για την εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι οι ενώσεις που μελετώνται να εμφανίζουν παραπλήσια σταθερά σύνδεσης στο DNA με την ένωση αναφοράς. Η πιο διαδεδομένη ένωση αναφοράς για την επιβεβαίωση αλληλεπίδρασης μέσω παρεμβολής είναι το αιθίδιο βρωμίδιο (EB), το οποίο δρα ως φθορισμομετρικός αισθητήρας [85].



Εικόνα 65: (A) Συντακτικός τύπος του EB και (B) Παρεμβολή του EB μεταξύ γειτονικών βάσεων του DNA [17], [95].

Το αιθίδιο βρωμίδιο (3,8-diamino-5-ethyl-6-phenyl-phenanthridinium bromide ή ethidium bromide, EB) είναι μία φαινανθριδίνη με φθορίζουσες ιδιότητες, που έχει την ικανότητα να σχηματίζει ευδιάλυτα σύμπλοκα με νουκλεϊκά οξέα όπως είναι το DNA. Η σύνδεσή του με το DNA γίνεται μέσω παρεμβολής του επίπεδου δακτυλίου της φαινανθριδίνης μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας. Κατά την αλληλεπίδραση του EB στο DNA πραγματοποιούνται φασματοσκοπικές αλλαγές στο EB, οι οποίες χρησιμοποιούνται για να διερευνηθεί ο τρόπος αλληλεπίδρασης του DNA με άλλες ενώσεις. Ειδικότερα, μελετώνται οι αλλαγές που παρατηρούνται στο φάσμα φθορισμού του συμπλόκου EB-DNA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων της ένωσης. Απαραίτητη προϋπόθεση για την διασφάλιση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων της μεθόδου αυτής, είναι να μην φθορίζει η προστιθέμενη ένωση στην περιοχή φθορισμού του EB-DNA, προκειμένου να αποφευχθεί η επικάλυψη δύο διαφορετικών φαινομένων.

Όταν διάλυμα EB διεγερθεί με ακτινοβολία μήκους κύματος $\lambda_{\max} = 540 \text{ nm}$, εμφανίζει ασθενή φθορισμό εκπομπής σε $\lambda_{\max} = 600 \text{ nm}$, που οφείλεται κυρίως στα μόρια του διαλύτη. Κατά την προσθήκη DNA στο διάλυμα EB, παρατηρείται ιδιαίτερα αυξημένος φθορισμός εκπομπής $\lambda_{\max} = 592 \text{ nm}$, που οφείλεται στην παρεμβολή του επίπεδου δακτυλίου της φαινανθριδίνης του EB μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας του DNA. Όταν προστίθενται διαδοχικά αυξανόμενες ποσότητες της ένωσης που μελετάται, η οποία συνδέεται με το DNA όμοια ή πιο ισχυρά από το EB, η ένταση της ταινίας φθορισμού στα 592 nm που αποδίδεται στο σύμπλοκο EB-DNA ελαττώνεται. Η ελάττωση αυτή μαρτυρά ότι η ένωση και το EB ανταγωνίζονται για την ίδια θέση σύνδεσης στο DNA. Συνεπώς, αν κατά την προσθήκη της ένωσης παρατηρηθεί σημαντική μείωση του φθορισμού του EB-DNA, σημαίνει ότι η ένωση έχει την ικανότητα να αντικαταστήσει το EB, και συνδέεται με το DNA μέσω παρεμβολής. Αντιθέτως, μικρή ή αμελητέα ελάττωση του φθορισμού υποδηλώνει ότι η ένωση δεν μπορεί να αντικαταστήσει το EB και άρα δε συμπεριφέρεται ως παρεμβολέας [85].

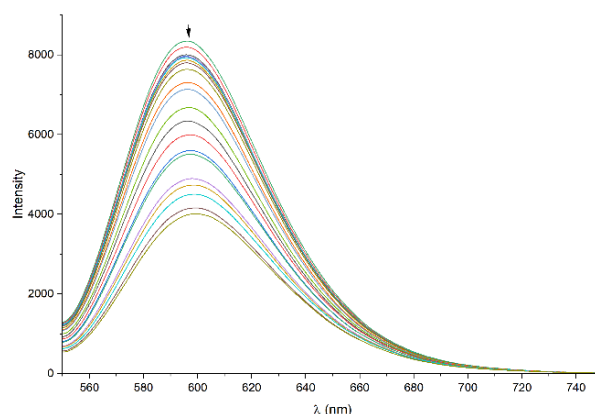
Προκειμένου να προσδιοριστεί η ικανότητα της ένωσης να προκαλεί μείωση του φθορισμού χρησιμοποιείται η εξίσωση Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q]$$

όπου I_0 : η ένταση εκπομπής του συμπλόκου EB-DNA απουσία της υπό μελέτη ένωσης, I : η ένταση εκπομπής του συμπλόκου EB-DNA παρουσία της υπό μελέτη ένωσης, $[Q]$: η συγκέντρωση της υπό μελέτη ένωσης, τ_0 : ο χρόνος φθορισμού (lifetime) του EB-DNA (23 ns), K_{sv} : η σταθερά Stern-Volmer και K_q : η σταθερά απόσβεσης του φθορισμού [17].

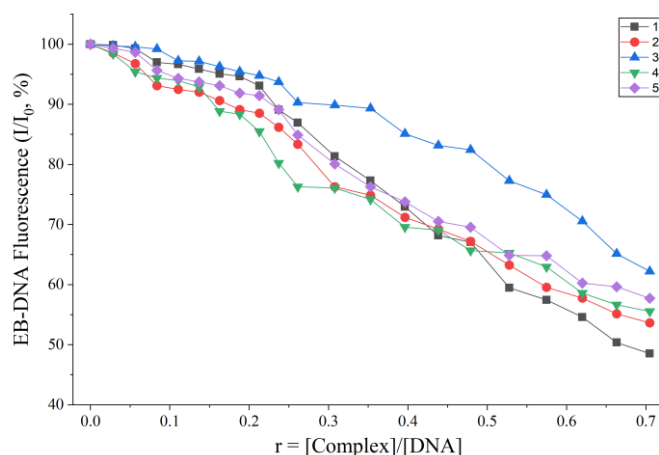
Η σταθερά Stern-Volmer K_{sv} (σε M^{-1}) υπολογίζεται από την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων του διαγράμματος I_0/I συναρτήσει της συγκέντρωσης της υπό μελέτη ένωσης και χρησιμοποιείται για την εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την ικανότητα σύνδεσης της ένωσης με το DNA. Επιπλέον, είναι απαραίτητος και ο προσδιορισμός της ικανότητας της ένωσης να προκαλεί απόσβεση του φθορισμού, η οποία εκφράζεται με την σταθερά απόσβεσης K_q (σε $M^{-1} s^{-1}$) που υπολογίζεται επίσης από την εξίσωση Stern-Volmer. Όταν η τιμή της είναι μεγαλύτερη από $10^{10} M^{-1} s^{-1}$, τότε ο μηχανισμός απόσβεσης χαρακτηρίζεται ως στατικός, δηλαδή το EB-DNA χάνει τον φθορισμό του λόγω της αλληλεπίδρασής του με τη σύμπλοκη ένωση και όχι λόγω των κρούσεων με τα μόρια του διαλύτη (δυναμικός μηχανισμός απόσβεσης).

Η ανταγωνιστική δράση των συμπλόκων με το EB μελετήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού. Για το σκοπό αυτό, παρασκευάστηκε διάλυμα EB-DNA με προσθήκη 20 μM EB και 26 μM CT DNA σε διάλυμα buffer (150 mM NaCl και 15 mM trisodium citrate σε pH = 7.0). Στο διάλυμα αυτό προστέθηκαν αυξανόμενες ποσότητες των συμπλόκων και λήφθηκαν τα φάσματα εκπομπής φθορισμού που παρατίθενται στο Παράρτημα στην **εικόνα 85**. Ειδικότερα, για το σύμπλοκο **(1)** φαίνεται στην **εικόνα 66**.



Εικόνα 66: Φάσματα φθορισμού του EB-DNA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου $[\text{Zn}(4' \text{ Br-phen})_2(\text{MeOH})_4]$ **(1)**. Το βέλος υποδεικνύει τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη του συμπλόκου.

Η διαδοχική προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1)-(5)** προκάλεσε μείωση του φθορισμού του EB-DNA στο φάσμα εκπομπής (έως το 51,5%, **εικόνα 67** και **πίνακας 12**), οπότε τα σύμπλοκα διαθέτουν την ικανότητα αντικατάστασης του EB. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει έμμεσα ότι τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με το DNA μέσω παρεμβολής.



Εικόνα 67: Διάγραμμα ελάττωσης του ποσοστού έντασης φθορισμού του EB-DNA (I/I_0 , %) σε $\lambda = 592$ nm σε συνάρτηση με το λόγο $r = [\text{Complex}]/[\text{DNA}]$.

Πίνακας 12: Τιμές σταθερών K_{sv} , K_q και ποσοστά ελάττωσης φθορισμού ($\Delta I/I_0$, %) του 4'-Br-fenH και των συμπλόκων για την αντικατάσταση του EB.

Ένωση	$\Delta I/I_0$ (%)	K_{sv} (M^{-1})	K_q ($M^{-1}s^{-1}$)
4'-Br-fenH	39.1	$2.59(\pm 0.07) \times 10^4$	$1.13(\pm 0.03) \times 10^{12}$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	51.5	$5.91 (\pm 0.25) \times 10^3$	$2.54(\pm 0.11) \times 10^{11}$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	46.3	$7.10(\pm 0.19) \times 10^3$	$3.09(\pm 0.08) \times 10^{11}$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	37.8	$2.81(\pm 0.09) \times 10^3$	$1.22(\pm 0.04) \times 10^{11}$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	44.6	$6.69(\pm 0.16) \times 10^3$	$2.91(\pm 0.07) \times 10^{11}$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	42.3	$6.26(\pm 0.16) \times 10^3$	$2.72(\pm 0.07) \times 10^{11}$

Η ικανότητα των συμπλόκων να εκτοπίσουν το EB και να δεσμευτούν τα ίδια στο DNA επαληθεύεται και από τις τιμές της σταθεράς K_{sv} (τα διαγράμματα Stern-Volmer παρατίθενται στο Παράρτημα στην **εικόνα 86**), με το σύμπλοκο (**2**) να εμφανίζει τη μεγαλύτερη τιμή. Επιπλέον, οι σταθερές K_q , για όλα τα σύμπλοκα έχουν τιμές μεγαλύτερες από $10^{10} M^{-1}s^{-1}$, που υποδεικνύουν στατικό μηχανισμό απόσβεσης του φθορισμού, με το σύμπλοκο (**2**) να εμφανίζει την υψηλότερη τιμή. Ακόμη, οι τιμές K_{sv} για όλα τα σύμπλοκα είναι μικρότερες (της τάξης $10^3 M^{-1}$) σε σύγκριση με αυτές συμπλόκων ενώσεων του Co(II) με το ίδιο ligand 4'-Br-fen ($10^4 - 10^5 M^{-1}$) [61]. Όσον αφορά σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως το niflumic acid, το flufenamic acid, το mefenamic acid και το oxaprozin, η K_{sv} παίρνει τιμές που κυμαίνονται μεταξύ $10^4 - 10^6 M^{-1}$, τιμές μεγαλύτερες από αυτές που παρουσίασαν τα σύμπλοκα με το 4'-Br-fen [69], [91], [92], [93].

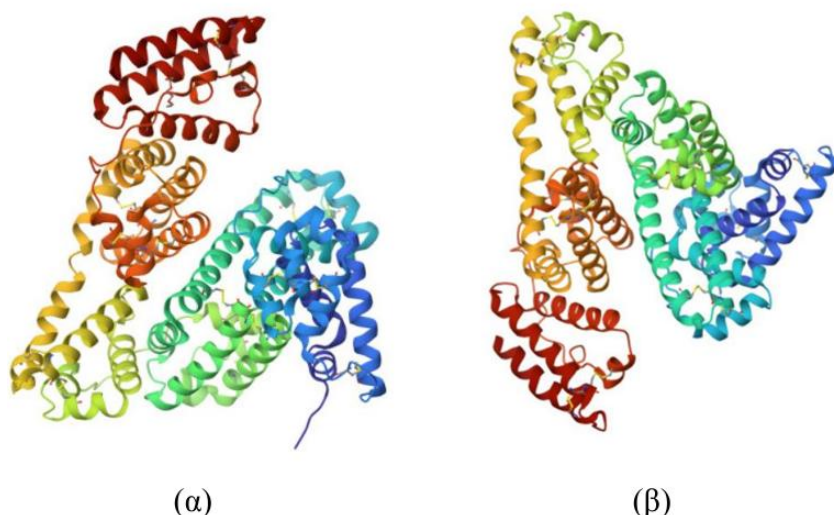
8.2 Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με τις αλβουμίνες του ορού αίματος

Η αλβουμίνη αποτελεί την κύρια πρωτεΐνη του πλάσματος, αντιπροσωπεύοντας περισσότερο από το 50% της περιεκτικότητας του, με τη συγκέντρωση της να φτάνει περίπου τα 0,6 mM [96]. Συντίθεται στο ήπαρ και συμμετέχει σε ιδιαίτερα σημαντικές λειτουργίες του οργανισμού, όπως η δέσμευση και μεταφορά ελεύθερων λιπαρών οξέων, φωσφολιπιδίων, αμινοξέων και φαρμάκων. Επιπλέον, είναι υπεύθυνη για την αναστολή της ενδοθηλιακής απόπτωσης και τη διατήρηση της ωσμωτικής και της ενδοαγγειακής πίεσης. Συμβάλλει στη ρύθμιση της λειτουργίας των ουδετερόφιλων, τη διατήρηση της οξεοβασικής ισορροπίας, και την αντιμετώπιση της φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες [97], [98].

Η παρουσία της αλβουμίνης δεν περιορίζεται μόνο στο πλάσμα, καθώς εντοπίζεται και στα περισσότερα εξωκυττάρια υγρά. Πιο συγκεκριμένα, αποτελεί βασικό συστατικό του μεσοκυττάριου και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αλβουμίνη εισέρχεται στους διάφορους ιστούς και τα όργανα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος [99].

Μεταξύ των διαφόρων τύπων αλβουμίνης, η ανθρώπινη αλβουμίνη (Human Serum Albumin, HSA) έχει μελετηθεί εκτενέστερα όσον αφορά τη δομή και τη λειτουργία της. Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που αποτελείται από 585 αμινοξέα και διαθέτει α-έλικες (67%), ενώ δεν συναντώνται καθόλου β-φύλλα. Κρυσταλλογραφικά, φαίνεται να έχει σχήμα καρδιάς. Επίσης, απαρτίζεται από τρεις ομόλογες περιοχές, γνωστές και ως τομέας I, II και III. Κάθε τομέας συγκροτείται από δύο υποτομείς, που ονομάζονται IA, IB, IIA, IIB και IIIA, IIIB, αντίστοιχα. Παρόλο, που έχουν υδρόφοβη όψη και κοινά συμπλέγματα βασικών υπολειμμάτων αμινοξέων, ξεχωρίζουν ως προς το βαθμό ειδικότητας σύνδεσης των μορίων. Διακρίνονται δύο τουλάχιστον κύριες θέσεις δέσμευσης μορίων, η Site I (Sudlow I) και η Site II (Sudlow II), οι οποίες εντοπίζονται στις υποπεριοχές IIA και IIIA, αντίστοιχα. Ειδικότερα, η Site I αποτελεί μία υδρόφοβη περιοχή σύνδεσης, στην οποία προσδένονται κυρίως δικαρβοξυλικά οξέα και ογκώδη ετεροκυκλικά μόρια, όπως είναι η βαρφαρίνη. Όσον αφορά την Site II, σε αυτήν προσδένονται συνήθως αρωματικά καρβοξυλικά οξέα, όπως είναι η ιβουπροφαίνη. Ο βαθμός δέσμευσης σε αυτές ποικίλλει και εξαρτάται τόσο από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των φαρμάκων όσο και από το μικροπεριβάλλον των σημείων σύνδεσης [100], [101], [102], [103].

Μεταξύ των αλβουμινών των θηλαστικών η πιο ευρέως μελετημένη είναι αυτή των βοοειδών (Bovine Serum Albumin, BSA). Η τρισδιάστατη δομή της συμπίπτει με αυτήν της ανθρώπινης και παράλληλα διατηρεί τις θέσεις δέσμευσης I και II. Η διαφοροποίησή τους εντοπίζεται σε μεταβολές στο μικροπεριβάλλον των θέσεων δέσμευσης της αλβουμίνης των βοοειδών, γεγονός που οφείλεται σε διαφορές στο μέγεθος και την υδροφοβικότητα της θέσης δέσμευσης. Επιπλέον, μία βασική διαφορά ανάμεσα στις δύο πρωτεΐνες είναι ότι η BSA διαθέτει δύο τρυπτοφάνες (Trp-134 και Trp-212), ενώ η HSA μόνο μία (Trp 214) [104], [105].



Εικόνα 68: Τρισδιάστατη αναπαράσταση των **α)** BSA και **β)** HSA [106], [107].

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με τις αλβουμίνες πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα BSA (3 μM) και HSA (3 μM) σε buffer (που περιείχε 15 mM trisodium citrate και 150 mM NaCl σε pH 7.0). Μετά από διέγερση στα 295 nm, οι αλβουμίνες BSA και HSA εμφανίζουν έντονη ταινία εκπομπής φθορισμού με λ_{max} 343 nm και 351 nm, αντίστοιχα. Ο φθορισμός αυτός αποδίδεται στην παρουσία υπολειμμάτων τρυπτοφάνης. Κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των υπό μελέτη ενώσεων παρατηρείται ελάττωση της έντασης φθορισμού στο φάσμα εκπομπής, εξαιτίας της αλλαγής στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης, της σύνδεσης των υπομονάδων και της δέσμευσης του υποστρώματος ή της μετουσίωσης.

Για να αξιολογηθεί η αλληλεπίδραση συμπλόκου-αλβουμίνης, χρησιμοποιούνται οι εξισώσεις Stern–Volmer για τον υπολογισμό των σταθερών K_{sv} και K_q και Scatchard για τον προσδιορισμό της σταθεράς σύνδεσης στην αλβουμίνη, K , και του αριθμού των θέσεων σύνδεσης ανά αλβουμίνη, n . Με βάση την εξίσωση Stern–Volmer και τα διαγράμματα I_0/I συναρτήσει της συγκέντρωσης της ένωσης, προσδιορίζονται οι σταθερές K_{sv} και k_q από την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{\text{sv}} [Q]$$

όπου I_0 : η ένταση εκπομπής απουσία της υπό μελέτη ένωσης, I : η ένταση εκπομπής παρουσία της υπό μελέτη ένωσης, $[Q]$: η συγκέντρωση της υπό μελέτη ένωσης, τ_0 : ο χρόνος φθορισμού (lifetime) της αλβουμίνης (10^{-8} s), K_{sv} : η σταθερά Stern-Volmer και K_q : η σταθερά απόσβεσης του φθορισμού. Μέσω της εξίσωσης Scatchard και των διαγραμμάτων $(\Delta I/I_0)/[Q]$

συναρτήσει του $\Delta I/I_0$, υπολογίζεται από την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων η σταθερά K και από την τεταγμένη επί την αρχή ο αριθμός n.

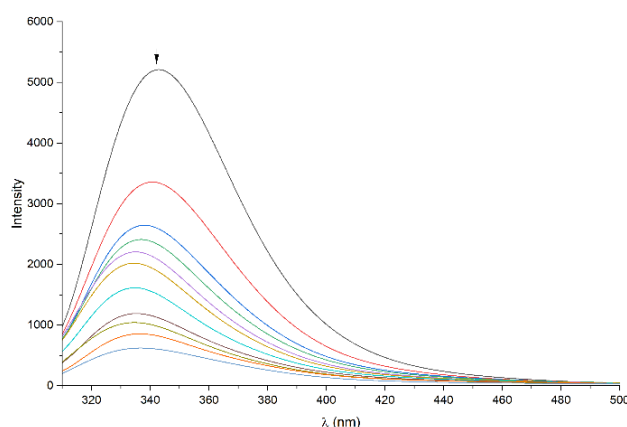
$$\frac{\Delta I/I_0}{[Q]} = nK - K \frac{\Delta I}{I_0}$$

όπου I_0 : ο αρχικός φθορισμός του διαλύματος της αλβουμίνης, I: ο φθορισμός του διαλύματος της αλβουμίνης μετά την προσθήκη της υπό μελέτη ένωσης, [Q]: η συγκέντρωση της υπό μελέτη ένωσης, $\Delta I: I_0 - I$, n: ο αριθμός των θέσεων δέσμευσης ανά αλβουμίνη και K: η σταθερά σύνδεσης στην αλβουμίνη.

Όταν η τιμή της σταθεράς K_d είναι μεγαλύτερη από το $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, τότε ο μηχανισμός απόσβεσης του φθορισμού είναι στατικός. Επίσης, όταν η τιμή της K είναι μικρότερη από 10^{15} M^{-1} , η δέσμευση της ένωσης στην BSA ή την HSA είναι αντιστρεπτή, που σημαίνει ότι μπορεί και να αποδεσμεύεται από αυτές, όταν φτάσει στο βιολογικό της στόχο [34].

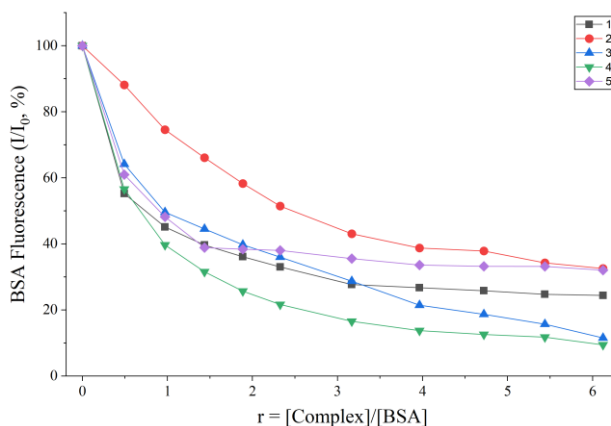
8.2.1 Μελέτη της αλληλεπίδρασης με την BSA

Η λήψη του φάσματος εκπομπής της BSA έγινε μετά από προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων των συμπλόκων **(1)-(5)** (10^{-4} M) σε διαλύτη DMSO, στην περιοχή 300-500 nm, τα οποία παρατίθενται στην **εικόνα 87** του Παραρτήματος και ενδεικτικά για το σύμπλοκο **(3)** στην **εικόνα 69**. Η κορυφή που παρατηρείται στα 343 nm οφείλεται στο φθορισμό της BSA και εμφανίζει μείωση παρουσία του συμπλόκου, γεγονός που φανερώνει την μεταξύ τους αλληλεπίδραση.



Εικόνα 69: Φάσματα φθορισμού της BSA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ **(3)**. Το βέλος υποδεικνύει τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη του συμπλόκου.

Σύμφωνα με το διάγραμμα της **εικόνας 70**, όλα τα σύμπλοκα προκαλούν ελάττωση του φθορισμού της BSA κατά την προσθήκη τους στο διάλυμα. Ειδικότερα, το σύμπλοκο **(5)** φθορίζει εντός της περιοχής φθορισμού της BSA, όπως φαίνεται στο φάσμα του στην **εικόνα 87** του Παραρτήματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι μεγαλύτερη μείωση του φθορισμού προκαλεί το σύμπλοκο **(4)**, με ποσοστό ελάττωσης του φθορισμού 90.5% (**πίνακας 13**).



Εικόνα 70: Διάγραμμα ελάττωσης του ποσοστού έντασης φθορισμού της BSA (I/I_0 , %) σε $\lambda = 343$ nm σε συνάρτηση με το λόγο $r = [\text{Complex}]/[\text{BSA}]$.

Πίνακας 13: Τιμές σταθερών K_{sv} , K_q και K , ποσοστό ελάττωσης φθορισμού ($\Delta I/I_0$, %) του 4'-Br-fenH και των συμπλόκων του κατά την αλληλεπίδρασή τους με την BSA και αριθμός n .

Ένωση	$\Delta I/I_0$ (%)	K_{sv} (M^{-1})	K_q ($M^{-1}s^{-1}$)	K (M^{-1})	n
4'-Br-fenH	76,2	$1.74(\pm 0.10) \times 10^5$	$1.74(\pm 0.10) \times 10^{13}$	$2.72(\pm 0.09) \times 10^5$	0.89
$[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	75.6	$2.66(\pm 0.16) \times 10^5$	$2.66(\pm 0.16) \times 10^{13}$	$6.43(\pm 0.14) \times 10^5$	0.82
$[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	68.5	$1.16(\pm 0.03) \times 10^5$	$1.16(\pm 0.03) \times 10^{13}$	$1.20(\pm 0.03) \times 10^5$	0.99
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	88.5	$3.12(\pm 0.12) \times 10^5$	$3.12(\pm 0.12) \times 10^{13}$	$2.08(\pm 0.07) \times 10^5$	1.09
$[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	90.5	$4.98(\pm 0.12) \times 10^5$	$4.98(\pm 0.12) \times 10^{13}$	$5.23(\pm 0.07) \times 10^5$	1.00
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	68.0	$3.28(\pm 0.16) \times 10^5$	$3.28(\pm 0.16) \times 10^{13}$	$7.96(\pm 0.23) \times 10^5$	0.73

Στον **πίνακα 13** περιέχονται οι τιμές των σταθερών K_{sv} , K_q και K , όπως υπολογίστηκαν από τις εξισώσεις Stern–Volmer και Scatchard και τα αντίστοιχα διαγράμματα, τα οποία απεικονίζονται στις **εικόνες 88-89** του Παραρτήματος.

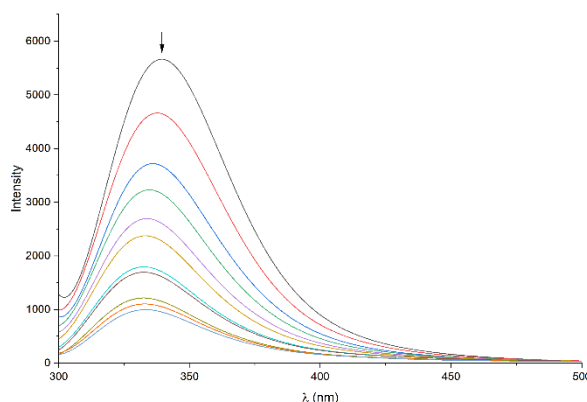
Όπως φαίνεται στον **πίνακα 13**, οι τιμές της σταθεράς K_q για όλα τα σύμπλοκα είναι μεγαλύτερες από $10^{10} M^{-1}s^{-1}$, γεγονός που φανερώνει στατικό μηχανισμό απόσβεσης του φθορισμού. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο **(4)** παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα απόσβεσης του φθορισμού, καθώς έχει την υψηλότερη τιμή K_q .

Επιπλέον, για όλα τα σύμπλοκα οι τιμές K είναι της τάξης του $10^5 M^{-1}$ και είναι μεγαλύτερες από αυτές του ελεύθερου 4'-Br-fenH, με εξαίρεση τα σύμπλοκα **(2)** και **(3)**. Αυτό

συνεπάγεται ότι τα σύμπλοκα **(1)**, **(4)** και **(5)** συνδέονται ισχυρότερα στην BSA, σε σχέση με το ελεύθερο 4'-Br-fenH και μάλιστα η δέσμευση τους είναι αντιστρεπτή, δηλαδή μπορούν να αποδεσμεύονται από αυτήν, όταν φτάσουν στο βιολογικό τους στόχο, καθώς η σταθερά K του καθενός είναι μικρότερη από 10^{15} M^{-1} . Ακόμη, οι τιμές K για όλα τα σύμπλοκα είναι της ίδιας τάξης (10^5 M^{-1}) με εκείνες σύμπλοκων ενώσεων του Co(II) με το ίδιο ligand 4'-Br-fen [61]. Όσον αφορά σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως το niflumic acid, το flufenamic acid, το mefenamic acid και το oxaprozin, η K έχει τιμές που κυμαίνονται μεταξύ $10^4 - 10^6 \text{ M}^{-1}$, τιμές παρόμοιες με αυτές που παρουσίασαν τα σύμπλοκα του Zn(II) με το 4'-Br-fen [69], [91], [92], [93].

8.2.2 Μελέτη της αλληλεπίδρασης με την HSA

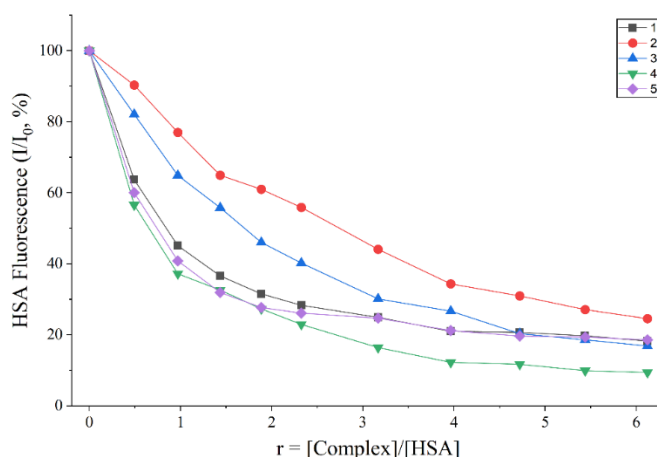
Η λήψη του φάσματος εκπομπής φθορισμού της HSA πραγματοποιήθηκε στα 300-500 nm, κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων συγκέντρωσης 10^{-4} M . Επίσης, στην ίδια περιοχή μηκών κύματος καταγράφηκε και το φάσμα φθορισμού των συμπλόκων. Η κορυφή στα 351 nm που αποδίδεται στον φθορισμό της HSA μειώνεται παρουσία των συμπλόκων, γεγονός που αποδεικνύει την μεταξύ τους αλληλεπίδραση, όπως φαίνεται στο φάσμα φθορισμού του συμπλόκου $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ **(3)** στην **εικόνα 71** (τα φάσματα φθορισμού των υπόλοιπων συμπλόκων παρατίθενται στο Παράρτημα στην **εικόνα 90**).



Εικόνα 71: Φάσματα φθορισμού της HSA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ **(3)**. Το βέλος υποδεικνύει τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη του συμπλόκου.

Σύμφωνα με το διάγραμμα της **εικόνας 72**, όλα τα σύμπλοκα προκαλούν ελάττωση του φθορισμού της HSA κατά την προσθήκη τους στο διάλυμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι

μεγαλύτερη μείωση του φθορισμού προκαλεί το σύμπλοκο **(4)**, με ποσοστό ελάττωσης του φθορισμού 90.6% (πίνακας 14).



Εικόνα 72: Διάγραμμα ελάττωσης του ποσοστού έντασης φθορισμού της HSA (I/I_0 , %) σε $\lambda = 351$ nm σε συνάρτηση με το λόγο $r = [\text{Complex}]/[\text{BSA}]$.

Πίνακας 14: Τιμές σταθερών K_{sv} , k_q και K , ποσοστά ελάττωσης φθορισμού ($\Delta I/I_0$, %) του 4'-Br-fenH και των συμπλόκων του για την αλληλεπίδρασή τους με την HSA και αριθμός n .

Ένωση	$\Delta I/I_0$ (%)	K_{sv} (M^{-1})	K_q ($M^{-1}s^{-1}$)	K (M^{-1})	n
4'-Br-fenH	70,0	$1.52(\pm 0.07) \times 10^5$	$1.52(\pm 0.07) \times 10^{13}$	$2.70(\pm 0.06) \times 10^5$	0.82
$[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	81.8	$3.16(\pm 0.14) \times 10^5$	$3.16(\pm 0.14) \times 10^{13}$	$5.45(\pm 0.15) \times 10^5$	0.90
$[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	75.4	$1.73(\pm 0.06) \times 10^5$	$1.73(\pm 0.06) \times 10^{13}$	$7.08(\pm 0.26) \times 10^4$	1.37
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	83.2	$2.79(\pm 0.09) \times 10^5$	$2.79(\pm 0.09) \times 10^{13}$	$1.51(\pm 0.06) \times 10^5$	1.15
$[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	90.6	$5.47(\pm 0.15) \times 10^5$	$5.47(\pm 0.15) \times 10^{13}$	$5.10(\pm 0.18) \times 10^5$	1.00
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	81.4	$4.32(\pm 0.21) \times 10^5$	$4.32(\pm 0.21) \times 10^{13}$	$7.25(\pm 0.19) \times 10^5$	0.88

Στον **πίνακα 14** περιέχονται οι τιμές των σταθερών K_{sv} , K_q και K , όπως υπολογίστηκαν από τις εξισώσεις Stern–Volmer και Scatchard και τα αντίστοιχα διαγράμματα, τα οποία απεικονίζονται στις **εικόνες 91-92** του Παραρτήματος. Οι τιμές της σταθεράς K_q για όλα τα σύμπλοκα αλλά και για το ελεύθερο 4'-Br-fenH είναι σημαντικά μεγαλύτερες από τη τιμή $10^{10} M^{-1}s^{-1}$, γεγονός που φανερώνει στατικό μηχανισμό απόσβεσης του φθορισμού. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο **(4)** παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα απόσβεσης του φθορισμού, καθώς έχει την υψηλότερη τιμή K_q .

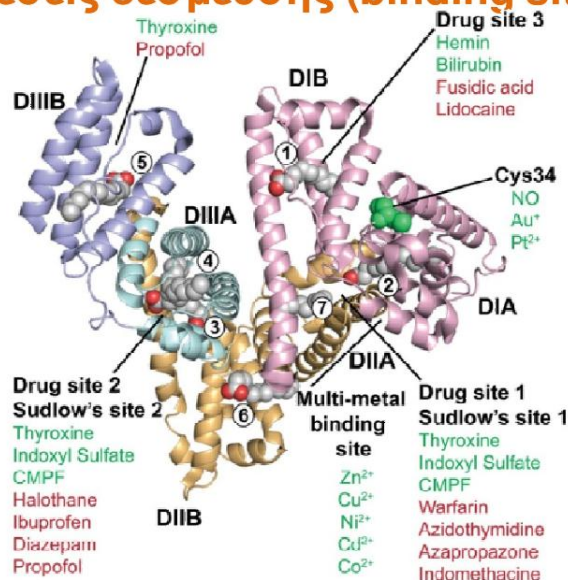
Επιπλέον, για όλα τα σύμπλοκα, εκτός από το σύμπλοκο **(2)**, οι τιμές K είναι της τάξης του $10^5 M^{-1}$ και είναι μεγαλύτερες από αυτές του ελεύθερου 4'-Br-fenH. Αυτό υποδεικνύει ότι, σε σχέση με το ελεύθερο 4'-Br-fenH, τα σύμπλοκα συνδέονται ισχυρότερα στην HSA, και μάλιστα η δέσμευσή τους είναι αντιστρεπτή, δηλαδή μπορούν να αποδεσμεύονται από αυτήν, όταν φτάσουν στο βιολογικό τους στόχο, καθώς οι σταθερές K είναι μικρότερες από

10^{15} M^{-1} . Ακόμη, οι τιμές K για όλα τα σύμπλοκα, εκτός από το σύμπλοκο **(2)**, είναι της ίδιας τάξης (10^5 M^{-1}) με εκείνες σύμπλοκων ενώσεων του Co(II) με το ίδιο ligand 4'-Br-fen [61]. Όσον αφορά σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως το niflumic acid, το flufenamic acid, το mefenamic acid και το oxaprozin, η K έχει τιμές που κυμαίνονται μεταξύ $10^4 - 10^5 \text{ M}^{-1}$, τιμές παρόμοιες με αυτές που παρουσίασαν τα σύμπλοκα του Zn(II) με το 4'-Br-fen [69], [91], [92], [93].

8.2.3 Προσδιορισμός της θέσης δέσμευσης των συμπλόκων στις αλβουμίνες

Η ταυτοποίηση της θέσης της αλβουμίνης BSA ή HSA που επιλέγουν να δεσμευτούν τα σύμπλοκα είναι απαραίτητη για την κατανόηση της αλληλεπίδρασής τους με αυτές. Προκειμένου να εντοπιστεί η προτιμώμενη θέση της αλβουμίνης (Sudlow site 1 ή σημείο φαρμάκου 1 στον υποτομέα IIA, Sudlow site 2 ή σημείο φαρμάκου 2 στον υποτομέα IIIA) στην οποία δεσμεύονται οι ενώσεις, πραγματοποιήθηκαν ανταγωνιστικά πειράματα χρησιμοποιώντας βαρφαρίνη (warfarin) και ιβουπροφαίνη (ibuprofen) ως δείκτες θέσης. Η βαρφαρίνη και η ιβουπροφαίνη είναι οι πιο κοινές ενώσεις για τη μελέτη αυτών των θέσεων δέσμευσης στις αλβουμίνες, λόγω της εκλεκτικής τους δέσμευσης στα σημεία φαρμάκου I και II, αντίστοιχα [61].

Θέσεις δέσμευσης (binding sites)

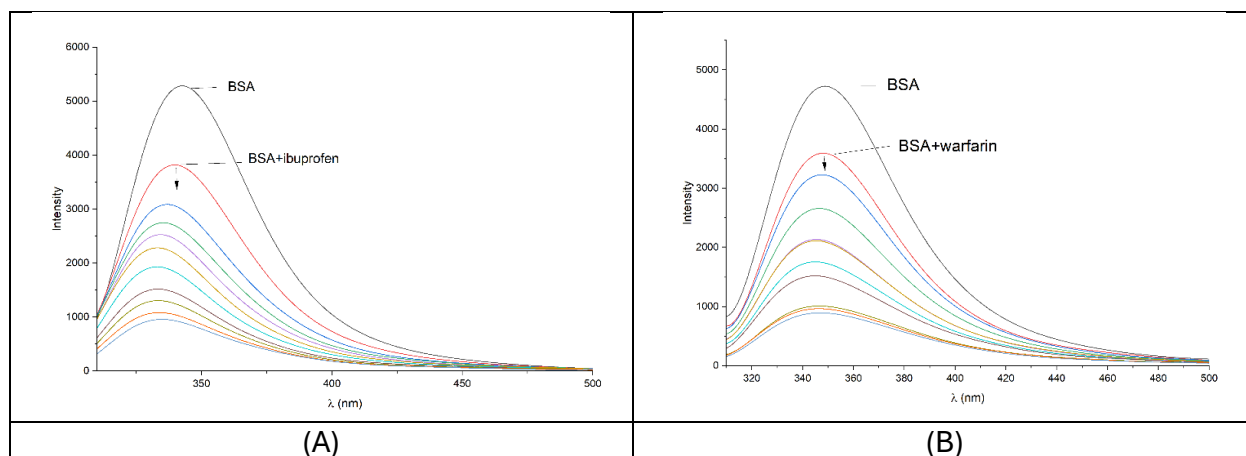


Εικόνα 73: Θέσεις δέσμευσης στις αλβουμίνες BSA και HSA.

Η μελέτη της θέσης δέσμευσης των συμπλόκων στις αλβουμίνες πραγματοποιήθηκε με την ίδια μέθοδο που ακολουθήθηκε και για την μελέτη της αλληλεπίδρασής τους με τις αλβουμίνες, με μόνη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον διάλυμα ιβουπροφαίνης και

διάλυμα βαρφαρίνης συγκέντρωσης 3×10^{-5} M. Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων χρησιμοποιείται η εξίσωση Scatchard προκειμένου να προσδιοριστεί η σταθερά δέσμευσης στην αλβουμίνη, K. Μείωση στη σταθερά δέσμευσης K του συμπλόκου παρουσία ενός δείκτη υποδηλώνει ότι η σύνδεση του συμπλόκου με την αλβουμίνη επηρεάζεται ανταγωνιστικά από την παρουσία του αντίστοιχου δείκτη.

Στην **εικόνα 74** παρουσιάζονται τα φάσματα φθορισμού της BSA παρουσία ιβουπροφαίνης ή βαρφαρίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (**3**) (για τα υπόλοιπα σύμπλοκα παρατίθενται στο Παράρτημα στις **εικόνες 93 και 95**). Στον **πίνακα 15** περιέχονται οι τιμές της σταθεράς K, όπως υπολογίστηκαν από την εξίσωση Scatchard και τα αντίστοιχα διαγράμματα, τα οποία απεικονίζονται στις **εικόνες 94 και 96** του Παραρτήματος.



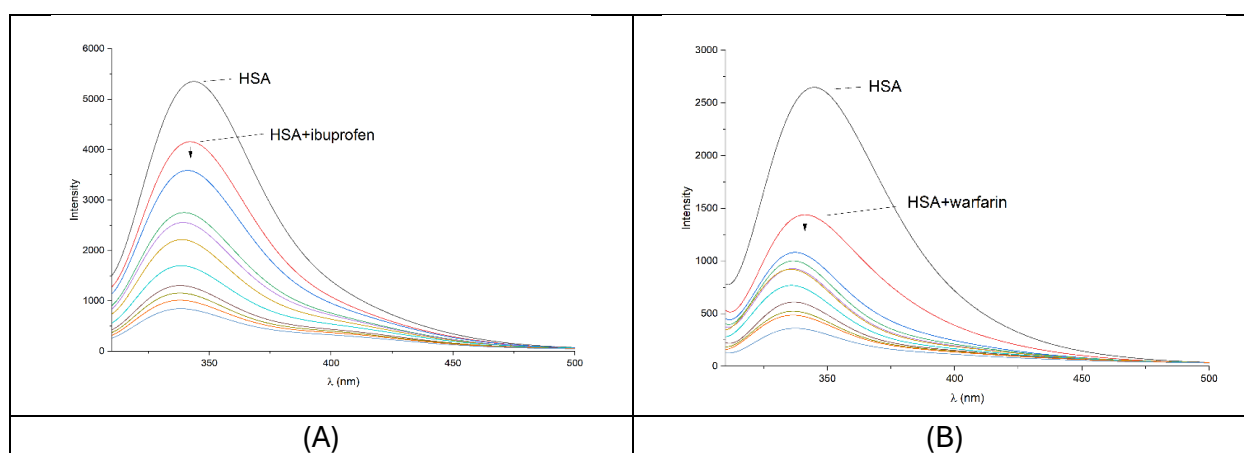
Εικόνα 74: Φάσματα φθορισμού της BSA παρουσία **(Α)** ιβουπροφαίνης ή **(Β)** βαρφαρίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ (**3**). Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.

Πίνακας 15: Τιμές της σταθεράς K, του 4'-Br-fenH και των συμπλόκων του για την αλληλεπίδρασή τους με την BSA παρουσία και απουσία των δεικτών ιβουπροφαίνη και βαρφαρίνη.

Ένωση	$K_{(\text{BSA})} (\text{M}^{-1})$	$K_{(\text{BSA, IBUPROFEN})} (\text{M}^{-1})$	$K_{(\text{BSA, WARFARIN})} (\text{M}^{-1})$
4'-Br-fenH	$2.72(\pm 0.09) \times 10^5$	$1.79(\pm 0.05) \times 10^5$	$1.65(\pm 0.06) \times 10^5$
$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{MeOH})_4]$ (1)	$6.43(\pm 0.14) \times 10^5$	$3.85(\pm 0.09) \times 10^5$	$2.63(\pm 0.09) \times 10^5$
$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{phen})]$ (2)	$1.20(\pm 0.03) \times 10^5$	$1.84(\pm 0.08) \times 10^5$	$5.69(\pm 0.20) \times 10^4$
$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ (3)	$2.08(\pm 0.07) \times 10^5$	$2.68(\pm 0.11) \times 10^5$	$1.37(\pm 0.04) \times 10^5$
$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{Himi})_2]$ (4)	$5.23(\pm 0.07) \times 10^5$	$2.50(\pm 0.09) \times 10^5$	$5.26(\pm 0.16) \times 10^5$
$[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ (5)	$7.96(\pm 0.23) \times 10^5$	$4.31(\pm 0.22) \times 10^5$	$2.95(\pm 0.12) \times 10^5$

Το σύμπλοκο **(4)** εμφάνισε χαμηλότερη τιμή *K* παρουσία ιβουπροφαίνης, υποδεικνύοντας προτίμηση για δέσμευση στη Sudlow's site 2. Από την άλλη, τα σύμπλοκα **(1)-(3)** και **(5)** παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές *K* παρουσία βαρφαρίνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι έχουν εκλεκτικότητα δέσμευσης στη Sudlow's site 1. Επιπλέον, το 4'-Br-fenH παρουσίασε περίπου εξίσου μειωμένες τιμές *K* παρουσία και των δύο δεικτών, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι δεν παρουσιάζει κάποια προτίμηση δέσμευσης μεταξύ των δύο θέσεων.

Στην **εικόνα 75** παρουσιάζονται τα φάσματα φθορισμού της HSA παρουσία ιβουπροφαίνης ή βαρφαρίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου **(3)** (για τα υπόλοιπα σύμπλοκα παρατίθενται στο Παράρτημα στις **εικόνες 97 και 99**).



Εικόνα 75: Φάσματα φθορισμού της HSA παρουσία **(A)** ιβουπροφαίνης ή **(B)** βαρφαρίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου $[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ **(3)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.

Στον **πίνακα 16** περιέχονται οι τιμές της σταθεράς *K*, όπως υπολογίστηκαν από την εξίσωση Scatchard και τα αντίστοιχα διαγράμματα, τα οποία απεικονίζονται στις **εικόνες 98 και 100** του Παραρτήματος. Σύμφωνα με τα δεδομένα του **πίνακα 16**, όλα τα σύμπλοκα παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές *K* παρουσία ιβουπροφαίνης, γεγονός που υποδηλώνει ότι έχουν εκλεκτικότητα δέσμευσης στη Sudlow's site 2. Επιπλέον, το 4'-Br-fenH παρουσίασε μικρότερη τιμή *K* παρουσία βαρφαρίνης, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι δεσμεύεται εκλεκτικά στη Sudlow's site 1.

Πίνακας 16: Τιμές της σταθεράς K, του 4'-Br-fenH και των συμπλόκων του για την αλληλεπίδρασή τους με την HSA παρουσία και απουσία των δεικτών ιβουπροφαίνη και βαρφαρίνη.

Ένωση	$K_{(HSA)} (M^{-1})$	$K_{(HSA, IBUPROFEN)} (M^{-1})$	$K_{(HSA, WARFARIN)} (M^{-1})$
4'-Br-fenH	$2.70(\pm 0.06) \times 10^5$	$2.26(\pm 0.07) \times 10^5$	$1.96(\pm 0.06) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(MeOH)_4]$ (1)	$5.45(\pm 0.15) \times 10^5$	$2.56(\pm 0.11) \times 10^5$	$4.29(\pm 0.18) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(phen)]$ (2)	$7.08(\pm 0.26) \times 10^4$	$2.03(\pm 0.07) \times 10^5$	$3.64(\pm 0.08) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipy)]$ (3)	$1.51(\pm 0.06) \times 10^5$	$1.71(\pm 0.05) \times 10^5$	$7.23(\pm 0.35) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(Himi)_2]$ (4)	$5.10(\pm 0.18) \times 10^5$	$2.16(\pm 0.08) \times 10^5$	$8.85(\pm 0.32) \times 10^5$
$[Zn(4'-Br-fen)_2(bipyam)]$ (5)	$7.25(\pm 0.19) \times 10^5$	$2.03(\pm 0.08) \times 10^5$	$3.09(\pm 0.10) \times 10^6$

8.3 Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων

Ως ελεύθερες ρίζες ορίζονται άτομα, μόρια ή ιόντα που διαθέτουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια, γεγονός που τα καθιστά εξαιρετικά ασταθή και με έντονη χημική δραστηριότητα. Οι ρίζες προέρχονται κυρίως από στοιχεία όπως το άζωτο, το θείο και το οξυγόνο. Ειδικότερα, οι ελεύθερες ρίζες με στοιχείο το οξυγόνο, ονομάζονται δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species ή ROS). Παραδείγματα αυτής της κατηγορίας αποτελούν η σουπεροξειδική ρίζα ($O_2^{\cdot-}$), οι αλκοξυ-ρίζες ($RO^{\cdot}$), η ρίζα υδροξυλίου ($OH^{\cdot}$) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) [108].

Λόγω της χημικής τους φύσης, οι ρίζες έχουν την ικανότητα να δώσουν ή να λάβουν ένα ηλεκτρόνιο, με αποτέλεσμα να συμπεριφέρονται είτε ως αναγωγικά είτε ως οξειδωτικά. Ως εκ τούτου, είναι δυνατόν να προκαλέσουν αλλοιώσεις σε μόρια με βιολογικό ενδιαφέρον, όπως είναι το DNA, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια, γεγονός που συνδέεται άμεσα με ασθένειες όπως ο καρκίνος και η αθηροσκλήρωση. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο οργανισμός καταφέρνει να διατηρεί μία ισορροπία ανάμεσα στις ελεύθερες ρίζες που παράγονται και τους αμυντικούς μηχανισμούς που διαθέτει. Η διατάραξη αυτής της ισορροπίας οδηγεί σε μια κατάσταση γνωστή ως οξειδωτικό στρες, κατά την οποία συμβαίνει οξειδωτική καταστροφή των βιομορίων [108], [109].

Οι ουσίες που καταπολεμούν τις ελεύθερες ρίζες προσφέροντάς τους ένα ηλεκτρόνιο προκειμένου να μειώσουν ή/και να εξαλείψουν τη δραστηριότητά τους, ονομάζονται **αντιοξειδωτικά**. Ο οργανισμός έχει την ικανότητα να παράγει ο ίδιος αντιοξειδωτικά όπως είναι η γλουταθειόνη και το ουρικό οξύ. Ωστόσο, μπορεί να προσλάβει αντιοξειδωτικά και από τη διατροφή του με χαρακτηριστικά παραδείγματα το ασκορβικό οξύ και το β-καροτένιο [109].

Επιπλέον, βιβλιογραφικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα ΜΣΑΦ εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Ενώσεις με αυτή τη διπλή φαρμακευτική δράση δύνανται να αποτελέσουν μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για την ταυτόχρονη αντιμετώπιση της φλεγμονής και του οξειδωτικού στρες. Για τον λόγο αυτό μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση των συμπλόκων έναντι των ριζών DPPH και ABTS καθώς και του H_2O_2 [110].

Η ρίζα DPPH (1,1-diphenyl-picrylhydrazyl) συνδέεται άμεσα με την αντικαρκινική, αντιγηραντική και αντιφλεγμονώδη δράση διάφορων ενώσεων. Ως εκ τούτου, η μελέτη δέσμευσής της παρουσιάζει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον, αναδεικνύοντας τα σύμπλοκα αυτά ως δυνητικά υποσχόμενα φάρμακα. Σε μορφή ελεύθερης ρίζας διάλυμα DPPH απορροφά στα 517 nm, εμφανίζοντας έντονο ιώδες χρώμα σε διάλυμα μεθανόλης. Με την προσθήκη ενός αντιοξειδωτικού παράγοντα μετατρέπεται στη μη-ριζική της μορφή και το χρώμα μεταβάλλεται από ιώδες σε κίτρινο, με αποτέλεσμα τη μείωση της απορρόφησής της. Κατά τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων, πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις, στα 30 λεπτά και στα 60 λεπτά, προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή χρονοεξαρτώμενη δράση. Οι ενώσεις αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι NDGA και BHT [111].

Επιπλέον, αξιολογήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενώσεων έναντι της ρίζας ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), η οποία δημιουργείται με αντίδραση του ABTS με υπερθειικό κάλιο ($K_2S_2O_8$) για 12-16 ώρες σε σκοτεινό περιβάλλον. Το διάλυμα της ρίζας εμφανίζει σκούρο πράσινο χρώμα και απορροφά στα 734 nm. Όταν πραγματοποιείται αντίδραση δέσμευσης της ρίζας, η απορρόφηση μειώνεται και το διάλυμα αποχρωματίζεται. Ως ένωση αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το Trolox [112].

Τέλος το H_2O_2 έχει την ικανότητα να διαπερνά βιολογικές μεμβράνες. Παρόλο που η δραστηριότητά του είναι σχετικά χαμηλή, ενδέχεται να εκδηλώσει έντονη κυτταροτοξικότητα, λόγω της πιθανής πρόκλησης ανάπτυξης ριζών υδροξυλίου. Η μέτρηση της απορρόφησης του H_2O_2 μετρήθηκε στα 230 nm μετά το πέρας 20 λεπτών. Ως ένωση αναφοράς χρησιμοποιήθηκε το L-ασκορβικό οξύ [112], [113].

Η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενώσεων έναντι των ριζών DPPH και ABTS και η ικανότητα αναγωγής του H_2O_2 εκφράστηκαν ως το ποσοστό μείωσης της απορρόφησης που παρουσίαζαν τα αρχικά διαλύματά τους.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρατίθενται στον **πίνακα 17**.

Πίνακας 17: Ποσοστά δέσμευσης των ριζών DPPH και ABTS και του H₂O₂.

Ένωση	DPPH% (30 min)	DPPH% (60 min)	ABTS%	H ₂ O ₂ %
4'-Br-fenH	Μη-δραστικό	Μη-δραστικό	0.84±0.54	65.60±0.76
[Zn(4'-Br-fen) ₂ (MeOH) ₄] (1)	7.47±1.92	7.16±0.48	1.54±0.35	70.89±0.33
[Zn(4'-Br-fen) ₂ (phen)] (2)	3.89±1.73	2.99±0.26	1.42±0.65	68.91±1.18
[Zn(4'-Br-fen) ₂ (bipy)] (3)	1.94±0.58	3.34±1.11	68.56±1.06	68.56±1.06
[Zn(4'-Br-fen) ₂ (Himi) ₂] (4)	5.12±1.93	4.04±0.34	2.18±1.09	73.23±1.90
[Zn(4'-Br-fen) ₂ (bipyam)] (5)	7.07±0.05	7.53±0.61	11.67±0.49	54.29±0.91
BHT	70.23±9.50	86.54±0.53	ΔΔ	ΔΔ
NDGA	95.03±0.86	95.53±0.17	ΔΔ	ΔΔ
Trolox	ΔΔ	ΔΔ	89.72±1.37	ΔΔ
L-Ascorbic acid	ΔΔ	ΔΔ	ΔΔ	64.44±0.99

ΔΔ = δε δοκιμάστηκε

Η δράση όλων των συμπλόκων ενάντια στη ρίζα DPPH δεν είναι χρονοεξαρτώμενη, καθώς δεν παρατηρείται ιδιαίτερη μεταβολή στο ποσοστό δέσμευσης αυτής μεταξύ των μετρήσεων στα 30 και 60 λεπτά. Επίσης, όλα τα σύμπλοκα επέδειξαν σημαντικά χαμηλότερη δραστηριότητα σε σύγκριση με τις ενώσεις αναφοράς. Ακόμη, όλα τα σύμπλοκα έχουν χαμηλότερη δραστηριότητα ενάντια της ρίζας DPPH σε σχέση με τα αντίστοιχα σύμπλοκα του Co(II) με το 4'-Br-fenH [61]. Τέλος, όλα τα σύμπλοκα παρουσίασαν μικρότερη δραστηριότητα έναντι της ρίζας DPPH συγκριτικά με σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως το niflumic acid, το flufenamic acid, το mefenamic acid και το oxaprozin, τα σύμπλοκα του οποίου εμφάνισαν αρκετά μεγαλύτερες τιμές από τα υπόλοιπα [69], [91], [92], [93].

Όσον αφορά την ρίζα ABTS, μόνο το σύμπλοκο **(3)** εμφάνισε αξιόλογη ικανότητα δέσμευσης της ρίζας. Παρόλο, που το σύμπλοκο **(3)** είχε το μεγαλύτερο ποσοστό δέσμευσης από όλα τα σύμπλοκα, δεν ξεπέρασε την ένωση αναφοράς Trolox. Επιπλέον, όλες οι ενώσεις επέδειξαν υψηλότερη δραστηριότητα σε σχέση με το ελεύθερο 4'-Br-fenH. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρόλο που το ελεύθερο 4'-Br-fenH είναι πρακτικά αδρανές, όταν συναρμόζεται με Zn(II) παρουσία bipy, παρατηρείται σημαντική αύξηση της ικανότητάς του να εξουδετερώνει την ρίζα ABTS. Επίσης, όλα τα σύμπλοκα, ακόμη και το σύμπλοκο **(3)** που εμφάνισε το μεγαλύτερο ποσοστό δέσμευσης, έχουν χαμηλότερη δραστηριότητα ενάντια της ρίζας ABTS σε σχέση με τα αντίστοιχα σύμπλοκα του Co(II) με το 4'-Br-fenH [61]. Τέλος, το σύμπλοκο **(3)** παρουσίασε παρόμοια δραστηριότητα έναντι της ρίζας ABTS συγκριτικά με σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως το niflumic acid, το flufenamic acid και το oxaprozin, ενώ τα σύμπλοκα με ligand το mefenamic acid εμφάνισαν αισθητά μεγαλύτερες τιμές από τα υπόλοιπα [69], [91], [92], [93].

Η ικανότητα αναγωγής του H_2O_2 για όλα τα σύμπλοκα βρίσκεται σε υψηλά ποσοστά, με το σύμπλοκο **(4)** να εμφανίζει την υψηλότερη δράση. Επίσης, σε σύγκριση με την ένωση αναφοράς L-ascorbic acid και το ελεύθερο 4'-Br-fenH όλες οι ενώσεις εκτός από την ένωση **(5)** επέδειξαν μεγαλύτερη δραστηριότητα. Ακόμη, το ποσοστό αναγωγής του H_2O_2 για όλα τα σύμπλοκα είναι περίπου ίδιο με αυτό που εμφανίζουν αντίστοιχα σύμπλοκα του Co(II) με το 4'-Br-fenH [61]. Επιπλέον, όλα τα σύμπλοκα παρουσίασαν παρόμοια ικανότητα αναγωγής του H_2O_2 συγκριτικά με σύμπλοκα του Zn(II) με άλλα ΜΣΑΦ όπως fenoprofen, loxoprofen και flurbiprofen [114].

Συνολικά, παρατηρείται ότι η αντιοξειδωτική δράση του 4'-Br-fenH αυξάνεται όταν συναρμόζεται στο ιόν Zn(II) . Τέλος, η δράση των συμπλόκων είναι χαμηλότερη έναντι των ριζών DPPH και ABTS και ισχυρότερη έναντι του H_2O_2 , με εξαίρεση το σύμπλοκο **(3)** που εμφάνισε υψηλή ικανότητα δέσμευσης και της ρίζας ABTS.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και η μελέτη πέντε μονοπυρηνικών συμπλόκων του Zn(II). Ως ligand χρησιμοποιήθηκε το 4'-Br-fenH, ένα παράγωγο του φαιναμικού οξέος, παρουσία ή απουσία *N*-δοτών (ιμιδαζόλιο) ή *N,N'*-δοτών (1,10-φαινανθρολίνη, 2,2'-διπυριδίνη, 2,2'-διπυριδυλαμίνη). Ο χαρακτηρισμός των συμπλόκων ενώσεων πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπικές τεχνικές, ενώ παράλληλα η δομή τριών συμπλόκων επιλύθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Πιο συγκεκριμένα, στα σύμπλοκα [Zn(4'-Br-fen)₂(phen)] (**2**) και [Zn(4'-Br-fen)₂(bipy)] (**3**), το κάθε ligand συναρμόζεται με το Zn(II) διδραστικά χηλικά, ενώ στο σύμπλοκο [Zn(4'-Br-fen)₂(bipyam)] (**5**), το ένα ligand συναρμόζεται με το Zn(II) διδραστικά χηλικά ενώ το άλλο μονοδραστικά. Επίσης, με τη φασματοσκοπία ¹H NMR διαπιστώθηκε ότι όλα τα σύμπλοκα παραμένουν σταθερά σε διάλυμα μετά από 48h.

Σύμφωνα με τις βιολογικές μελέτες, η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT DNA γίνεται μέσω παρεμβολής όπως προκύπτει από τη μελέτη του ιξώδους και την ανταγωνιστική δράση με το EB. Όσον αφορά την αλληλεπίδραση των ενώσεων με τις αλβουμίνες, όλα τα σύμπλοκα προκαλούν ελάττωση του φθορισμού τόσο της BSA όσο και της HSA, γεγονός που φανερώνει την μεταξύ τους αλληλεπίδραση, η οποία, σύμφωνα με τις τιμές της σταθεράς σύνδεσης *K* που υπολογίστηκαν, είναι αντιστρεπτή. Κατά τον προσδιορισμό της θέσης δέσμευσης των συμπλόκων στην BSA βρέθηκε ότι όλα τα σύμπλοκα εκτός από το (**4**), εμφανίζουν εκλεκτικότητα δέσμευσης στη Sudlow's site 1, ενώ το σύμπλοκο (**4**) δείχνει προτίμηση στη Sudlow's site 2. Σχετικά με τη δέσμευση στη HSA, όλα τα σύμπλοκα παρουσιάζουν εκλεκτικότητα δέσμευσης στη Sudlow's site 2.

Τέλος, η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης έδειξε ότι τα σύμπλοκα εμφανίζουν χαμηλή δραστικότητα έναντι της ρίζας DPPH καθώς και της ρίζας ABTS με εξαίρεση την ένωση (**3**). Αξίζει να σημειωθεί ότι παρόλο που το 4'-Br-fenH είναι πρακτικά αδρανές, όταν συναρμόζεται με Zn(II) και παρουσία του *N,N'*-δότη 2,2'-διπυριδίνη, η ικανότητά του να εξουδετερώνει την ρίζα ABTS παρουσιάζει σημαντική αύξηση. Η ικανότητα αναγωγής του H₂O₂ από όλα τα σύμπλοκα βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα και μάλιστα υψηλότερα από την ένωση αναφοράς L-ascorbic acid και το ελεύθερο 4'-Br-fenH.

Στη συνέχεια, θα είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον να επιβεβαιωθεί η περιοχή δέσμευσης των συμπλόκων στις αλβουμίνες και το DNA με molecular docking και θα μπορούσε να μελετηθεί η αντιμικροβιακή τους δράση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] R. Crichton, Biological inorganic chemistry : an introduction, Elsevier Science, 2008, doi: 10.1016/B978-0-444-52740-0.X5024-8
- [2] I. Bertini, G. Gray, E. Stiefel, J. Valentine, Bioinorganic Chemistry, University Science Books: Mill Valley, CA, 1994.
- [3] K. D. Mjos, C. Orvig, «Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry,» *Chemical Reviews*, vol. 114, p. 4540, 2014, doi:10.1021/cr400460s
- [4] W. Kean, I. Kean, «Clinical pharmacology of gold,» *Inflammopharmacology*, p. 112, June 2008, doi:10.1007/s10787-007-0021-x
- [5] N. Hosmane, Advanced Inorganic Chemistry, Academic Press, 2017, p. 225 – 249.
- [6] H. G. Raubenheimer, H. Schmidbaur, «The Late Start and Amazing Upswing in Gold Chemistry,» *J. Chem. Educ*, vol. 91, p. 2024, 2014, doi: 10.1021/ed400782p
- [7] E. Alessio, Bioinorganic Medicinal Chemistry, Weinheim, 2011, doi:10.1002/9783527633104
- [8] M. A. Zoroddu, J. Aaseth, G. Crisponi, S. Medici, M. Peana, V. M. Nurchi, «The essential metals for humans: a brief overview,» *Inorg. Biochem*, vol. 195, pp. 120-129, June 2019, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.03.013
- [9] A.W. Addison, T. Nageswara Rao, J. Reedijk, J. van Rijn, G.C. Verschoor, «Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen–sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate,» *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, vol. 13, pp. 1349-1356, 1984, doi: 10.1039/DT9840001349
- [10] F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. Murillo, M. Bochmann, Προχωρημένη Ανόργανη Χημεία, 6η επιμ., Μ. Λουλούδη, Α. Γαρούφης, Γ. Μαλανδρινός, Γ. Πλακατούρας, Μεταμόρφωση, Αττική: ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε., 2022.
- [11] F. A. Cotton, G. Wilkinson, P. Gaus, Βασική Ανόργανη Χημεία, 3η επιμ., Μ. Λουλούδη, Α. Γαρούφης, Γ. Μαλανδρινός και Γ. Πλακατούρας, Επιμ., Μεταμόρφωση, Αττική: ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε., 2015.
- [12] M. Weller, T. Overton, J. Rourke, F. Armstrong, Ανόργανη Χημεία, τόμ. 2, Θ. Λαζαρίδης, Κ. Δημάδης, Επιμ., Nicosia: BROKEN HILL PUBLISHERS LTD, 2022.

- [13] P. Ananda, «Discovery of human zinc deficiency: 50 years later,» *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 26, ap. 2-3, pp. 66-69, June 2012, doi: 10.1016/j.jtemb.2012.04.004
- [14] W. Maret, «Zinc Biochemistry: From a Single Zinc Enzyme to a Key Element of Life,» *Advances in Nutrition*, vol. 4, pp. 82-91, 2013, doi:10.3945/an.112.003038
- [15] Π. Καραγιαννίδης, Ειδική Ανόργανη Χημεία, Θεσσαλονίκη: Ζήτη, 2002.
- [16] P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, F. Armstrong, : «Shriver and Atkins' Inorganic Chemistry», OUP Oxford, 2010.
- [17] Δ. Κεσίσσογλου, Γ. Ψωμάς, Βιοανόργανη Χημεία, Θεσσαλονίκη: Π.Ζήτη & Σια Ο.Ε., 2015.
- [18] J. Haribabu, S. Priyarega, N.S. P. Bhuvanesh, R. Karvembu, «Synthesis and Molecular Structure of the Zinc(II) Complex Bearing an N, S Donor Ligand,» *Journal of Structural Chemistry*, vol. 61, pp. 66-72, 2020, doi: 10.1134/S0022476620010072
- [19] A. J. Barrett, N. Rawlings, «‘Species’ of peptidases,» *Biological Chemistry*, pp. 1151-1157, 2007, doi: 10.1515/BC.2007.151
- [20] D. Xu, H. Guo, «Quantum Mechanical/Molecular Mechanical and Density Functional Theory Studies of a Prototypical Zinc Peptidase (Carboxypeptidase A) Suggest a General Acid–General Base Mechanism,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 131, 2009, doi: 10.1021/ja9027988
- [21] H. Jörnvall, T. Bergman, «Zinc Alcohol Dehydrogenases.,» *Encyclopedia of Metalloproteins*, pp. 2349-2354, 2013, doi: 10.1007/978-1-4614-1533-6_181
- [22] D. Gaynor, D. Griffith, «The prevalence of metal-based drugs as therapeutic or diagnostic agents: beyond platinum,» *Dalton Transactions*, 2012, doi: 10.1039/c2dt31601c
- [23] B. Michalke, *Metallomics: Analytical Techniques and Speciation Methods*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2016, doi:10.1002/9783527694907
- [24] B. Smith, E. Edelman, «Nanomedicines for cardiovascular disease,» *Nature Cardiovascular Research*, vol. 2, pp. 351-367, 2023, doi: 10.1038/s44161-023-00232-y
- [25] M. Gielen, E. Tlekink, *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine*, JOHN WILEY & SONS, LTD, 2005, doi: 10.1002/0470864052
- [26] A. Tarushi, C. Raptopoulou, V. Psycharis, A. Terzis, G. Psomas, D. Kessissoglou, «Zinc(II) complexes of the second-generation quinolone antibacterial drug

enrofloxacin: Structure and DNA or albumin interaction,» *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 18, pp. 2678-2685, 2010, doi: 10.1016/j.bmc.2010.02.021

- [27] A. Tarushi, G. Psomas, C. Raptopoulou, D. Kessissoglou, «Zinc complexes of the antibacterial drug oxolinic acid: structure and DNA-binding properties,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 103, pp. 898-905, 2009, doi:10.1016/j.jinorgbio.2009.03.007
- [28] A. Katoh, Y. Matsumura, Y. Yoshikawa, H. Yasui, H. Sakurai, «Evaluation of insulin-mimetic activities of vanadyl and zinc(II) complexes from the viewpoint of heterocyclic bidentate ligands,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 103, pp. 567-574, 2009, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2008.12.005
- [29] H. Sakurai, Y. Yoshikawa, Y. Kojima, K. Kawabe, H. Yasui, «Antidiabetic vanadium(IV) and zinc(II) complexes,» *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 226, pp. 187-198, 2002, doi: 10.1016/S0010-8545(01)00447-7
- [30] P. Lemoine, B. Viossat, N. H. Dung, A. Tomas, G. Morgant, F. T. Greenaway, R. J. Sorenson, «Synthesis, crystal structures, and anti-convulsant activities of ternary $[ZnII(3,5\text{-diisopropylsalicylate})_2]$, $[ZnII(\text{salicylate})_2]$ and $[ZnII(\text{aspirinate})_2]$ complexes,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 98, pp. 1734-1749, 2004, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2004.07.010
- [31] J. d'Angelo, G. Morgant, N.E. Ghermani, D. Desmaele, B. Fraisse, F. Bonhomme, E. Dichi, M. Sghaier, Y. Li, Y. Journaux, J.R.J. Sorenson, «Crystal structures and physico-chemical properties of Zn(II) and Co(II) tetraaqua(3-nitro-4-hydroxybenzoato) complexes: Their anticonvulsant activities as well as related (5-nitrosalicylato)-metal complexes,» *Polyhedron*, vol. 27, pp. 537-546, 2008, doi : 10.1016/j.poly.2007.10.006
- [32] G. L. Patrick, *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, 2013.
- [33] V. T. Andriole, *The Quinolones*, Academic Press, 2000, doi:10.1016/B978-012059517-4/50017-9
- [34] A. Tarushi, J. Kljun, I. Turel, A. Pantazaki, G. Psomas, D. Kessissoglou, «Zinc(ii) complexes with the quinolone antibacterial drug flumequine: structure, DNA- and albumin-binding,» *New Journal of Chemistry*, ap. 2, 2013, doi:10.1039/c2nj40798a
- [35] A. Tarushi, K. Lafazanis, J. Kljun, I. Turel, A. Pantazaki, G. Psomas, D. Kesisoglou, «First- and second-generation quinolone antibacterial drugs interacting with zinc(II): Structure and biological perspectives,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 121, pp. 53-65, 2013, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2012.12.009
- [36] O. Frousiou, A. Barmpa, S. Kalogiannis, F. Perdih, I. Turel, G. Psomas, «Manganese(II) complexes of the quinolone family member flumequine: Structure, antimicrobial

activity and affinity for albumins and calf-thymus DNA,» *Polyhedron*, vol. 145, pp. 166-175, 2018, doi:10.1016/j.poly.2018.02.006

- [37] S. Paudel, C. Cerbu, C. Astete, S. Louie, C. Sabliov, D. Rodrigues, «Enrofloxacin-Impregnated PLGA Nanocarriers for Efficient Therapeutics and Diminished Generation of Reactive Oxygen Species,» *ACS Applied Nano Materials*, vol. 2, pp. 5035-5043, 2019, doi:10.1021/acsanm.9b00970
- [38] L. Grabowski, L. Gaffke, K. Pierzynowska, Z. Cyske, M. Choszcz, G. Wegrzyn, A. Wegrzyn, «Enrofloxacin—The Ruthless Killer of Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections?,» *International Journal of Molecular Sciences*, p. 3648, 2022, doi: 10.3390/ijms23073648
- [39] M. Unzeta, G. Esteban, I. Bolea, W. Forgel, R. Ramsay, M. Youdim, K. Tipton, J. Marco-Contelles, «Multi-Target Directed Donepezil-Like Ligands for Alzheimer's Disease,» *Front Neurosci*, 2016, doi: 10.3389/fnins.2016.00205
- [40] S. Hamulakova, P. Poprac, K. Jomova, V. Brezova, P. Lauro, L. Drostinova, D. Jun, V. Sepsova, M. Hrabanova, O. Soukup, P. Kristian, Z. Gazova, Z. Bednarikova, K. Kuca, M. Valko, «Targeting copper(II)-induced oxidative stress and the acetylcholinesterase system in Alzheimer's disease using multifunctional tacrine-coumarin hybrid molecules,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 161, pp. 52-62, 2016, doi:10.1016/j.jinorgbio.2016.05.001
- [41] N. Watt, I. Whitehouse, N. Hooper, «The role of zinc in Alzheimer's disease,» *International Journal of Alzheimers Disease.*, 2010, doi:10.4061/2011/971021
- [42] K. Summers, G. Roseman, K. Schilling, N. Dolgova, J. Pushie, D. Sokaras, T. Kroll, H. Harris, G. Millhauser, I. Pickering, G. Graham, «Alzheimer's Drug PBT2 Interacts with the Amyloid β 1–42 Peptide Differently than Other 8-Hydroxyquinoline Chelating Drugs,» *Inorganic Chemistry*, vol. 61, pp. 14626-14640, 2022, doi:10.1021/acs.inorgchem.2c01694
- [43] Y. Liu, J. Wei, Z. Chen, M. Liu, Y. Gu, K. Huang, Z. Li, H. Liang, «The antitumor activity of zinc(II) and copper(II) complexes with 5,7-dihalo-substituted-8-quinolinoline,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 69, pp. 554-563, 2013, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.08.033
- [44] D. Kovala-Demertzi, P.N. Yadav, J. Wiecek, S. Skoulika, T. Varantinova, M. Demartzis, «Zinc(II) complexes derived from pyridine-2-carbaldehyde thiosemicarbazone and (1E)-1-pyridin-2-ylethan-1-one thiosemicarbazone. Synthesis, crystal structures and antiproliferative activity of zinc(II) complexes,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 100, pp. 1558-1567, 2006, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2006.05.006

- [45] M.X. Li, C.L. Chen, D. Zhang, J. Y. Niu, B. S. Ji, «Mn(II), Co(II) and Zn(II) complexes with heterocyclic substituted thiosemicarbazones: Synthesis, characterization, X-ray crystal structures and antitumor comparison,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45, pp. 3169-3177, 2010, doi: 10.1016/j.ejmech.2010.04.009
- [46] Y. Huang, W. Wang, X. Zhou, «A binuclear zinc(II) Schiff base complex: Crystal structure characterization, antitumor activity and cell apoptosis induction in BEL-7404 tumor cells,» *Indian Journal of Chemistry*, vol. 53A, pp. 793-798, 2014.
- [47] R. Yuan, R. Xiong, Z. Chen, P. Zhang, H. Ju, Z. Dai, Z. Guo, H. Func kai X. You, «Crystal structure of zinc(II) 2-sulfanilamidopyrimidine: a widely used topical burn drug,» *Journal of the Chemical Society, Dalton Trans.*, vol. 30, pp. 774-776, 2001, doi:10.1039/B100901J
- [48] J. Garcia-Puig, L.M. Ruilope, «Hyperuricemia and renal function,» *Current Hypertension Reports*, vol. 3, pp. 197-202, 2001, doi:11906-001-0038-2
- [49] G. Hánggi, H. Schmale, E.h Dubler, «Interaction of Metal Ions with Alloxanthine, a Model in Xanthine Oxidase Inhibition by the Drug Allopurinol: Synthesis and Characterization of $M(\text{alloxanthine})_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($M = \text{Cu}, \text{Co}$) and $\text{Zn}(\text{alloxanthine})_2\text{Cl}_2$,» *Inorganic Chemistry*, vol. 32, pp. 6095-6101, 1993, doi:10.1021/ic00078a030
- [50] L. Chen, H .Deng, H .Cui, J .Fang, Z .Zuo, J .Deng, Y, Li, X, Wang, L Zhao, «Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs». *Oncotarget*, pp.7204-7218, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.23208
- [51] B. Walker, N. Colledge, S. Ralston, I.Penman, Davidson's Principles and Practice of Medicine, Churchill Livingstone Elsevier, 2013.
- [52] J. R. Botting, R. M. Vane, «Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs,» *The American Journal of Medicine*, vol. 104, pp. 2-8, 1998, doi: 10.1016/s0002-9343(97)00203-9
- [53] C. Banti, S. Hadjikakou, «Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Metal Complexes and Their Effect at the Cellular Level,» *European Journal of Inorganic Chemistry*, pp. 3048-3071, 2016, doi:10.1002/ejic.201501480
- [54] L. H. Abdel-Rahman, D. Abou El-Ezz, A.-M. M. Abdel-Mawgoud, M. R. Shehata, M. A. E. A. A. El-Remaily, M. Abdel-Hameed, S. K. Mohamed, «Synthesis and biological evaluation of ibuprofen/o-vanillin Schiff base complexes with anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-SARS-COV-19 activities», *Scientific reports*, 2026, doi: 10.1038/s41598-026-38270-8
- [55] G. Psomas, D. Kessissoglou, «Quinolones and non-steroidal anti-inflammatory drugs interacting with copper(ii), nickel(ii), cobalt(ii) and zinc(ii): structural features,

biological evaluation and perspectives,» *Dalton Transactions*, vol. 42, pp. 6252-6276., 2013, doi: 10.1039/c3dt50268f

- [56] G. A. Fitzgerald, E. Ricciotti, «Prostaglandins and inflammation,» *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, pp. 986-1000, 2011, doi: 10.1161/ATVBAHA.110.207449
- [57] Ε. Κουρούκλη, «Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΟΔΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΟΞΥ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΟ ΠΟΝΟ,» *ΑΙΓΟΣ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΡΟΝΙΚΑ*, αρ. 1, 2005.
- [58] H. L. Kirschenbaum, H. B. Fung, «Selective cyclooxygenase-2 inhibitors for the treatment of arthritis,» *Clinical Therapeutics*, vol. 21, pp. 1131-1157, 1999, doi: 10.1016/S0149-2918(00)80018-1
- [59] S. Zappavigna, A. M. Cossu, A. Grimaldi, M. Bocchetti, G. A. Ferraro, G.F. Nicoletti, R. Filosa, M. Caraglia, «Anti-Inflammatory Drugs as Anticancer Agents,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, p. 2605, 2020, doi: 10.3390/ijms21072605
- [60] D. Kovala-Demertzi, M. Staninska, I. Garcia-Santos, A. Castineiras, A. Mavroudis Demertzis, «Synthesis, crystal structures and spectroscopy of meclofenamic acid and its metal complexes with manganese(II), copper(II), zinc(II) and cadmium(II). Antiproliferative and superoxide dismutase activity,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 105, pp. 1187-1195, 2011, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2011.05.025
- [61] G. Malis, C. Banti, A. Tialiou, M. Reithofer, A. Hatzidimitriou, Sotiris Hadjikakou, K. Fylaktakidou, G. Psomas, «Cobalt(II) Complexes of 4'-Bromo-Fenamic Acid: Antioxidant Properties, Antibacterial Activity, and Interaction with DNA and Albumins,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 26, p. 9787, 2025, doi: 10.3390/ijms26199787
- [62] J. Li, X. Wang, H. Zhang, X. Hu, X. Peng, W. Jiang, L. Zhuo, Y. Peng, G. Zeng Z. Wang, «Fenamates: Forgotten treasure for cancer treatment and prevention: Mechanisms of action, structural modification, and bright future,» *Medicinal Research Reviews*, vol. 45, pp. 164-213, 2025, DOI: 10.1002/med.22079
- [63] J. Hill, H. Nasser, «Fenamates as Potential Therapeutics for Neurodegenerative Disorders,» *Cells*, vol. 10, p. 702, 2021, doi: 10.3390/cells10030702
- [64] J. Kalembkiewicz, M. Kosińska, L. Zapata, «Complexes of aminobenzoic acids: A comprehensive review concerning synthesis, physical chemistry, structure and application,» *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 348, pp. 25-53, 2017, doi: 10.1016/j.ccr.2017.07.004
- [65] M. Manzoor, M. Solangi, S. Perveen, U. Salar, F. Naz, J. Iqbal, Z. Hussain, A. Imran, M. Taha, M. Khan, «Exploring tricycle acridines as prospective urease inhibitors: synthesis via microwave assistance, in vitro evaluation, kinetic profiling, and

molecular docking investigations,» *Journal of the Iranian Chemical Society*, vol. 21, pp. 1163-1183, 2024, doi: 10.1007/s13738-024-02990-3

- [66] S. K. Sharma, W. Fraser, «Selectivity of a bromoacridine-containing fluorophore for triplex DNA,» *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, vol. 152, pp. 1013-1016, 2021, doi: 10.1007/s00706-021-02816-5
- [67] M. Askarzadeh, A. Moazzam, M. H. Sayahi, A. Fouladvand, M. Adib M. Mahdavi, «Eco-friendly, green and new metal-free intramolecular Friedel–Crafts reaction to synthesis of Acridones derivatives using phenylboronic acid derivatives,» *Tetrahedron Letters*, vol. 123, 2023, doi: 10.1016/j.tetlet.2023.154532
- [68] G. Psomas, «Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural features and antioxidant activity,» *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 412, 2020, doi: 10.1016/j.ccr.2020.213259
- [69] A. Tarushi, Z. Karaflou, J. Kljun, I. Turel, G. Psomas, A. Papadopoulos, D. Kessissoglou, «Antioxidant capacity and DNA-interaction studies of zinc complexes with a non-steroidal anti-inflammatory drug, mefenamic acid,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 128, pp. 85-96, 2013, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2013.07.013
- [70] A. Tarushi, X. Totta, A. Papadopoulos, J. Kljun, I. Turel, D. Kessissoglou, G. Psomas, «Antioxidant activity and interaction with DNA and albumins of zinc–tolfenamato complexes. Crystal structure of $[Zn(tolfenamato)_2(2,2'\text{-dipyridylketoneoxime})_2]$,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 74, pp. 187-198, 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.12.019
- [71] A. Tarushi, X. Totta, C. P. Raptopoulou, V. Psycharis, G. Psomas, D. Kessissoglou, «Structural features of mono- and tri-nuclear Zn(ii) complexes with a non-steroidal anti-inflammatory drug as ligand,» *Dalton Transactions*, pp. 7082-7091, 2012, doi: 10.1039/c2dt30547j
- [72] A. Tarushi, P. Kastanias, C. Raptopoulou, V. Psycharis, D. Kessissoglou, A. Papadopoulos, G. Psomas, «Zinc complexes of flufenamic acid: Characterization and biological evaluation,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 163, pp. 332-345, 2016, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2016.04.023
- [73] M. Loudon, J. Parise, Organic Chemistry, Nicosia: BROKEN HILL PUBLISHERS LTD, 2019.
- [74] H. Yu, X. Bai, G. Qian, H. Wei, X. Gong, J. Jin, Z. Li, «Impact of Ultraviolet Radiation on the Aging Properties of SBS-Modified Asphalt Binders,» *Polymers (Basel)*, 2019, doi: 10.3390/polym11071111
- [75] Σ. Τερζάκης, Π. Τρικαλίτης, Single Crystal X-ray Diffraction Crystallography, ΗΡΑΚΛΕΙΟ: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ, 2020.

- [76] Δ. Κεσίσσογλου, Π. Ακριβός, Π. Ασλανίδης, Π. Καραφίλογλου, Α. Δενδρινού-Σαμαρά, Βιοσυναρμοστική Χημεία, 1η επιμ., τόμ. II: Σύνθεση & Μελέτη Ενώσεων Συναρμογής, Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Ζήτη, 2006, pp. 87-88.
- [77] D. Skoog, F. J. Holler, S. Crouch, ΑΡΧΕΣ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ, 6η επιμ., Μ. Καραγιάννης, Κ. Ευσταθίου, Επιμ., ΑΘΗΝΑ: ΚΩΣΤΑΡΑΚΗ, 2007.
- [78] Θ. Μαυρομούστακος, Α. Τζάκος, Γ. Σπυρούλιας, Ε. Μικρός, Α. Κολοκούρης, Κ. Παπακωνσταντίνου, Ι. Γεροθανάσης, Ι. Ματσούκας, Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός, Αθήνα: Συμμετρία, 2018.
- [79] Δ. Κεσίσσογλου, Π. Ακριβός., Χημεία Ενώσεων Συναρμογής: Θεωρία, Ασκήσεις Και Πειράματα, Θεσσαλονίκη: Ζήτη, 2013.
- [80] S. Perontsis, A. Dimitriou, P. Fotiadou, A. Hatzidimitriou, A. Papadopoulos, G. Psomas, «Cobalt(II) Complexes with the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Diclofenac and Nitrogen-Donor Ligands,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 196, p. 110688, 2019, doi:10.1016/j.jinorgbio.2019.04.002
- [81] S. Perontsis, A. Hatzidimitriou και G. Psomas, «Coordination Compounds of Cobalt(II) with Carboxylate Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: Structure and Biological Profile,» *Dalton Transactions*, vol. 53, p. 15215–15235, 2024.
- [82] Ι. Γεωργάτσος, Εισαγωγή στην Βιοχημεία, Θεσσαλονίκη: Γιαχούδη-Γιαπούλη, 2001.
- [83] D. Nelson, M. Cox, Lehninger-Principles of Biochemistry, Broken Hill Publishers LTD, 2011.
- [84] S. Perontsis, G. Geromichalos, A. Pekou, A. Hatzidimitriou, A. Pantazaki, K. Fylaktakidou, G. Psomas, «Structure and biological evaluation of pyridine-2-carboxamide copper(II) complex resulting from N'-(4-nitrophenylsulfonyloxy)-pyridine-carboxamidoxime,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 208, p. 111085, 2020, doi:10.1016/j.jinorgbio.2020.111085
- [85] Δ. Κεσίσσογλου, Γ. Ψωμάς, Αλληλεπίδραση Μεταλλικών Ιόντων με το DNA, στην: Βιοανόργανη Χημεία, ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΖΗΤΗ, 2011, p. 193–199.
- [86] B. Alberts, D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας, 6η έκδ., Κ. Σταματόπουλος, Ν. Μοσχονάς, Α. Ηλιόπουλος, Επιμ. ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΣΧΑΛΙΔΗ, 2006.
- [87] R. Browning, P.J.T. Reardon, M. Parhizkar, B. Pedley, M. Edirisinghe, J. Knowles, E. Stride, «Drug Delivery Strategies for Platinum-Based Chemotherapy,» *ACS Nano*, vol. 11, p. 8560–8578, 2017, doi: 10.1021/acsnano.7b04092

- [88] A. Mukherjee, W. Sasikala, «Chapter One - Drug–DNA Intercalation: From Discovery to the Molecular Mechanism,» *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, vol. 98, 2013, doi: 10.1016/B978-0-12-411636-8.00001-8
- [89] Z. Chen, Z. Wang, J. Chen, X. Chen, J. Wu, Y. Wu, J. Liang, «Resonance light scattering technique as a new tool to determine the binding mode of anticancer drug oridonin to DNA,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, doi: 10.1016/j.ejmech.2013.05.042
- [90] Z. Papadopoulos, E. Doulopoulou, A. Zianna, A. Hatzidimitriou, G. Psomas, «Copper(II) Complexes of 5–Fluoro–Salicylaldehyde: Synthesis, Characterization, Antioxidant Properties, Interaction with DNA and Serum Albumins,» *Molecules*, vol. 27, 2022, doi: 10.3390/molecules27248929
- [91] A. Tarushi, C. Raptopoulou, V. Psycharis, D. Kessissoglou, A. Papadopoulos, G. Psomas, «Interaction of zinc(II) with the non-steroidal anti-inflammatory drug,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 176, pp. 100-112, 2017, doi:10.1016/j.jinorgbio.2017.08.022
- [92] A. Tarushi, P. Kastanias, C. Raptopoulou, V. Psycharis, D. Kessissoglou, A. Papadopoulos, G. Psomas, «Zinc complexes of flufenamic acid: Characterization and biological evaluation,» *Zinc complexes of flufenamic acid: Characterization and biological evaluation*, vol. 163, pp. 332-345, 2016, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2016.04.023
- [93] M. Lazou, A. Hatzidimitriou, A. Papadopoulos, G. Psomas, «Zinc-oxaprozin compounds: Synthesis, structure and biological activity,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 195, pp. 101-110, 2019, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.03.016
- [94] A. Zianna, E. Vradi, A. Hatzidimitriou, S. Kalogiannis, G. Psomas, «Zinc(ii) complexes of 3-bromo-5-chloro-salicylaldehyde: characterization and biological activity,» *Dalton Transactions*, vol. 51, p. 17629–17641, 2022, doi:10.1039/d2dt02404g
- [95] R. Galindo-Murillo, T. Cheatham, «Ethidium bromide interactions with DNA: an exploration of a classic DNA–ligand complex with unbiased molecular dynamics simulations,» *Nucleic Acids Research*, vol. 49, p. 3735–3747, 2021, doi: 10.1093/nar/gkab143
- [96] G. Quinlan, G. Martin, T. Evans, «Albumin Biochemical properties and therapeutic potential,» *Hepatology*, vol. 41, pp. 1211-1219, 2005, doi: 10.1002/hep.20720
- [97] J. Rozga, T. Piatek, P. Matkowski, «Human albumin: old, new, and emerging applications,» *Annals of Transplantation*, vol. 18, p. 205–217, 2013, doi: 10.12659/AOT.889188

- [98] S. Bihari, J. Bannard-Smith, R. Bellomo, «Albumin as a drug: its biological effects beyond volume expansion,» *Critical Care and Resuscitation*, pp. 257-265, 2022, doi: 10.1016/S1441-2772(23)00394-0
- [99] S.M. Ahn, K. Byun, K. Cho, J.Y. Kim, J.S. Yoo, D. Kim, S.H. Paek, S.U. Kim, R. Simpson, B. Lee, «Human Microglial Cells Synthesize Albumin in Brain,» *PLoS One*, 2008, doi: 10.1371/journal.pone.0002829
- [100] M. Dockal, D. Carter, F. Rüker, «The three recombinant domains of human serum albumin. Structural characterization and ligand binding properties,» *Journal of Biological Chemistry*, vol. 274, p. 29303–29310, 1999, doi: 10.1074/jbc.274.41.29303
- [101] V. T. G. Chuangl, M. Otagiri, «Stereoselective binding of human serum albumin,» *Chirality*, pp. 159-166, 2006, doi: 10.1002/chir.20237
- [102] J.R. Olivieri, A.F. Craievich, «The subdomain structure of human serum albumin in solution under different pH conditions studied by small angle X-ray scattering,» *European Biophysics Journal*, vol. 24, pp. 77-84, 1995, doi: 10.1007/BF00211402
- [103] E.L. Gelamo, C.H.T.P. Silva, H. Imasato, M. Tabak, «Interaction of bovine (BSA) and human (HSA) serum albumins with ionic surfactants: spectroscopy and modelling,» *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, pp. 84-99, 2002, doi: 10.1016/s0167-4838(01)00287-4
- [104] U. Hoeger, J. Robin Harris, *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins*, Springer Cham, 2020.
- [105] L. Zheng, Y. He, P. Lin, L. Liu, H. Yang, Y. Peng, S. Xie, «Spectroscopic analysis of the interaction between tetra-(p-sulfoazophenyl-4-aminosulfonyl)-substituted aluminum (III) phthalocyanines and serum albumins,» *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, vol. 10, 2017, doi: 10.1142/S1793545816500437
- [106] A. Bujacz, «Structures of bovine, equine and leporine serum albumin,» *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, pp. 1278-1289. 2012, doi: 10.1107/S09074444912027047
- [107] S. Sugio, A. Kashima, S. Mochizuk, M. Noda, K. Kobayashi. «Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution,» *Protein Engineering, Design and Selection*, pp. 439-446, 1999 doi: 10.1093/protein/12.6.439
- [108] I. Gulcin, «Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview,» *Archives of Toxicology*, vol. 94, pp. 651-715, 2020, doi: 10.1007/s00204-020-02689-3
- [109] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra, «Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health,» *Pharmacognosy Reviews*, vol. 4, pp. 118-126, 2010, doi: 10.4103/0973-7847.70902
- [110] F. Dimiza, A. Barmpa, A. Chronakis, A. Hatzidimitriou, Y. Sanakis, A. Papadopoulos, G. Psomas, «Iron(III) Complexes with Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: Structure,

Antioxidant and Anticholinergic Activity, and Interaction with Biomolecules,» *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, p. 6391, 2023, doi: 10.3390/ijms24076391

- [111] F. Dimiza , A. Papadopoulos, V. Tangoulis, V. Psycharis, C.Raptopoulou, D. Kessissoglou, G. Psomas, «Biological evaluation of cobalt(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drug naproxen,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, pp. 54-64, 2012, doi: 0.1016/j.jinorgbio.2011.10.014
- [112] G. Malis, E. Geromichalou, G. Geromichalos, A. Hatzidimitriou, G. Psomas, «Copper(II) complexes with non–steroidal anti–inflammatory drugs: Structural characterization, in vitro and in silico biological profile,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 224, p. 111563, 2021, doi:10.1016/j.jinorgbio.2021.111563
- [113] G. McDonnell, D. Russell, «Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance», *Clin Microbiol Reviews*, p.147-79, 1999 doi: 10.1128/CMR.12.1.147
- [114] D. Kokkalis, A. Ntokou, S. Kalogiannis, A. Hatzidimitriou, G. Psomas, «Cobalt(II) and zinc(II) complexes with 2-propionate-based non-steroidal anti-inflammatory drugs,» *Dalton Transactions*, vol 55, p. 11380-11393, 2026, doi:10.1039/D6DT00786D
- [115] R. Smolkova, V. Zelenak, R. Gyepes, D. Hudecova, «Biological activity of two novel zinc(II) complexes with NSAID mefenamic acid,» *Chemical Papers*, vol. 74, p. 1525–1540, 2019, doi:10.1007/s11696-019-01003-5

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

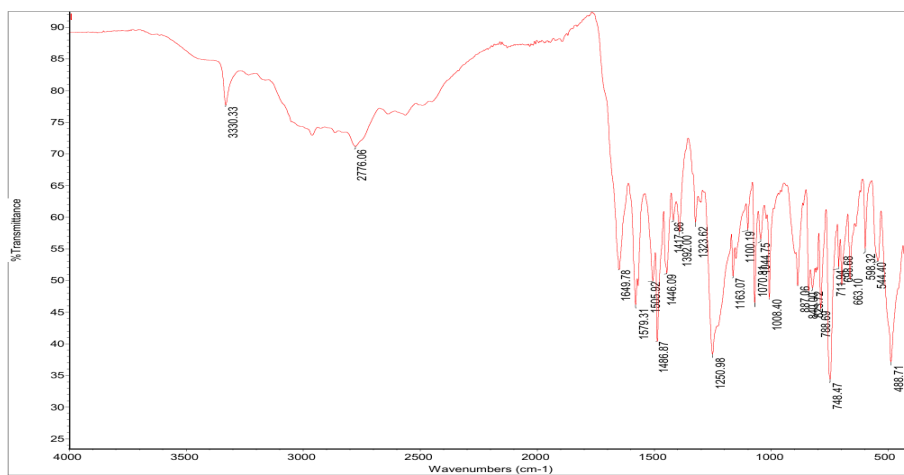
4'-Br-fenH:	4'-βρωμο-φαιναμικό οξύ
ABTS:	2,2'-αζινο-δις(3-αιθυλοβενζοθειαζολινο-6-σουλφονικό οξύ)
BHT:	βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο
biry:	2,2'-διπυριδίνη
biryam:	2,2'-διπυριδυλαμίνη
BSA:	Αλβουμίνη βόειου ορού
DMF:	Διμεθυλοφορμαμίδιο
DMSO:	Διμεθυλοσουλφοξείδιο
DPPH:	2,2-διφαινυλ-1-πικρυλιδραζύλιο
EB:	Βρωμιούχο αιθίδιο
Himi:	Ιμιδαζόλιο
HSA:	Αλβουμίνη ανθρώπινου ορού
MeOH:	Μεθανόλη
NDGA:	νορδιϋδρογουαϊρετικό οξύ
phen:	1,10-φαινανθρολίνη
Trolox:	6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλχρωμοαν-2-καρβοξυλικό οξύ
ΜΣΑΦ:	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΡΑΦΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

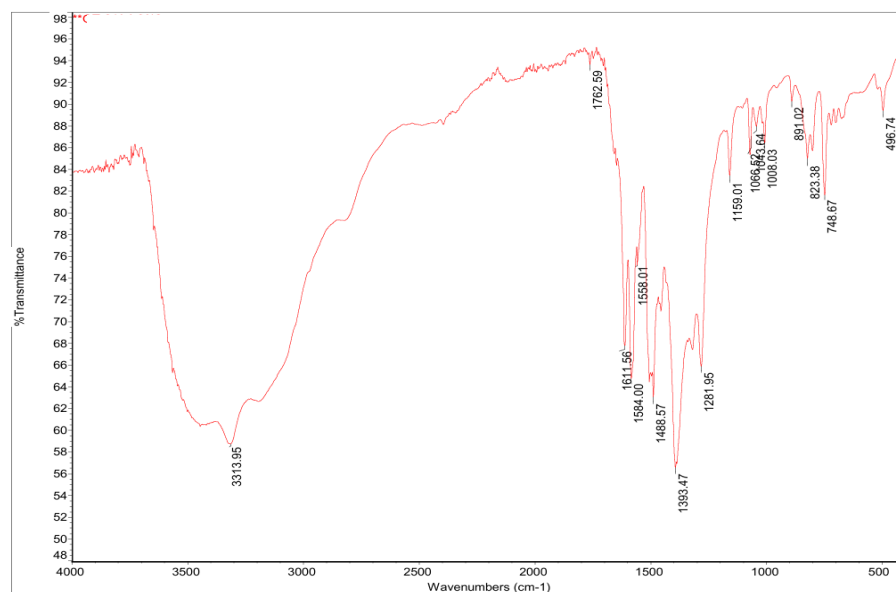
Πίνακας 18. Πειραματικά κρυσταλλογραφικά δεδομένα για τα σύμπλοκα **2**, **3** και **5**.

	Zn(4'-Br-fen) ₂ (phen)] (2)	[Zn(4'-Br-fen) ₂ (bipy)] (3)	[Zn(4'-Br-fen) ₂ (bipyam)] (5)
Crystal data			
Chemical formula	C ₃₈ H ₂₆ Br ₂ N ₄ O ₄ Zn	C ₃₆ H _{26.00} Br ₂ N ₄ O ₄ Zn	C ₃₆ H ₂₇ Br ₂ N ₅ O ₄ Zn
<i>M_r</i>	827.84	803.81	818.83
Crystal system, space group	Triclinic, <i>P</i> -1	Monoclinic, <i>C</i> 2/ <i>c</i>	Monoclinic, <i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
Temperature (K)	295	295	295
<i>a</i> (Å)	9.789 (4)	19.946 (15)	15.066 (5)
<i>b</i> (Å)	12.798 (4)	17.744 (13)	7.778 (3)
<i>c</i> (Å)	14.541 (6)	20.151 (14)	28.385 (9)
α (°)	65.838 (11)	90	90
β (°)	86.792 (13)	111.86 (2)	92.910 (6)
γ (°)	86.858 (12)	90	90
<i>V</i> (Å ³)	1658.5 (11)	6619 (8)	3321.8 (19)
<i>Z</i>	2	8	4
Radiation type	Mo Kα	Mo Kα	Mo Kα
μ (mm ⁻¹)	3.20	3.20	3.19
Crystal size (mm)	0.23 × 0.15 × 0.12	0.19 × 0.11 × 0.11	0.18 × 0.15 × 0.12
Data collection			
Diffractometer	Bruker Kappa Apex2		
Absorption correction	Numerical Analytical Absorption (De Meulenaer & Tompa, 1965)		
<i>T</i> _{min} , <i>T</i> _{max}	0.62, 0.68	0.70, 0.70	0.62, 0.68
No. of measured, reflections	28906	30100	29138
No. of independent reflections	6296	6239	6408
No. of observed [<i>I</i> > 2.0σ(<i>I</i>)] reflections	4872	5091	4568
<i>R</i> _{int}	0.025	0.015	0.044
(sin θ/λ) _{max} (Å ⁻¹)	0.612	0.611	0.613
Refinement			
<i>R</i> [<i>F</i> ² > 2σ(<i>F</i> ²)], <i>wR</i> (<i>F</i> ²), <i>S</i>	0.040, 0.077, 1.00	0.049, 0.086, 1.00	0.054, 0.073, 1.00
No. of reflections	4872	5091	4568
No. of parameters	442	424	433
H-atom treatment	H-atom parameters constrained	H-atom parameters constrained	H-atom parameters constrained
Δρ _{max} , Δρ _{min} (e Å ⁻³)	1.35, -0.95	0.76, -0.51	1.23, -1.03

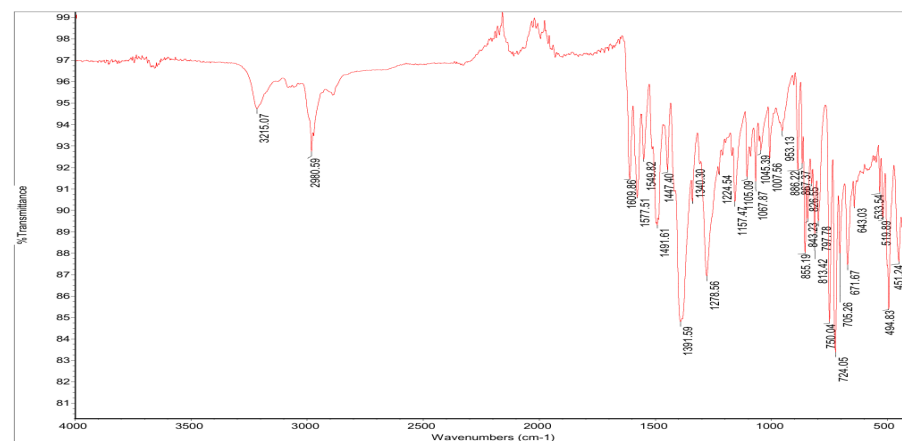
4'-Br-fenH



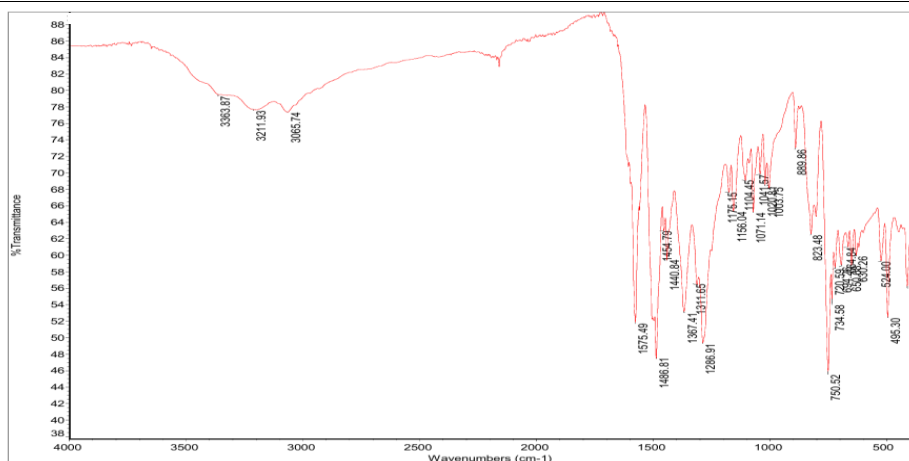
[Zn(4'-Br-fen)₂(MeOH)₄]



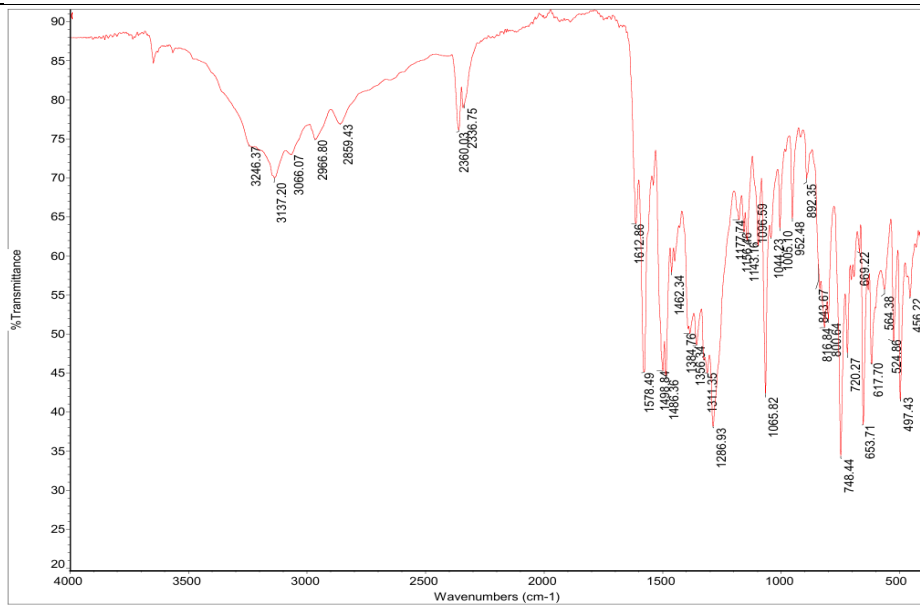
[Zn(4'-Br-fen)₂(phen)]



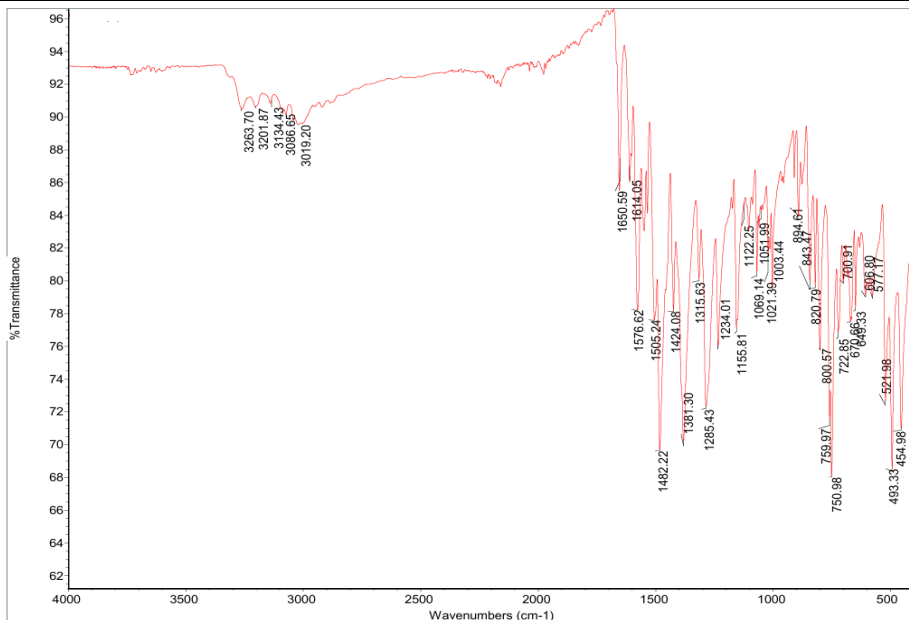
[Zn(4'-Br-phen)₂(bipy)]



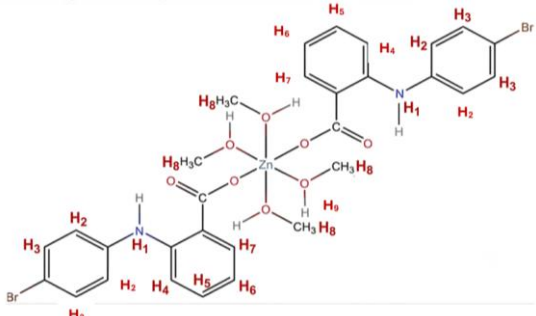
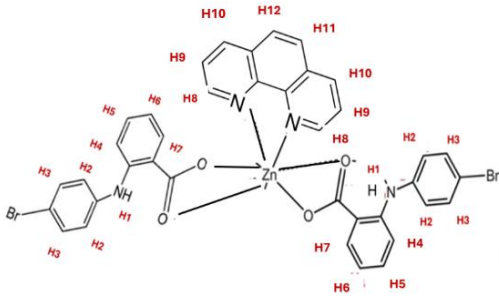
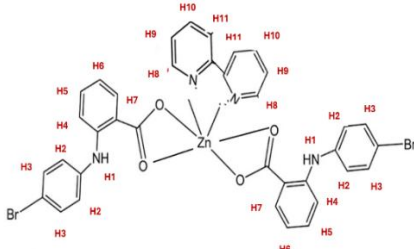
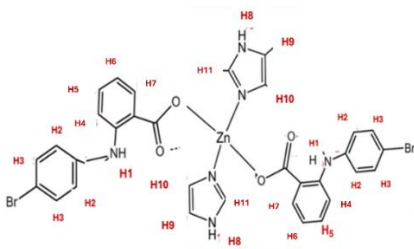
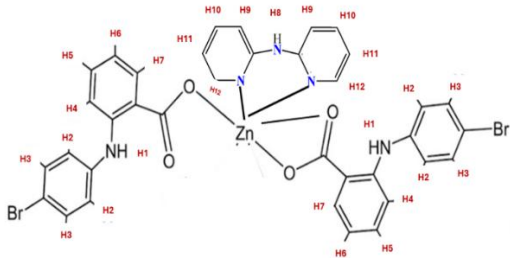
[Zn(4'-Br-phen)₂(Himi)₂]



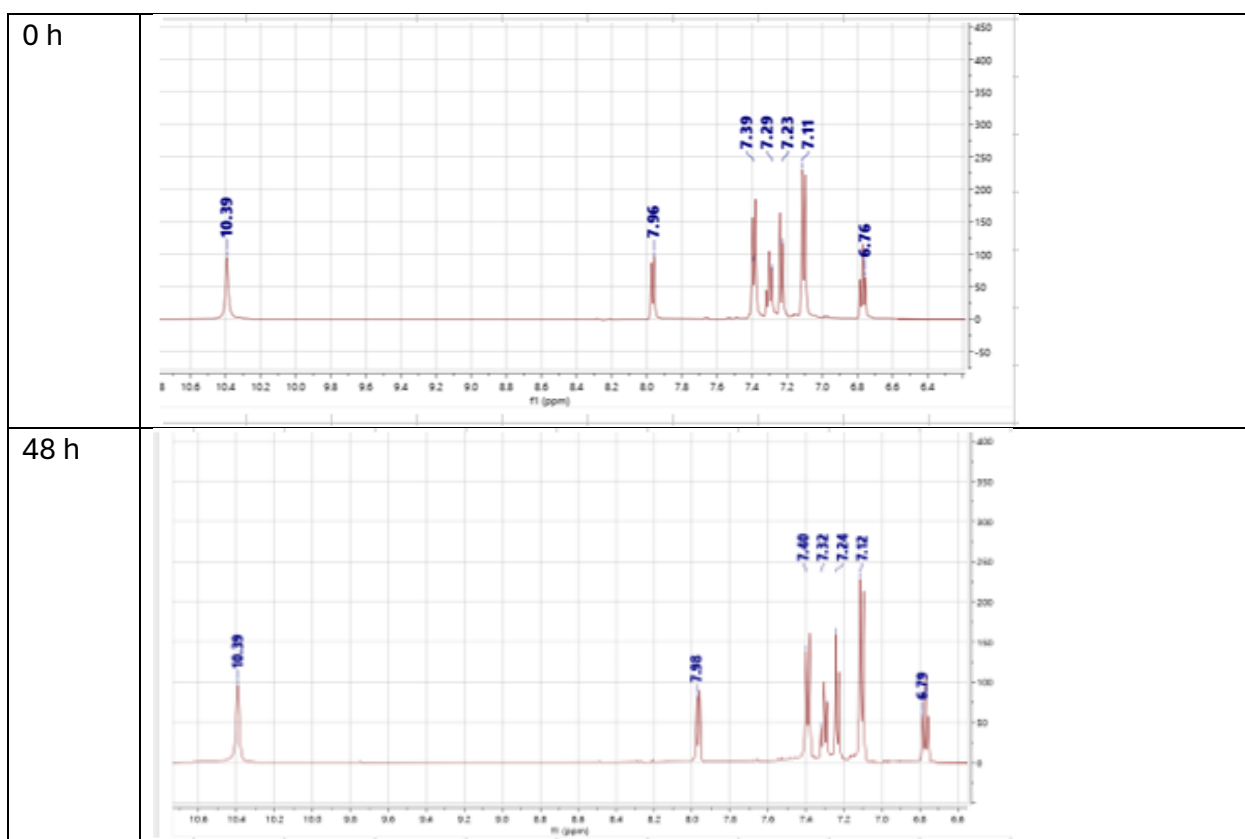
[Zn(4'-Br-phen)₂(bipyam)]



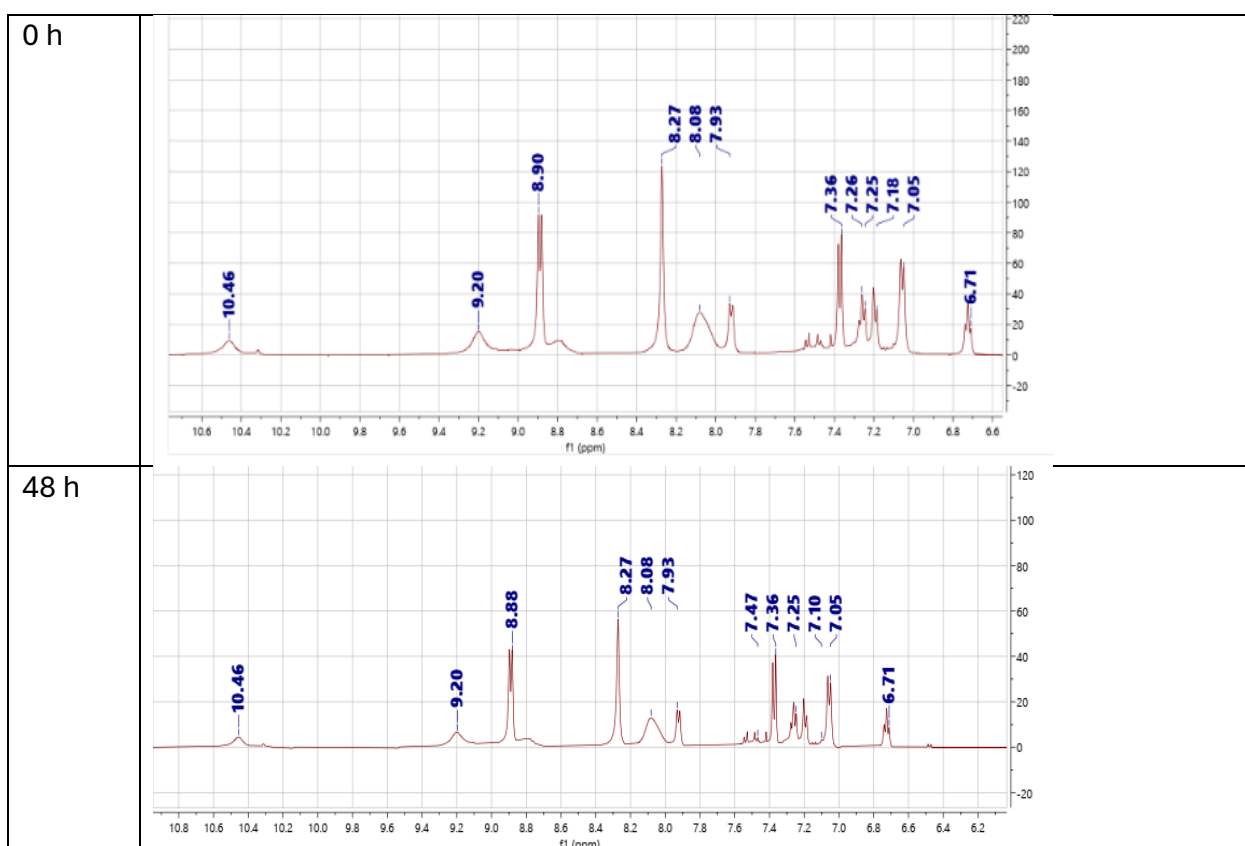
Εικόνα 76: Φάσματα IR των ενώσεων.

	
[Zn(4'-Br-fen)₂(MeOH)₄]	[Zn(4'-Br-fen)₂(phen)]
	
[Zn(4'-Br-fen)₂(bipy)]	[Zn(4'-Br-fen)₂(Himi)₂]
	
[Zn(4'-Br-fen)₂(bipyam)]	

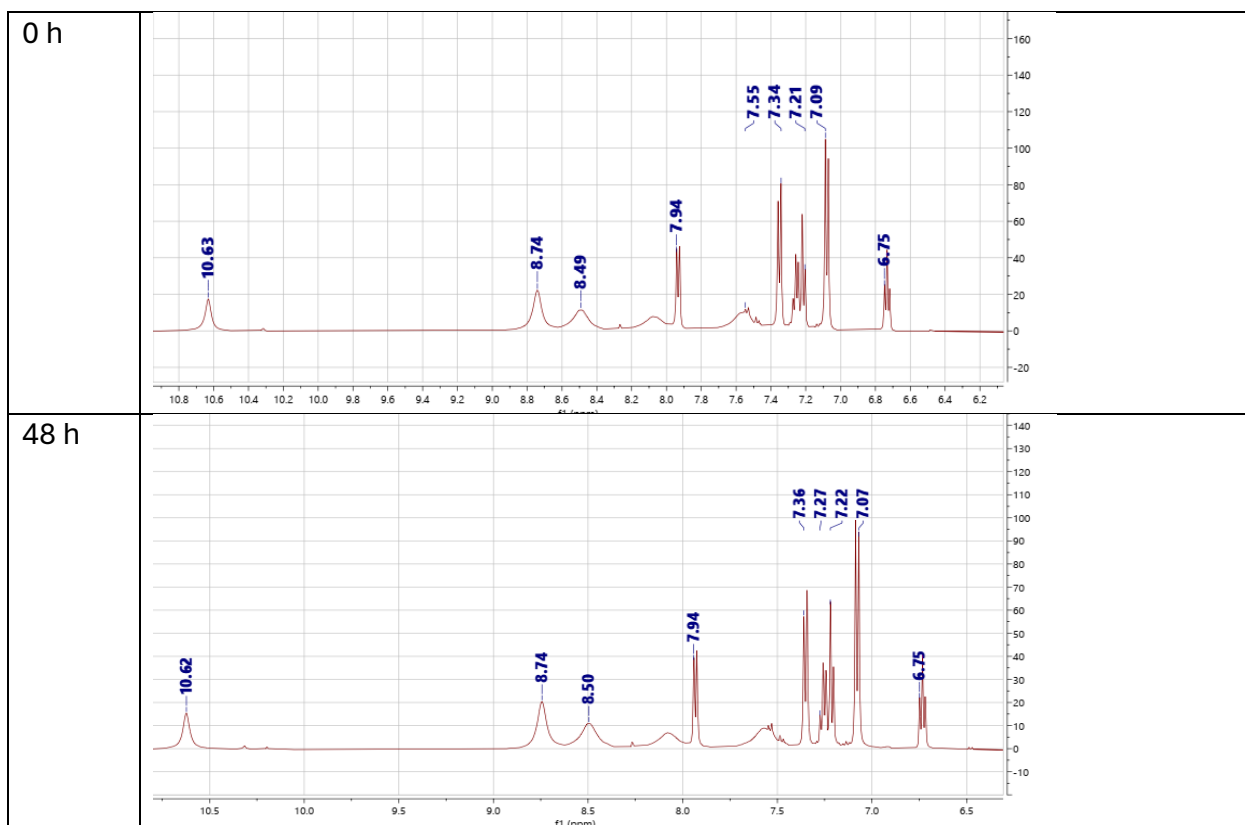
Εικόνα 77: Η αρίθμηση για θέσεις των Η στις ενώσεις για την μελέτη των φασμάτων ¹H-NMR.



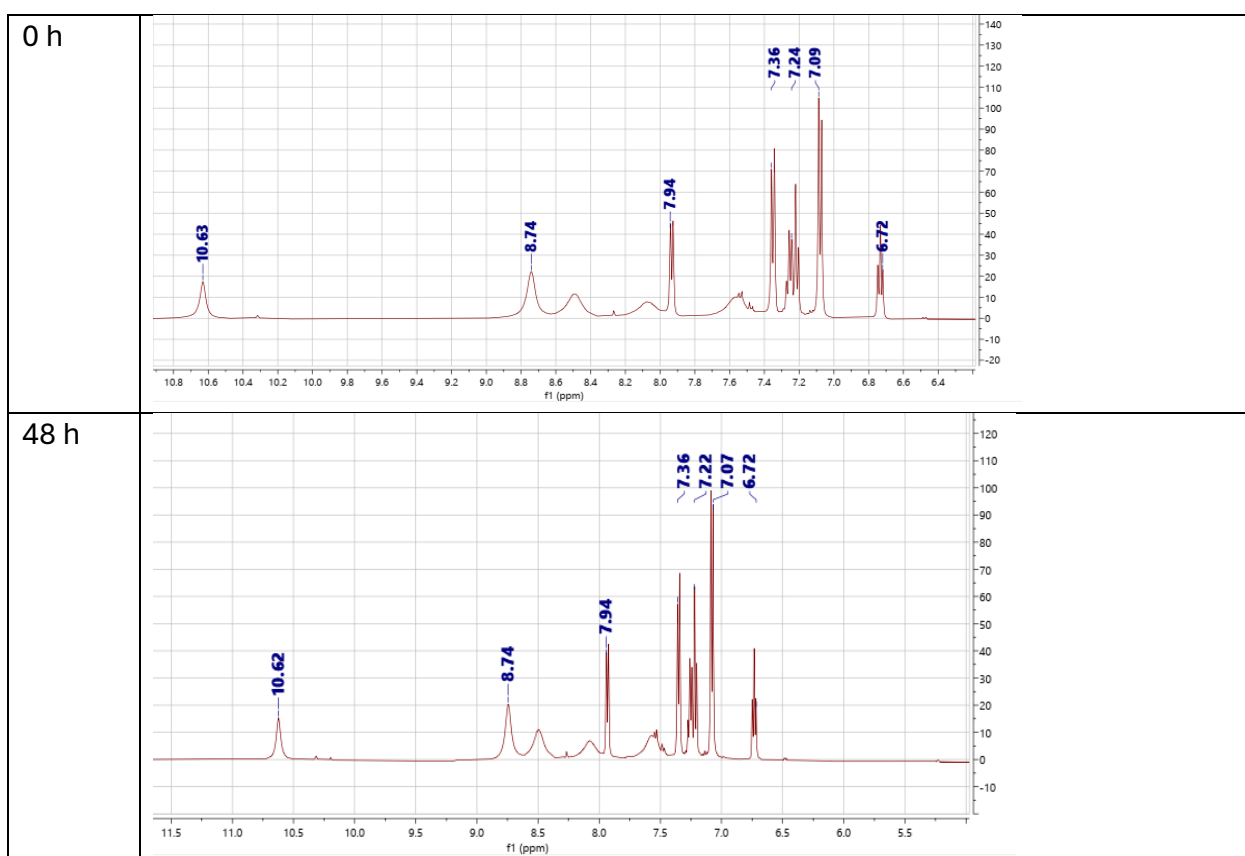
Εικόνα 78: Φάσματα ^1H NMR του $[\text{Zn}(4'\text{-Br-phen})_2(\text{MeOH})_4]$ σε DMSO-d_6 σε 0h και 48h.



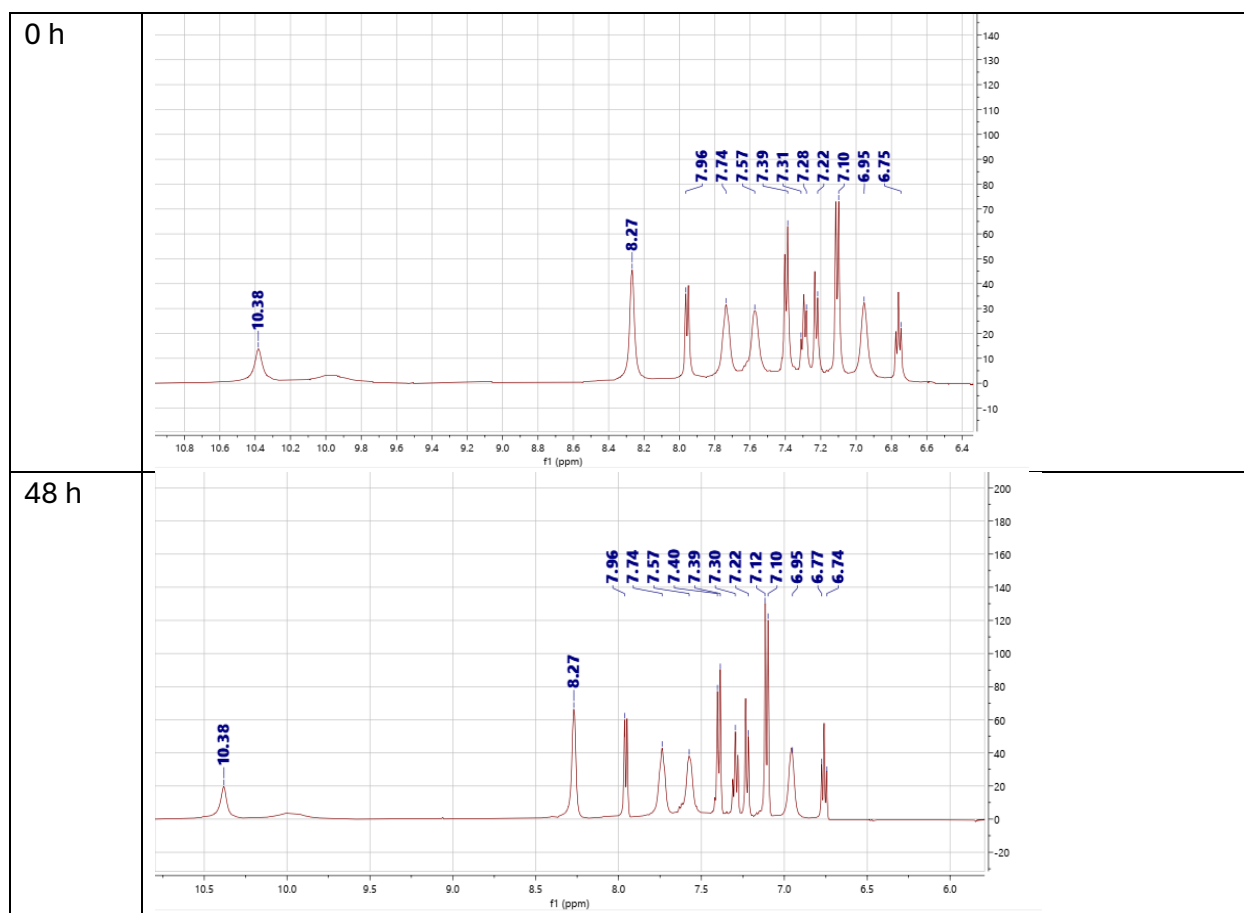
Εικόνα 79: Φάσματα ^1H NMR του $[\text{Zn}(4'\text{-Br-phen})_2(\text{phen})]$ σε DMSO-d_6 σε 0h και 48h.



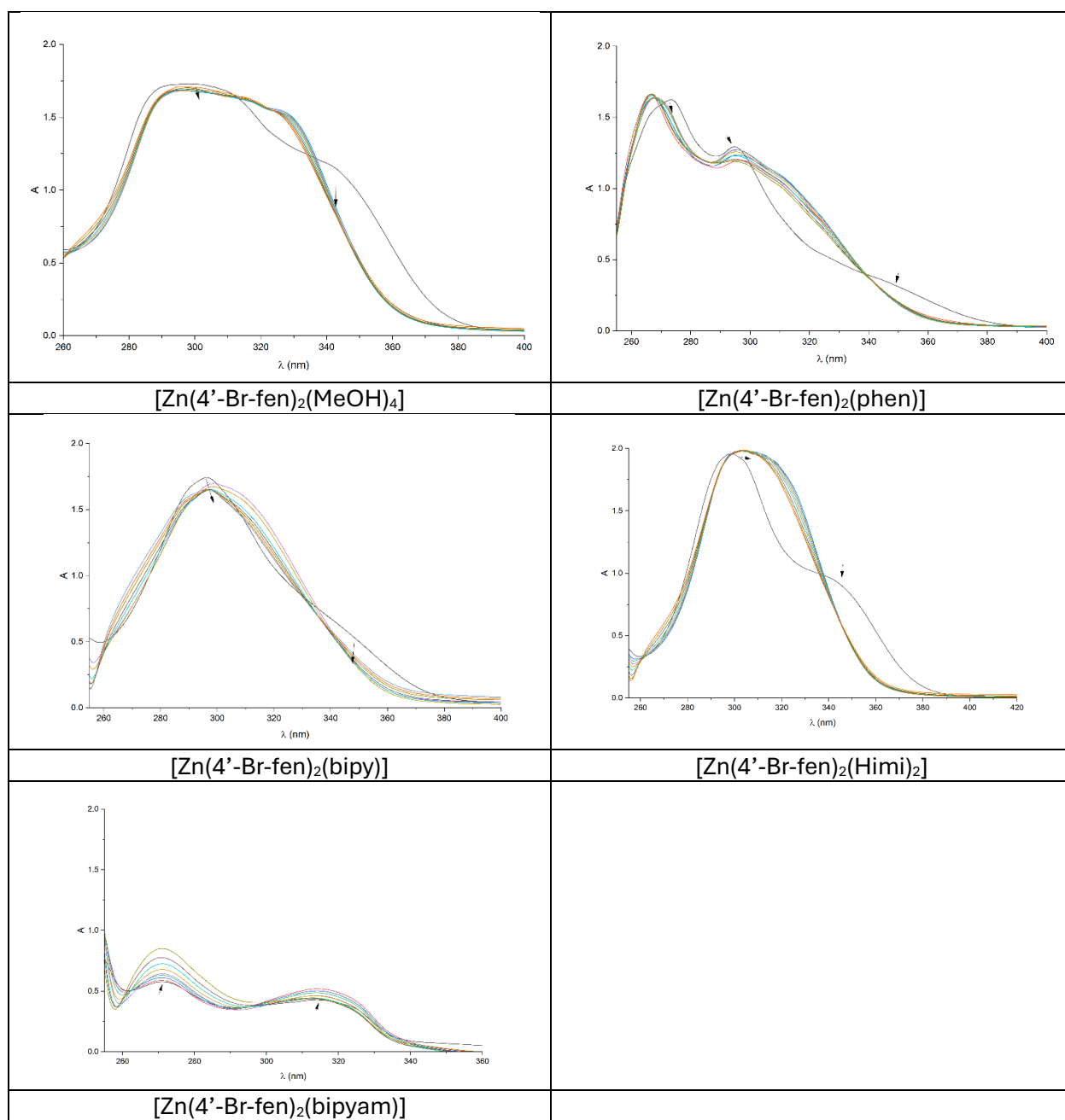
Εικόνα 80: Φάσματα ^1H -NMR του σε 0h και 48h του $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipy})]$ σε DMSO-d_6 .



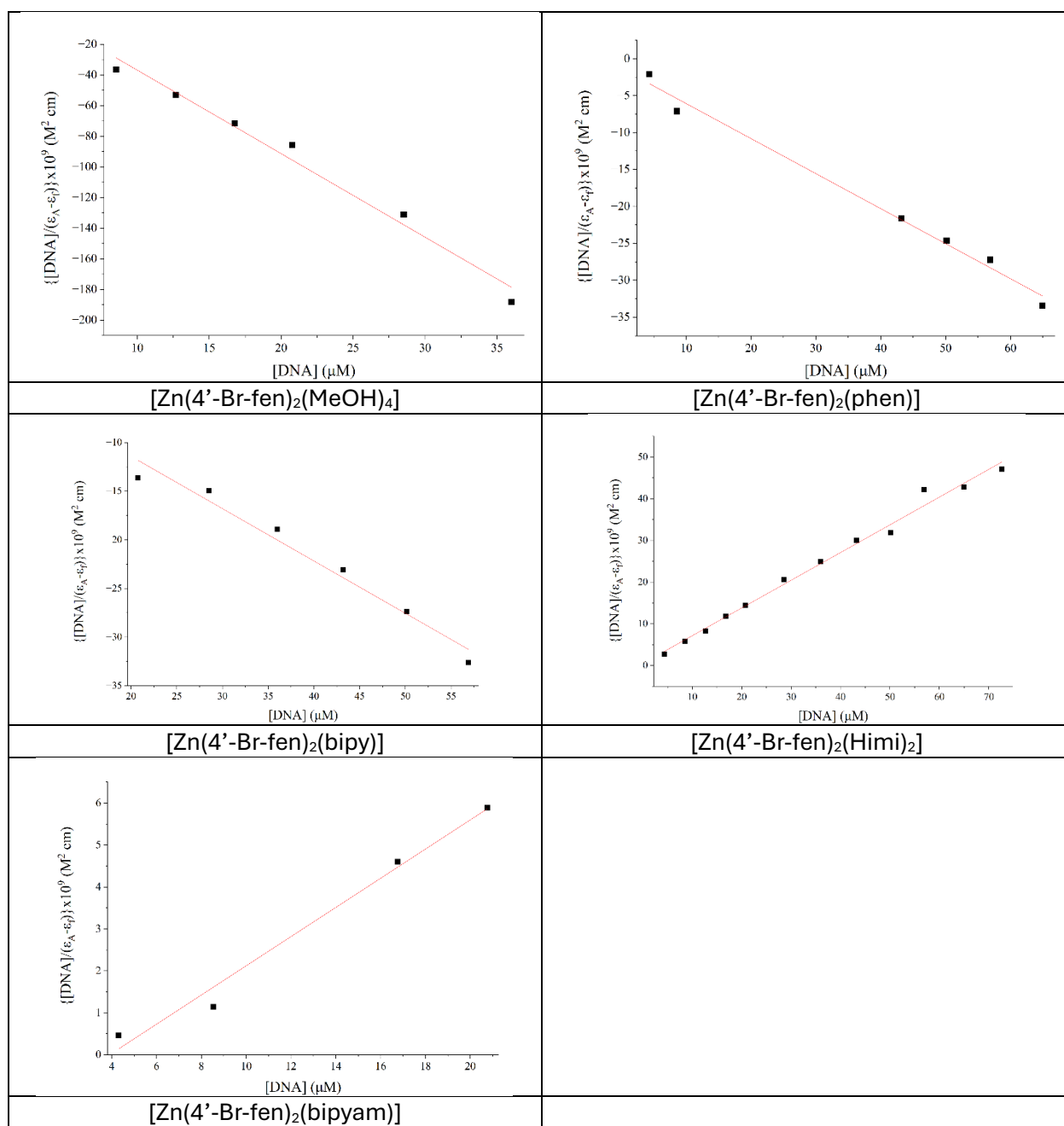
Εικόνα 81: Φάσματα ^1H NMR του $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{Himi})_2]$ σε DMSO-d_6 σε 0h και 48h.



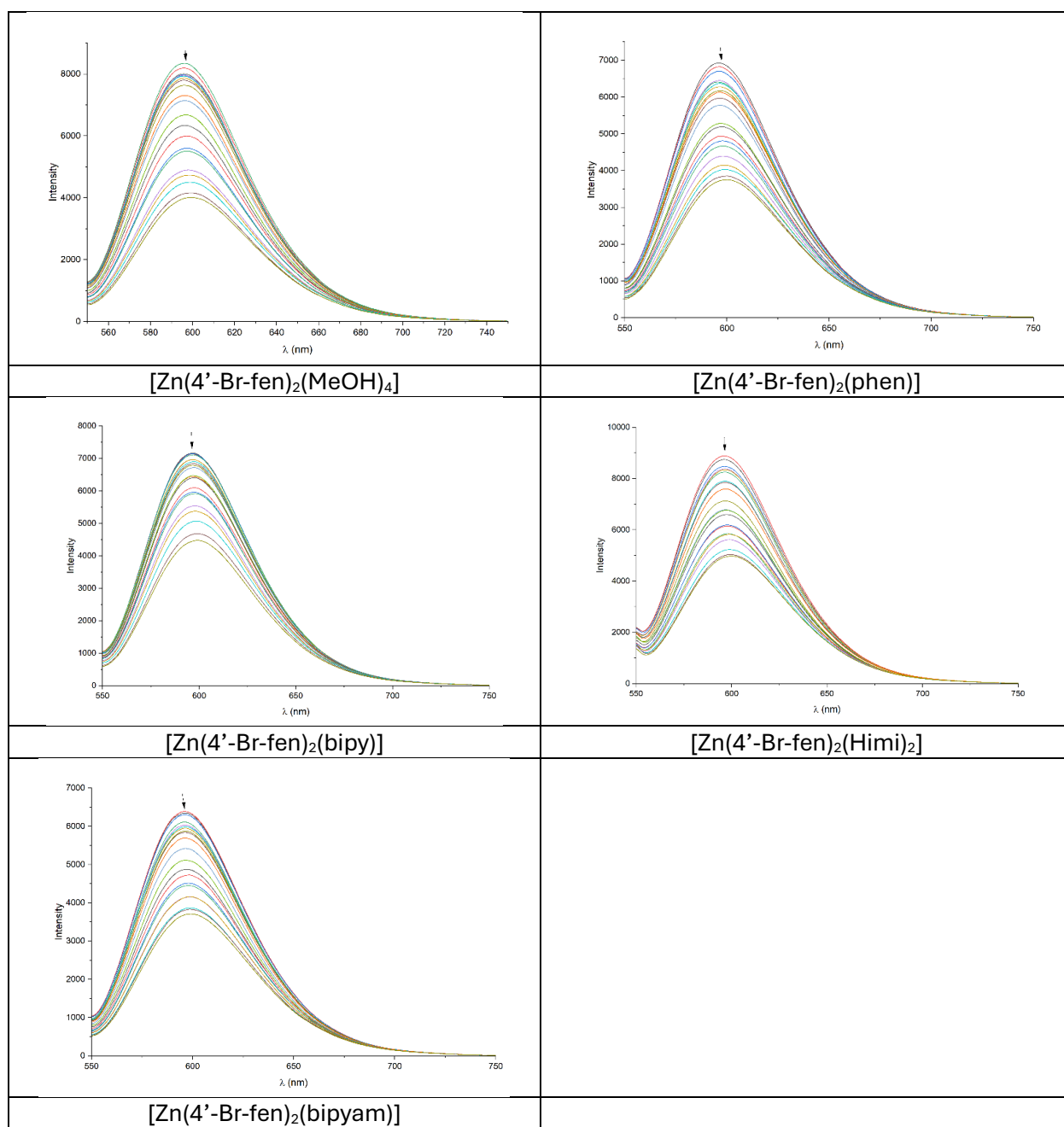
Εικόνα 82: Φάσματα ^1H NMR του $[\text{Zn}(4'\text{-Br-fen})_2(\text{bipyam})]$ σε DMSO-d_6 σε 0h και 48h.



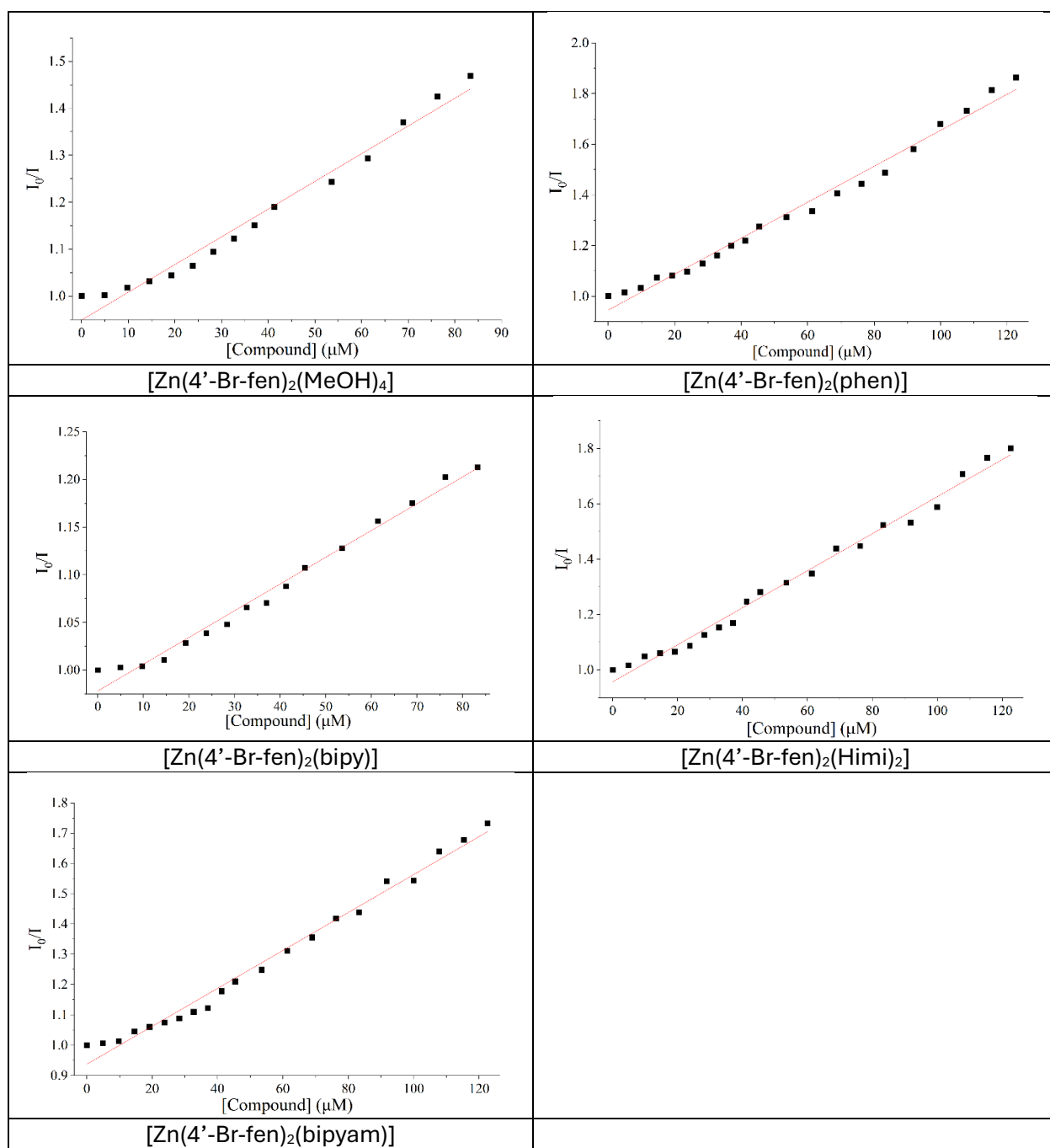
Εικόνα 83: Φάσματα UV-vis των συμπλόκων ενώσεων **(1-5)** σε διάλυμα DMSO παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων CT DNA. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη CT DNA.



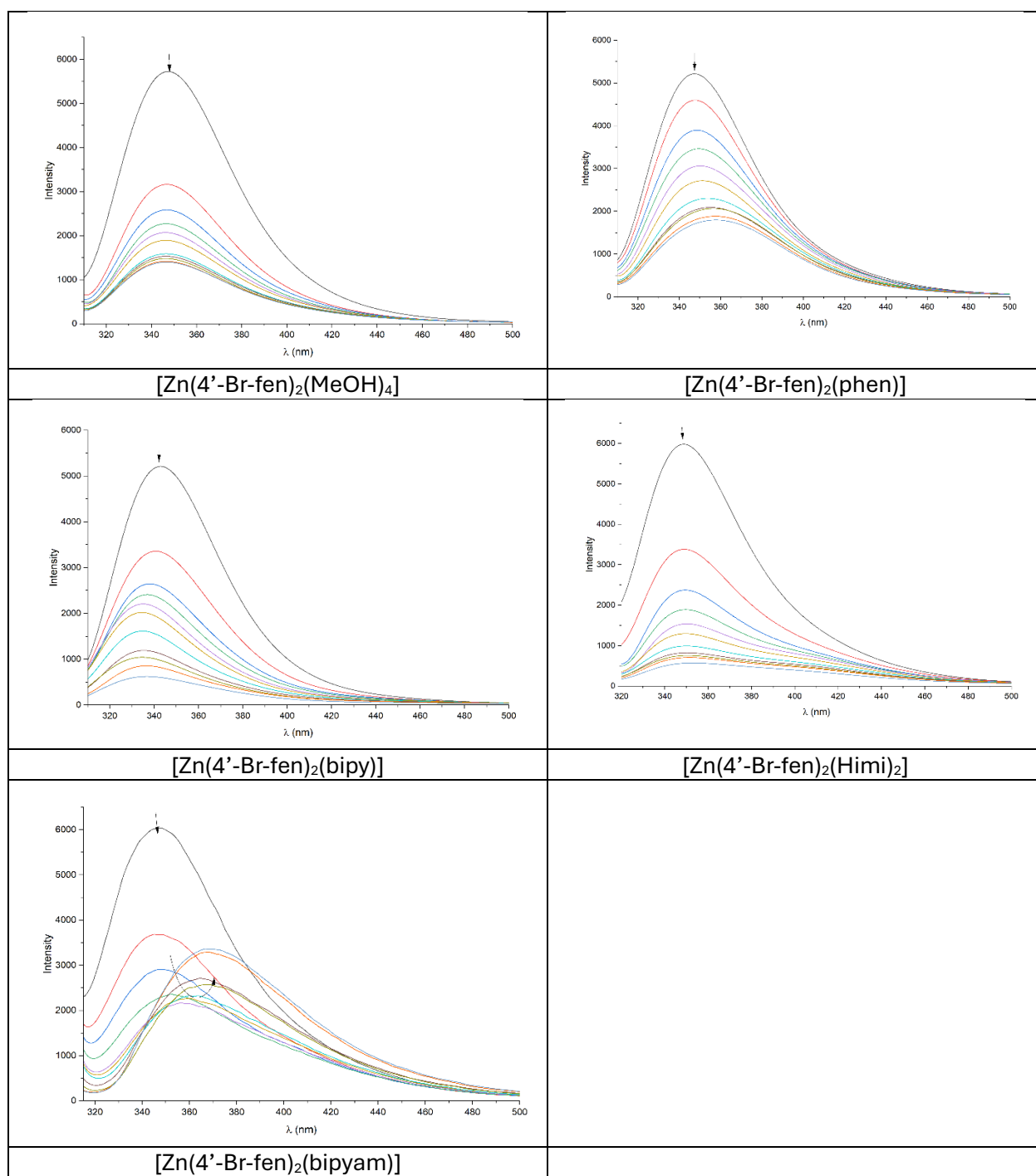
Εικόνα 84: Διαγράμματα για τον υπολογισμό της K_b των συμπλόκων (1-5).



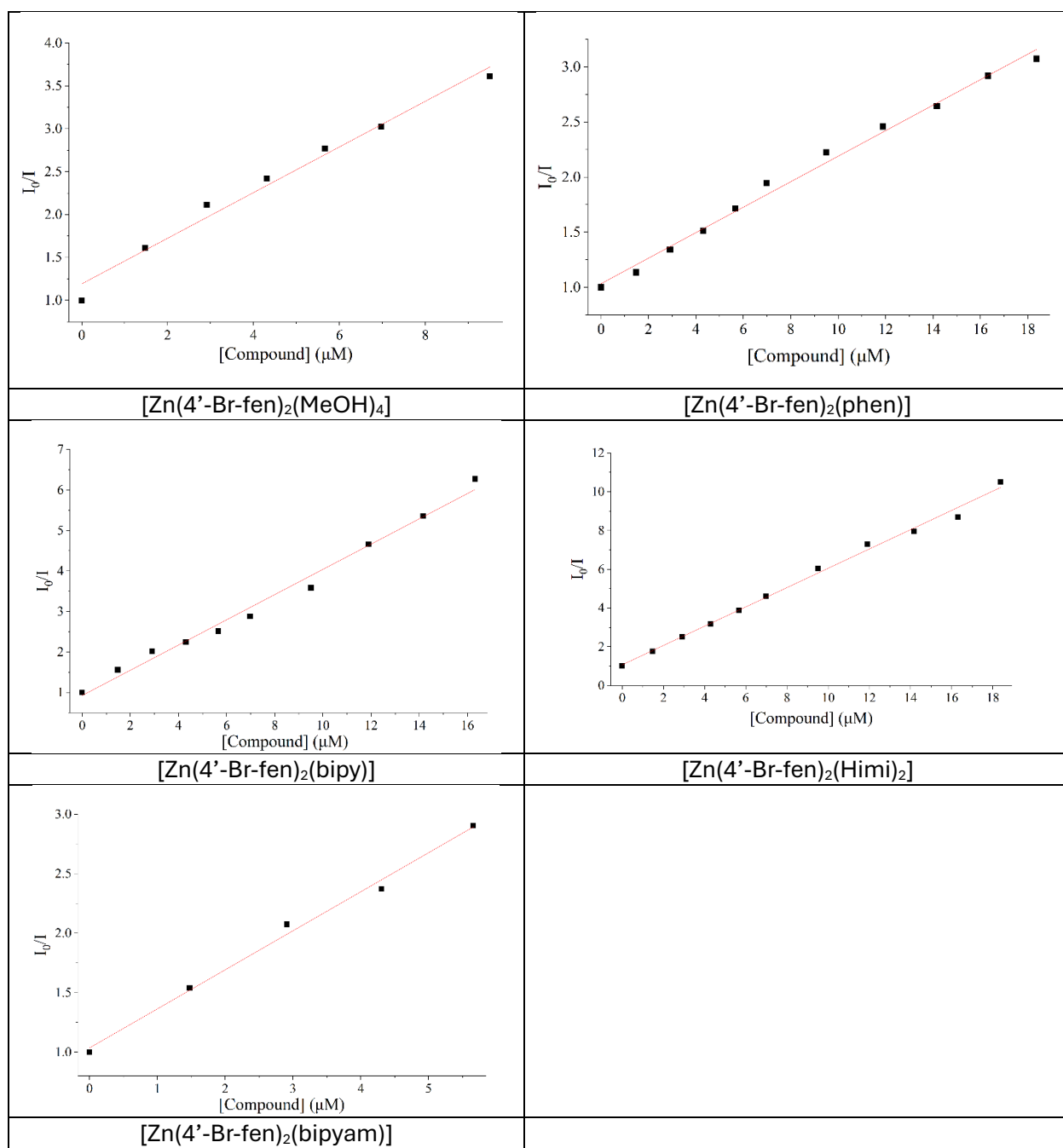
Εικόνα 85: Φάσματα φθορισμού του EB-DNA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1-5)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



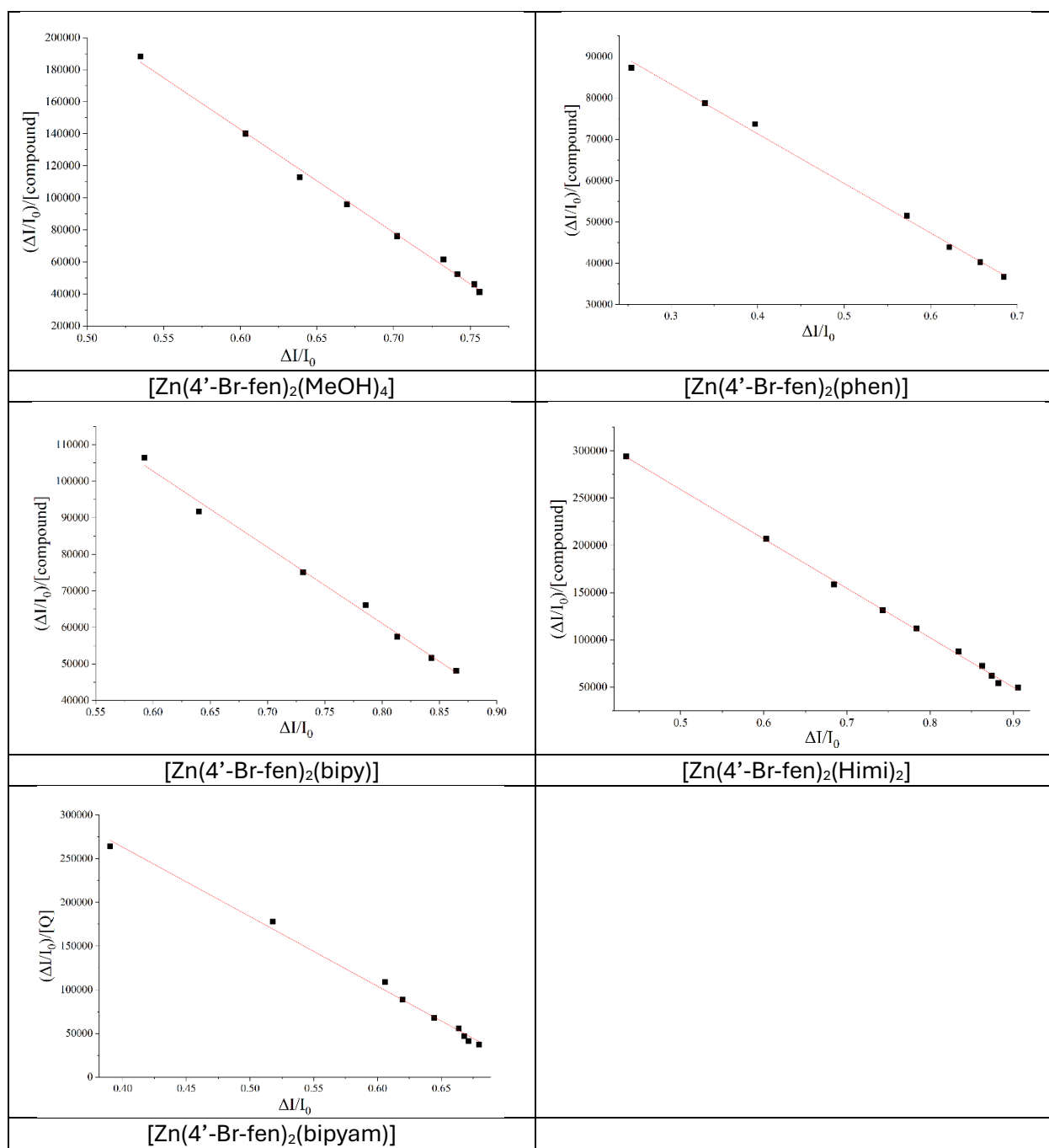
Εικόνα 86: Διαγράμματα Stern-Volmer ελάττωσης φθορισμού του συστήματος EB-DNA για τα σύμπλοκα (1-5).



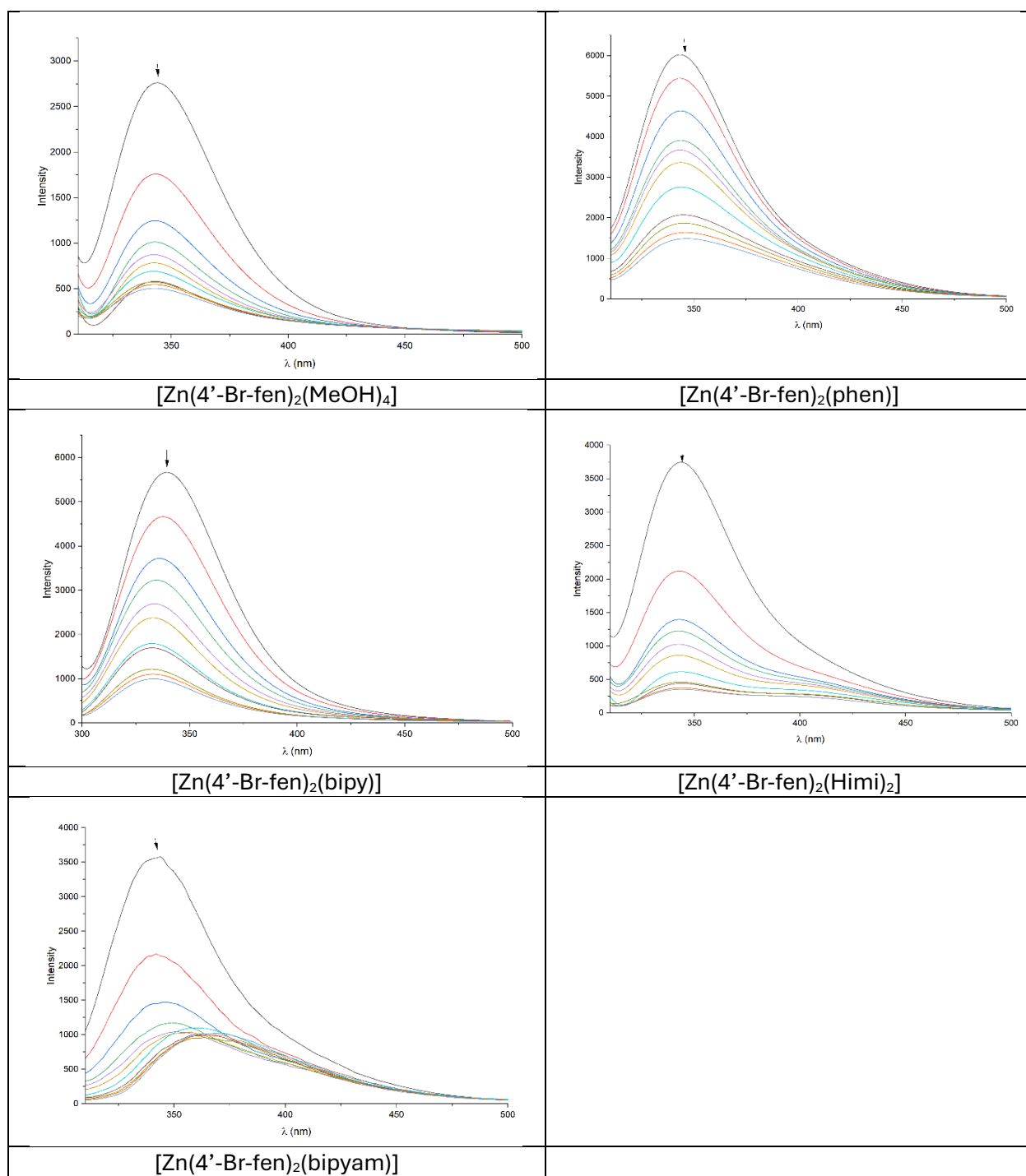
Εικόνα 87: Φάσματα φθορισμού της BSA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων (1-5). Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



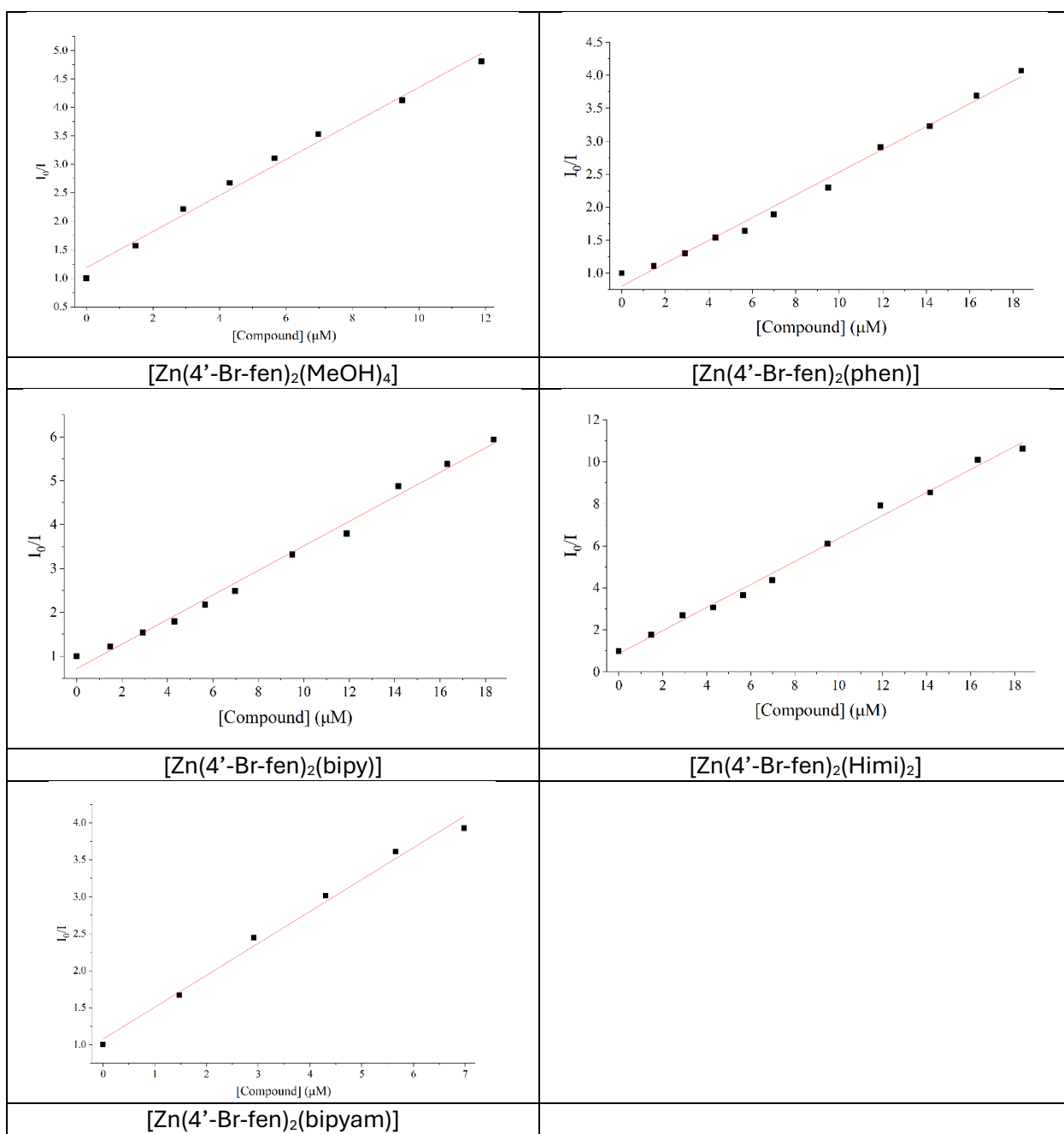
Εικόνα 88: Διαγράμματα Stern-Volmer της ελάττωσης φθορισμού της BSA για τα σύμπλοκα (1-5).



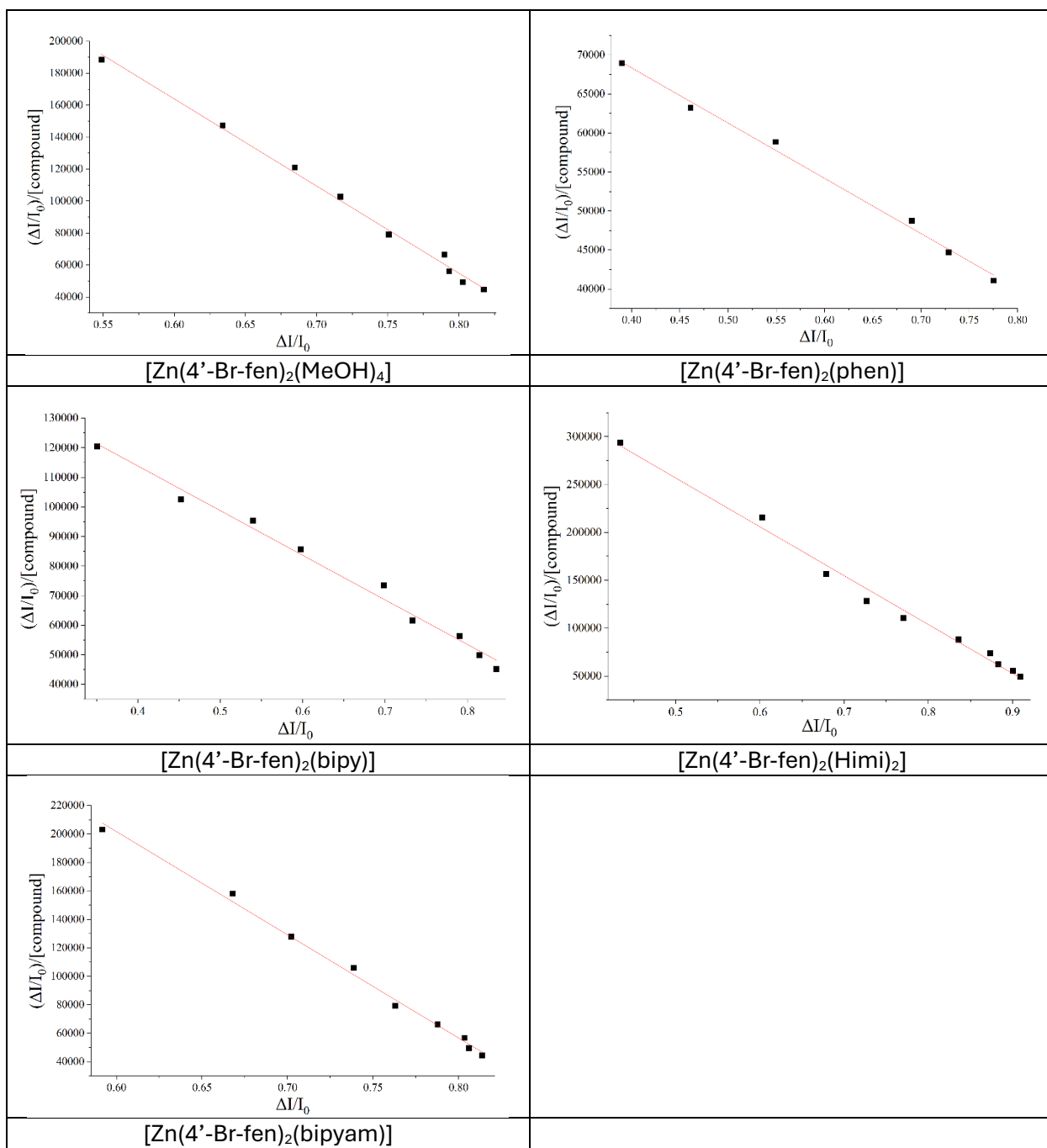
Εικόνα 89: Διαγράμματα Scatchard της BSA για τα σύμπλοκα (1-5).



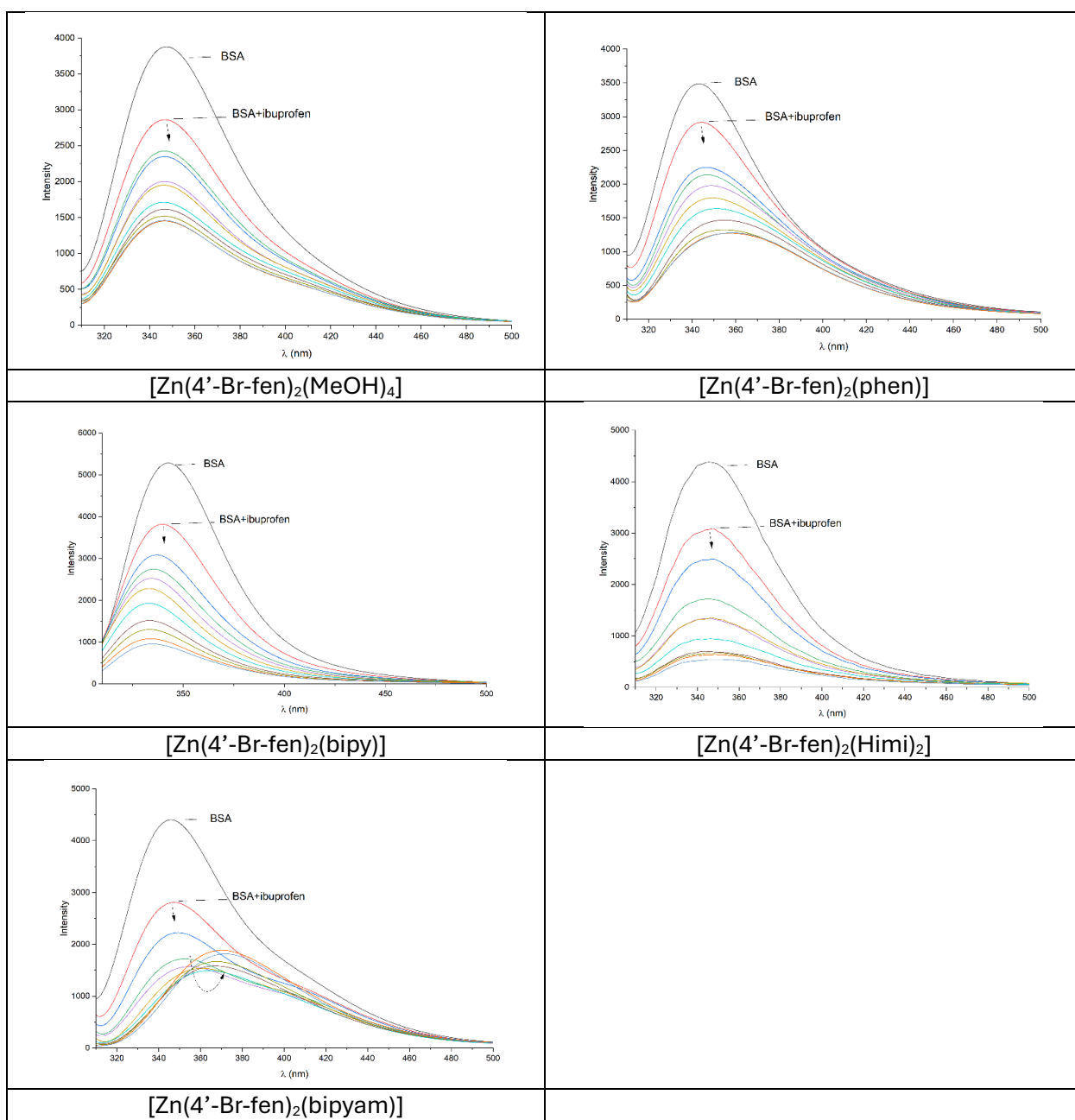
Εικόνα 90: Φάσματα φθορισμού της HSA κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων (1-5). Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



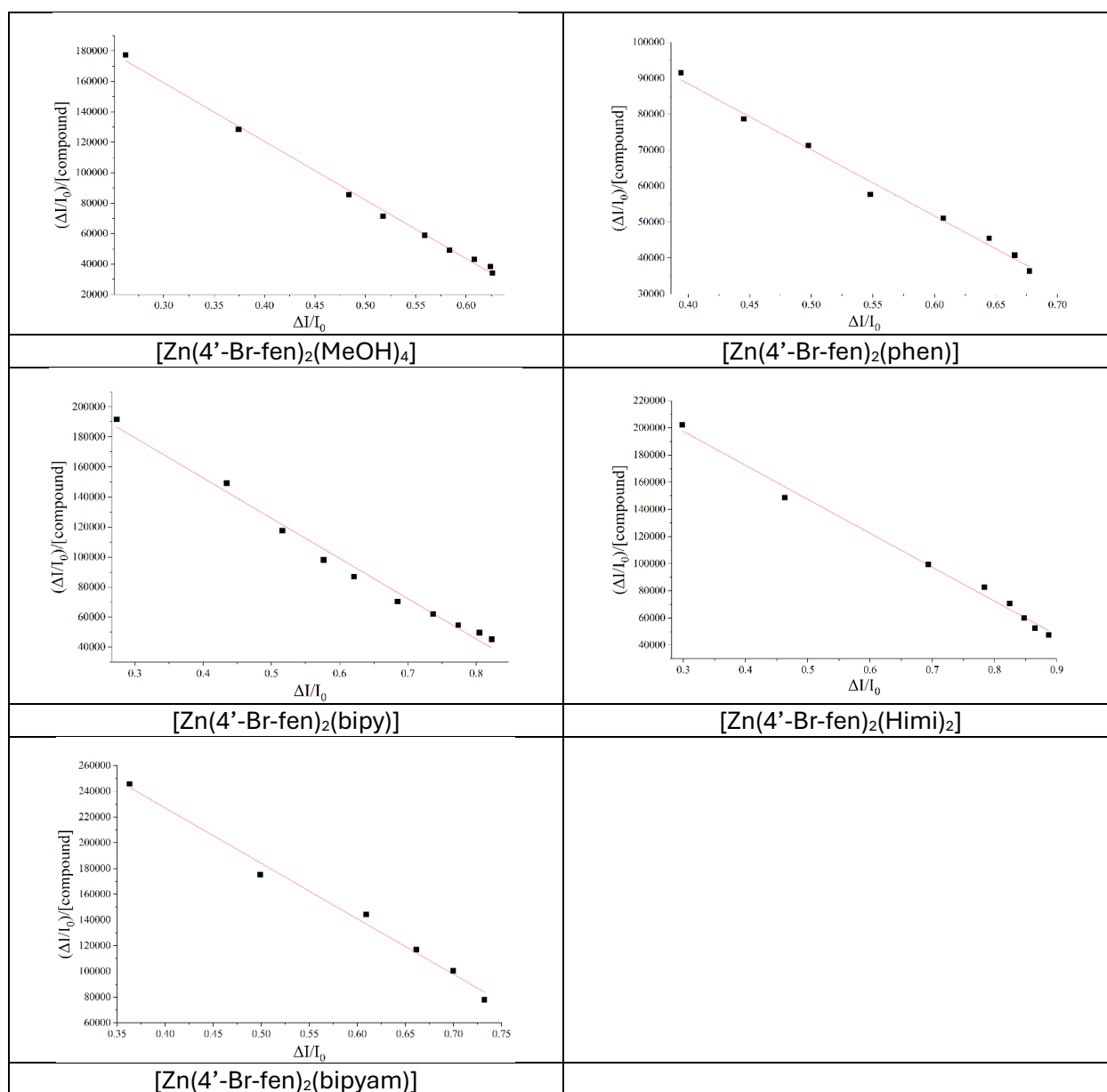
Εικόνα 91: Διαγράμματα Stern-Volmer της ελάττωσης φθορισμού της HSA για τα σύμπλοκα (1-5).



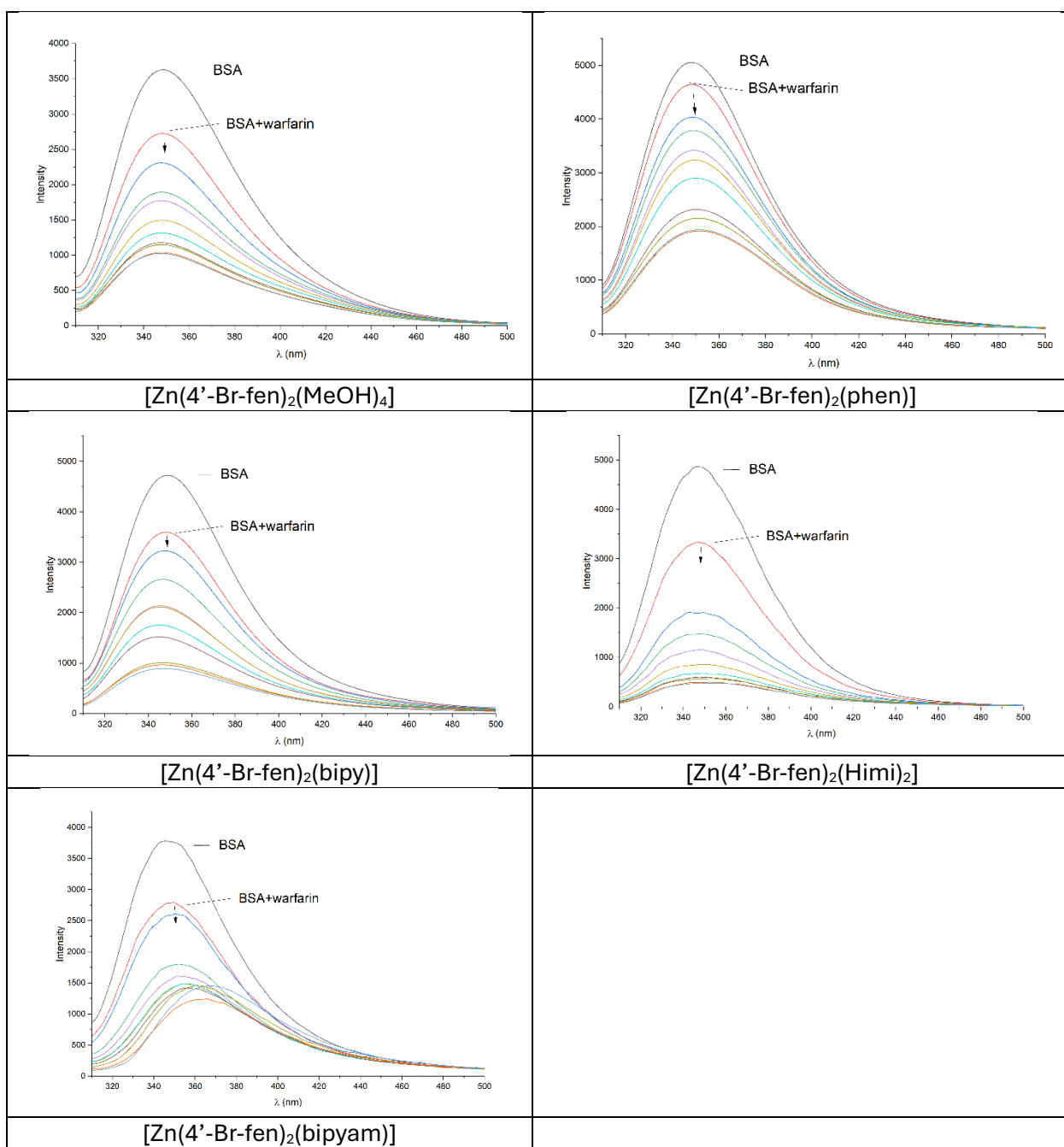
Εικόνα 92: Διαγράμματα Scatchard της HSA για τα σύμπλοκα (1-5).



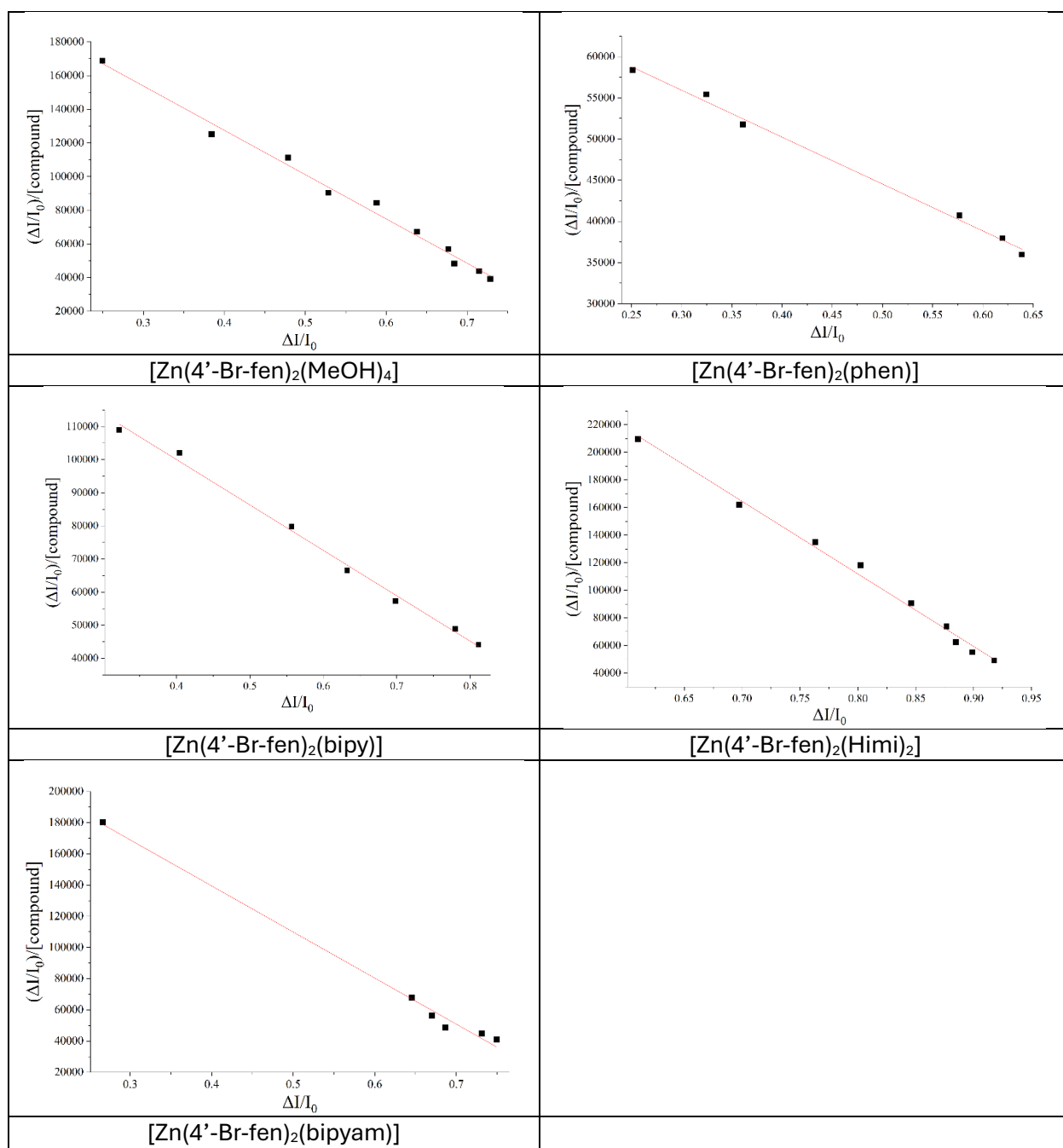
Εικόνα 93: Φάσματα φθορισμού της BSA παρουσία ιβουπροφαίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1-5)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



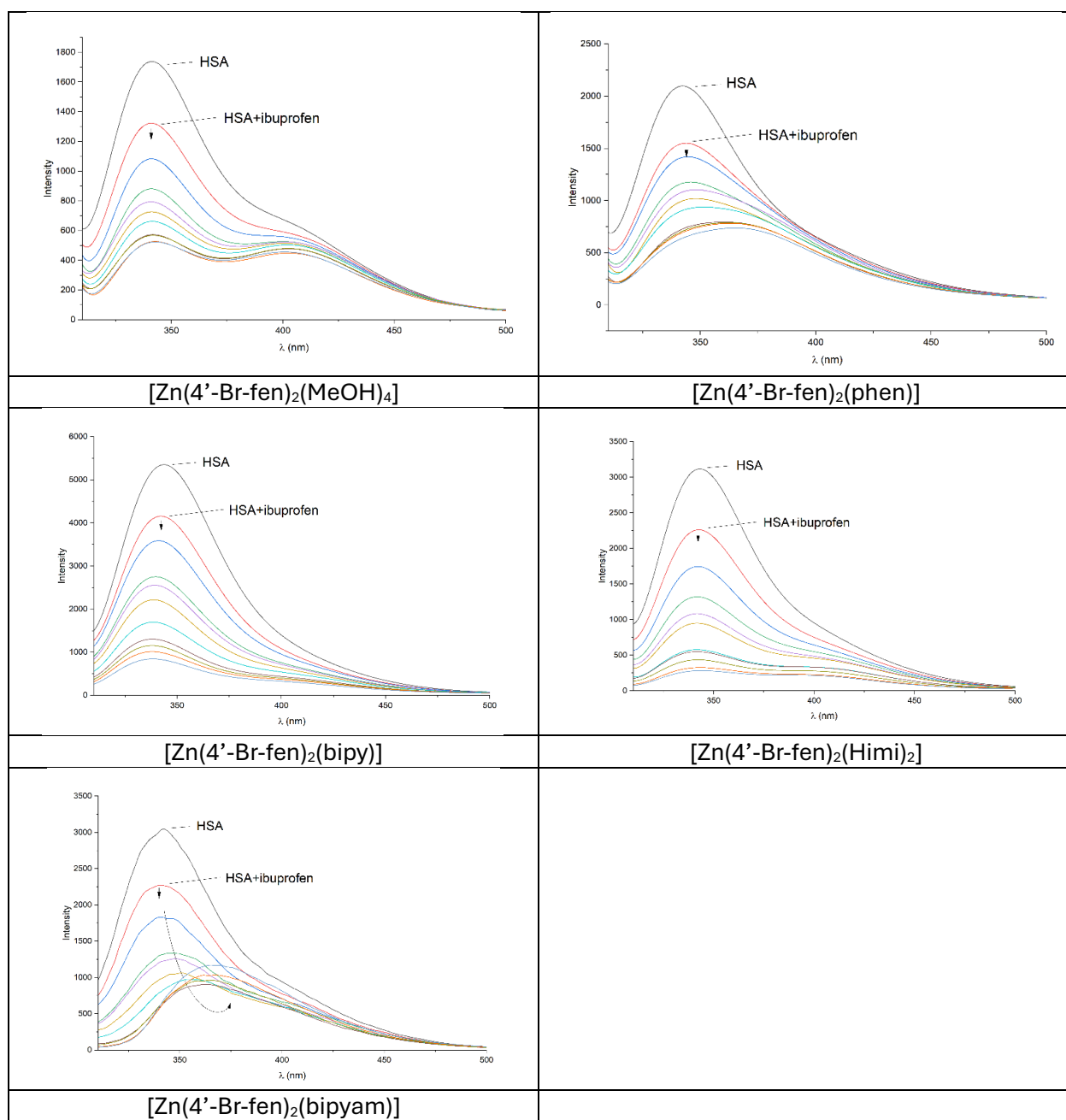
Εικόνα 94: Διαγράμματα Scatchard της BSA παρουσία ιβουπροφαίνης για τα σύμπλοκα **(1-5)**.



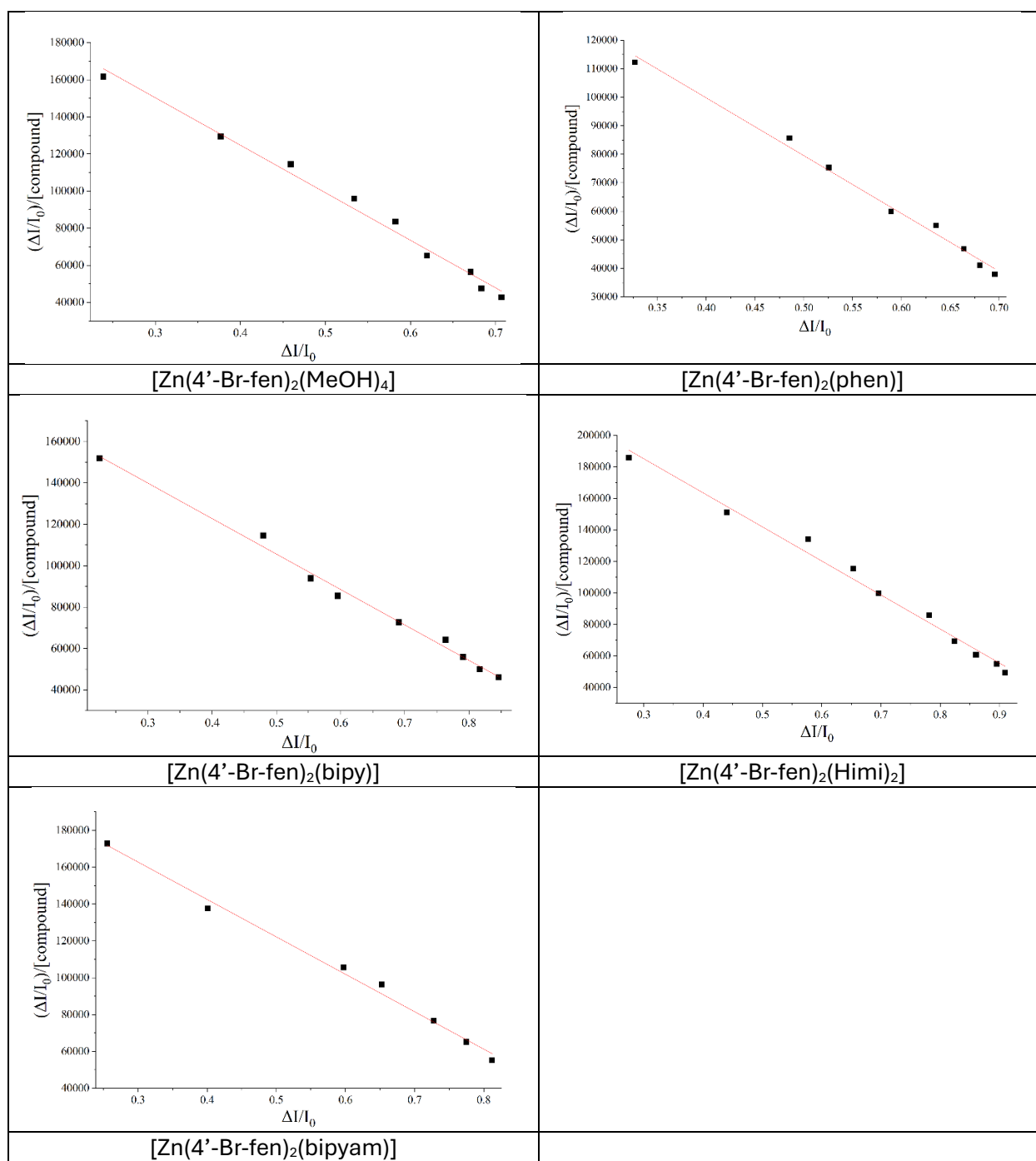
Εικόνα 95: Φάσματα φθορισμού της BSA παρουσία βαρφαρίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1-5)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



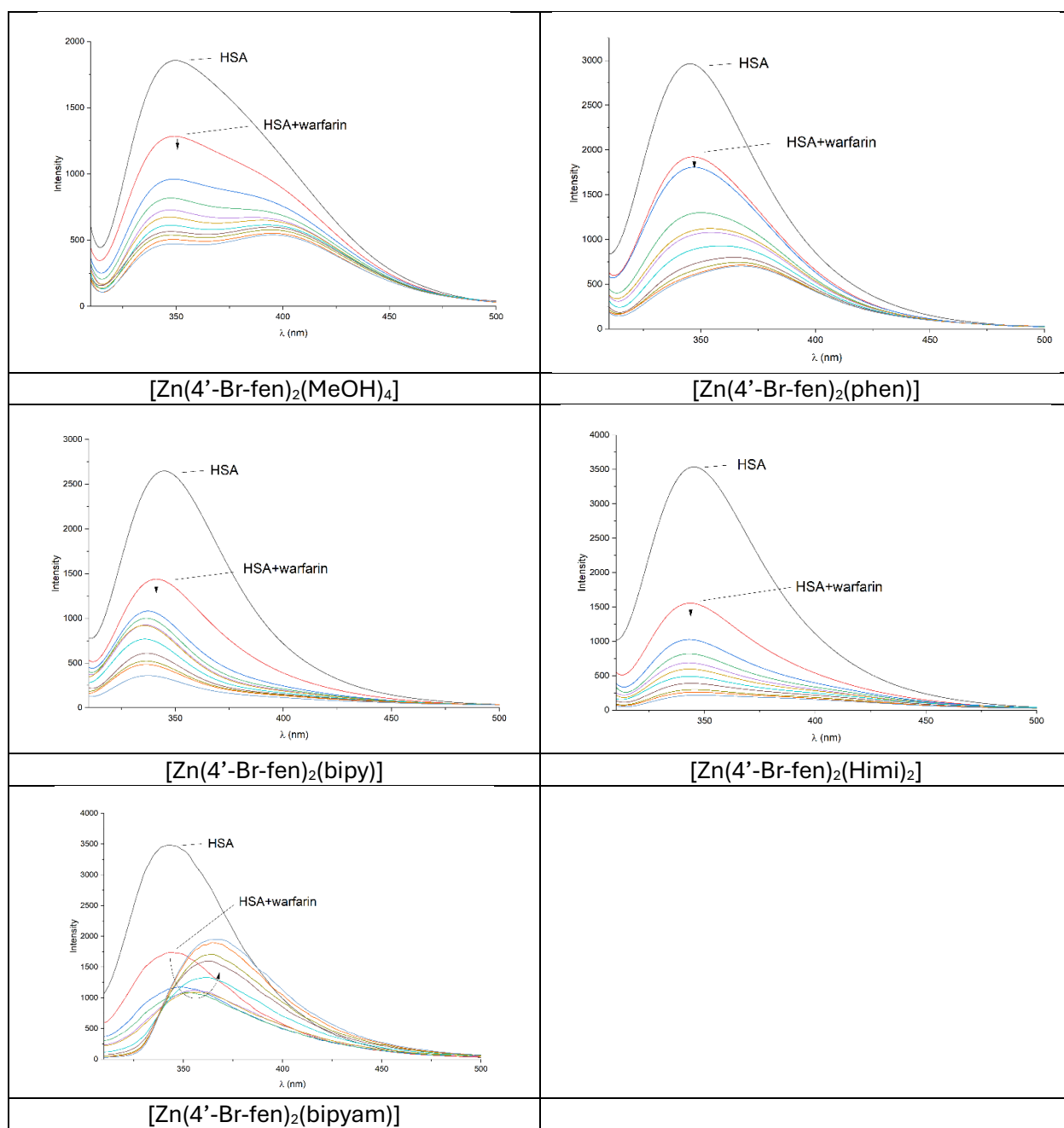
Εικόνα 96: Διαγράμματα Scatchard της BSA παρουσία βαρφαρίνη για τα σύμπλοκα **(1-5)**.



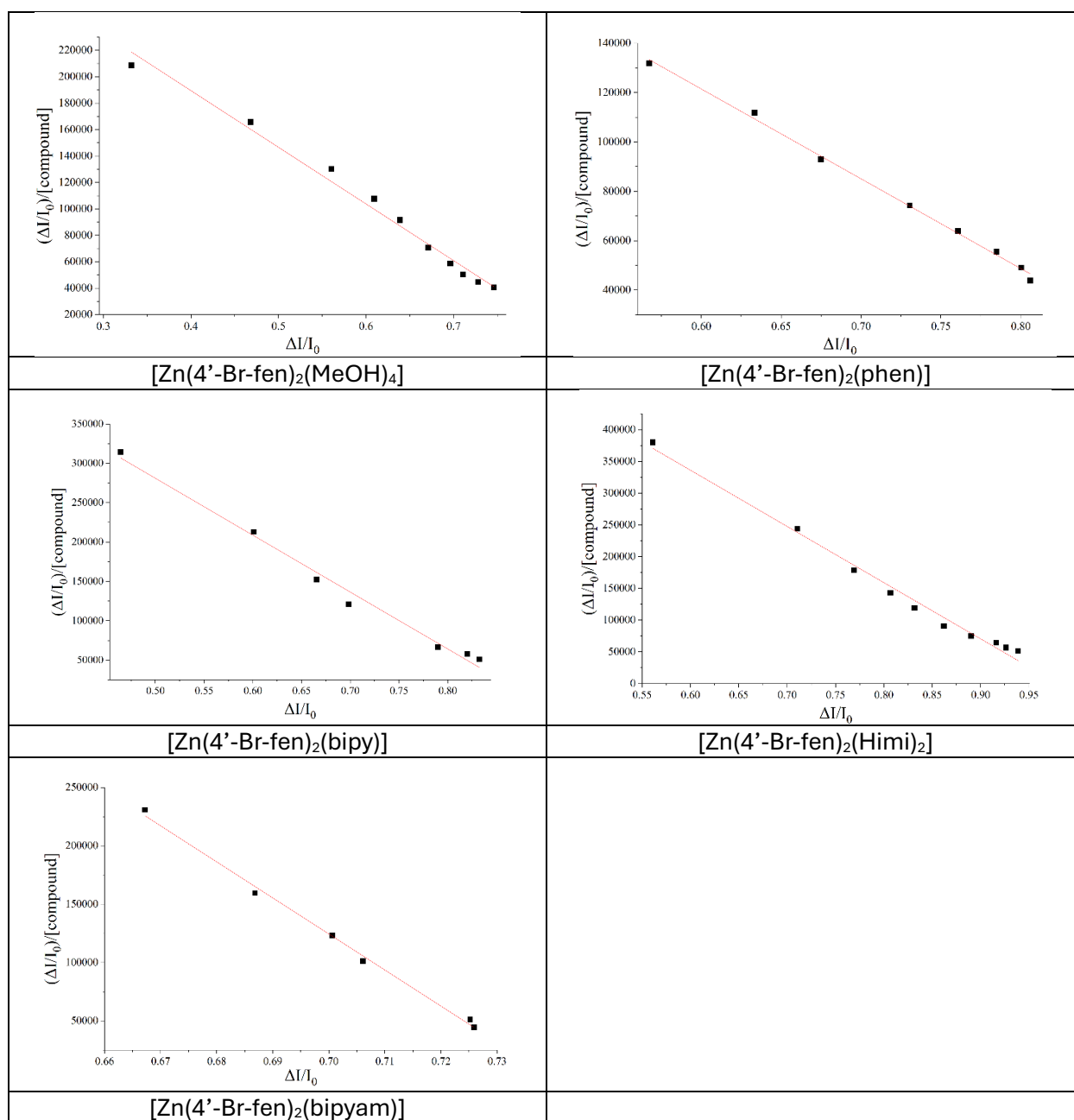
Εικόνα 97: Φάσματα φθορισμού της HSA παρουσία ιβουπροφαίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1-5)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



Εικόνα 98: Διαγράμματα Scatchard της HSA παρουσία βουπροφαίνης για τα σύμπλοκα **(1-5)**.



Εικόνα 99: Φάσματα φθορισμού της HSA παρουσία βαρφαρίνης κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **(1-5)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που συμβαίνουν κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



Εικόνα 100: Διαγράμματα Scatchard της HSA παρουσία βαρφαρίνης για τα σύμπλοκα **(1-5)**.

