

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων χαλκού(II) με κινοξαλινικούς-φαινανθρολινικούς υποκαταστάτες και μελέτη της αλληλεπίδρασης τους με DNA

Άλκηστις Ελένη Λιάτσου

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων χαλκού(II) με κινοξαλινικούς-φαινανθρολινικούς υποκαταστάτες και μελέτη της αλληλεπίδρασης τους με DNA

Άλκηστις Ελένη Λιάτσου

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2026

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

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Χριστίνα Άννα Μητσοπούλου

Θέμα: «Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων χαλκού(ΙΙ) με κινοξαλινικούς-φαινανθρολινικούς υποκαταστάτες και μελέτη της αλληλεπίδρασης τους με DNA»

«Synthesis and characterization of Cu(II) complexes with quinoxaline-phenanthroline ligands and assessment of their DNA-binding properties»

Ορισμός Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής από την Επιτροπή Προγράμματος Σπουδών (ΕΠΣ).:....^{A}/...-...-....
1 Χριστίνα Άννα Μητσοπούλου
2 Σωτήρης Χατζηκακού
3 Νικόλαος Κουρκουμέλης

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις
_____

Ο Διευθυντής του Δ.Π.Μ.Σ.
Καθηγητής _____

Ο/Η Γραμματέας
_____

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο πλαίσιο της παρούσας ερευνητικής εργασίας διπλώματος ειδίκευσης πραγματοποιήθηκε σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπλόκων του χαλκού (II), τα οποία στη συνέχεια μελετήθηκαν ως προς την αλληλεπίδρασή τους με DNA. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε σύνδεση τους με DNA προερχόμενο από θύμο αδένα βοοειδούς (CT-DNA) και μελέτη με φασματοσκοπία UV-Vis, φθορισμομετρία και ιξωδομετρία για να διαπιστωθεί ο τρόπος σύνδεσής τους.

Πραγματοποιήθηκαν διαφορετικές συνθέσεις με άλλους υποκαταστάτες κάθε φορά προκειμένου να υπάρξει πιο ολοκληρωμένη εικόνα για τη δράση των συμπλόκων χαλκού(II). Ως υποκαταστάτες χρησιμοποιήθηκαν διπυριδοφαιναζίνη (dppz), (1,10)-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη (phendione), 2-(2-πυριδινυλ)κινοξαλίνη (pq) και χλωρο-διπυριδοφαιναζίνη (Cl-dppz).

Οι χαρακτηρισμοί που χρειάστηκαν για την επαρκή αξιολόγηση των συμπλόκων πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ανόργανης Χημείας με τη χρήση οργάνων του ΕΚΠΑ. Η μελέτη των συμπλόκων έγινε με πολλές διαφορετικές φασματοσκοπικές τεχνικές, προκειμένου να ταυτοποιηθεί και να αξιολογηθεί πλήρως η δομή τους, όπως με φασματοσκοπία υπερύθρου (IR), φασματοσκοπία ορατού-υπερύθρου (UV-Vis), φασματοσκοπία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HRMS) και περίθλαση ακτίνων Χ (XRD).

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Βιολογική Ανόργανη Χημεία
ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: χαλκός, βιολογική δραστικότητα, DNA-binding, διπυριδοφαιναζίνη, (1,10)-φαινανθρολίνη-5,6-διόνη, 2-(2-πυριδινυλ)κινοξαλίνη (pq)

ABSTRACT

Synthesis and characterization of Cu(II) complexes with quinoxaline-phenanthroline ligands and assessment of their DNA-binding properties

Alkistis - Eleni Liatsou

Within the framework of the present masters research thesis, copper(II) complexes were synthesized and characterized , followed by an evaluation of potential DNA interaction and binding. Regarding their interactions with calf thymus DNA, different studies have been conducted to determine the type of binding, such as ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy, emission spectroscopy, viscometry and cyclic voltammetry.

Different complexes were synthesized, using various ligands in order to obtain a more comprehensive understanding of the properties of copper(II) complexes. The ligands incorporated icluded dipyridophenazine (dppz), (1,10)-phenanthroline-5,6-dione (phendione), 2-(2-pyridyl)quinoxaline (pq) and chlorodipyridophenazine(Cl-dppz).

The characterization of the complexes was conducted at the Inorganic Laboratory of the National and Kapodistrian Univeristy of Athens. A combination of different spectroscopic techniques was used to fully identify and confirm the structures of the complexes including infrared (IR) spectroscopy, ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy, high-resolution mass spectrometry (HRMS) and X-ray diffraction (XRD). .

SUBJECT AREA: Biological Inorganic Chemistry

KEYWORDS: copper, biological activity, dipyridophenazine (dppz), (1,10)-phenanthroline-5,6-dione (phendione), 2-(2-pyridyl)quinoxaline (pq), DNA-binding, calf thymus DNA

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου διατριβής, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες σε όσους με στήριξαν και συνέβαλαν στην διεκπεραίωση αυτής.

Να ευχαριστήσω πρώτα από όλους, την υπεύθυνη του εργαστηρίου Ομότιμη Καθηγήτρια Χριστίνα-Άννα Μητσοπούλου για όλη την υποστήριξη και την καθοδήγηση που παρείχε κατά την εκπόνηση της έρευνας στο εργαστήριο καθώς και κατά τη συγγραφή της εργασίας. Χωρίς τη δική της συμβολή δε θα ήταν εφικτή η πραγματοποίηση της παρούσας έρευνας. Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω το Εργαστήριο Ανόργανης Χημείας του Τμήματος Χημείας ΕΚΠΑ και όλο το προσωπικό του.

Επίσης ένα θερμό ευχαριστώ στον μεταδιδάκτορα Αθανάσιο Ζαρκαδούλα, που ήταν παρών καθ'όλη την διεξαγωγή των πειραμάτων και παρείχε τις γνώσεις του και τη πολύτιμη βοήθεια του οποιαδήποτε στιγμή χρειάστηκε, προκειμένου να εξαχθεί αυτό το τελικό αποτέλεσμα. Η συμβολή του ήταν καθοριστική σε κάθε βήμα αυτής της πορείας.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ σε όλους τους ανθρώπους που ήταν εκεί να στηρίξουν κάθε στιγμή αυτού του ταξιδιού, στους φίλους και στην οικογένεια μου, που με ωθούσαν κάθε μέρα να συνεχίσω, με την αμέριστη πίστη και αγάπη τους προς εμένα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ..... **III**
ABSTRACT ..... **V**
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ ..... **VII**
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ..... **IX**
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ..... **XIII**
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ ..... **XV**
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ ..... **XVI**
ΠΡΟΛΟΓΟΣ ..... **XIX**
ΕΙΣΑΓΩΓΗ ..... **XX**
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ..... **2**
ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ **2**
1.1. Η Ανάπτυξη της Χημείας ως Επιστημονικού Κλάδου 2
1.2 Η Άνοδος της Ανόργανης Χημείας 3
1.3 Ρόλος Ανόργανων Στοιχείων στα Βιολογικά Συστήματα 4
1.4 Εφαρμογές και Επιδράσεις της Βιοανόργανης Χημείας 5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ..... **7**
ΧΑΛΚΟΣ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ **7**
2.1 Βασικά Χαρακτηριστικά του χαλκού 7
2.2 Cu(I) και Cu(II): Σύγκριση των Χημικών και Βιολογικών τους Ιδιοτήτων 8
2.3 Βιολογική Σημασία του Χαλκού 9
2.4 Μεταβολισμός και Ομοιόσταση Χαλκού 11
2.5 Έλλειψη Χαλκού και Τοξικότητα 12
2.6 Παθοφυσιολογική και Θεραπευτική Σημασία του Χαλκού 14
2.6.1 Χαλκός και Οξειδωτικό Στρες 14
2.6.2 Χαλκός και Νευρολογικές Διαταραχές 14
2.6.3 Θεραπευτικές Χρήσεις Συμπλόκων Χαλκού 14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ..... **1**
ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΧΑΛΚΟΥ ΚΑΙ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ **1**
3.1 Βασικά στοιχεία της χημείας συντονισμού χαλκού 1
3.1.1 Το χηλικό φαινόμενο και ο τρόπος σχεδιασμού υποκαταστατών 2
3.2 Χαρακτηρισμός Συμπλοκών Χαλκού με Φασματοσκοπία και Δομή 3
3.3 Βιολογική Σημασία των Συμπλόκων Χαλκού 4

3.4 Σύμπλοκα Χαλκού στην Ιατρική 4
3.4.1 Σύμπλοκα Χαλκού - Φαινανθρολίνης και Βάσεων Schiff 4
3.4.2 Σύμπλοκα Χαλκού-Πεπτιδίων 5
3.4.3 Casiopeínas® 5
3.5 Υποκαταστάτες Παρούσας Έρευνας 5
3.6 Κατανόηση Μηχανισμών και Δομής-Δραστικότητας 10
3.7 Θεωρία και Υπολογισμοί 11
3.8 Προηγμένη Δραστικότητα και Μηχανιστικές Πορείες Συμπλόκων Χαλκού(II) 12
3.8.1 Χημεία Διαλυμάτων 13
3.8.2 Οξειδοαναγωγική Χημεία και Δημιουργία Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (ROS) 13
3.8.3 Μηχανισμοί διάσπασης του DNA 14
3.8.4 Συνεργιστικές και Ανταγωνιστικές Επιδράσεις Συνδυασμών Υποκαταστατών 15
3.8.5 Επίδραση του Διαλύτη και του pH 16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 18
ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΤΥΧΕΣ 18
4.1 Η Δομή και η Βιολογική Λειτουργία του DNA 18
4.2 Αλληλεπίδραση Μεταλλικών Συμπλόκων-DNA 19
4.3 Σύμπλοκα Χαλκού και Συνδετική Ικανότητα με DNA 21
4.4 Μεταλλικά Σύμπλοκα ως Αντικαρκινικοί και Αντιμικροβιακοί Παράγοντες 22
4.4.1 Φάρμακα πλατίνας και τα προβλήματά τους 22
4.4.2 Οφέλη των Συμπλόκων Χαλκού 22
4.4.3 Λειτουργία Αντικαρκινικών Φαρμάκων 22
4.4.4 Αντιμικροβιακή Δράση 23
4.5 Σύμπλοκα Χαλκού σε Κλινικές και Πειραματικές Μελέτες 23
4.6 Ρόλος Συμπλόκων Cu(II) σε Κύτταρα και Μόρια 24
4.6.1 Κυτταρική πρόσληψη και ενδοκυτταρική κατανομή 24
4.6.2 Σηματοδότηση ROS και οξειδωτικό στρες 25
4.6.3 Μιτοχονδριακή Δυσλειτουργία και Αποπτωτικές Οδοί 26
4.6.4 Διακοπή του Πρωτεασώματος και των Ενζύμων 27
4.6.5 Επιδράσεις στην Κυτταρική Οξειδοαναγωγή και την Ομοιόσταση Μετάλλων . 28
4.6.6 Αντιαγγειογενετική και Αντιμεταστατική Δράση 28
4.6.7 Ανοσοτροποποιητικοί και Αντιμικροβιακοί Μηχανισμοί 28
4.7 Μελλοντικές Προοπτικές 29

Σκοπός εργασίας **31**
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ..... **33**
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΟΡΓΑΝΑ, ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ **33**
5.1 Αντιδραστήρια 33
5.2 Όργανα-Μέθοδοι 33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ..... **36**
ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Cu(II) **36**
6.1 Σύνθεση συμπλόκων 36
6.2 Χαρακτηρισμός συμπλόκων 41
6.2.1 Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) 41
6.4.2 Φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους (UV-Vis) 46
6.4.3. Διαλυτότητα 50
6.4.4 Σταθερότητα 53
6.4.5 Φασματομετρία μάζας (HRMS) 57
6.4.6. Περίθλαση Ακτίνων-Χ μονοκρυστάλλου (single crystal XRD) 60
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ..... **65**
ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ **65**
7.1. Παρασκευή διαλύματος CT-DNA 65
7.2 Κινητική μελέτη διαλυμάτων συμπλόκων με CT-DNA 66
7.3. Τιτλοδότηση UV-Vis 69
7.4. Φθορισμομετρία 74
7.5. Ιξωδομετρία 78
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ **81**
ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ **82**
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ **83**
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ - ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ - ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ **84**
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ **86**

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1 : (1,10)-Φαινανθρολίνη-5,6-διόνη 6

Σχήμα 2 : 2-(2-Πυριδιλ)κινοξαλίνη 7

Σχήμα 3 : Διπυριδοφαιναζίνη 9

Σχήμα 4 : Χλώρο-Διπυριδοφαιναζίνη 10

Σχήμα 5 : Απεικόνιση συμπλόκων 1-4. Για τα σύμπλοκα 1 και 4 είναι οι πειραματικά αποδεδειγμένες δομές μέσω single crystal XRD ενώ για τα σύμπλοκα 2-3 είναι οι θεωρητικά αναμενόμενες. 37

Σχήμα 6 : Φάσμα IR για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 42

Σχήμα 7 : Φάσμα IR για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 43

Σχήμα 8 : Φάσμα IR για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$ 44

Σχήμα 9 : Φάσμα IR για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 45

Σχήμα 10 : Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 47

Σχήμα 11 : Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$ ... 48

Σχήμα 12 : Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$ 49

Σχήμα 13 : Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 50

Σχήμα 14 : 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ σε διαλύτη ακετονιτρίλιο 55

Σχήμα 15 : 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$ σε διαλύτη ακετονιτρίλιο 55

Σχήμα 16 : 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)ClO_4]ClO_4$ σε διαλύτη ακετονιτρίλιο 56

Σχήμα 17 : 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ σε διαλύτη ακετονιτρίλιο 57

Σχήμα 18 : Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 59

Σχήμα 19 : Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$ 59

Σχήμα 20 : Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$ 60

Σχήμα 21 : Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 60

Σχήμα 22 : Απεικόνιση μονοκρυστάλλου του συμπλόκου $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 62

Σχήμα 23 : Απεικόνιση μονοκρυστάλλου του συμπλόκου $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 63

Σχήμα 24 : Φάσμα UV-Vis CT-DNA 66

Σχήμα 25 : 25ωρη μελέτη UV-Vis της αλληλεπίδρασης CT-DNA με $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 68

Σχήμα 26 : 25ωρη μελέτη UV-Vis της αλληλεπίδρασης CT-DNA με $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 69

Σχήμα 27 : Τιτλοδότηση CT-DNA με $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ ... 71

Σχήμα 28 : Kb CT-DNA - $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 72

Σχήμα 29 : Τιτλοδότηση CT-DNA με$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 73

Σχήμα 30 : Kb CT-DNA - $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 73

Σχήμα 31 : Φθορισμός $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 76

Σχήμα 32 : Φθορισμός $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ 77

Σχήμα 33 : Ιξωδομετρία συμπλόκων 80

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ. 1 : Ιστορία της Χημείας [27] 3

Εικ. 2 : Συνήθεις καταστάσεις οξείδωσης και γεωμετρίες συμπλόκων χαλκού. [14] 8

Εικ. 3 : Διάγραμμα ενζύμων χαλκού και των λειτουργιών τους. [53] 10

Εικ. 4 : Απεικόνιση πορείας χαλκού. [41] 12

Εικ. 5 : Διάγραμμα της διπλής έλικας του DNA που δείχνει τη μικρή και τη μεγάλη αύλακα και τις διαφορετικές βάσεις [73] 19

Εικ. 6 : Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ 38

Εικ. 7 : Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)(dppz)](ClO_4)_2$ 39

Εικ. 8 : Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)](ClO_4)_2$ 40

Εικ. 9 : Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)_2](ClO_4)_2$ 41

Εικ. 10 : Απεικόνιση test διαλυτότητας 52

Εικ. 11 : Δομή αιθιδίου βρωμιδίου 75

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1 : Σύγκριση Cu(I) Cu(II) 8

Πίνακας 2 : Διαταραχές που σχετίζονται με τον χαλκό και οι βιολογικές τους αιτίες. 13

Πίνακας 3 : Παραδείγματα συμπλόκων και υβριδισμών 2

Πίνακας 4 : Βιολογικά και δομικά χαρακτηριστικά των υποκαταστατών. ..11

Πίνακας 5 : Παραδείγματα βιολογικά δραστικών συμπλόκων χαλκού(II) και τα χαρακτηριστικά τους. 23

Πίνακας 6 : Κοινές κορυφές IR για όλα τα σύμπλοκα 45

Πίνακας 7 : Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$ 47

Πίνακας 8 : Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο [Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4 48

Πίνακας 9 : Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο [Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO_4)]ClO_4 49

Πίνακας 10 : Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο [Cu$(pq)_2$$(ClO_4)$]$ClO_4$ 50

Πίνακας 11 : : Συγκεντρωτικός πίνακας διαλυτοτήτων 53

Πίνακας 12 : Μήκη και γωνίες δεσμών [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$ 62

Πίνακας 13 : Μήκη και γωνίες δεσμών [Cu$(pq)_2$$(ClO_4)$]$ClO_4$ 63

Πίνακας 14 : Kb συμπλόκων 73

Πίνακας 15 78

Πίνακας 16 : Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων 83

Πίνακας 17 : Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους 84

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Τμήμα Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο εργαστήριο Ανόργανης Χημείας, υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας Χ.Α. Μητσοπούλου. Η έρευνα είναι μέρος του ΔΠΜΣ “Ανόργανη Βιολογική Χημεία” με έδρα το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων που συνεργάζεται με το Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών στα πλαίσια του προγράμματος.

Οι μετρήσεις περίθλασης ακτίνων Χ (XRD) πραγματοποιήθηκαν στην Οριζόντια Κεντρική Υποδομή (Core Facility) της Σχολής Θετικών Επιστημών του ΕΚΠΑ.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη σύγχρονη εποχή, οι ραγδαίες εξελίξεις τόσο σε επιστημονικό όσο και σε τεχνολογικό επίπεδο, καθώς και οι αυξανόμενες απαιτήσεις στον τομέα της υγείας που είναι και ο πλέον απαραίτητος για την διατήρηση του κοινωνικού συνόλου, καθιστούν επιτακτική την ανάγκη για καινοτόμες και πρωτίστως βιώσιμες λύσεις που να ανταποκρίνονται στις καθημερινές προκλήσεις. Μέσα σε αυτό το διαρκώς μεταβαλλόμενο περιβάλλον, η επιστημονική έρευνα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη βελτίωση του βιοτικού επιπέδου και τη διασφάλιση της υγείας.

Στο πλαίσιο αυτό, η βιοανόργανη χημεία που γεφυρώνει την απόσταση μεταξύ βιολογίας και χημείας, βάζει στο μικροσκόπιο τον ανθρώπινο οργανισμό και προσφέρει πολύτιμες γνώσεις για την κατανόηση της σημασίας κάθε μεταλλικού ιόντος. Το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στην αναζήτηση μετάλλων που ανταπεξέρχονται στις καθημερινές προκλήσεις των τωρινών χημειοθεραπευτικών και στην τοξικότητα που πολλές φορές τα χαρακτηρίζει.

Ένα από αυτά τα μέταλλα είναι και ο χαλκός, ο οποίος με την ιδιότητα του να αλλάζει οξειδωτικές βαθμίδες και να συνδέεται με πλήθος διαφορετικών υποκαταστατών, καθώς και με την εκλεκτική του δράση, αποτελεί μέρος αρκετών μεταλλοπρωτεϊνών και ενζύμων και συμμετέχει σε θεμελιώδεις, για τον οργανισμό, βιολογικές διεργασίες. Το γεγονός αυτό τον καθιστά πολύ ελκυστικό στοιχείο για την ανάπτυξη μίας νέας γενιάς φαρμάκων με μειωμένες αρνητικές επιδράσεις και στόχο την ίαση ασθενειών που δεν έχουν καταφέρει να αντιμετωπιστούν αποτελεσματικά μέχρι πρότινος.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

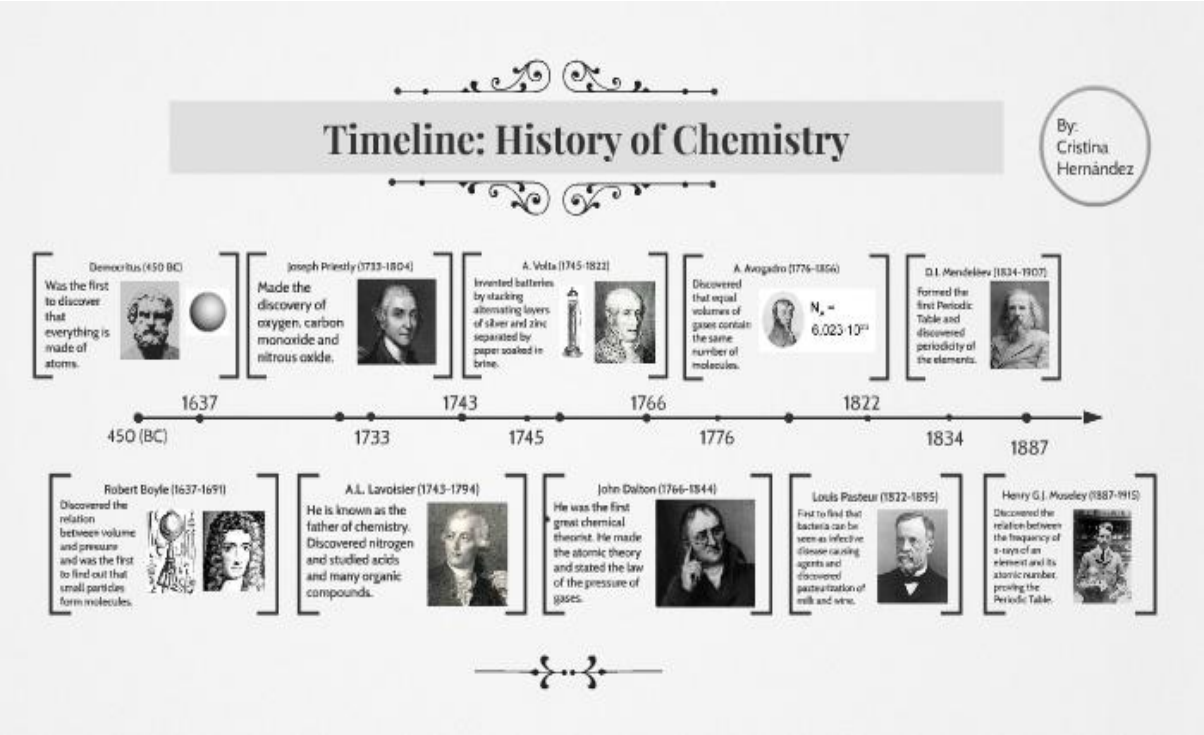
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1
ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Η Χημεία, μια από τις παλαιότερες φυσικές επιστήμες, έχει εξελιχθεί από την πρώιμη τέχνη της αλχημείας σε ένα πολύπλοκο και πολυεπίπεδο πεδίο που περιγράφει πώς συντίθεται η ύλη και πώς λειτουργεί. Σε αυτή την ιστορική διαδρομή, η ανόργανη χημεία έγινε ένας σημαντικός τομέας που επικεντρώνεται στη μελέτη στοιχείων και ενώσεων που δεν αποτελούνται κυρίως από άνθρακα, ενώ η συνειδητοποίηση ότι τα μεταλλικά ιόντα είναι αναπόσπαστο κομμάτι των βιολογικών συστημάτων οδήγησε στην καθιέρωση της Βιοανόργανης χημείας, ενός διεπιστημονικού τομέα που συνδέει την ανόργανη χημεία με τη βιολογία και την ιατρική. Ο συγκεκριμένος τομέας λοιπόν, μελετά πώς τα μέταλλα εμπλέκονται σε σημαντικές διεργασίες όπως η ενζυμική κατάλυση, η μεταφορά ηλεκτρονίων και η δομική σταθεροποίηση, ενώ προάγει επίσης τη δημιουργία φαρμάκων και διαγνωστικών οργάνων με βάση τα μέταλλα. Το Κεφάλαιο 1 δίνει μια ιστορική ματιά σε αυτές τις αλλαγές, δείχνοντας πώς η χημεία έχει μετατραπεί σε βιοανόργανη και εξηγώντας πόσο σημαντικά είναι τα ανόργανα στοιχεία στα βιολογικά συστήματα και στις παρούσες βιοϊατρικές χρήσεις.

1.1. Η Ανάπτυξη της Χημείας ως Επιστημονικού Κλάδου

Είναι γνωστό ότι η Χημεία έχει τις ρίζες της στην αιώνια ανθρώπινη ανάγκη να αλλάξει και να κατανοήσει την ύλη, από τις μεταλλουργικές δραστηριότητες έως τις αλχημικές παραδόσεις. Όμως, με την πάροδο του χρόνου, αυτές οι μέθοδοι εξελίχθηκαν σε συστηματικές εξετάσεις των χημικών ουσιών και του τρόπου με τον οποίο αλλάζουν, γεγονός που οδήγησε στον σύγχρονο τομέα της χημείας. Μέχρι τα τέλη του 1700 και τις αρχές του 1800, γεγονότα όπως το σημαντικό έργο του Jöns Jacob Berzelius (ήταν ο πρώτος που υιοθέτησε τη φράση "ανόργανη χημεία" το 1808) άρχισαν να διαμορφώνουν αυτό που τώρα ονομάζουμε ανόργανη χημεία [1].

Αρχικά, η "ανόργανη χημεία" σήμαινε μελέτες πραγμάτων που δεν προέρχονταν από ζωντανούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των μορίων που δεν βασίζονται στον άνθρακα, διαφορετικό δηλαδή από την "οργανική χημεία", που σήμαινε τη χημεία των ζωντανών οργανισμών [39].



Εικ. 1: Ιστορία της Χημείας [26]

Το 1800, η ανόργανη χημεία αφορούσε κυρίως τα ορυκτά, τα άλατα και τον τρόπο ομαδοποίησης των στοιχείων, και η οργανική χημεία, από την άλλη πλευρά, αφορούσε κυρίως ουσίες που προέρχονται από ζωντανούς οργανισμούς [2]. Ο περιοδικός νόμος, η συστηματική ατομική θεωρία, τα καλύτερα όργανα και η καλύτερη κατανόηση της δομής και των δεσμών βοήθησαν την ανόργανη χημεία να γίνει ένας ισχυρός τομέας καθώς η χημεία αναπτυσσόταν. Έτσι, με αυτόν τον τρόπο, η ανόργανη χημεία έγινε γνωστή για τη μελέτη των ιδιοτήτων και της δραστικότητας των ανόργανων και οργανομεταλλικών ενώσεων, οι οποίες είναι ουσίες και θέματα που η κλασική οργανική χημεία συνήθως δεν εξετάζει.

1.2 Η Άνοδος της Ανόργανης Χημείας

Καθώς η ανόργανη χημεία αναπτύχθηκε, η ταυτόχρονη πρόοδος στη βιολογία και τη βιοχημεία έδειξε ότι τα μεταλλικά ιόντα είναι διαδεδομένα στους ζωντανούς οργανισμούς και συχνά ζωτικής σημασίας για τη ζωή, και έτσι η βιοανόργανη χημεία είναι η μελέτη του πώς τα ανόργανα στοιχεία, ιδιαίτερα τα μεταλλικά ιόντα και οι

ζωντανοί οργανισμοί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους [15]. Αυτό περιλαμβάνει τη δομή, τη λειτουργία, την ομοιόσταση και τις αλληλεπιδράσεις τους με βιομόρια [16].
Μερικά σημαντικά γεγονότα στην ιστορία είναι η ανακάλυψη μεταλλοπρωτεϊνών και μεταλλοενζύμων, όπως η αιμοσφαιρίνη που περι'εχει σίδηρο και η οξειδάση του κυτοχρώματος που περιέχει χαλκό, ενώ αυτές οι ανακαλύψεις έδειξαν ότι τα ανόργανα στοιχεία δεν είναι μόνο σημαντικά για τη δομή αλλά και για την κατάλυση και τη ρύθμιση στη ζωή [16]. Επίσης, η άνοδος φαρμάκων με βάση τα μέταλλα, όπως τα μεταλλικά σύμπλοκα που καταπολεμούν τον καρκίνο ή τα βακτήρια, κατέστησε ακόμη πιο σημαντικό τον συνδυασμό της ανόργανης χημείας με βιολογικά και ιατρικά προβλήματα [33].

Επιπλέον, τις τελευταίες δεκαετίες, ο τομέας έχει αναπτυχθεί ώστε να καλύπτει την ομοιόσταση μεταλλικών ιόντων, τη μεταλλομική, τις απεικονιστικές και διαγνωστικές χρήσεις μεταλλικών συμπλοκών και τις θεραπευτικές χρήσεις μεταλλικών ενώσεων (δηλαδή, μεταλλικά φάρμακα) [10]. Έτσι λοιπόν και πιο συγκεκριμένα, η μετάβαση από την ανόργανη χημεία στη βιοανόργανη χημεία χαρακτηρίζεται από την αναγνώριση ότι τα "ανόργανα" υλικά εκτελούν ενεργές, ελεγχόμενες και βασικές λειτουργίες στους ζωντανούς οργανισμούς και ότι οι ανόργανοι χημικοί μπορούν να κατασκευάσουν σύμπλοκα που επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες.

1.3 Ρόλος Ανόργανων Στοιχείων στα Βιολογικά Συστήματα

Μια βασική γνώση στη βιοανόργανη χημεία είναι ότι η βιολογία δεν χρησιμοποιεί όλα τα μεταλλικά ιόντα που υπάρχουν στον περιοδικό πίνακα, αλλά αντίθετα, χρησιμοποιεί και ρυθμίζει επιλεκτικά συγκεκριμένα από αυτά. Ο σίδηρος (Fe), ο χαλκός (Cu), το μαγγάνιο (Mn), το κοβάλτιο (Co) και το νικέλιο (Ni) είναι παραδείγματα οξειδοαναγωγικά δραστικών μετάλλων μετάπτωσης πρώτης σειράς που χρησιμοποιούνται στη μεταφορά ηλεκτρονίων και στις καταλυτικές λειτουργίες. Τα μέταλλα που δεν αντιδρούν με οξειδοαναγωγή, όπως το μαγνήσιο (Mg^{2+}), το ασβέστιο (Ca^{2+}) και ο ψευδάργυρος (Zn^{2+}), χρησιμοποιούνται συχνά ως δομικά ή ρυθμιστικά ιόντα [7].

Επιπλέον, μέσω διεργασιών όπως η πρόσληψη, η μεταφορά, η αποθήκευση και η αποτοξίνωση, τα βιολογικά συστήματα διατηρούν τα μέταλλα σε ισορροπία, όπως

για παράδειγμα, οι μεταλλοθειονίνες και η σερουλοπλασμίνη είναι πρωτεΐνες που συνδέονται και ελέγχουν τον χαλκό ή τον ψευδάργυρο. Επίσης, τα μεταλλικά ιόντα έχουν αρκετές σημαντικές λειτουργίες, όπως η σταθεροποίηση της δομής των μακρομορίων (όπως οι πρωτεΐνες δακτύλων ψευδαργύρου), η κατάλυση αντιδράσεων (όπως τα μεταλλοένζυμα), η μεταφορά ηλεκτρονίων (όπως τα κυτοχρώματα), η αποστολή σημάτων και η δημιουργία ιοντικών βαθμίδων στις μεμβράνες (βιοενεργειακή) [68]. Συνεπώς, η, βιολογική σημασία των ανόργανων στοιχείων στηρίζει τη χρήση μεταλλικών ιόντων και συμπλόκων στη διαγνωστική, την απεικόνιση και τις θεραπείες, δημιουργώντας έτσι μια σύνδεση μεταξύ της ανόργανης χημείας και της ιατρικής [16].

1.4 Εφαρμογές και Επιδράσεις της Βιοανόργανης Χημείας

Όπως ήδη είδαμε, η βιοανόργανη χημεία επιδρά σε πολλούς διαφορετικούς τομείς, συμπεριλαμβανομένης της χημείας, της βιολογίας, της ιατρικής, της φαρμακολογίας και της επιστήμης των υλικών.

Η σισ-πλατίνη, (cisplatin, cis-διαμινο-διχλωρο-λευκόχρυσος(II) ιόν), ένα σύμπλοκο πλατίνας και από τα πιο γνωστά αντικαρκινικά φάρμακα με βάση το μέταλλο, προκάλεσε μεγάλο ενδιαφέρον για τα συγκεκριμένα φάρμακα. Συγκεκριμένα, η σισπλατίνη είναι τεχνικά πιο «βιοοργανομεταλλική», ωστόσο η επιτυχία της οδήγησε στην ανάπτυξη ενώσεων μεταλλικού συντονισμού στην ιατρική. Έτσι, τα ισότοπα μετάλλων (π.χ., 99 mTc) και οι σκιαγραφικοί παράγοντες (π.χ., Gd^{3+} σε μαγνητική τομογραφία) αποτελούν παραδείγματα μιας βιοανόργανης μεθοδολογίας, χρησιμοποιώντας τα χημικά χαρακτηριστικά των μετάλλων για χρήση σε βιολογικά περιβάλλοντα. Επιπλέον, οι ερευνητές εργάζονται επί του παρόντος για την ανάπτυξη συμπλόκων μετάλλων που μπορούν να στοχεύσουν το DNA, τις πρωτεΐνες ή τις βιολογικές οξειδοαναγωγικές διεργασίες ως μέρος της ανάπτυξης φαρμάκων, ενώ για παράδειγμα, νέα έρευνα έχει δείξει πόσο σημαντικός είναι ο χαλκός και άλλα μεταβατικά μέταλλα στις φαρμακευτικές ενώσεις [15].
Προφανώς, η κατανόηση της δυσλειτουργίας ή της λάθος ομοιόστασης μετάλλων-ιόντων έχει επιπτώσεις στην ασθένεια, όπως για παράδειγμα, ο χαλκός στη νευροβιολογία, ο σίδηρος στην αναιμία και το μαγγάνιο στον νευροεκφυλισμό [10].

Επιπλέον, καθώς ο τομέας εξελίσσεται, νέα πεδία έρευνας είναι η μηχανική μεταλλοπρωτεϊνών, οι αισθητήρες μεταλλικών ιόντων, η νανοϊατρική που χρησιμοποιεί μεταλλο-οργανικά πλαίσια και η στοχευμένη χορήγηση συμπλόκων μετάλλων σε καρκίνο ή λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια, και εξαιτίας αυτού, η αλληλεπίδραση μεταξύ ανόργανης χημείας και ζωής συνεχίζει να οδηγεί σε νέες χρήσεις και επιστημονικές ανακαλύψεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΧΑΛΚΟΣ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Ο χαλκός είναι ένα μεταβατικό μέταλλο που συμμετέχει σε πολλές διεργασίες στους ζωντανούς οργανισμούς. Είναι μέγιστης σημασίας για πολλές φυσιολογικές λειτουργίες, ενώ μπορεί να εναλλάσσεται μεταξύ δύο καταστάσεων οξείδωσης, Cu(I) και Cu(II). Αυτό το γεγονός του επιτρέπει να συμμετέχει σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που είναι σημαντικές για την αναπνοή και την προστασία από τις ελεύθερες ρίζες. Όμως, αυτή η ίδια οξειδοαναγωγική δραστηριότητα πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά, επειδή τα προβλήματα με την ομοιόσταση του χαλκού μπορούν να κάνουν τα κύτταρα δηλητηριώδη ή τοξικά και να προκαλέσουν ασθένειες. Ο χαλκός δρα ως συμπαράγοντας σε πολλά μεταλλοένζυμα στους ανθρώπους, βοηθά στην ανάπτυξη του συνδετικού ιστού και επηρεάζει τη νευροδιαβίβαση και τις ανοσολογικές αποκρίσεις. Επιπλέον, η διερεύνηση της λειτουργίας του χαλκού στα βιολογικά συστήματα παρέχει ουσιαστικές γνώσεις σχετικά με τις καλές, αλλά και δυνητικά επιβλαβείς επιπτώσεις του. Το παρακάτω κεφάλαιο εξετάζει τα χημικά χαρακτηριστικά του χαλκού, τον ρόλο του στους ζωντανούς οργανισμούς, τον τρόπο με τον οποίο απορροφάται και ρυθμίζεται και τι συμβαίνει όταν υπάρχει υπερβολική ή ελάχιστη ποσότητα από αυτόν, θέτοντας τη βιοχημική βάση για την εφαρμογή του στην ιατρική ανόργανη χημεία.

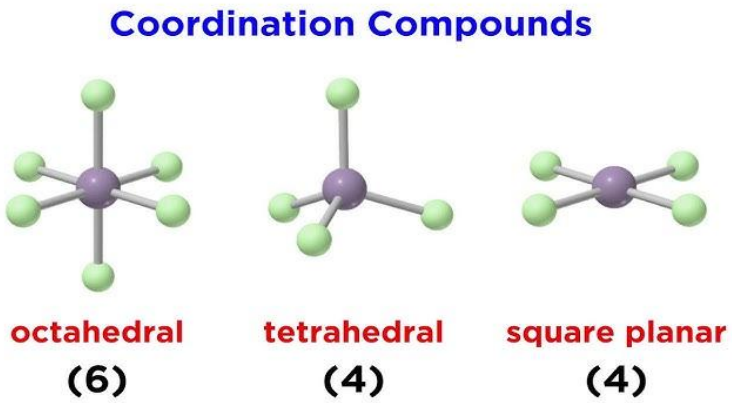
2.1 Βασικά Χαρακτηριστικά του χαλκού

Όπως αναφέρθηκε, ο χαλκός (Cu) είναι ένα μέταλλο μετάπτωσης που ανήκει στην Ομάδα 11 του περιοδικού πίνακα, έχει ατομικό βάρος 63.456 g/mol, ατομικό αριθμό Z=29 και ηλεκτρονιακή διαμόρφωση [Ar] $3d^{10}$ $4s^{1}$. Διαθέτει κοκκινωπό χρώμα στη στοιχειακή κατάσταση, ισχυρή ηλεκτρική και θερμική αγωγιμότητα και ολκιμότητα. Έχει θερμοκρασία τήξης 1084.6 °C και θερμοκρασία βρασμού 2567 °C. Επιπλέον χαρακτηρίζεται από μεγάλη μηχανική αντοχή και ανθεκτικότητα στη διάβρωση, καθώς σχηματίζει προστατευτικά οξείδια χαλκού που εμποδίζουν τη διάβρωση να καταστρέψει τα εσωτερικά στρώματα. Πρέπει να τονιστεί ότι οι καταστάσεις

οξείδωσης +1 (Cu^{+}) και +2 (Cu^{2+}) είναι οι πιο συνηθισμένες στη χημεία του, αλλά υψηλότερες καταστάσεις οξείδωσης όπως +3 και +4 μπορούν να εμφανιστούν σε ορισμένες συνθήκες συντονισμού [64].

2.2 Cu(I) και Cu(II): Σύγκριση των Χημικών και Βιολογικών τους Ιδιοτήτων

Ο μετασχηματισμός μεταξύ Cu(I) και Cu(II) είναι θεμελιώδης για τη βιολογική λειτουργία του χαλκού. Κάθε κατάσταση οξείδωσης έχει τις δικές της προτιμήσεις συντονισμού και βιολογικά χαρακτηριστικά [65].



Εικ. 2: Συνήθεις καταστάσεις οξείδωσης και γεωμετρίες συμπλόκων χαλκού. [14]

Πίνακας 1: Σύγκριση Cu(I) Cu(II)

Ιδιότητα	**Cu(I)**	**Cu(II)**
Ηλεκτρονική διαμόρφωση	d^{10} (διαμαγνητικό)	d^{9} (παραμαγνητικό)
Τυπική γεωμετρία	Τετραεδρική, Τριγωνική	Επίπεδη τετραγωνική / Οκταεδρική/ Παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμίδα
Υποκαταστάτες	Μαλακοί υποκαταστάτες (S, P)	Σκληροί υποκαταστάτες (N, O)
Βιολογικός ρόλος	Μεταφορά ηλεκτρονίων	Κατάλυση, δομικός ρόλος
Σταθερότητα	Αστάθεια λόγω εύκολης αυτοοξειδοναγαωγής	Θερμοδυναμική σταθερότητα

Χρώμα συμπλόκων	Έγχρωμα λόγω μεταπτώσεων μεταφοράς φορτίου	Ασθενώς έγχρωμα λόγω απαγορευμένων d-d μεταπτώσεων

Ο Cu(I) εμπλέκεται κυρίως σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων, όπως η οξειδάση του κυτοχρώματος c, ενώ ο Cu(II) εμπλέκεται στην οξειδοαναγωγική κατάλυση και στις ενζυματικές αντιδράσεις οξείδωσης. Οι αναγωγάσες μετατρέπουν τον Cu(II) σε Cu(I) στα κύτταρα, και οι οξειδάσες κάνουν το αντίθετο, διατηρώντας μια λεπτή οξειδοαναγωγική ισορροπία.

Είναι γνωστό ότι ο Cu(II) είναι η πιο σταθερή κατάσταση οξείδωσης στο νερό, καθώς επίσης σχηματίζει οκταεδρικά ή παραμορφωμένα τετραγωνικά-επίπεδα σύμπλοκα λόγω του φαινομένου Jahn-Teller, το οποίο προκαλείται από την ηλεκτρονική διαμόρφωση d^9. Αυτό το χαρακτηριστικό προσδίδει προσαρμοστικότητα στη γεωμετρία και την ανταλλαγή υποκαταστατών, επιτρέποντας στα ιόντα χαλκού να λαμβάνουν αριθμούς συντονισμού από τέσσερα έως έξι, ανάλογα με τα άτομα-δότες υποκαταστατών [6].

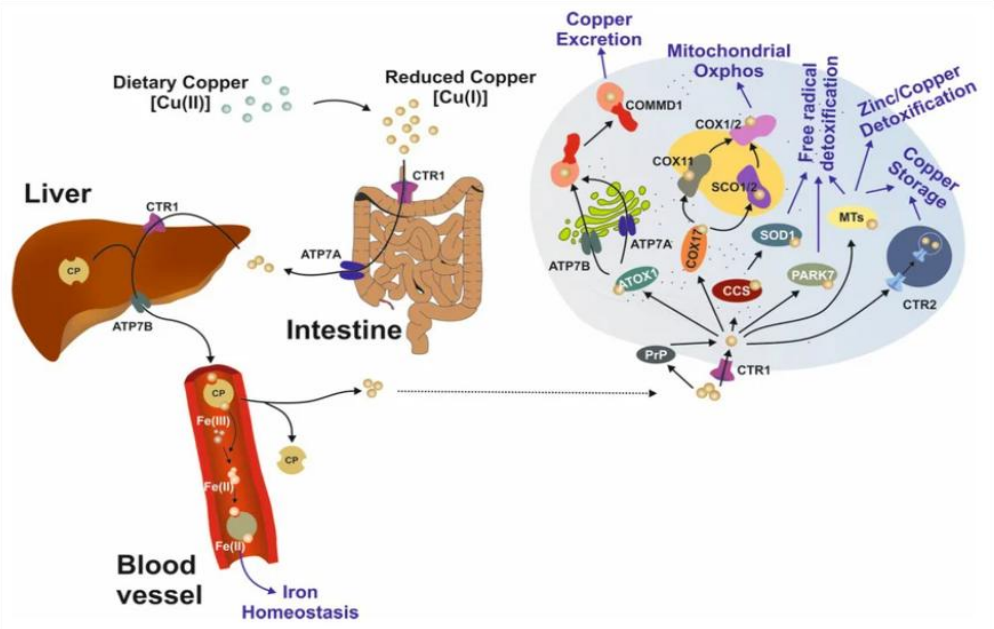
Ταυτόχρονα, ο χαλκός είναι πολύ καλός στο να συμμετέχει σε διεργασίες μεταφοράς ηλεκτρονίων επειδή μπορεί να εναλλάσσεται μεταξύ Cu(I) και Cu(II) σε καταλυτικούς κύκλους, ικανότητα που χρησιμοποιείται από πολλά ένζυμα οξείδωσης-αναγωγής απαραίτητα για τη ζωή, όπως η οξειδάση του κυτοχρώματος c, η υπεροξειδική δισμουτάση και η τυροσινάση.

2.3 Βιολογική Σημασία του Χαλκού

Φυσικά, ο χαλκός είναι ένα σημαντικό ιχνοστοιχείο που σχεδόν όλα τα ζωντανά όντα χρειάζονται για συνθήκες όπως η αναπνοή, η προστασία από τις ελεύθερες ρίζες, η δημιουργία συνδετικού ιστού και η απόδοση χρώματος στο δέρμα, ενώ σε πολλά μεταλλοένζυμα, λειτουργεί κυρίως ως καταλυτικός συμπαράγοντας.

Παρακάτω αναφέρονται μερικά από τα πιο απαραίτητα ένζυμα που εξαρτώνται από τον χαλκό για τον οργανισμό. Αρχικά, είναι η οξειδάση κυτοχρώματος c (Σύμπλεγμα

IV), ένζυμο που βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και επιταχύνει το τελευταίο στάδιο της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, μετατρέποντας το μοριακό οξυγόνο σε νερό. Επίσης, τα κέντρα χαλκού (Cu_A και Cu_B) συνεργάζονται με την αίμη a και a_3 για να μετακινήσουν ηλεκτρόνια και να διατηρήσουν την οξειδωτική φωσφορυλίωση [75]. Στη συνέχεια, έρχεται η δισμουτάση υπεροξειδίου Cu, Zn (SOD1), ένα ένζυμο στο κυτταρόπλασμα που εξουδετερώνει τις ρίζες υπεροξειδίου μετατρέποντάς τες σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και οξυγόνο, σταματώντας έτσι την οξειδωτική βλάβη. Το ιόν χαλκού είναι ο οξειδοαναγωγικά ενεργός πυρήνας και το ιόν ψευδαργύρου διατηρεί σταθερή τη δομή της πρωτεΐνης [49]. Προχωρώντας, η λυσυλοξειδάση είναι ένα ένζυμο που βοηθά στη διατήρηση της ισχυρής δύναμης του συνδετικού ιστού μέσω της διασταυρούμενης σύνδεσης κολλαγόνου και ελαστίνης, γεγονός που επιτυγχάνεται οξειδώνοντας τα υπολείμματα λυσίνης [35]. Επιπροσθέτως, η τυροσινάση είναι ένα διπυρηνικό ένζυμο χαλκού που βοηθά στην παραγωγή μελανίνης και στο χρωματισμό του δέρματος μετατρέποντας τις φαινόλες σε κινόνες [79]. Τέλος, η σερουλοπλασμίνη είναι μια πολυοξειδάση χαλκού στο πλάσμα που μετατρέπει τον Fe^{2+} σε Fe^{3+}, η οποία βοηθά τον σίδηρο να κινηθεί μέσω της τρανσφερίνης και συνδέει τον μεταβολισμό του χαλκού με την ομοιόσταση του σιδήρου [46]. Αυτά τα ένζυμα υπογραμμίζουν συλλογικά τη διπλή λειτουργία του χαλκού ως καταλύτη οξειδοαναγωγής και δομικού σταθεροποιητή.



Εικ. 3 : Διάγραμμα ενζύμων χαλκού και των λειτουργιών τους. [53]

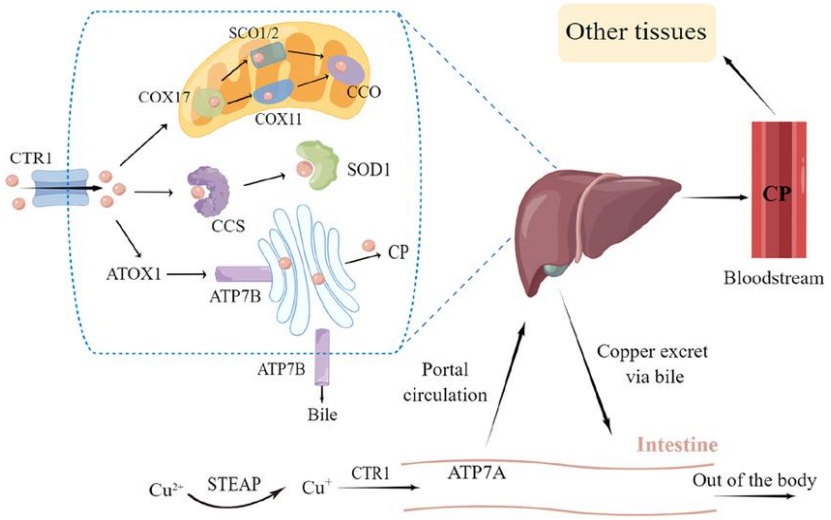
2.4 Μεταβολισμός και Ομοιόσταση Χαλκού

Είναι λογικό πως το σώμα ελέγχει προσεκτικά την ποσότητα χαλκού που έχει για να διατηρεί υπό έλεγχο τις βιολογικές του λειτουργίες και την πιθανή τοξικότητά του, και έτσι λοιπόν, ένας μέσος άνθρωπος έχει περίπου 100 mg χαλκού στο σώμα του, κυρίως στο ήπαρ, τον εγκέφαλο, την καρδιά και τα νεφρά του και η ημερήσια πρόσληψη του ορίζεται περίπου σε 1,5 mg μέσα από την τροφή [9].

Αρχικά, συμβαίνει η απορρόφηση. Το λεπτό έντερο είναι το σημείο όπου απορροφάται ο περισσότερος χαλκός και η πρωτεΐνη CTR1 (Copper Transporter 1) βοηθά την μεμβράνη των εντεροκυττάρων να προσλαμβάνει τον Cu^{+} με υψηλή συγγένεια. Πριν μεταφερθούν, οι μεταλλοδουκτάσες όπως οι πρωτεΐνες STEAP μετατρέπουν τον διαιτητικό Cu(II) σε Cu(I) [40].

Συνεχίζοντας στη μεταφορά, οι μεταλλοσυνοδοί δεσμεύουν τον χαλκό μέσα στα κύτταρα για να αποτρέψουν τη συσσώρευση ελεύθερων ιόντων, ενώ τρεις κύριοι συνοδοί χαλκού διασφαλίζουν ότι ο χαλκός κατανέμεται σωστά. Πρώτα, η Atox1 στέλνει τον Cu^{+} στην ATP7A και την ATP7B στο σύμπλεγμα Golgi, ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή χαλκοενζύμων. Δεύτερη η CCS (Copper Chaperone για SOD1) μετακινεί τον Cu^{+} στην υπεροξειδική δισμουτάση στο κυτταρόπλασμα. Τρίτος συνοδός, ο Cox17, στέλνει τον χαλκό στην οξειδάση του κυτοχρώματος c στα μιτοχόνδρια.

Όσον αφορά την απέκκριση και αποθήκευση, η ATP7A από τα εντεροκύτταρα και η ATP7B από τα ηπατοκύτταρα απομακρύνουν την περίσσεια χαλκού από το σώμα. Το ATP7B βοηθά επίσης στην χολική απέκκριση, η οποία είναι ο κύριος τρόπος απαλλαγής από τον επιπλέον χαλκό, ενώ ο χαλκός κυκλοφορεί στο πλάσμα κυρίως συνδεδεμένος με την σερουλοπλασμίνη (περίπου 70%) και την αλβουμίνη (περίπου 10%) [49].



Εικ. 4: Απεικόνιση πορείας χαλκού. [41]

2.5 Έλλειψη Χαλκού και Τοξικότητα

Προφανώς, μια ανισορροπία χαλκού, είτε οφείλεται σε έλλειψη είτε σε περίσσεια, επηρεάζει πολλές βασικές φυσιολογικές λειτουργίες.

Ανεπάρκεια

Τα γενετικά προβλήματα, η κακή διατροφή ή η ελλιπής απορρόφηση μπορούν να προκαλέσουν ανεπάρκεια. Για παράδειγμα, η νόσος του Menkes είναι η πιο γνωστή γενετική ασθένεια και συμβαίνει όταν το ATP7A μεταλλάσσεται, γεγονός που δυσκολεύει το σώμα να απορροφήσει τον χαλκό στα έντερα και κάνει τα ένζυμα να λειτουργούν ανεπαρκώς. Έτσι, προκαλούνται συμπτώματα όπως ο νευροεκφυλισμός, η διαταραχή του συνδετικού ιστού, ανωμαλίες και θάνατος στην πρώιμη παιδική ηλικία [41].

Φυσικά, η αναιμία (επειδή η δραστηριότητα της σερουλοπλασμίνης είναι χαμηλότερη), τα αδύναμα οστά, τα προβλήματα με το ανοσοποιητικό σύστημα και η υπομελάγχρωση είναι μερικά από τα άλλα προβλήματα που μπορεί να συμβούν όταν δεν υπάρχει επαρκής λήψη χαλκού.

Περίσσεια

Οι αντιδράσεις τύπου Fenton μπορούν να συμβούν όταν συσσωρεύεται υπερβολική ποσότητα χαλκού, η οποία μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες και σε αυτές τις αντιδράσεις, ο Cu(I) μετατρέπει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε ρίζες υδροξυλίου [22]. Όμως, το συγκεκριμένο οξειδωτικό στρες βλάπτει τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα, γεγονός που καθιστά το ήπαρ τοξικό και προκαλεί τον θάνατο των νευρικών κυττάρων.

Επιπλέον, η νόσος του Wilson, που προέρχεται από μεταλλάξεις στο ATP7B, οδηγεί σε ηπατική συσσώρευση χαλκού και επακόλουθα νευρολογικά συμπτώματα, όπως τρόμο, ψυχικές διαταραχές και τους χαρακτηριστικούς δακτυλίους Kayser-Fleischer στον κερατοειδή. Επιπλέον, τα υψηλά επίπεδα χαλκού έχουν επίσης συνδεθεί με τη νόσο Αλτσχάιμερ, όπου η μη σωστή ρύθμιση του χαλκού μπορεί να προκαλέσει συσσωμάτωση β-αμυλοειδούς και οξειδωτικό στρες [42].

Πίνακας 2: Διαταραχές που σχετίζονται με τον χαλκό και οι βιολογικές τους αιτίες.

Ασθένεια	Γονίδια/Μηχανισμοί	Κύριες συνέπειες	Συμπτώματα	Πηγή
Menkes Disease	ATP7A μετάλλαξη	Έλλειψη στους ιστούς	Νευροεκφυλισμός, Εύθραυστη τρίχα	[45]
Wilson's Disease	ATP7B μετάλλαξη	Συσσώρευση στο συκώτι και στον εγκέφαλο	Ηπατική ανεπάρκεια, Τρεμούλιασμα, Kayser–Fleischer rings	[45]
Επίκτητη έλλειψη χαλκού	Υποσιτισμός, Γαστρική χειρουργική επέμβαση	Χαμηλή ενζυμική δραστικότητα	Αναιμία, Ανοσοκαταστολή	[45]
Τοξικότητα	Περιβαλλοντική έκθεση, συμπληρώματα	Παραγωγή ROS	Ηπατική βλάβη, νευρολογικές συνέπειες	[45]
Altzheimer's Disease	Μη σωστή ρύθμιση χαλκού	Συσσωμάτωση β αμυλοειδούς	Οξειδωτικό στρες	[45]

2.6 Παθοφυσιολογική και Θεραπευτική Σημασία του Χαλκού

Η βιολογική σημασία του χαλκού περιλαμβάνει τους ενζυμικούς του ρόλους καθώς και τις θεραπευτικές και παθολογικές του επιπτώσεις.

2.6.1 Χαλκός και Οξειδωτικό Στρες

Όπως θα δούμε, ο χαλκός βοηθά στη μετατροπή του μοριακού οξυγόνου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε δραστικά είδη οξυγόνου (ROS). Μέτριες ποσότητες δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) έχουν ρόλο στη σηματοδότηση, ενώ υψηλά επίπεδα ROS μπορούν να βλάψουν τα κύτταρα και να προκαλέσουν ασθένειες [84]. Προφανώς, είναι πολύ σημαντικό να κατανοήσουμε αυτήν την οξειδοαναγωγική ισορροπία κατά την παρασκευή φαρμάκων με βάση τον χαλκό που χρησιμοποιούν οξειδωτικό στρες μόνο κατά των καρκινικών κυττάρων.

2.6.2 Χαλκός και Νευρολογικές Διαταραχές

Η διαταραγμένη ομοιόσταση του χαλκού οδηγεί σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως η νόσος Αλτσχάιμερ, η νόσος Πάρκινσον, όπου η κακή διαχείριση του χαλκού αλλάζει τις αλληλεπιδράσεις μετάλλου-πρωτεΐνης, ιδιαίτερα όσον αφορά την αμυλοειδή-β και την α-συνουκλεΐνη [38]. Οι ερευνητές εξετάζουν χηλικούς παράγοντες και ιονοφόρα του χαλκού (όπως η κλιοκινόλη και η D-πενικιλλαμίνη) για να δουν αν μπορούν να επαναφέρουν τα επίπεδα χαλκού στο φυσιολογικό.

2.6.3 Θεραπευτικές Χρήσεις Συμπλόκων Χαλκού

Οι ενώσεις χαλκού έχουν διερευνηθεί στην ιατρική για σκοπούς εκτός της ενζυμικής δράσης, όπως αντιμικροβιακές χρήσεις, όπου οι επιφάνειες και τα άλατα χαλκού εμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων και ιών διασπώντας τις μεμβράνες και παράγοντας δραστικά είδη οξυγόνου (ROS). Έχουν επίσης διερευνηθεί για αντιφλεγμονώδης δράση, καθώς τα σύμπλοκα χαλκού λειτουργούν όπως η υπεροξειδική δισμουτάση, η οποία μειώνει το οξειδωτικό στρες. Επιπλέον, υπάρχουν αντικαρκινικές στρατηγικές, όπου τα σύμπλοκα χαλκού(II) λειτουργούν ως

οξειδοαναγωγικά δραστικοί παράγοντες που πυροδοτούν την απόπτωση μέσω του κατακερματισμού του DNA και της μιτοχονδριακής βλάβης. Τέλος, η επούλωση τραυμάτων είναι κι αυτή χαρακτηριστική, καθώς τα πεπτίδια χαλκού όπως το GHK-Cu βοηθούν στην ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων και στην επιδιόρθωση ιστών [61].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΧΑΛΚΟΥ ΚΑΙ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ

Όπως είναι γνωστό, η δημιουργία συμπλόκων ενώσεων που περιλαμβάνουν μεταλλικά ιόντα και οργανικούς ή ανόργανους υποκαταστάτες αποτελεί βασική αρχή της βιοανόργανης χημείας. Πιο συγκεκριμένα, τα μεταβατικά μέταλλα, όπως ο χαλκός, σχηματίζουν εύκολα σταθερά σύμπλοκα με πολλά διαφορετικά άτομα δότες επειδή οι γεωμετρίες συντονισμού τους είναι ευέλικτες και οι καταστάσεις οξείδωσης τους αλλάζουν, ιδιότητες που τα καθιστούν πολύ σημαντικά στα βιολογικά συστήματα και τη φαρμακευτική χημεία.

Ειδικότερα τα σύμπλοκα χαλκού(II) έχουν τραβήξει την προσοχή λόγω της ικανότητάς τους να αλληλεπιδρούν με βιομόρια, συμπεριλαμβανομένου του DNA και των πρωτεϊνών, δημιουργώνας δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) ή την επαγωγή διαμορφωτικών αλλαγών που μπορεί να έχουν αντιμικροβιακή ή αντικαρκινική επίδραση. Η βιολογική δραστικότητα αυτών των συμπλόκων επηρεάζεται κυρίως από τα χαρακτηριστικά των υποκαταστατών συντονισμού, συμπεριλαμβανομένων των ηλεκτρονικών τους επιδράσεων, της γεωμετρίας και της υδροφοβικότητας.

3.1 Βασικά στοιχεία της χημείας συντονισμού χαλκού

Υπάρχουν αρκετές διαφορετικές γεωμετρίες συντονισμού στη χημεία του χαλκού(II), συμπεριλαμβανομένων των τετραγωνικών-επίπεδων, τετραγωνικών-πυραμιδικών και των παραμορφωμένων οκταεδρικών σχημάτων, και το φαινόμενο Jahn-Teller, το οποίο καθιστά τους αξονικούς δεσμούς στα συστήματα d^9 μακρύτερους ή βραχύτερους για να άρει τον ηλεκτρονικό εκφυλισμό, είναι αυτό που δίνει αυτή την ευελιξία. Το συγκεκριμένο είδος γεωμετρικής παραμόρφωσης επιτρέπει στο Cu(II) να ταιριάζει σε μεγάλο φάσμα υποκαταστατών, από μικρά ανόργανα ανιόντα έως μεγάλα αρωματικά μόρια [67].

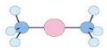
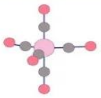
Τα σύμπλοκα Cu(I), από την άλλη πλευρά, τείνουν να έχουν τετραεδρικά ή τριγωνικά επίπεδα σχήματα και προτιμούν μαλακούς δότες όπως υποκαταστάτες θείου ή φωσφίνης. Παράλληλα, το ζεύγος οξειδοαναγωγής Cu(II)/Cu(I) διευκολύνει τη μεταφορά ηλεκτρονίων, κάτι που είναι απαραίτητο για βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της κατάλυσης οξείδωσης-αναγωγής και αναπόσπαστο κομμάτι των θεραπευτικών μεθόδων που περιλαμβάνουν την παραγωγή ROS.

3.1.1 Το χηλικό φαινόμενο και ο τρόπος σχεδιασμού υποκαταστατών

Η χηλείωση είναι πολύ σημαντική για τη σταθερότητα των συμπλόκων, καθώς το χηλικό φαινόμενο καθιστά τους πολυδοντικούς υποκαταστάτες πιο θερμοδυναμικά σταθερούς σχηματίζοντας σταθερούς δακτυλίους με το μεταλλικό κέντρο. Επιπλέον, οι χηλικοί παράγοντες με άτομα δότες αζώτου, όπως παράγωγα φαινανθρολίνης, διπυριδίνης και κινοξαλίνης, δημιουργούν σύμπλοκα Cu(II) με υψηλή σταθερότητα και καθορισμένες γεωμετρίες. Ταυτόχρονα, οι συγκεκριμένοι υποκαταστάτες βοηθούν τμήματα των συπλόκων να παραμένουν επίπεδα, ιδιότητα ιδιαίτερα χρήσιμη για την παρεμβολή του DNA.

Η θεωρία σκληρών-μαλακών οξέων-βάσεων (HSAB) βοηθά στην επιλογή υποκαταστάτη ακόμη περισσότερο. Έτσι, ο Cu(II), ο οποίος είναι ένα ενδιάμεσο οξύ, λειτουργεί καλά με βάσεις με δότες N και O, ενώ ο Cu(I), ο οποίος είναι ένα μαλακότερο οξύ, λειτουργεί καλύτερα με μαλακές βάσεις (δότες S και N). Φυσικά, για να δημιουργηθούν φάρμακα που λειτουργούν αποτελεσματικά, πρέπει να υπάρχει ενδελεχής γνώση για το πώς λειτουργεί αυτή η ισορροπία, καθώς επηρεάζει το πόσο καλά διαλύονται, πόσο σταθερά είναι και πόσο καλά λειτουργούν με τους ζωντανούς οργανισμούς [6].

Πίνακας 3: Παραδείγματα συμπλόκων και υβριδισμών

CN	Geometry	Hybridization	Example
2	Linear 	sp	$[Ag(NH_3)_2]^+$
4	Tetrahedral 	sp^3	$[Cd(NH_3)_4]^{2+}$
4	square planar 	sp^2d	$[Cu(OH_2)_4]^{2+}$
5	trigonal bipyramid 	sp^3d	$Fe(CO)_5$
5	Square pyramidal 	sp^2d^2	$[Mn(Cl)_5]^{3-}$
6	Octahedral 	sp^3d^2	$[Fe(CN)_6]^{4-}$

3.2 Χαρακτηρισμός Συμπλοκών Χαλκού με Φασματοσκοπία και Δομή

Προφανώς, ο χαρακτηρισμός των συμπλοκών χαλκού είναι απαραίτητος για την κατανόηση των αλληλεπιδράσεων δομής-λειτουργίας τους. Αρχικά, η ηλεκτρονική φασματοσκοπία (UV-Vis) παρέχει πληροφορίες σχετικά με τις ταινίες που οφείλονται σε μεταπτώσεις μεταφοράς φορτίου και τις μεταπτώσεις d-d. Για τα σύμπλοκα Cu(II), η απορρόφηση συμβαίνει συνήθως στην περιοχή των 600-900 nm, η οποία είναι συμβατή με τις μεταπτώσεις d-d σε ένα παραμορφωμένο οκταεδρικό περιβάλλον. Επιπλέον, η φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) επαληθεύει τη σύμπλεξη των υποκαταστατών επιτρέποντάς μας να παρατηρήσουμε διακυμάνσεις στις διακριτές δονήσεις των ομάδων δοτών (π.χ., ν(C=N), ν(C=O)). Η φασματοσκοπία EPR είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την κατανόηση του τι είναι τα είδη Cu(II), καθώς δείχνει τιμές g και σταθερές σύζευξης που παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη γεωμετρία και τη συμμετρία του πεδίου υποκαταστατών. Φυσικά, η φασματομετρία μάζας (ESI-MS) και η στοιχειακή ανάλυση επιβεβαιώνουν τη στοιχειομετρία. Παρ'όλα αυτά, η κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ εξακολουθεί να αποτελεί τον καλύτερο τρόπο για την επικύρωση της δομής, και δη στη στερεά κατάσταση, καθώς δίνει πληροφορίες σε ατομικό επίπεδο σχετικά με τη γεωμετρία συντονισμού, τα μήκη δεσμών και τις αλληλεπιδράσεις δεσμών υδρογόνου. Έτσι λοιπόν, ένας χαρακτηρισμός όπως ο

παραπάνω διασφαλίζει ότι η βιολογική απόδοση του συμπλόκου μπορεί να συνδεθεί με τη φυσικοχημική του συμπεριφορά.

3.3 Βιολογική Σημασία των Συμπλόκων Χαλκού

Όπως αναφέρθηκε, τα σύμπλοκα χαλκού έχουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων, που περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινικές ιδιότητες, οι οποίες αποδίδονται στα οξειδοαναγωγικά τους χαρακτηριστικά και στην ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με νουκλεϊκά οξέα και πρωτεΐνες. Οι τεχνικές τους συνήθως μιμούνται ή τροποποιούν τις λειτουργίες των φυσικών ενζύμων χαλκού, συμπεριλαμβανομένης της υπεροξειδικής δισμουτάσης και της οξειδάσης κυτοχρώματος c.

Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιολογική δραστηριότητα είναι το οξειδοαναγωγικό δυναμικό (που ελέγχει την παραγωγή ROS), η λιποφιλικότητα (που αλλάζει το πόσο διαπερατές είναι οι κυτταρικές μεμβράνες), η επιπεδότητα των υποκαταστατών (επηρεάζει το πόσο καλά συνδέεται το DNA με αυτό), και η σταθερότητα συμπλόκων (ρύθμιση της βιοδιαθεσιμότητας και της δραστικότητας υπό φυσιολογικές συνθήκες) [70]. Επίσης, τα σύμπλοκα Cu(II)-φαινανθρολίνης αποτελούν παράδειγμα σύνδεσης δομής-δραστικότητας. Εισέρχονται στο DNA και διασπούν τις αλυσίδες μέσω οξειδωτικών διεργασιών, οι οποίες έχουν κυτταροτοξικές επιδράσεις παρόμοιες με τα φάρμακα πλατίνας, αλλά με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες [44]

3.4 Σύμπλοκα Χαλκού στην Ιατρική

3.4.1 Σύμπλοκα Χαλκού - Φαινανθρολίνης και Βάσεων Schiff

Όπως είναι γνωστό, τα σύμπλοκα χαλκού(II) που περιέχουν παράγωγα 1,10-φαινανθρολίνης έχουν αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές ιδιότητες, ενώ οι επίπεδοι αρωματικοί υποκαταστάτες τους διευκολύνουν την παρεμβολή τους στις αζωτούχες βάσεις των νουκλεϊκών οξέων, και το κέντρο Cu(II) υφίσταται οξειδοαναγωγικό κύκλο,

γεγονός που παράγει ROS που μπορούν να προκαλέσουν καταστροφή στο καρκινικό DNA και τις πρωτεΐνες. [3].

Επιπλέον, οι υποκαταστάτες-βάσεις Schiff, οι οποίοι παρασκευάζονται συνδυάζοντας πρωτοταγείς αμίνες με αλδεΰδες ή κετόνες, συμπλέκονται μέσω ατόμων δοτών N και O, γεγονός που τους καθιστά πολύ καλούς στο σχηματισμό χηλικών δακτυλίων και επιτρέπει αλλαγή στη λιποφιλικότητά τους. Σύμπλοκα Cu(II)-βάσης-Schiff θεωρούνται βιομιμητικά της υπεροξειδικής δισμουτάσης του μονοστρώματος (SOD) και μελετώνται για τις δυνατότητές τους ως αντιφλεγμονώδη αλλά και της δράσης τους στις νευροπροστατευτικές θεραπείες [13].

3.4.2 Σύμπλοκα Χαλκού-Πεπτιδίων

Βιολογικά εμπνευσμένα σύμπλοκα, όπως το Cu(II)-GHK (γλυκυλ-ιστιδυλ-λυσίνη), βοηθούν στην επούλωση των τραυμάτων και στην επανανάπτυξη των ιστών, ενθαρρύνοντας την παραγωγή κολλαγόνου και τον σχηματισμό αιμοφόρων αγγείων [61].

3.4.3 Casiopeínas®

Συνεχίζοντας, μια κατηγορία συμπλόκων Cu(II), μικτών υποκαταστατών, που δημιουργήθηκαν στο Μεξικό, τα Casiopeínas®, αποτελούνται από αρωματικούς N-δότες και αλειφατικούς υποκαταστάτες, που παρουσιάζουν σημαντική κυτταροτοξικότητα έναντι διαφόρων κακοηθειών μέσω μιτοχονδριακής απόπτωσης και αναστολής πρωτεασώματος [70].

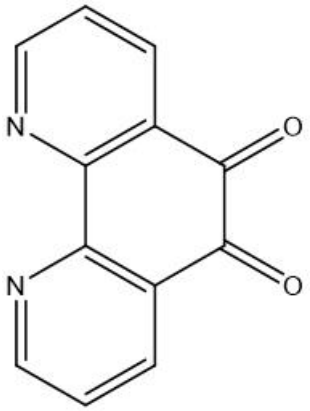
3.5 Υποκαταστάτες Παρούσας Έρευνας

Οι υποκαταστάτες που επιλέχθηκαν για αυτήν την εργασία (phendione, 2-(2-πυριδινυλ)κινοξαλίνη (pq), διπυριδοφαιναζίνη (dppz) και Cl-dppz) είναι ετεροαρωματικά σύμπλοκα αζώτου-δότη προορισμένα για τη σταθεροποίηση του

Cu(II) και την ενίσχυση της βιολογικής δραστηριότητας, ενώ τα μακρά π-συστήματά τους βοηθούν στην παρεμβολή του DNA και οι ηλεκτρονικοί υποκαταστάτες τους αλλάζουν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και τη λιποφιλικότητα.

(1,10)-Φαινανθρολίνη-5,6-διόνη (phendione)

Η phendione ($C_{12}H_6O_2N_2$) είναι ένα παράγωγο της 1,10-φαινανθρολίνης που έχει καρβονυλικές ομάδες στις θέσεις 5 και 6, και αυτά τα καρβονύλια που απομακρύνουν τα ηλεκτρόνια από τον υποκαταστάτη επηρεάζουν τις οξειδοαναγωγικές ιδιότητες λόγων των ομάδων κινόνης.



Σχήμα 1: (1,10)-Φαινανθρολίνη-5,6-διόνη

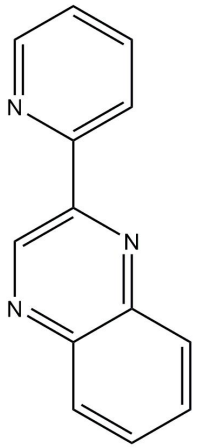
Όσον αφορά τη σύμπλεξη αλλά και τη δομή της, η phendione είναι ένας δισχιδής δότης N,N που σχηματίζει χηλικό σύμπλοκο Cu(II) μέσω και των δύο ατόμων αζώτου ιμίνης. Συνήθως, τα σύμπλοκα που προκύπτουν από αυτή τη διαδικασία έχουν παραμορφωμένα οκταεδρικές γεωμετρίες και επιπλέον υποκαταστάτες νερού ή ανιόντα. Επιπλέον, η σύμπλεξη επηρεάζει τις ταινίες δόνησης ν(C=N) και ν(C=O) στα φάσματα IR, γεγονός που δείχνει ότι το μέταλλο είναι συμπλεγμένο [78].

Αναφορικά με την οξειδοαναγωγική συμπεριφορά και τον βιολογικό της ρόλο, ο ίδιος ο υποκαταστάτης υφίσταται αντιστρεπτές οξειδοαναγωγικές διεργασίες (C=O ↔ C–OH), ενισχύοντας την παραγωγή ROS όταν σχηματίζει σύμπλοκο με Cu(II). Επίσης, τα σύμπλοκα Cu(II)-phendione εμφανίζουν αντιβακτηριακές και κυτταροτοξικές

ιδιότητες, κυρίως μέσω της οξειδωτικής θραύσης του DNA και της αναστολής της τοποϊσομεράσης I [72].

2-(2-πυριδιλ)κινοξαλίνη (pq)

Το pq ($C_{13}H_9N_3$) είναι ένας δισχιδής ετεροκυκλικός υποκαταστάτης που αποτελείται από έναν δακτύλιο πυριδίνης και έναν δακτύλιο κινοξαλίνης, που συνδράμει στη διατήρηση της σταθερότητας του Cu(II) και της επίπεδης επιφάνειας του DNA, επειδή έχει π-συζυγία και δύο δότες αζώτου. Γενικά οι κινοξαλίνες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον καθώς μπορούν να συνδεθούν με πληθώρα μετάλλων μετάπτωσης έχουν αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται ποικιλοτρόπως στη φαρμακευτική ως υποκαταστάτες. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η οξειδαναγωγή και η φωτοχημεία που χαρακτηρίζει τον συγκεκριμένο υποκαταστάτη, καθώς παρέχει τη δυνατότητα για μεταφορές ηλεκτρονίων τόσο εντός του μορίου, όσο και μεταξύ διαφορετικών μορίων
Μελέτες έχουν δείξει ότι συνδέονται με DNA μέσω παρεμβολής, καθώς υπό επήρεια ακτινοβολίας διεγείρονται και αποκτούν ενέργεια ικανή να προκαλέσει διάσπαση της διπλής έλικας. Το pq συγκεκριμένα λόγω της δομής της πυριδίνης και της κινξαλίνης έχει την ικανότητα να δρα και μονοσχιδώς αλλά και χηλικά επομένως βρίσκει πολλές εφαρμογές τόσο στη φαρμακευτική όσο και σε κατάλυση και πολυμερή.



Σχήμα 2: 2-(2-Πυριδιλ)κινοξαλίνη

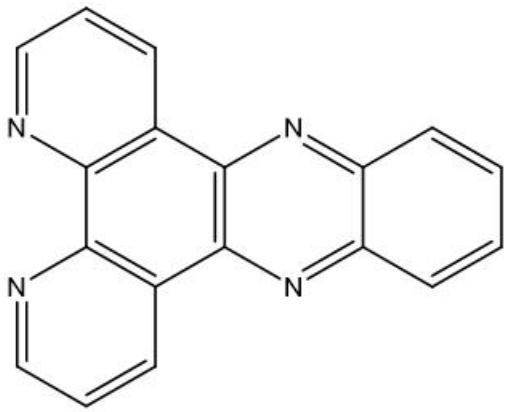
Το pq συμπλέκεται μέσω των δύο ατόμων αζώτου του (ένα από τον δακτύλιο πυριδίνης και ένα από το τμήμα κινοξαλίνης) δημιουργώντας σταθερούς πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Ωστόσο, τα προκύπτοντα σύμπλοκα Cu(II) συχνά εμφανίζουν

μικτές γεωμετρίες, ενώ εναλλάσσονται μεταξύ τετραγωνικών-επίπεδων και τετραγωνικών-πυραμιδικών διαμορφώσεων, ανάλογα με την παρουσία βοηθητικών υποκαταστατών [85]. Επιπλέον έχουν μελετηθεί οργανομεταλλικά σύμπλοκα Ru(II) με υποκαταστάτες pq που δεσμεύονται στο DNA μέσω συναρμογής στις αύλακες και εμφανίζουν κυτοτοξικές και ως συνέπεια αντικαρκινικές ιδιότητες [5]. Άλλες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί για να εξακριβωθεί η μυκητοκτόνα ή μυκητοστατική δράση συμπλόκων Cu(II) με υποκαταστάτες pq, συγκεκριμένα απέναντι στο γένος Aspergillus, σταματώντας τη δράση της αφλατοξίνης B_1. [47] Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αναστέλλεται η ανάπτυξη του μύκητα με επίδραση φωτός, καθώς κατά τη σύμπλεξη μειώνεται η πολικότητα του μεταλλικού ιόντος και αυξάνεται η λιποφιλία του συμπλόκου, με αποτέλεσμα να ενισχύεται η διείσδυση στο μύκητα μέσω των λιπιδικών μεμβρανών.

Όσον αφορά τη βιολογική σημασία, το μη εντοπισμένο π-σύστημα επιτρέπει στα σύμπλοκα pq να παρεμβάλλονται μεταξύ ζευγών βάσεων DNA, ενώ το ήπιο οξειδοαναγωγικό δυναμικό τους διευκολύνει την παραγωγή ROS. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα σύμπλοκα Cu-pq διαθέτουν σημαντικές αντικαρκινικές ιδιότητες μέσω της ενεργοποίησης της απόπτωσης, της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και της πρωτεασωματικής αναστολής [31].

Διπυριδοφαιναζίνη (dppz)

Το dppz ($C_{18}H_{10}N_4$) είναι ένας επίπεδος, αρωματικός τετρακυκλικός υποκαταστάτης που παράγεται συνδυάζοντας τις δομές της φαιναζίνης και της διπυριδίνης, ενώ είναι γνωστό για την υψηλή του ικανότητα να παρεμβάλλεται στο DNA επειδή έχει ένα άκαμπτο, εκτεταμένο π-σύστημα και δύο δότες αζώτου στο εξωτερικό [30].



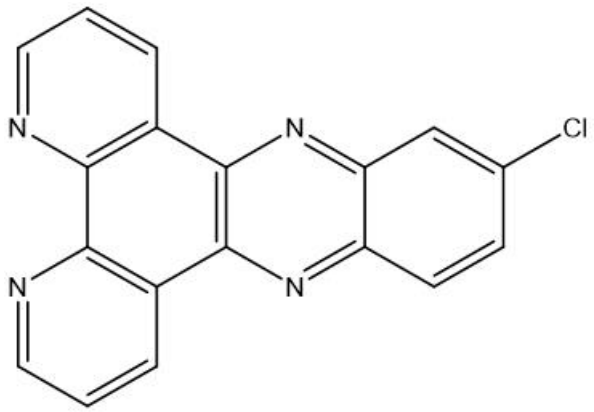
Σχήμα 3: Διπυριδοφαιναζίνη

Επιροσθέτως, το dppz συμπλέκεται και με τα δύο άζωτα της διμίνης, δημιουργώντας σταθερά διδοντικά χηλικά σύμπλοκα, ενώ τα σύμπλοκα Cu(II)–dppz συχνά εμφανίζουν τετραγωνικές-επίπεδες ή παραμορφωμένες οκταεδρικές γεωμετρίες, ανάλογα με την παρουσία βοηθητικών υποκαταστατών [55].

Σχετικά με τις φωτοχημικές αλλά και βιολογικές ιδιότητες τους, τα σύμπλοκα με dppz (ιδιαίτερα αυτά που περιέχουν Ru(II) ή Cu(II)) δρουν ως μοριακοί διακόπτες, "light-switch behavior", όπου ο φθορισμός τους μειώνεται στο νερό και ενισχύεται κατά την παρεμβολή του DNA. Έχει ενδιαφέρον ότι το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό επιτρέπει τη χρήση τους στην απεικόνιση και τη φωτοδυναμική επεξεργασία. Τέλος, τα σύμπλοκα Cu(II)–dppz έχουν σημαντική αντικαρκινική δράση μέσω τόσο φωτονικών όσο και μη φωτονικών διαδικασιών, συμπεριλαμβανομένης της οξειδωτικής βλάβης του DNA [81].

Χλωρο-Διπυριδοφαιναζίνη (Cl-dppz)

Το Cl-dppz είναι μια χλωριωμένη μορφή του dppz, και πιο συγκεκριμένα η υποκατάσταση με χλώριο αλλάζει την ηλεκτρική κατανομή και το οξειδοαναγωγικό δυναμικό απομακρύνοντας ηλεκτρόνια.



Σχήμα 4: Χλώρο-Διπυριδοφαιναζίνη

Όπως και το dppz, το Cl-dppz συμπλέκεται μέσω των δύο ατόμων αζώτου της διιμίνης, ενώ ο χλωροϋποκαταστάτης καθιστά το μόριο συνολικά πιο λιπόφιλο, γεγονός που θα μπορούσε να διευκολύνει την κυτταρική πρόσληψη και διαπερατότητα από τις κυτταρικές μεμβράνες [20].

Ωστόσο, υπάρχουν επιδράσεις ηλεκτρονικά αλλά και βιολογικά, καθώς το άτομο χλωρίου μειώνει λίγο την πυκνότητα π-ηλεκτρονίων, γεγονός που αλλάζει το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και επηρεάζει την ισχύ της σύνδεσης του DNA. Πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι τα Cu(II)–Cl-dppz σύμπλοκα παρουσιάζουν αυξημένη συγγένεια σύνδεσης με το DNA και αυξημένη κυτταροτοξικότητα σε σχέση με τα μη υποκατεστημένα ανάλογα [87,88].

3.6 Κατανόηση Μηχανισμών και Δομής-Δραστικότητας

Η βιολογική δραστικότητα των συμπλόκων Cu(II) επηρεάζεται ουσιαστικά από την αλληλεπίδραση μεταξύ ηλεκτρονικής δομής και μοριακής γεωμετρίας. Όσον αφορά την επιπεδότητα και π-σύζευξη, οι υποκαταστάτες με μεγαλύτερα αρωματικά συστήματα (dppz, pq) διευκολύνουν την παρεμβολή στο DNA επιτρέποντας π-π αλληλεπιδράσεις αρωματικού χαρακτήρα, κάτι που συνδέεται με αυξημένη κυτταροτοξικότητα. Στο δυναμικό οξειδοαναγωγής, οι υποκαταστάτες που απομακρύνουν ηλεκτρόνια από το ζεύγος οξειδοαναγωγής Cu(II)/Cu(I), όπως C=O στη phendione και Cl στο Cl-dppz, επηρεάζουν την παραγωγή ROS. Συνεχίζοντας, σχετικά με τη λιποφιλικότητα, οι υποκαταστάτες που καθιστούν ένα μόριο πιο υδρόφοβο διευκολύνουν την πρόσληψή του από τα κύτταρα, αλλά μπορεί και να το

κάνουν λιγότερο διαλυτό. Γεωμετρικά, οι N-δότες υποκαταστάτες διατηρούν το Cu(II) σταθερό σε συνθήκες που είναι σημαντικές για τη βιολογία, ενώ οι O- ή S-δότες μπορεί να το κάνουν πιο δραστικό.

Πίνακας 4: Βιολογικά και δομικά χαρακτηριστικά των υποκαταστατών.

Υποκαταστάτης	Άτομα δότες	Δομικά χαρακτηριστικά	Κύρια ιδιότητα	Αναμενόμενος βιολογικός ρόλος
Phendione	2N ή 2C=O	Οξειδαναγωγικά ενεργή, επίπεδη	Παραγωγή ROS	Ρήξη DNA, κυτταροτοξικότητα
pq	2 N	Εκτεταμένο π-σύστημα	Μεταφορά ηλεκτρονίων	DNA intercalation
dppz	2 N	Άκαμπτο, σταθερό, εκτεταμένο π-σύστημα	Light-switch effect	Φωτοδυναμική δραστικότητα
Cl-dppz	2 N	Ισχυρή έλξη ηλεκτρονίων, εκτεταμένο ‘ π-σύστημα	Υψηλή λιποφιλία	Υψηλή κυτταροτοξικότητα

3.7 Θεωρία και Υπολογισμοί

Όπως είναι γνωστό, η σύγχρονη έρευνα χρησιμοποιεί τη θεωρία συναρτησιακής πυκνότητας (DFT) και τη μοριακή πρόσδεση (docking) για να προβλέψει και να απεικονίσει τις αλληλεπιδράσεις σύνδεσης συμπλόκων χαλκού με βιομόρια. Ειδικότερα, οι υπολογισμοί DFT προσδιορίζουν τα ενεργειακά κενά μεταξύ των μεθοριακών τροχιακών (HOMO–LUMO) και εκτιμούν τα δυναμικά οξειδοαναγωγής, ενώ η μοριακή πρόσδεση, από την άλλη πλευρά, μοντελοποιεί τον τρόπο με τον οποίο τα ζεύγη βάσεων DNA ή οι ενεργές θέσεις πρωτεϊνών συνδέονται τελικά με το φάρμακο.

Για παράδειγμα, οι προσομοιώσεις σύνδεσης του Cu(II)–dppz δείχνουν ότι το σύμπλοκο παρεμβάλλεται κατά προτίμηση μέσα σε περιοχές του DNA πλούσιες σε

GC, υποστηριζόμενο από π–π και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, και αυτά τα υπολογιστικά δεδομένα ενισχύουν τα πειραματικά αποτελέσματα και ενημερώνουν για τη δημιουργία ενώσεων με βελτιωμένα φαρμακολογικά χαρακτηριστικά [87]. Επιπλέον, πειραματικά αποτελέσματα σε μελέτη συμπλόκων Ru με υποκαταστάτες pq και φαινανθρολίνες έδειξαν ότι τα σύμπλοκα δεσμεύονται στη μικρή αύλακα (minor groove binding), μέσω του π-αρωματικού συστήματος που διαθέτουν το pq και η phen. Συγκεκριμένα σε περιοχές πλούσιες σε A-T τα σύμπλοκα συνδέονται μέσω της B έλικας, ενώ σε περιοχές πλούσιες σε A-T δεσμεύονται στην A έλικα του DNA. Και στις δύο περιπτώσεις σχηματίζονται δεσμοί van der Waals που σταθεροποιούν τη σύμπλεξη. [5]

Επιπλέον, περιβαλλοντικά, ο χαλκός είναι ένα στοιχείο που είναι τόσο άφθονο όσο και απαραίτητο για τη ζωή, επομένως τα φάρμακα που βασίζονται στον χαλκό αποτελούν καλύτερη επιλογή από τα χημειοθεραπευτικά με βάση τα βαρέα μέταλλα, όπως η πλατίνα. Τα σύμπλοκα χαλκού συνήθως διασπώνται ταχύτερα στο περιβάλλον, διαρκούν λιγότερο και μπορούν να ανακυκλωθούν. Επιπλέον, οι συνθετικές μεθοδολογίες δίνουν προοδευτικά προτεραιότητα σε περιβαλλοντικά ήπιους διαλύτες, αντιδράσεις με τη βοήθεια μικροκυμάτων και βιογενείς πηγές υποκαταστατών για τον μετριασμό των οικολογικών επιπτώσεων [62].

3.8 Προηγμένη Δραστικότητα και Μηχανιστικές Πορείες Συμπλόκων Χαλκού(II)

Η κατανόηση της δραστικότητας και των μηχανισμών των συμπλόκων χαλκού(II) σε βιολογικά συστήματα είναι εξαιρετικά σημαντική για τον προσδιορισμό των δυνατοτήτων τους για θεραπευτική χρήση, ακόμη και αν οι προηγούμενες ενότητες έχουν ήδη καλύψει τη δομή και τη χημεία συντονισμού τους. Οι βιολογικές επιδράσεις των συμπλόκων Cu(II), οι οποίες περιλαμβάνουν τη διάσπαση του DNA και τη διακοπή των ενζύμων, συνδέονται γενικά με τη βασική χημεία τους σε διάλυμα, και παρακάτω η ενότητα συζητά τις διαφορετικές μορφές, τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, τον τρόπο διάσπασής τους στο νερό και τους τρόπους με τους οποίους αλληλεπιδρούν με το DNA για τα σύμπλοκα Cu(II), εστιάζοντας στους συγκεκριμένους υποκαταστάτες που μελετώνται εδώ.

3.8.1 Χημεία Διαλυμάτων

Στο νερό, τα ιόντα χαλκού(II) υπάρχουν κυρίως ως το σύμπλοκο $[Cu(H_2O)_6]^2$, το οποίο σύμπλοκο έχει ένα παραμορφωμένο οκταεδρικό σχήμα, ως αποτέλεσμα του φαινομένου Jahn-Teller. Όταν ένας υποκαταστάτης συμπλέκεται, τα μόρια νερού γύρω από το μεταλλικό ιόν αντικαθίστανται σταδιακά από άτομα από τον υποκαταστάτη, διαδικασία που οδηγεί στην ανάπτυξη συμπλόκων που μπορούν να είναι μονο-, δι- ή τρι-χηλικά, ενώ ο συγκεκριμένος τύπος συμπλόκου που σχηματίζεται εξαρτάται από το πόσα άτομα μπορεί να συνδεθεί ο υποκαταστάτης με το μέταλλο και την αναλογία μετάλλου προς υποκαταστάτη [59].

Επιπροσθέτως, η ισορροπία επηρεάζεται από το pH, το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον τρόπο με τον οποίο αντιδρούν τα βιολογικά συστήματα, όπως, για παράδειγμα, τα παράγωγα Cu(II)-phendione μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα 1:1 και 1:2 όταν διαλύονται. Οι ιδιότητες σύμπλεξης ενός υποκαταστάτη επηρεάζονται από την κατάσταση πρωτονίωσης των ατόμων αζώτου του, και συγκεκριμένα, οι υποκαταστάτες που έχουν αποπρωτονιωθεί και έτσι λειτουργούν ως δότες, τείνουν να σχηματίζουν πιο σταθερά σύμπλοκα. Σε φυσιολογικό pH σώματος, τα περισσότερα σύμπλοκα χαλκού(II) είναι είτε ουδέτερα είτε ελαφρώς θετικά φορτισμένα, ιδιότητα που τα βοηθά να περνούν από τις μεμβράνες και να αλληλεπιδρούν με το DNA [28].

Επιπλέον, η υποκατάσταση σε σύμπλοκα Cu(II) συμβαίνει συνήθως μέσω ενός συσχετιστικού μηχανισμού εναλλαγής, συμπεριλαμβανομένων προσωρινών ενδιάμεσων επτα-υποκατεστημένων. Η συγκεκριμένη ικανότητα γρήγορης ανταλλαγής υποκαταστατών υποστηρίζει βιολογικές διεργασίες, επιτρέποντας στα σύμπλοκα Cu(II) να ανταλλάσσουν υποκαταστάτες με βιολογικούς στόχους όπως βάσεις DNA ή πρωτεϊνικά κατάλοιπα.

3.8.2 Οξειδοαναγωγική Χημεία και Δημιουργία Δραστικών Μορφών Οξυγόνου (ROS)

Προφανώς, το ζεύγος οξειδοαναγωγής Cu(II)/Cu(I) είναι κρίσιμο για πολλές από τις βιολογικές λειτουργίες του χαλκού και στα βιολογικά συστήματα, τα σύμπλοκα Cu(II) μπορούν να αναχθούν σε Cu(I) μέσω μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου. Αυτή η αναγωγή διευκολύνεται από φυσικά αναγωγικά όπως ασκορβικό, γλουταθειόνη ή NADH, ενώ ο Cu(I), μπορεί στη συνέχεια να αντιδράσει είτε με μοριακό οξυγόνο είτε με υπεροξείδιο του υδρογόνου, οδηγώντας στη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Πιο συγκεκριμένα:

Βήμα Αναγωγής: $Cu(II)L + red \rightarrow Cu(I)L + ox$
Όπου red= αναγωγικό μέσο και ox= οξειδωμένο προϊόν του red

Δημιουργία ROS: $Cu(I)L + O_2 \rightarrow Cu(II)L + O_2^{\bullet -}$

$Cu(I)L + H_2O_2 \rightarrow Cu(II)L + {\bullet}OH + OH^-$

Όπως φαίνεται, οι αλληλεπιδράσεις παράγουν υπεροξείδιο ($O_2^{\bullet -}$) και ρίζες υδροξυλίου (•OH), οι οποίες είναι ιδιαίτερα δραστικές και μπορούν να βλάψουν το DNA, να οξειδώσουν τις πρωτεΐνες και να προκαλέσουν απόπτωση (86).

Βέβαια, η ποσότητα και η ταχύτητα με την οποία παράγονται τα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τους συγκεκριμένους υποκαταστάτες που υπάρχουν. Πιο συγκεκριμένα, οι ομάδες που έλκουν ηλεκτρόνια, όπως τα καρβονύλια στη phendione ή το χλώριο στο Cl-dppz, σταθεροποιούν το κέντρο Cu(II). Ωστόσο, μειώνουν επίσης το δυναμικό αναγωγής τους, το οποίο με τη σειρά του μειώνει την παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS). Αντίθετα, οι υποκαταστάτες που δίνουν π-ηλεκτρόνια, όπως το pq, βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα του κύκλου οξειδοαναγωγής, γεγονός που αυξάνει το οξειδωτικό στρες. Η προσεκτική προσαρμογή του δυναμικού οξειδοαναγωγής είναι κρίσιμη για τη δημιουργία συμπλόκων χαλκού που μπορούν να σκοτώσουν ειδικά καρκινικά ή μικροβιακά κύτταρα, αφήνοντας τα υγιή κύτταρα άθικτα.

3.8.3 Μηχανισμοί διάσπασης του DNA

Η ικανότητα των συμπλόκων Cu(II) να ανταποκρίνονται βιολογικά, συχνά φαίνεται από την ικανότητά τους να κόβουν τις αλυσίδες του DNA, ενώ αναγνωρίζονται δύο κύριες διεργασίες, δηλαδή η υδρολυτική και η οξειδωτική διάσπαση.

α) Υδρολυτικός Μηχανισμός

Στην υδρολυτική διάσπαση, το μεταλλικό κέντρο λειτουργεί ως οξύ Lewis, το οποίο ενεργοποιεί το σκελετό φωσφορικών , καθιστώντας την πιο πιθανή να δεχθεί προσβολή από ένα πυρηνόφιλο. Αν και ο Cu(II) είναι λιγότερο αποτελεσματικός από τον Zn(II) στην καθαρή υδρολυτική διάσπαση, τα σύμπλοκα Cu(II) με τη σωστή γεωμετρία και ηλεκτρονικές ιδιότητες μπορούν να ενισχύσουν την υδρόλυση του φωσφοδιεστερικού δεσμού, ενώ η phendione και παρόμοιοι υποκαταστάτες βοηθούν σε αυτή τη διαδικασία σταθεροποιώντας τις μεταβατικές καταστάσεις. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω δεσμών υδρογόνου και π-αλληλεπιδράσεων, όπως έδειξε ο Sigman [43].

β) Οξειδωτικός Μηχανισμός

Η οξείδωση είναι η κύρια διαδικασία στα βιολογικά συστήματα, και συγκεκριμένα, όταν ο Cu(I) ανάγεται, αντιδρά είτε με μοριακό οξυγόνο ή υπεροξείδιο του υδρογόνου, παράγοντας υδροξυλικές ρίζες. Αυτές οι ρίζες στη συνέχεια απομακρύνουν άτομα υδρογόνου από το τμήμα δεοξυριβόζης του DNA, γεγονός που οδηγεί στη διάσπαση των αλυσίδων του DNA [3]. Περιληπτικά η διαδικασία ξεκινά με σχηματισμό του ενδιάμεσου Cu(I)–DNA, και στη συνέχεια ο σχηματισμός ριζών υδροξυλίου (•OH) συμβαίνει μέσω αντιδράσεων είτε με μοριακό οξυγόνο (O_2) είτε με υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Τελικά, όταν το σάκχαρο του DNA οξειδώνεται, οδηγεί στη διάσπαση των αλυσίδων του DNA. Μελέτες δείχνουν ότι η διάσπαση της ένωσης μέσω οξείδωσης συμβαίνει πιο γρήγορα όταν υπάρχει οξυγόνο, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται επίσης αναγωγικά μέσα όπως ασκορβικό ή γλουταθειόνη.

3.8.4 Συνεργιστικές και Ανταγωνιστικές Επιδράσεις Συνδυασμών Υποκαταστατών

Σε συστήματα με διάφορους υποκαταστάτες, όπως αυτά όπου ο Cu(II) συμπλέκεται με τόσο αρωματικούς όσο και αλειφατικούς δότες, η συνδυασμη δράση μπορεί να βελτιώσει τη βιολογική δραστικότητα, όπως για παράδειγμα, τα σύμπλοκα Cu(II) με φαινανθρολίνη και αμινοξέα που παρουσιάζουν καλύτερη διαλυτότητα στο νερό και λιγότερη μη ειδική κυτταροτοξικότητα, ενώ εξακολουθούν να είναι σε θέση να συνδέονται με το DNA [70].

Αντίθετα, αρνητικές συνέπειες μπορεί να προκύψουν όταν η στερεοχημική παρεμπόδιση αναστέλλει την παρεμβολή ή όταν ανταγωνιστικοί υποκαταστάτες εμποδίζουν τον κύκλο οξειδοαναγωγής. Επομένως, ο σχεδιασμός ετεροληπτικών συμπλόκων Cu(II) περιλαμβάνει προσεκτική εξέταση του μεγέθους του υποκαταστάτη, των ηλεκτρονικών χαρακτηριστικών και των τύπων των ατόμων δοτών που υπάρχουν για την επίτευξη της απαιτούμενης φαρμακολογικής ισορροπίας.

3.8.5 Επίδραση του Διαλύτη και του pH

Η βιολογική δραστικότητα των συμπλόκων Cu(II) επηρεάζεται επίσης από τον διαλύτη και το επίπεδο pH, και η ισορροπία μεταξύ πρωτονίωσης και αποπρωτονίωσης σε μόρια που περιέχουν άζωτο επηρεάζει την ισχύ της σύνδεσής τους και το συνολικό τους φορτίο. Σε όξινες συνθήκες, όπου το pH είναι κάτω από 5, η πρωτονίωση των ατόμων αζώτου εντός του υποκαταστάτη μπορεί να επιφέρει αποσύμπλεξη. Προφανώς, το συγκεκριμένο φαινόμενο είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τον τομέα της στοχευμένης χορήγησης φαρμάκων εντός μικροπεριβαλλόντων όγκων, τα οποία χαρακτηρίζονται από ελαφρώς όξινο pH.

Επιπροσθέτως, η πολικότητα του διαλύτη επηρεάζει τόσο τη σταθερότητα του συμπλόκου όσο και τον τρόπο με τον οποίο συνδέεται με το DNA. Συγκεκριμένα, οι πολικοί διαλύτες ενθαρρύνουν τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις, ενώ οι λιγότερο πολικές συνθήκες ενισχύουν την παρεμβολή, σημαντικό για την κατανόηση των

διακυμάνσεων μεταξύ του τρόπου λειτουργίας των πραγμάτων σε ένα εργαστήριο (in vitro) και σε έναν ζωντανό οργανισμό (in vivo) [89].

Συμπερασματικά, λοιπόν, τα σύμπλοκα χαλκού(II) βρίσκονται σε ένα ιδιαίτερο σημείο, εκεί όπου συναντώνται η χημεία συμπλόκων και η φαρμακευτική βιοχημεία. Είναι εξαιρετικά παραδείγματα για τη μελέτη του τρόπου με τον οποίο αλληλεπιδρούν τα μέταλλα με τα βιομόρια και για την σύνθεση και το σχεδιασμό νέων φαρμάκων, καθώς μπορούν να αλλάξουν τη γεωμετρία τους, να εμφανίζουν οξειδοαναγωγική δράση και είναι ασφαλή για τους ζωντανούς οργανισμούς. Οι υποκαταστάτες phendione, pq, dppz και Cl-dppz αποτελούν παραδείγματα δομικά ποικίλων συστημάτων που ρυθμίζουν σχολαστικά τα ηλεκτρικά και βιολογικά χαρακτηριστικά των συμπλόκων χαλκού(II), ενώ η αρχιτεκτονική τους επιτρέπει την ειδική στόχευση του DNA, την προαγωγή του οξειδωτικού στρες και την κυτταρική πρόσληψη, διαδικασίες που είναι σημαντικές τόσο για τις αντιβακτηριακές όσο και για τις αντικαρκινικές δράσεις.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΤΥΧΕΣ

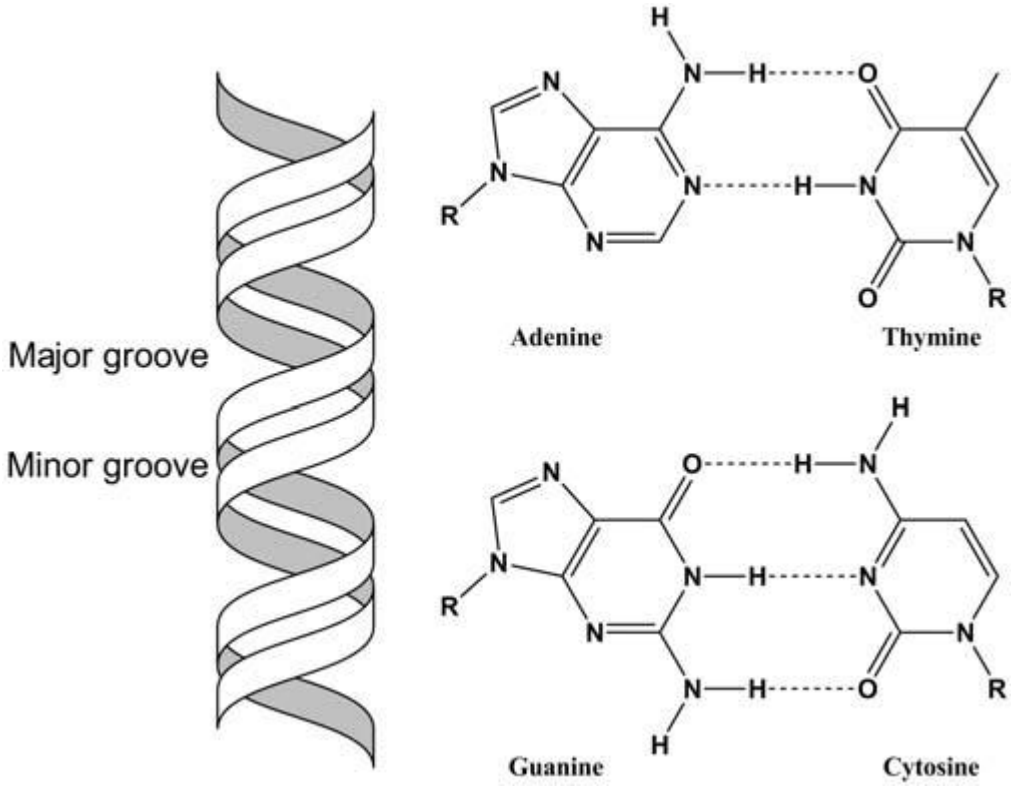
Είναι γνωστό ότι τα μεταλλικά σύμπλοκα έχουν βιολογική δράση επειδή μπορούν να αλληλεπιδράσουν με σημαντικά βιομόρια όπως πρωτεΐνες, ένζυμα και νουκλεϊκά οξέα. Συγκεκριμένα και το DNA είναι ένας από αυτούς τους στόχους που είναι πολύ σημαντικός, καθώς παίζει κρίσιμο ρόλο στην αντιγραφή, τη μεταγραφή και την κυτταρική διαίρεση. Επιπλέον, η ικανότητα των συμπλόκων των μεταβατικών μετάλλων να προσκολλώνται στο DNA ή να το αλλάζουν έχει οδηγήσει στην ανάπτυξή τους ως αντιβακτηριακά αλλά και πιθανά φάρμακα για την καταπολέμηση του καρκίνου.

Τα σύμπλοκα χαλκού(II) έχουν έλξει το ενδιαφέρον ως πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες λόγω της οξειδοαναγωγικής τους δράσης και των διαφορετικών γεωμετριών συντονισμού. Επίσης, ο τρόπος με τον οποίο το μεταλλικό κέντρο και οι υποκαταστάτες του αλληλεπιδρούν με το DNA, παράγουν δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και αλλάζουν τον τρόπο με τον οποίο τα κύτταρα χρησιμοποιούν την ενέργεια, καθορίζει πόσο βιολογικά ενεργά είναι. Το παρόν κεφάλαιο αναφέρεται στη δομή και τη λειτουργία του DNA, στον τρόπο με τον οποίο οι χημικές ενώσεις και τα μεταλλικά σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με αυτό και στον τρόπο με τον οποίο χρησιμοποιούνται τα σύμπλοκα χαλκού στη σύγχρονη ιατρική.

4.1 Η Δομή και η Βιολογική Λειτουργία του DNA

Οι περισσότεροι οργανισμοί έχουν DNA ως το γενετικό τους υλικό, γνωστό από τότε που οι Watson και Crick πρότειναν για πρώτη φορά τη δομή διπλής έλικας το 1953. Φυσικά, το DNA αποτελείται από δύο αντιπαράλληλες αλυσίδες νουκλεοτιδίων και συγκρατούνται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ συμπληρωματικών ζευγών βάσεων, δηλαδή αδενίνη με θυμίνη και γουανίνη με κυτοσίνη [83]. Επιπλέον, ο σκελετός φωσφορικών-δεοξυριβόζης δίνει σταθερότητα στη δομή και τα ζεύγη βάσεων στοιβάζονται το ένα πάνω στο άλλο μέσω αλληλεπιδράσεων π-π για να

σχηματίσουν τις κύριες και τις δευτερεύουσες αύλακες, όπου μπορούν να συνδεθούν μικροσκοπικές χημικές ουσίες και πρωτεΐνες [26].



Εικ. 5: Διάγραμμα της διπλής έλικας του DNA που δείχνει τη μικρή και τη μεγάλη αύλακα και τις διαφορετικές βάσεις [73]

4.2 Αλληλεπίδραση Μεταλλικών Συμπλόκων-DNA

Τα μεταλλικά σύμπλοκα μπορούν να αλληλεπιδράσουν με το DNA με πολλούς τρόπους και κάθε τρόπος έχει διαφορετική επίδραση στη βιολογία. Ένας από τους πιο συνηθισμένους είναι η παρεμβολή, όπου οι επίπεδοι αρωματικοί υποκαταστάτες ενός συμπλόκου (όπως η φαινανθρολίνη ή η διπυριδοφαιναζίνη) εισχωρούν μεταξύ ζευγών βάσεων που βρίσκονται η μία δίπλα στην άλλη. Έτσι ξετυλίγεται η έλικα και αναπτύσσονται δεσμοί van der Waals που σταθεροποιούν τη δομή DNA-συμπλόκου μέσω της στοίβαξης π-π δεσμών, συχνά οδηγώντας στην καταστολή της αντιγραφής και της μεταγραφής. Τη σταθεροποίηση ενισχύουν δεσμοί υδρογόνου, ηλεκτροστατικές δυνάμεις και αλληλεπιδράσεις μεταφοράς φορτίου [74, 30]. Μέταλλα με υποκαταστάτες όπως η phendione και το dppz θεωρούνται καλοί παρεμβολείς που έχουν την ικανότητα να εισχωρήσουν στις βάσεις, κυρίως μέσω της μεγάλης

αύλακας παραμορφώνοντας έτσι τη δομή του DNA, αυξάνοντας τους αξονικούς δεσμούς των βάσεων και αυξάνοντας το μέγεθος της αύλακας [30].

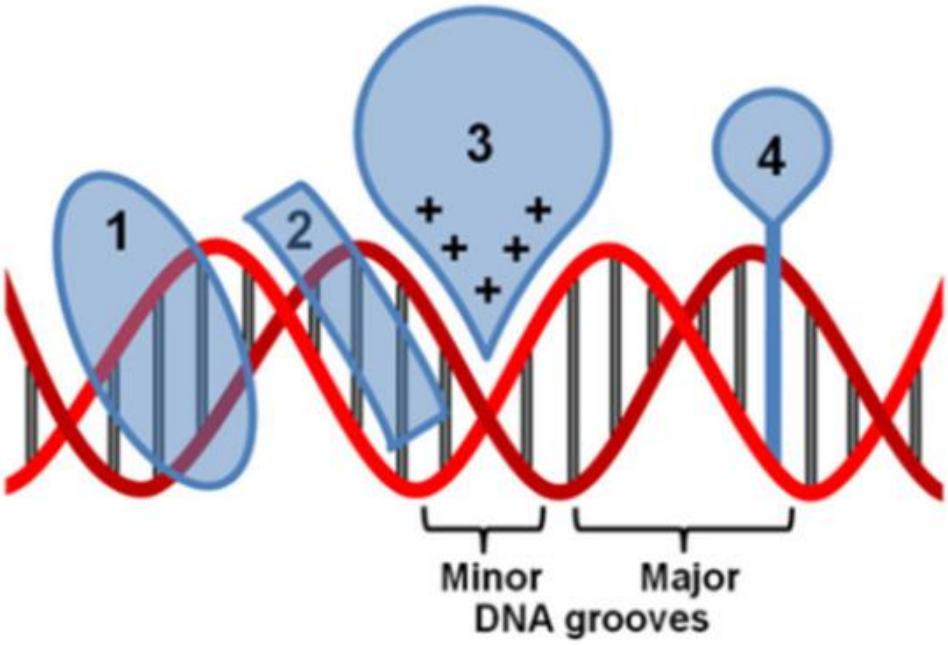
Ένας ακόμα τρόπος είναι η δέσμευση στις αύλακες, όπου τα σύμπλοκα μπορούν να δεσμευτούν στο DNA στην μεγάλη ή στην μικρή αύλακα χρησιμοποιώντας δεσμούς υδρογόνου ή δυνάμεις van der Waals. Η συγκεκριμένη σύνδεση συνήθως δεν αλλάζει το σχήμα του DNA.

Παράλληλα, υπάρχει και η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση, όταν δηλαδή τα θετικά φορτισμένα σύμπλοκα έρχονται σε επαφή με τα αρνητικά φορτισμένα φωσφορικά και σχηματίζουν ασθενείς, αναστρέψιμες συνδέσεις.

Στη συνέχεια, είναι η ομοιοπολική δέσμευση, στην οποία, τα μεταλλικά σύμπλοκα δημιουργούν ομοιοπολικές συνδέσεις με νουκλεοβάσεις, που μπορεί να προκαλέσουν ανεπανόρθωτη βλάβη στο DNA. Πληθώρα αντικαρκινικών που χρησιμοποιούνται αυτή τη στιγμη όπως το cisplatin δρουν με αυτό τον τρόπο και επηρεάζουν την αλληλεπίδραση του DNA με τις πρωτείνες, διαταράσσουν την ισορροπία του κυτταρικού κύκλου και οδηγούν τελικώς σε απόπτωση των κυττάρων [30].

Τέλος, στην οξειδωτική διάσπαση, τα μέταλλα που είναι ενεργά στην οξειδοαναγωγή, όπως ο Cu(II), μπορούν να παράγουν δραστικά είδη οξυγόνου (ROS), που διασπούν τις αλυσίδες ή αλλάζουν βάσεις [43]. Σε αντίθεση με την παρεμβολή που δεν απομακρύνουν βάσεις από το DNA, εδώ εισχωρούν και αντικαθιστούν μία από τις δύο συνδεδεμένες βάσεις. Οι ενώσεις αυτές έχουν την ικανότητα να εντοπίζουν περιοχές στη διπλή έλικα που είναι θερμοδυναμικά λιγότερο σταθερές διότι δεν έχουν δημιουργηθεί οι σωστοί δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις αζωτούχες βάσεις

Προφανώς, η παρεμβολή και η οξειδωτική διάσπαση είναι ιδιαίτερα σημαντικές για τα σύμπλοκα χαλκού, ειδικά εκείνα με εκτεταμένους αρωματικούς υποκαταστάτες όπως η phendione και το dppz, οι οποίοι προάγουν την π-αλληλεπίδραση και την οξειδοαναγωγική δράση.



Εικ. 6: Διαφορετικοί τρόποι DNA-Binding 1: συναρμογή σε μεγάλη αύλακα 2: συναρμογή σε μικρή αύλακα 3: ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση 4: παρεμβολή

4.3 Σύμπλοκα Χαλκού και Συνδετική Ικανότητα με DNA

Τα σύμπλοκα χαλκού(II) έχουν διαφορετικούς τρόπους αλληλεπίδρασης με το DNA, επειδή οι χημικές ιδιότητες και το οξειδοαναγωγικό δυναμικό τους είναι ρυθμιζόμενα, και όταν συνδέονται, μπορεί να παρεμβάλλονται μέσω επίπεδων αρωματικών υποκαταστατών (π.χ., dppz, pq). Επίσης, ο κύκλος οξειδοαναγωγής Cu(II)/Cu(I) προκαλεί οξειδωτική βλάβη παράγοντας ρίζες υδροξυλίου όταν υπάρχουν αναγωγικοί παράγοντες όπως ασκορβικό ή υπεροξείδιο του υδρογόνου [3]. Τελικά, μπορεί να αλλάζει το σχήμα του DNA εξουδετερώνοντας τα φορτία, τα οποία μπορούν να το κάνουν να υπερσπειρωθεί ή να επιμηκυνθεί.

Προφανώς, φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως η απορρόφηση UV-Vis, η εκπομπή φθορισμού (ανταγωνισμός βρωμιούχου αιθιδίου) και η κυκλική βολταμμετρία, χρησιμοποιούνται συχνά για τη μέτρηση της συγγένειας σύνδεσης του DNA, δείχνοντας την ένταση και τον τρόπο αλληλεπίδρασης του συμπλόκου χαλκού με το DNA. Ο συνδυασμός οξειδοαναγωγικής δραστικότητας και παρεμβαλλόμενων υποκαταστατών στα σύμπλοκα Cu(II) τους επιτρέπει να λειτουργούν τόσο ως τροποποιητές του DNA όσο και ως χημικές νουκλεάσες, καθιστώντας τα ενδιαφέροντα μόρια για χημειοθεραπευτική ανάπτυξη.

4.4 Μεταλλικά Σύμπλοκα ως Αντικαρκινικοί και Αντιμικροβιακοί Παράγοντες

4.4.1 Φάρμακα πλατίνας και τα προβλήματά τους

Σύμπλοκα πλατίνας όπως η σισπλατίνη, η καρβοπλατίνη και η οξαλιπλατίνη άλλαξαν για πάντα τη χημειοθεραπεία δείχνοντας ότι οι μεταλλικές ενώσεις μπορούν να στοχεύσουν κατά προτίμηση το DNA και να προκαλέσουν απόπτωση [68]. Ωστόσο, αυτά τα φάρμακα έχουν ορισμένα προβλήματα, όπως πολύ κακές ανεπιθύμητες ενέργειες (νευροτοξικότητα, νεφροτοξικότητα), ανθεκτικότητα στα φάρμακα που προκαλείται από συστήματα επιδιόρθωσης DNA και αντλίες εκροής, υψηλό κόστος κατασκευής και χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα. Λόγω αυτών των προβλημάτων, οι ερευνητές αναζητούν άλλα φάρμακα που δεν περιέχουν πλατίνα, και έτσι ο χαλκός είναι μια από τις πιο πολλά υποσχόμενες επιλογές.

4.4.2 Οφέλη των Συμπλόκων Χαλκού

Ο χαλκός έχει μια σειρά από οφέλη όσον αφορά τον θεραπευτικό σχεδιασμό, καθώς είναι ενδογενές μέταλλο, απαραίτητο και καλά ανεκτό σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις, αλλά και οξειδοαναγωγικά δραστικό, ικανό να παράγει ROS μόνο σε άρρωστα κύτταρα. Παράλληλα, έχει διαφορετικά είδη χημείας ένταξης που επιτρέπουν στους υποκαταστάτες να γίνουν πιο εκλεκτικοί, και είναι λιγότερο επιβλαβείς, όπως και φθηνότεροι από τις ενώσεις πλατίνας [53].

4.4.3 Λειτουργία Αντικαρκινικών Φαρμάκων

Τα σύμπλοκα χαλκού μπορεί να καταπολεμούν τον καρκίνο με δέσμευση και κοπή του DNA, η οποία σταματά την αντιγραφή, προκαλώντας οξειδωτικό στρες και προβλήματα με τα μιτοχόνδρια, προκαλώντας απόπτωση μέσω ενεργοποίησης των οδών κασηπάσης, και με διακοπή της αγγειογένεσης και της πρωτεασωματικής δραστηριότητας [71]. Επιπλέον, ορισμένα σύμπλοκα Cu(II) εμφανίζουν

επιλεκτικότητα για ταχέως πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα λόγω αυξημένων ενδοκυτταρικών ορίων ανοχής ROS.

4.4.4 Αντιμικροβιακή Δράση

Φυσικά, τα σύμπλοκα χαλκού έχουν δείξει υψηλή αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση, εκτός από την πιθανή χρήση τους στη θεραπεία του καρκίνου, αφού η κατιονική τους φύση διευκολύνει την αλληλεπίδρασή τους με τις μικροβιακές μεμβράνες, ενώ ο κύκλος οξειδοαναγωγής προκαλεί οξειδωτική βλάβη και κυτταρικό θάνατο [62].

Επιπλέον, τα σύμπλοκα χαλκού(II)-φαινδιόνης και Cu(II)-φαινανθρολίνης είναι πολύ καλά στη θανάτωση βακτηρίων που είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά, υποδηλώνοντας ότι θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην καταπολέμηση της αντοχής στα αντιβιοτικά.

4.5 Σύμπλοκα Χαλκού σε Κλινικές και Πειραματικές Μελέτες

Ορισμένα σύμπλοκα χαλκού έχουν προχωρήσει σε προκλινική ή κλινική αξιολόγηση. Ένα από τα παραδείγματα είναι το Casiopeínas®, μια σειρά από σύμπλοκα Cu(II)-αμινοξέος-φαινανθρολίνης που ανακαλύφθηκαν στο Μεξικό, και επιδεικνύουν σημαντική κυτταροτοξικότητα και πλεονεκτική φαρμακοκινητική [69]. Ένα ακόμα είναι οι ενώσεις του Cu(II) με βάσεις Schiff, που παρουσιάζουν σημαντικές αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές ιδιότητες, αλλά και τα σύμπλοκα Cu(II)-dppz που μελετώνται για την ικανότητά τους να διασπούν το DNA όταν εκτίθενται στο φως και για χρήση σε φωτοδυναμική θεραπεία. Άρα, τα συγκεκριμένα συστήματα δείχνουν πώς ο σχεδιασμός των υποκαταστατών επηρεάζει το πόσο καλά λειτουργούν ως φάρμακα.

Πίνακας 5: Παραδείγματα βιολογικά δραστικών συμπλόκων χαλκού(II) και τα χαρακτηριστικά τους.

Σύμπλοκο	Υποκαταστάτης	Βιολογική δραστικότητα	Μηχανισμός δράσης	Πηγή
$Cu(phen)_2$	1,10-Phenanthroline	Αντιβακτηριακό, ρήξη DNA	Παρεμβολή στο DNA, Παραγωγή ROS	[49]
$Cu(phendione)_2$	Phendione	Αντιμικροβιακό, αντικακρινικό	Παραγωγή ROS, DNA binding	[23]
Casiopeína II-gly	Phen + glycine	Κυτταροτοξικό, αντικαρκινικό	Μιτοχονδριακή απόπτωση	[19]
$Cu(dppz)_2$	Dipyridophenazine	Αντικακρινικό, φωτοτοξικό	Παρεμβολή στο DNA	[49]

4.6 Ρόλος Συμπλόκων Cu(II) σε Κύτταρα και Μόρια

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων χαλκού(II) με το DNA είναι ένα βασικό μέρος του φαρμακολογικού τους προφίλ, αλλά είναι μόνο ένα μικρό κομμάτι του τρόπου με τον οποίο αντιδρούν βιολογικά. Πιο συγκεκριμένα, η πρόσφατη πρόοδος στη μοριακή βιοχημεία και την κυτταρική βιολογία έχει δείξει ότι αυτές οι ουσίες λειτουργούν σταματώντας την πρωτεϊνική λειτουργία, προκαλώντας προβλήματα στα μιτοχόνδρια και διαταράσσοντας την κυτταρική επικοινωνία.

Ωστόσο, η εγγενής ευελιξία οξειδοαναγωγής του χαλκού του επιτρέπει να αλληλεπιδρά με διάφορους κυτταρικούς στόχους ταυτόχρονα, γι' αυτό και οι επιδράσεις του είναι τόσο ποικίλες. Για να σχεδιαστούν φάρμακα με έξυπνο τρόπο, να προβλεφθεί η τοξικότητα και να αναπτυχθούν με βάση τον χαλκό, πρέπει να υπάρχει γνώση του τρόπου με τον οποίο λειτουργούν αυτοί οι μηχανισμοί.

4.6.1 Κυτταρική πρόσληψη και ενδοκυτταρική κατανομή

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των μεταλλικών συμπλόκων, όπως το φορτίο τους, η λιποφιλικότητά τους και η δομή του υποκαταστάτη, καθορίζουν τον τρόπο με τον οποίο εισέρχονται στα κύτταρα. Ειδικότερα, τα κατιονικά σύμπλοκα χαλκού συχνά

διασχίζουν τις μεμβράνες μέσω παθητικής διάχυσης ή μεταφορέων μετάλλων, όπως για παράδειγμα ο μεταφορέας χαλκού CTR1, ο οποίος διευκολύνει την απορρόφηση των απαραίτητων ιόντων χαλκού [41].

Μετά την εισχώρηση, τα σύμπλοκα χαλκού μπορούν να συγκεντρωθούν σε διακριτά οργανίδια, όπως στα μιτοχόνδρια, όπου μπορούν να διαταράξουν τον οξειδοαναγωγικό μεταβολισμό, στον πυρήνα, όπου προσκολλώνται σε πρωτεΐνες DNA ή ιστονών, αλλά και στο κυτταρόπλασμα, το οποίο αλληλεπιδρά με γλουταθειόνη (GSH) και μεταλλοθειονίνες που χρησιμεύουν ως ρυθμιστικά διαλύματα οξειδοαναγωγής. Συγκεκριμένα, η λιποφιλικότητα των υποκαταστατών επηρεάζει τι συμβαίνει με τον υποκαταστάτη μέσα στο κύτταρο. Για παράδειγμα, οι αρωματικοί υποκαταστάτες (όπως η phendione και το dppz) τείνουν να παραμένουν στον πυρήνα επειδή αλληλεπιδρούν με νουκλεϊκά οξέα μέσω αλληλεπιδράσεων π-π, ενώ, από την άλλη πλευρά, οι υδρόφιλοι ή οι υποκαταστάτες που μοιάζουν με πεπτίδια παραμένουν στο κυτταρόπλασμα.

Όταν εισέρχονται στο εσωτερικό του κυττάρου, τα σύμπλοκα μπορούν είτε να διασπαστούν είτε να παραμείνουν συγκροτημένα, ανάλογα με το πόσο σταθερά είναι θερμοδυναμικά και πόσο όξινο ή βασικό είναι το κύτταρο, ωστόσο, τα ασταθή σύμπλοκα μπορούν να απελευθερώσουν ελεύθερα ιόντα Cu(II) ή Cu(I), που ξεκινούν αντιδράσεις τύπου Fenton παράγοντας δραστικά είδη οξυγόνου (ROS).

4.6.2 Σηματοδότηση ROS και οξειδωτικό στρες

Ένας από τους κύριους τρόπους με τους οποίους τα σύμπλοκα Cu(II) σκοτώνουν τα κύτταρα είναι μέσω της παραγωγής ROS, κατά την οποία το ζεύγος οξειδοαναγωγής Cu(II)/Cu(I) επιτρέπει την αέναη εναλλαγή μεταξύ οξειδωμένων και ανηγμένων καταστάσεων, διευκολύνοντας την καταλυτική παραγωγή υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet -}$), υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και ριζών υδροξυλίου (•OH) in situ [22].

Οι εν λόγω ρίζες προκαλούν βλάβη στα κύτταρα οξειδώνοντας το DNA, τα λιπίδια και τις πρωτεΐνες και λειτουργούν επίσης ως δευτερογενείς αγγελιοφόροι που ξεκινούν οδούς για απόπτωση και αυτοφαγία. Μέτρια επίπεδα δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) μπορούν να ενεργοποιήσουν παράγοντες μεταγραφής όπως το NF-κB και το

AP-1, που βοηθούν το σώμα να καταπολεμήσει το οξειδωτικό στρες. Ωστόσο, η υπερβολική ποσότητα ROS μπορεί να υπερφορτώσει προστατευτικά συστήματα όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, οδηγώντας σε οξειδωτική κατάρρευση και κυτταρικό θάνατο [77].

Τα καρκινικά κύτταρα, τα οποία συχνά έχουν αυξημένα επίπεδα ROS, βιώνουν επιπρόσθετο οξειδωτικό στρες από σύμπλοκα χαλκού που υπερβαίνει το όριο επιβίωσής τους, με αποτέλεσμα την επιλεκτική κυτταροτοξικότητα προς τον κακοήθη ιστό, αλλά διατηρώντας παράλληλα τα φυσιολογικά κύτταρα.

4.6.3 Μιτοχονδριακή Δυσλειτουργία και Αποπτωτικές Οδοί

Τα μιτοχόνδρια είναι ένα κύριο μέρος όπου συσσωρεύεται ο χαλκός και ένας σημαντικός στόχος για κυτταροτοξική δράση. Αρχικά, όταν εισέρχονται σύμπλοκα Cu(II), μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC), ειδικά με τα σύμπλοκα I και III, προκαλώντας διαρροή ηλεκτρονίων και ανάπτυξη υπεροξειδίου. Στη συνέχεια, αυτό προκαλεί την αποπόλωση της μιτοχονδριακής μεμβράνης, την εξάντληση του ATP και την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c. Αυτό ξεκινά τους καταρράκτες κασπάσης και την απόπτωση 1].

Συνήθως υπάρχουν δύο τρόποι με τους οποίους πεθαίνουν τα κύτταρα. Η εγγενής (μιτοχονδριακή) οδός ενεργοποιείται από το στρες μέσα στο κύτταρο, ενώ χαρακτηρίζεται από την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών Bax/Bak και το άνοιγμα της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Έπειτα υπάρχει η εξωγενής (μεσολαβούμενη από υποδοχέα) οδός που ξεκινά με υποκαταστάτες θανάτου από το εξωτερικό του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένου του TNF-α ή του FasL, οι οποίοι μπορεί να αυξηθούν όταν εμφανίζεται οξειδωτικό στρες.

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα σύμπλοκα Cu(II)-phenanthroline και Cu(II)-phendione αυξάνουν την αναλογία Bax/Bcl-2, προάγοντας την απόπτωση, ενώ ταυτόχρονα ενεργοποιούν την κασπάση-3 και την κασπάση-9 [71].

4.6.4 Διακοπή του Πρωτεασώματος και των Ενζύμων

Τα σύμπλοκα χαλκού στοχεύουν επίσης το πρωτεάσωμα 26S, το οποίο είναι μια ομάδα ενζύμων που διασπά πρωτεΐνες με λανθασμένη αναδίπλωση ή που έχουν υποστεί βλάβη. Τα σύμπλοκα Cu(II) σταματούν την πρωτεασωματική χυμοθρυψινοειδή δράση, η οποία προκαλεί τη συσσώρευση πρωτεϊνών, την καταπόνηση του ενδοπλασματικού δικτύου και τον θάνατο των κυττάρων [12].

Όπως φαίνεται, η αναστολή του πρωτεασώματος είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στη θεραπεία του καρκίνου, επειδή τα καρκινικά κύτταρα εξαρτώνται από την πρωτεασωματική διάσπαση για να αντιμετωπίσουν τους υψηλούς ρυθμούς παραγωγής πρωτεϊνών. Ορισμένα σύμπλοκα χαλκού, συμπεριλαμβανομένων των ενώσεων Cu(II)-πυριδίνης-φαινανθρολίνης, έχουν εμφανίσει παρόμοια αποτελεσματικότητα με τον εμπορικό αναστολέα πρωτεασώματος βορτεζομίμπη, ενώ παρουσιάζουν μικρότερη συστηματική τοξικότητα [86]. τα Τα σύμπλοκα χαλκού όμως, δεν καταστέλλουν μόνο το πρωτεάσωμα αλλά και τις μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) που εμπλέκονται στην εισβολή και τη μετάσταση του όγκου, καθώς και τις τοποϊσομεράσες που είναι σημαντικές για την αντιγραφή του DNA.

Πρόσφατη έρευνα δείχνει ότι τα σύμπλοκα χαλκού μπορούν επίσης να προκαλέσουν αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο, έναν ρυθμιζόμενο μηχανισμό διάσπασης διαφορετικό από την απόπτωση. Συγκεκριμένα, η συσσώρευση κατεστραμμένων μιτοχονδρίων και πρωτεϊνών, μαζί με τον σχηματισμό ROS, διεγείρει την ενεργοποιούμενη από AMP πρωτεϊνική κινάση (AMPK) και καταστέλλει το mTOR, ενθαρρύνοντας την έναρξη της αυτοφαγίας [27].

Σε ορισμένες κυτταρικές σειρές, η αυτοφαγία χρησιμεύει ως προστατευτικός μηχανισμός έναντι του στρες που προκαλείται από Cu(II), ενώ σε άλλες, οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο κατά την υπερενεργοποίηση. Έτσι λοιπόν, η διπλή φύση της αυτοφαγίας υπογραμμίζει την πολυπλοκότητα της κυτταροτοξικότητας του συμπλόκου χαλκού και τις δυνατότητές της για συνεργιστική θεραπεία με αναστολείς ή ενισχυτές αυτοφαγίας.

4.6.5 Επιδράσεις στην Κυτταρική Οξειδοαναγωγή και την Ομοιόσταση Μετάλλων

Τα σύμπλοκα χαλκού μπορούν να διαταράξουν την ενδοκυτταρική ομοιόσταση των μετάλλων εκτοπίζοντας κρίσιμα μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος από τις μεταλλοπρωτεΐνες, οδηγώντας σε καταλυτική ασταθή μετάλλωση, διαταραχή που έχει αντίκτυπο στην ενζυμική δραστηριότητα και προσθέτει στο οξειδωτικό στρες [48]). Επίσης, μπορούν να προσκολληθούν σε ενώσεις πλούσιες σε θειόλη όπως η μεταλλοθειονίνη και η γλουταθειόνη. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις μπορεί είτε να αποτοξινώσουν το σύμπλοκο είτε να διευκολύνουν τον κύκλο οξειδοαναγωγής, παράγοντας ενδιάμεσα που διεγείρουν τη δημιουργία δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS).

4.6.6 Αντιαγγειογενετική και Αντιμεταστατική Δράση

Η αγγειογένεση είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και την εξάπλωση των όγκων και οι ενώσεις χαλκού έχουν αντιαγγειογενετικές ιδιότητες που λειτουργούν με διάφορους τρόπους. Καταρχάς, αποκλείουν την έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Έπειτα, μειώνουν τα επίπεδα του παράγοντα-1α που επάγεται από την υποξία (HIF-1α), ενός μεταγραφικού παράγοντα που ενθαρρύνει την αγγειογένεση, ενώ τέλος, παρεμβάλλουν στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων [58].

Αυτές οι επιδράσεις έχουν επικυρωθεί τόσο σε in vitro όσο και σε in vivo περιβάλλοντα, αποδεικνύοντας ότι τα σύμπλοκα Cu(II)-φαινανθρολίνης μείωσαν σημαντικά την πυκνότητα των μικροαγγείων στους ιστούς του όγκου. Η παρεμπόδιση των μεταλλοπρωτεϊνασών της μήτρας (MMP-2, MMP-9) μειώνει επιπλέον το μεταστατικό δυναμικό, υποδεικνύοντας έναν διπλό αντικαρκινικό μηχανισμό, δηλαδή άμεση κυτταροτοξικότητα και παρεμπόδιση της αγγείωσης του όγκου.

4.6.7 Ανοσοτροποποιητικοί και Αντιμικροβιακοί Μηχανισμοί

Τα σύμπλοκα χαλκού μπορούν να αλλάξουν την ανοσολογική απόκριση εκτός του ότι είναι άμεσα επιβλαβή για τα κύτταρα, καθώς ενεργοποιούν τα μακροφάγα, αυξάνουν την παραγωγή κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων των TNF-α και IL-6, και ενθαρρύνουν τη φαγοκυττάρωση. Αυτή η ανοσοτροποποιητική συμπεριφορά λειτουργεί καλά με τις αντιβακτηριακές και αντικαρκινικές τους επιδράσεις [61].

Σε αντιμικροβιακά περιβάλλοντα, τα σύμπλοκα χαλκού διαταράσσουν τις βακτηριακές μεμβράνες εμπλέκοντας αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια, με αποτέλεσμα τη διαρροή ενδοκυτταρικού περιεχομένου. Επιπλέον, η οξειδοαναγωγική τους δράση παράγει υδροξυλικές ρίζες που βλάπτουν το DNA και τις πρωτεΐνες, και επίσης σταματούν την αντιγραφή παρεμβαίνοντας σε βακτηριακά ένζυμα όπως η DNA γυράση και η RNA πολυμεράση.

Έχει ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα σύμπλοκα Cu(II)-phendione έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά έναντι βακτηρίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά, όπως το Pseudomonas aeruginosa και το Staphylococcus aureus, υπογραμμίζοντας την αυξανόμενη κλινική σημασία των βιοανόργανων αντιμικροβιακών [73].

4.7 Μελλοντικές Προοπτικές

Τα τελευταία χρόνια η διερεύνηση των συμπλόκων χαλκού(II) ως φαρμακευτικών παραγόντων μεγαλώνει προοδευτικά και ο σχεδιασμός βιοανόργανων φαρμάκων επικεντρώνεται πλέον σε στοχευμένες τεχνολογίες χορήγησης, όπως η τοποθέτηση νανοσωματιδίων σε κύτταρα ή η σύνδεση υποδοχέων με πεπτίδια. Επικεντρώνεται επίσης σε φάρμακα με φωτοενεργοποιημένο χαλκό που χρησιμοποιούν φωτοαντιδραστικότητα υποδοχέα, συμπεριλαμβανομένων των ενώσεων dppz, αλλά και σε συνδυαστική θεραπεία που αναμειγνύει σύμπλοκα χαλκού με παραδοσιακά χημειοθεραπευτικά ή αντιοξειδωτικά για να τα κάνει πιο επιλεκτικά.

Είναι ακόμη δύσκολο να βελτιστοποιηθεί η βιοδιαθεσιμότητα, να μειωθεί η συστηματική τοξικότητα και να κατανοηθεί πλήρως η φαρμακοκινητική, ωστόσο, το

ευρύ φάσμα της χημείας ένταξης του χαλκού δίνει στην ανακάλυψη φαρμάκων πολλά περιθώρια ανάπτυξης.

Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η σύνθεση συμπλόκων χαλκού(ΙΙ) και η αξιολόγηση της βιολογικής δραστικότητας αυτών, μέσω της σύνδεσης με το DNA.. Απώτερος στόχος αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η ανακάλυψη εναλλακτικών μεταλλοθεραπευτικών παραγόντων στη βιομηχανία, με λιγότερες αρνητικές επιπτώσεις προς τον ανθρώπινο οργανισμό και με εύλογο κόστος ως προς τη μαζική παραγωγή και την ευρεία κατανάλωση αυτών.

Το πειραματικό κομμάτι χωρίζεται σε δύο βασικά μέρη. Το πρώτο αφορά τη σύνθεση και το χαρακτηρισμό των συμπλόκων με διαφορετικές φασματοσκοπικές τεχνικές, για την βαθύτερη κατανόηση της δομής τους, Το δεύτερο μέρος πραγματεύεται το βιολογικό κομμάτι και συγκεκριμένα με την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το DNA και την εξακρίβωση του τρόπου με τον οποίο αυτή επιτυγχάνεται.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ, ΟΡΓΑΝΑ, ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΣΗΣ

5.1 Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια (starting materials) που χρησιμοποιήθηκαν για τη σύνθεση των υποκαταστατών και των συμπλόκων ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και αγοράστηκαν από τις εταιρείες Sigma Aldrich, Carlo Erba reagents, Fischer Chemical, Fluka Chemica και Scharlau.

Το νερό που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα καθώς και στις φασματοσκοπικές μετρήσεις ήταν διπλά αποσταγμένο, υπερκάθαρο (ultrapure) και παραγόταν από σύστημα καθαρισμού Rephile Mili-Q.

Το βασικό αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε για τις συνθέσεις είναι η μεθανόλη, ενώ για τους χαρακτηρισμούς χρησιμοποιήθηκαν επίσης αιθανόλη, ακετονιτρίλιο, διμέθυλο φορμαμίδιο, διμέθυλο σουλφοξείδιο, πολυαιθυλενογλυκόλη, tris-buffer saline, διαιθυλαιθέρας, PEG-400, υδροξείδιο του νατρίου και Bu_4PF_6.

Για τις DNA μελέτες χρησιμοποιήθηκε DNA από θύμο αδένα βοοειδούς που αγοράστηκε από την εταιρεία Merck.

5.2 Όργανα-Μέθοδοι

Ο χαρακτηρισμός των υποκαταστατών και των συμπλόκων που συντέθηκαν, πραγματοποιήθηκε με χρήση φασματοσκοπικών τεχνικών, ώστε να αξιολογηθεί και να κατανοηθούν πλήρως και να μελετηθούν σε μεγαλύτερο βάθος η δομή και οι φωτοφυσικές ιδιότητές τους.

Για την αξιολόγηση αυτών πραγματοποιήθηκαν φασματοσκοπία UV-Vis, φασματοσκοπία υπερύθρου (IR), περίθλαση ακτίνων Χ μονοκρυστάλλου (Single-crystal XRD), και φασματοσκοπία μάζας (MS). Επίσης για το δεύτερο μέρος της διπλωματικής εργασίας, για τα βιολογικά πειράματα πραγματοποιήθηκαν φασματοσκοπία UV-Vis, φθορισμομετρία, και ιξωδομετρία.

- **Φασματοσκοπία UV–Vis**: Οι μετρήσεις οπτικής απορρόφησης πραγματοποιήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο UV-1900i της Shimadzu με διπλό σύστημα δέσμης. Χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες χαλαζία, οπτικής διαδρομής 1,0 cm. Το λογισμικό επεξεργασίας των αποτελεσμάτων ήταν το OriginPro 12.0 της OriginLab.

- **Φασματοσκοπία Υπερύθρου (FT-IR)**: Η ταυτοποίηση των λειτουργικών ομάδων των συμπλόκων έγινε με χρήση φασματόμετρου IRTracer-100 της Shimadzu, εξοπλισμένο με εξάρτημα τύπου ATR (diamond, single reflection, 1.8 mm). Οι μετρήσεις ελήφθησαν στην περιοχ'η 4000–400 cm^{-1}.

- **Φθορισμομετρία**: Η εκπομπή των συμπλόκων υπό διέγερση κατάλληλου μήκους κύματος μελετήθηκε με φασματόμετρο RF-5310PC της Shimadzu, υπό σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25°C) με χρήση λάμπας Xe 1000W και κυψελίδων χαλαζία οπτικής διαδρομής 1,0 cm.

- **Περίθλαση Ακτίνων-Χ (XRD)**: Μονοκρύσταλλοι από τα σύμποκα αναλύθηκαν μέσω του συστήματος D8 Advance (Bruker AXS), το οποίο διαθέτει σωλήνα ακτίνων Χ χαλκού (λ = 1.5418 Å), κάτοπτρο Gobel, τάση 40kV, ρεύμα 25mA και γεωμετρία Bragg–Brentano. Τα διαγράμματα περίθλασης καταγράφηκαν σε εύρος 2θ° 15-80° με βήμα 0,04°/s και ταχύτητα σάρωσης 1,6s/step. Τα αποτελέσματα εξήχθησαν με βάση την εξίσωση του Bragg που συνδέει το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας με τη γωνία σκέδασης και την απόσταση μεταξύ των επιπέδων του κρυσταλλικού πλέγματος, σύμφωνα με την εξίσωση: $2d\sin\theta=n\lambda$

- **Φασματοσκοπία Μάζας (MS):** Η μέτρηση HRMS πραγματοποιήθηκε με φασματόμετρο Q-TOF (Quadrople Time-of-Flight) της εταιρείας Bruker, με πηγή ιοντισμού ESI που λειτουργεί με ηλεκτροψεκασμό. Είναι ένα τετράπολο HRMS με ανιχνευτή χρόνου πτήσης, η αρχή λειτουργίας του οποίου είναι η μέτρηση του χρόνου που χρειάζονται τα ιόντα για να ανέβουν από τον ανιχνευτή στο κάτοπτρο και πάλι πίσω στον ανιχνευτή. Όλα έχουν ίδια κινητική ενέργεια αλλά ανάλογα με τις μάζες τους, τα ελαφρύτερα ιόντα φτάνουν πιο γρήγορα και έχουν

μικρότερο χρόνο πτήσης. Μετράται θετικός ή αρνητικός ιοντισμός ανάλογα το μέταλλο και το ολικό φορτίο και εμφανίζει αρνητικό ή θετικό δυναμικό παρασέρνοντας τα θετικά ή αρνητικά ιόντα αντίστοιχα. Η μέγιστη συγκέντρωση που μετρήθηκε είναι 10ppm και ως διαλύτης για τα σύμπλοκα χρησιμοποιήθηκε μεθανόλη,.

- **Ιξωδομετρία:** Οι μετρήσεις του ιξώδους πραγματοποιήθηκαν σε θερμοστατούμενο ιξωδόμετρο SI Analytics στους 25^{o}C. Έγιναν τουλάχιστον τρεις μετρήσεις για κάθε δείγμα για καλύτερη επαναληψιμότητα και ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε buffer με 1% v/v ακετονιτρίλιο για διατήρηση χαμηλού ιξώδους στο σύστημα διαλυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

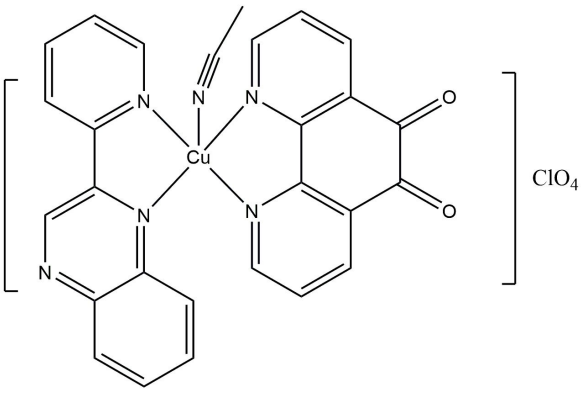
ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Cu(II)

6.1 Σύνθεση συμπλόκων

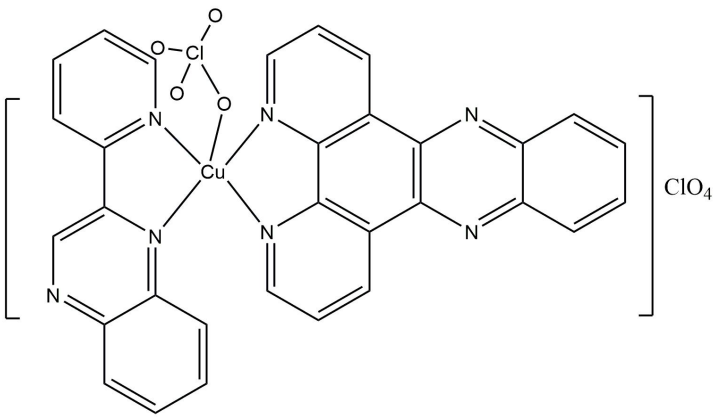
Πρώτο βήμα στη σύνθεση των συμπλόκων ήταν η σύνθεση του υποκαταστάτη dppz σύμφωνα με τη βιβλιογραφία μέσω καταλυόμενης συμπύκνωσης με οξύ 1,10-φαινανθρολίνης-5,6-διόνης με 1,2-διαμινοβενζόλιο, παρουσία καταλυτικής ποσότητας p-τολουολοσουλφονικού οξέος.

Τα σύμπλοκα που συντέθηκαν και μελετήθηκαν είναι τα εξής:

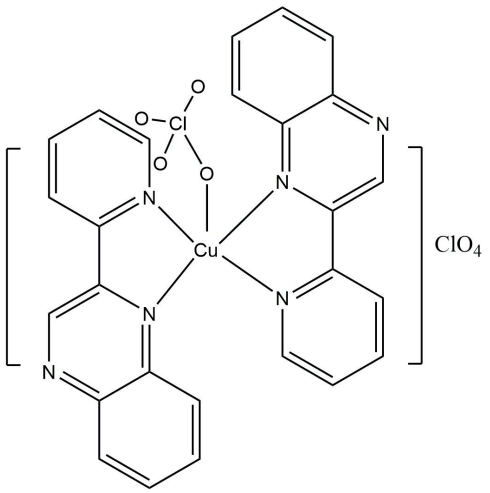
1. $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$ Mr: 720,858
2. $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$ Mr: 751,968
3. $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$ Mr: 787,421
4. $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ Mr: 676,898



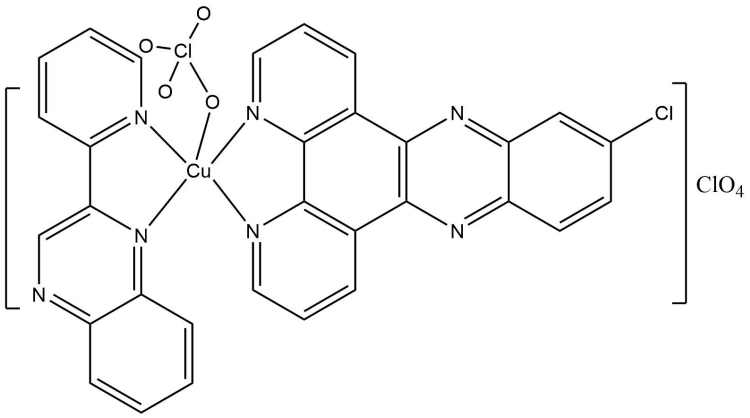
Σύμπλοκο 1



Σύμπλοκο 2



Σύμπλοκο 4

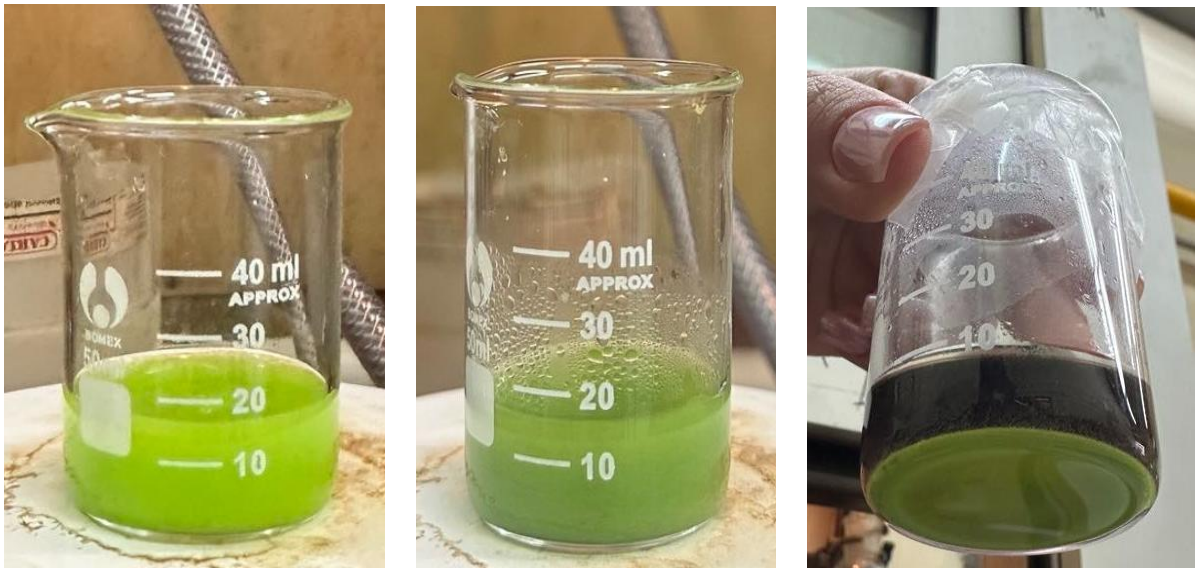


Σύμπλοκο 3

Σχήμα 5 : Απεικόνιση συμπλόκων 1-4. Για τα σύμπλοκα 1 και 4 είναι οι πειραματικά αποδεδειγμένες δομές μέσω single crystal XRD ενώ για τα σύμπλοκα 2-3 είναι οι θεωρητικά αναμενόμενες.

Σύνθεση [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

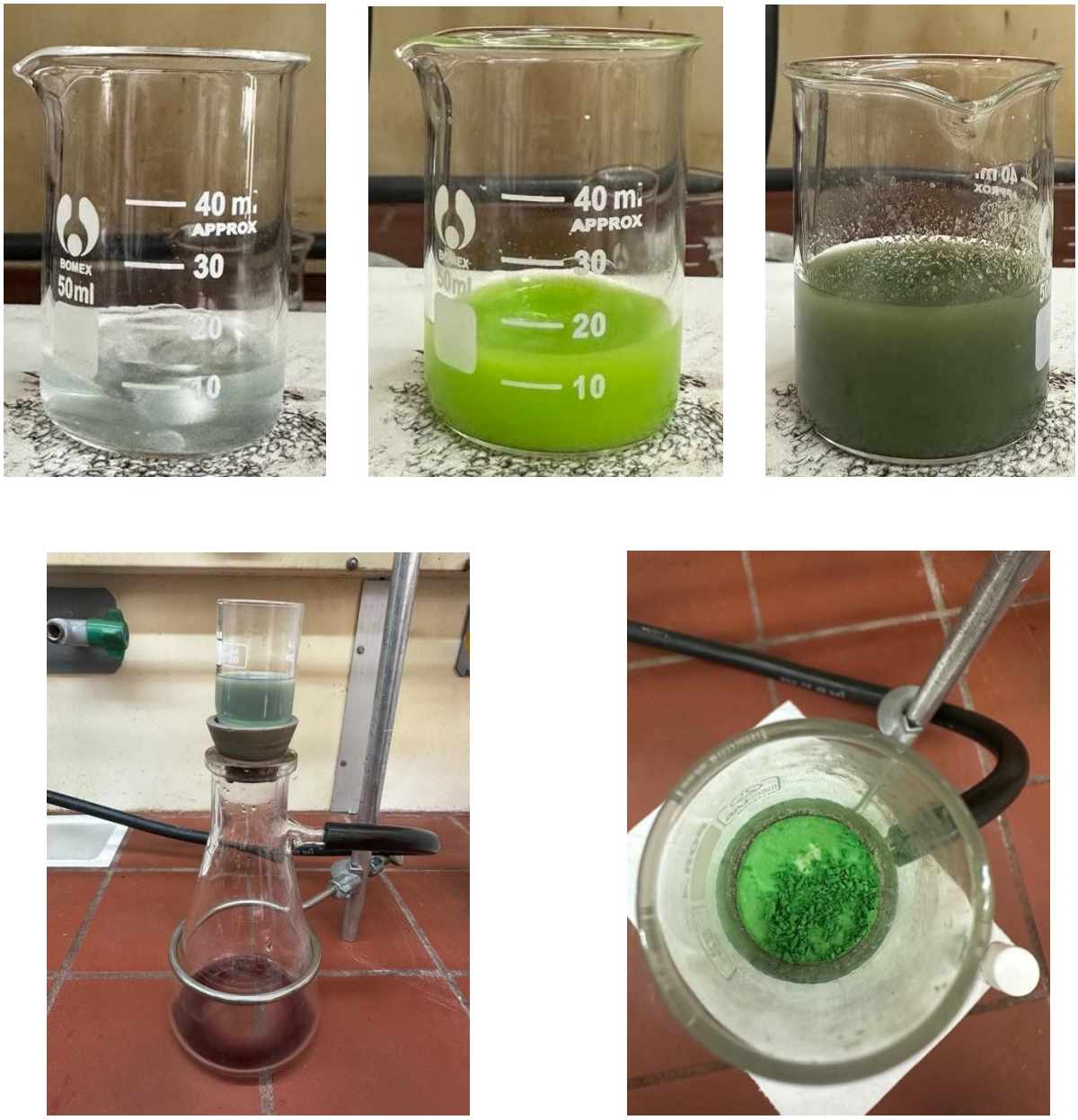
Αρχικά πραγματοποιήθηκε διάλυση 84,4 mg $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ σε 10 mL μεθανόλης υπό ανάδευση. Παράλληλα έγινε διάλυση 50,0 mg 2-(2'-πυριδυλ)κινοξαλίνης (pq) σε 5mL μεθανόλης και 20min αργότερα, 50,7 mg phendione επίσης σε 5mL μεθανόλης. Αφού διαλύθηκαν και τα τρία, αναμίχθηκαν μεταξύ τους με τη phendione να προστίθεται στάγδην. Το διάλυμα με το pq είχε αποκτήσει ένα λαχανί χρώμα και εμφάνισε ίζημα και με την προσθήκη phendione το χρώμα σκούρυνε. Αφέθηκε για θέρμανση στους 40°C για μισή ώρα. Ακολούθησε διήθηση σε ηθμό Büchner και έκπλυση με μεθανόλη και διαιθυλαιθέρα, δημιουργώντας ένα πράσινο ίζημα και ένα μωβ διήθημα, συμπεραίνοντας έτσι και εδώ την ύπαρξη χαλκού(I). Το τελικό προϊόν ζυγίστηκε 57,8 mg και η απόδοση υπολογίστηκε 33,2%. Μικρή ποσότητα από το τελικό προϊόν αφέθηκε για κρυστάλλωση μέσω vapor diffusion. Η ποσότητα διαλύθηκε σε ακετονιτρίλιο σε δοκιμαστικό σωλήνα, ο οποίος κλείστηκε με αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκε σε βάζο με διαιθυλαιθέρα για αργή εξάτμιση.



Εικ. 7: Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

Σύνθεση [Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4

Αρχικά πραγματοποιήθηκε διάλυση 105,0 mg $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ σε 10 mL μεθανόλης. Παράλληλα έγινε διάλυση 58,7 mg 2-(2'-πυριδυλ)κινοξαλίνης (pq) σε 5mL μεθανόλης και 20min αργότερα, 80 mg dppz επίσης σε 5mL μεθανόλης. Ακολουθώντας την ίδια πορεία, το σύμπλοκο χάλασε, καθώς κατά τη διήθηση προέκυψε ένα πετρόλ ίζημα και ένα μωβ διήθημα, συμπεραίνοντας ότι ο χαλκός(II) πιθανόν ανάχθηκε σε χαλκό(I). Η σύνθεση πραγματοποιήθηκε ξανά χωρίς θέρμανση, με ακετονιτρίλιο, μεθανόλη και νερό αλλά το σύμπλοκο χάλασε ξανά με τον ίδιο τρόπο. Την τρίτη φορά, ακολουθήθηκε ίδια πορεία, δηλαδή ξεχωριστή διάλυση όλων των ουσιών σε μεθανόλη. Χρησιμοποιήθηκαν 10mL μεθανόλης για το χαλκό, 5mL μεθανόλης για το pq και 10mL μεθανόλης για το dppz. Αφού έγινε ανάμιξη χαλκού και pq, υπήρξε αναμονή 30min πριν την προσθήκη dppz και μετά την εισαγωγή και του δεύτερου υποκαταστάτη στάγδην, το διάλυμα άρχισε να μεταβάλλει το χρώμα του από ανοιχτό γαλαζοπράσινο, σε λαχανί, σε σκούρο λαδί. Έπειτα προστέθηκε μικρή ποσότητα διχλωρομεθανίου (DCM) και το διάλυμα αφέθηκε για θέρμανση στους 30°C για δύο ώρες. Ακολούθησε διήθηση σε ηθμό Büchner και έκπλυση με μεθανόλη και διαιθυλαιθέρα, δημιουργώντας το τελικό πράσινο ίζημα και ένα μπορντό διήθημα το οποίο φανερώνει την ύπαρξη χαλκού(I). Το τελικό προϊόν ζυγίστηκε 151,1mg και η απόδοση υπολογίστηκε 70,9%.



Εικ. 8: Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)(dppz)](ClO_4)_2$

Σύνθεση $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$

Αρχικά πραγματοποιήθηκε διάλυση 93,3 mg $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ σε 10 mL μεθανόλης. Παράλληλα έγινε και διάλυση 52,2 mg 2-(2'-πυριδυλ)κινοξαλίνης (pq) σε 5mL μεθανόλης και 20 min αργότερα 80 mg Cl-dppz επίσης σε 5mL μεθανόλης. Αφού διαλύθηκαν και τα τρία, αναμίχθηκαν μεταξύ τους, με το Cl-dppz να προστίθεται στάγδην, για δύο ώρες. Πριν την προσθήκη Cl-dppz το διάλυμα είχε ένα λαχανί χρώμα, ενώ όσο αυξανόταν η ποσότητα Cl-dppz το χρώμα του διαλύματος γινόταν πιο σκούρο. Ακολούθησε θέρμανση για 30min, κρύωμα, διήθηση σε ηθμό Büchner

και έκπλυση με μεθανόλη και διαιθυλαιθέρα. Ζυγίστηκαν 137,2 mg τελικού συμπλόκου και η απόδοση υπολογίστηκε 69,2%.



Εικ. 9: Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)](ClO_4)_2$

Σύνθεση $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Αρχικά πραγματοποιήθηκε διάλυση 89,5 mg $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ σε 10 mL μεθανόλης και 100 mg 2-(2'-πυριδυλ)κινοξαλίνης (pq) (αναλογία 1:2) σε 11 mL μεθανόλης. Τα δύο διαλύματα αναμίχθηκαν, χωρίς θέρμανση για 40min και ακολούθησε διήθηση σε ηθμό Büchner και έκπλυση με μεθανόλη και διαιθυλαιθέρα. Δημιουργήθηκε ίζημα με λαχανί χρώμα ενώ το διήθημα απέκτησε μία ροζ χροιά, υποδηλώνοντας την ύπαρξη χαλκού(I). Το τελικό ίζημα ζυγίστηκε 129,5 mg και η απόδοση υπολογίστηκε 79,2%. Η ποσότητα αφέθηκε για ανακρυστάλλωση με vapor diffusion. Σε ποτήρι ζέσεως διαλύθηκε η ουσία σε ακετονιτρίλιο και διηθήθηκε σε πτυχωτό ηθμό. Το διάλυμα τοποθετήθηκε σε δοχείο με διαιθυλαιθέρα και αφέθηκε να κρυσταλλώσει. Μετά από 2-3 μέρες είχε ολοκληρωθεί η διαδικασία και η ουσία είχε κρυσταλλώσει πλήρως.



Εικ. 10: Διαφορετικές φάσεις στην παρασκευή του συμπλόκου $[Cu(pq)_2](ClO_4)_2$

6.2 Χαρακτηρισμός συμπλόκων

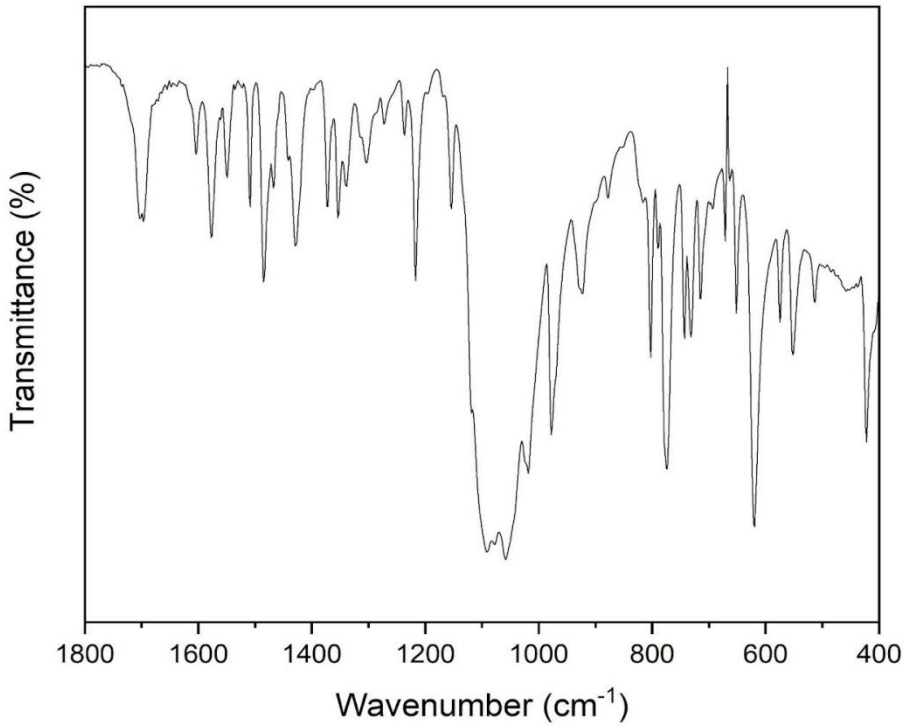
6.2.1 Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR)

Ελήφθησαν τα φάσματα IR για την αξιολόγηση της δομής των συμπλόκων με ταυτοποίηση των λειτουργικών ομάδων στο φάσμα.

$[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$

Όσον αφορά το σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$, εμφανίζεται μία οξεία ταινία στα 1700cm $^{-1}$ που αντιστοιχεί σε δόνηση τάσης του δεσμού C=O, υποδηλώνοντας την παρουσία της διόνης στο σύμπλοκο. Παρατηρούνται επίσης ταινίες στα 1580cm $^{-1}$ και 1486cm $^{-1}$ καθώς και άλλες ασθενέστερης έντασης ανάμεσα, που οφείλονται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C=C εντός του επιπέδου του αρωματικού δακτυλίου καθώς και δονήσεις τάσης των δεσμών C=N της διόνης και του pq. Στα 1215 cm $^{-1}$ εμφανίζεται ταινία που οφείλεται σε δονήσεις τάσης των δεσμών C-N της διόνης και του pq. Στα 1061 cm $^{-1}$ - 1089 cm $^{-1}$ εμφανίζεται μία οξεία ταινία που είναι χαρακτηριστική των ασύμμετρων δονήσεων των υπερχλωρικών ιόντων, ενώ στα 975 cm $^{-1}$ εμφανίζεται η αντίστοιχη συμμετρική δόνηση. Επιπλέον στα αντισταθμιστικά υπερχλωρικά ιόντα οφείλονται και οι κορυφές στα 420 cm $^{-1}$ και 618 cm^{-} $^{-1}$. Στα 925 cm $^{-1}$ εμφανίζονται οι δονήσεις κάμψης των δεσμών C-H του αρωματικού δακτυλίου. Στα 776cm $^{-1}$ παρατηρείται ταινία που προκύπτει από

δονήσεις τάσης των δεσμών C-H του αρωματικού δακτυλίου. Πολύ σημαντικές είναι οι ταινίες στα 617 cm $^{-1}$ και 424 cm $^{-1}$ που αφορούν τις παραμορφώσεις του διιυποκατεστημένου πυριδινικού δακτυλίου της κινοξαλίνης εντός και εκτός επιπέδου, υποδηλώνοντας έτσι την παρουσία και του pq στο σύμπλοκο.

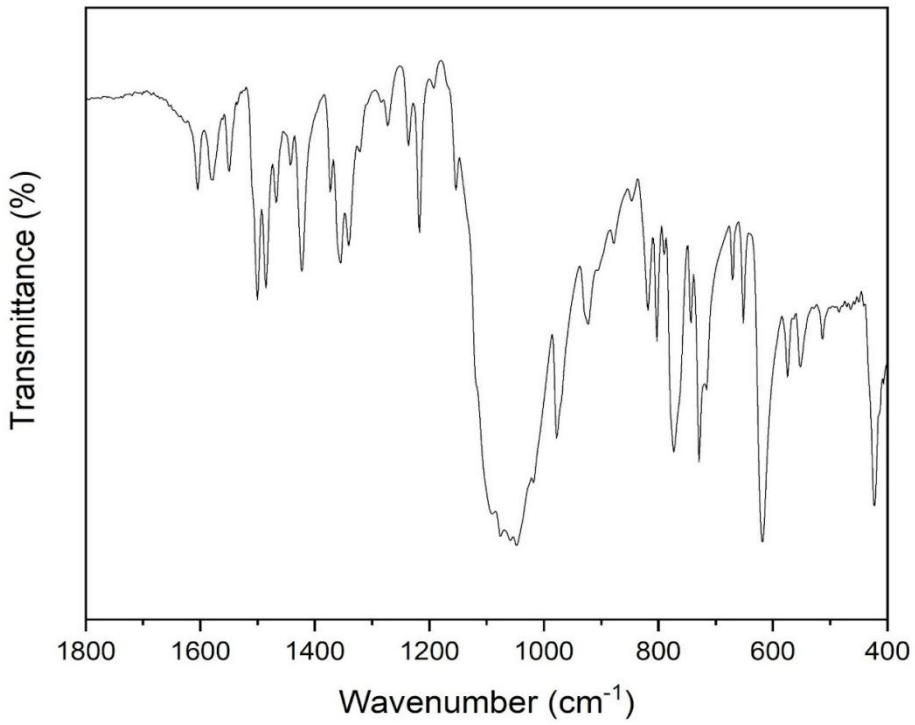


Σχήμα 6: Φάσμα IR για στο σύμπλοκο [Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO$_4$)$_2$

[Cu(pq)(dppz)(ClO$_4$)]ClO$_4$

Στο φάσμα IR για το σύμπλοκο [Cu(pq)(dppz)(ClO$_4$)]ClO$_4$ παρατηρούνται ταινίες που αντιστοιχούν στις δονήσεις τάσης εντός επιπέδου των δεσμών C=C και C=N του αρωματικού δακτυλίου, στα 1603cm $^{-1}$, στα 1499cm $^{-1}$, 1486cm $^{-1}$, στα 1421cm $^{-1}$ καθώς και άλλες ασθενέστερης έντασης ανάμεσα. Στα 1218cm $^{-1}$ εμφανίζεται οξεία ταινία λόγω των δονήσεων τάσης των δεσμών C-N του δακτυλίου. Μία ευρεία κορυφή εμφανίζεται στα 1045cm $^{-1}$ που αποδίδεται σε ασύμμετρες δονήσεις υπερχλωρικών ιόντων, ενώ στα 979 cm $^{-1}$ εμφανίζονται και οι συμμετρικές. Επιπλέον στα αντισταθμιστικά υπερχλωρικά ιόντα αποδίδονται και οι κορυφές στα 420 cm $^{-1}$ και 620 cm $^{-1}$. Στα 924 cm $^{-1}$ εμφανίζεται κορυφή που αποδίδεται σε δονήσεις κάμψης των C-H των δακτυλίων. Στα 731cm $^{-1}$ και 771cm $^{-1}$ οι ταινίες αποδίδονται σε

δονήσεις τάσης C-H εντός και εκτός επιπέδου αντίστοιχα και είναι ενδεικτικές της ύπαρξης dppz στο δείγμα. Τέλος χαρακτηριστικές είναι οι ταινίες στα 617cm $^{-1}$ και 422cm $^{-1}$ που απεικονίζουν τις εντός και εκτός επιπέδου δονήσεις του δακτυλίου της κινοξαλίνης, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη pq στο δείγμα.

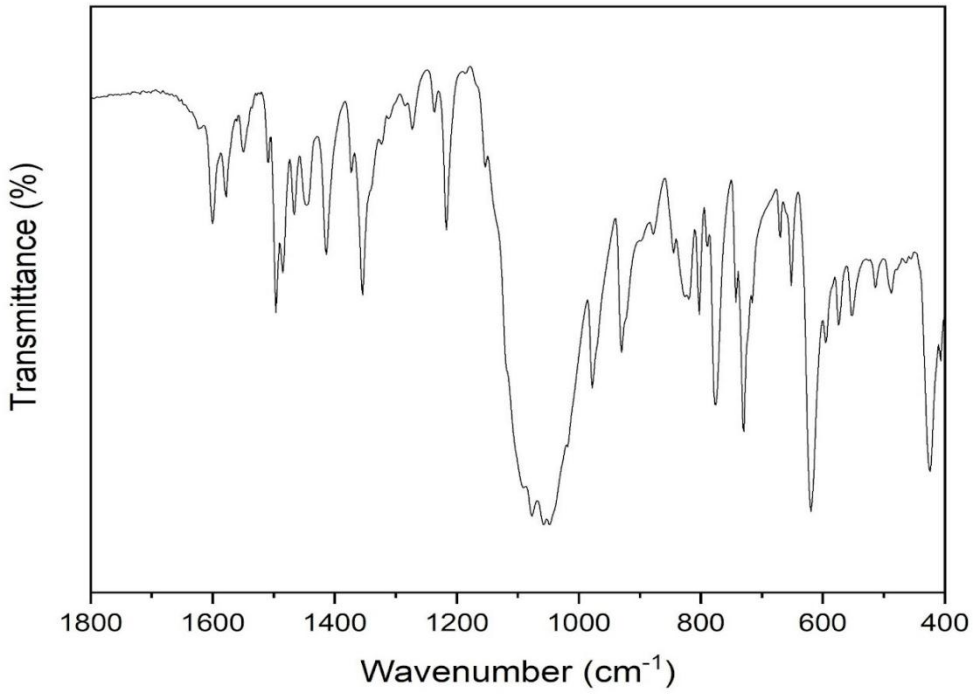


Σχήμα 7: Φάσμα IR για στο σύμπλοκο [Cu(pq)(dppz)(ClO$_4$)]ClO$_4$

[Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO$_4$)]ClO$_4$

Στο φάσμα IR για το σύμπλοκο [Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO$_4$)]ClO$_4$ παρατηρούνται παρατηρούνται παρόμοιες κορυφές, με μικρές μετατοπίσεις με το dppz καθώς πρόκειται για τους ίδιους υποκαταστάτες με τη διαφορά της ύπαρξης χλωρίου συνδεδεμένου στον ένα δακτύλιο του dppz στο ένα σύμπλοκο. Εμφανίζονται ταινίες στα 1600cm $^{-1}$, στα 1495cm $^{-1}$, στα 1413cm^{-} $^{-1}$ καθώς και κάποιες ασθενέστερες ανάμεσα, που οφείλονται στις δονήσεις τάσης εντός επιπέδου των δεσμών C=C και C=N του αρωματικού δακτυλίου. Στα 1220cm $^{-1}$ εμφανίζεται οξεία ταινία που αντιστοιχεί σε δονήσεις τάσης των δεσμών C-N του δακτυλίου. Η ευρεία κορυφή στα 1054 cm $^{-1}$ - 1080 cm $^{-1}$ που αποδίδεται σε ασύμμετρες δονήσεις τάσης υπερχλωρικών ιόντων, καθώς και η κορυφή στα 979 cm $^{-1}$ που οφείλεται σε

συμμετρικές δονήσεις τάσης, είναι χαρακτηριστικές της ύπαρξης υπερχλωρικών στο δείγμα. Επιπλέον στα αντισταθμιστικά υπερχλωρικά ιόντα αποδίδονται και οι κορυφές στα 420 cm^{-1} και 620 cm^{-1}. Στα 930 cm^{-1} εμφανίζεται κορυφή που οφείλεται σε δονήσεις κάμψης των δεσμών C-H των δακτυλίων. Δύο ταινίες εμφανίζονται στα 730cm^{-1} και 777cm^{-1}, οι οποίες αποδίδονται σε δονήσεις τάσης C-H εντός και εκτός επιπέδου αντίστοιχα και είναι ενδεικτικές της ύπαρξης dppz στο δείγμα. Χαρακτηριστική είναι και η κορυφή στα 620cm^{-1} που αντιστοιχεί σε δόνηση τάσης δεσμού C-Cl, υποδεικνύοντας την ύπαρξη χλωρίου στο δείγμα. Τέλος σημαντικές είναι οι ταινίες στα 620cm^{-1} και 428cm^{-1} που απεικονίζουν τις εντός και εκτός επιπέδου δονήσεις του δακτυλίου της κινοξαλίνης, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη pq στο δείγμα.

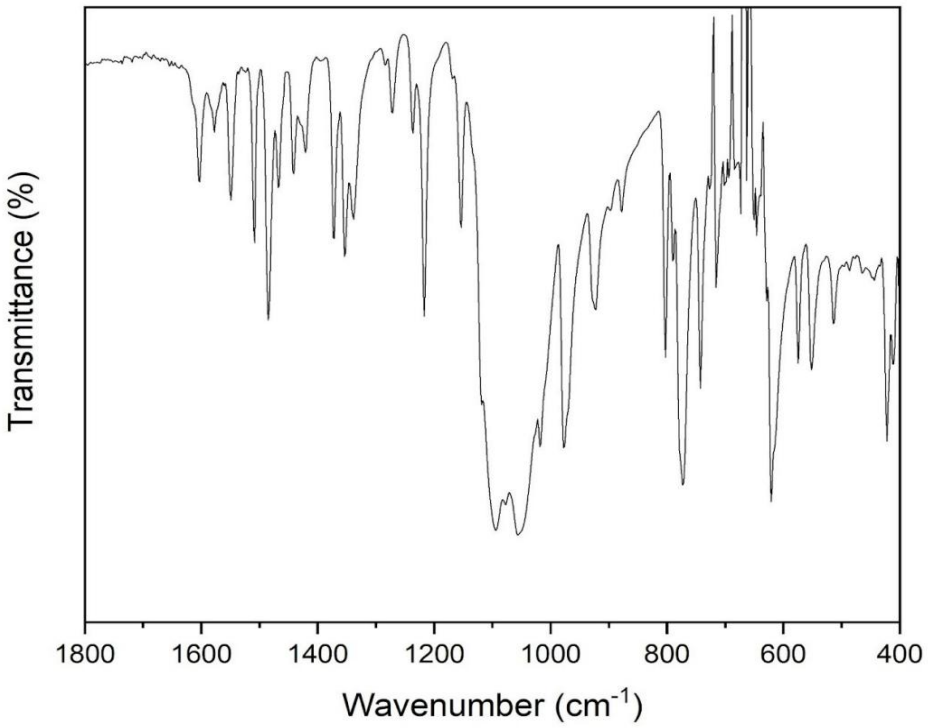


Σχήμα 8: Φάσμα IR για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$

$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Όσον αφορά το ομοληπτικό σύμπλοκο με τα δύο pq, υπάρχουν αρκετές ταινίες στο διάστημα μεταξύ 1600 cm^{-1} και 1400 cm^{-1} (1602 cm^{-1}, 1550 cm^{-1}, 1506 cm^{-1}, 1482cm^{-1}, 1469 cm^{-1}, 1441 cm^{-1}) που οφείλονται σε δονήσεις τάσης εντός επιπέδου, των δεσμών C-C, C=C των αρωματικών δακτυλίων του pq. Στα 1215 cm^{-}

[1] εμφανίζεται μία οξεία ταινία που οφείλεται σε τάσεις δόνησης των δεσμών C-N των δακτυλίων του pq. Στα 1054 cm $^{-1}$ - 1094 cm $^{-11}$ εμφανίζεται χαρακτηριστική ταινία που οφείλεται σε ασύμμετρες δονήσεις τάσης υπερχλωρικών ιόντων και στα 977 cm $^{-1}$ εμφανίζονται οι αντίστοιχες συμμετρικές δονήσεις τάσης. Επιπλέον στα αντισταθμιστικά υπερχλωρικά ιόντα αποδίδονται και οι κορυφές στα 420 cm $^{-1}$ και 620 cm $^{-1}$. Στα 921 cm $^{-1}$ εμφανίζεται ταινία λόγω των δονήσεων κάμψης των δεσμών C-H των αρωματικών δακτυλίων. Συνεχίζοντας οι ταινίες στα 800 cm $^{-1}$, 774 cm $^{-1}$, 744 cm $^{-1}$ αποδίδονται σε δονήσεις τάσης C-H εντός και εκτός επιπέδου αντίστοιχα. Τέλος, στα 623 cm $^{-1}$ και 422 cm $^{-1}$ εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές ταινίες για τις εντός και εκτός επιπέδου δονήσεις τάσης του δακτυλίου του pq.



Σχήμα 9: Φάσμα IR για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Πίνακας 6: Κοινές κορυφές IR για όλα τα σύμπλοκα

	ν(C=N)	ν(C=C)	ν(ClO_4)	ν(C-H)	ν(pq)
[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)$_2$	1215cm $^{-1}$	1580cm $^{-1}$ 1486cm $^{-1}$	1061cm $^{-1}$ - 1089 cm $^{-1}$ 975 cm $^{-1}$ 420 cm $^{-1}$ 620cm $^{-1}$	925 cm $^{-1}$ 776cm $^{-1}$	617 cm $^{-1}$ 424 cm $^{-1}$
[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)	1218cm $^{-1}$	1603cm $^{-1}$	1045cm $^{-1}$	731cm $^{-1}$	617cm $^{-1}$

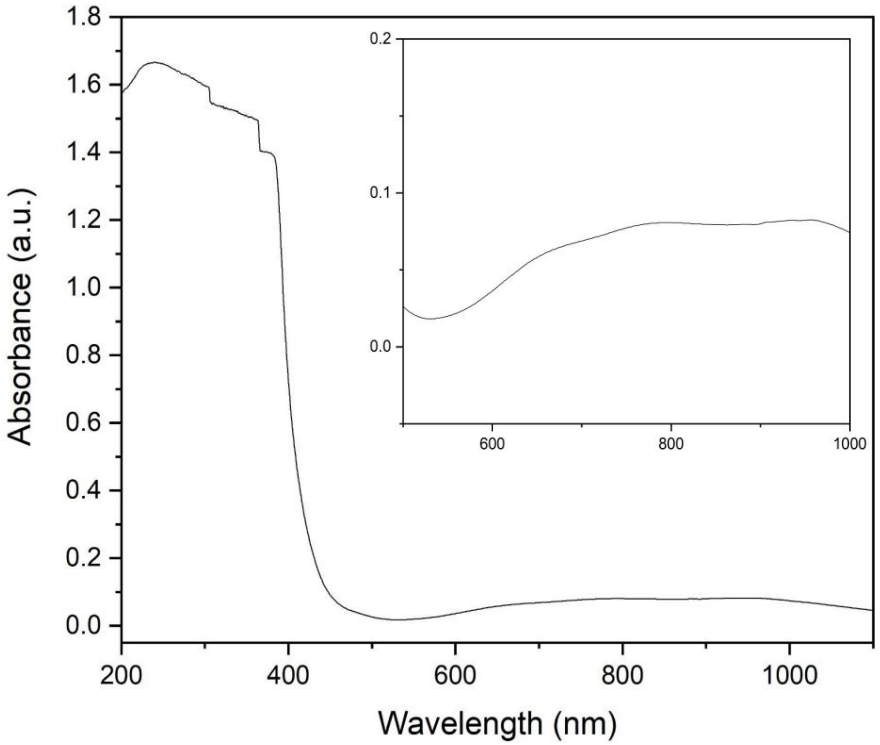
]ClO_4		1499cm $^{-1}$ 1486cm $^{-1}$ 1421cm $^{-1}$	979 cm $^{-1}$ 420 cm^{-} $^{-1}$ 618 cm^{-} $^{-1}$	771cm $^{-1}$	422cm $^{-1}$
[Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO_4)]ClO_4	1220cm $^{-1}$	1600cm $^{-1}$ 1495cm $^{-1}$ 1413cm $^{-1}$	1054 cm $^{-1}$ - 1080 cm $^{-1}$ 979 cm $^{-1}$ 420 cm $^{-1}$ - 620 cm^{-} $^{-1}$	930 cm $^{-1}$ 730cm $^{-1}$ 777cm^{-} $^{-1}$	620cm $^{-1}$ 428cm $^{-1}$
[Cu(pq)$_2$(ClO_4)]ClO_4		1600 cm $^{-1}$ -1400 cm^{-} $^{-1}$	1054 cm $^{-1}$ - 1094 cm $^{-1}$ 977 cm $^{-1}$ 420 cm $^{-1}$ 620 cm $^{-1}$	921 cm $^{-1}$ 774 cm $^{-1}$ 744 cm $^{-1}$	623 cm $^{-1}$ 422 cm $^{-1}$

6.4.2 Φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους (UV-Vis)

Η φασματοσκοπία ορατού υπεριώδους χρησιμοποιήθηκε για τον οπτικό χαρακτηρισμό των συμπλόκων σε διάλυμα με ακετονιτρίλιο. Οι μετρήσεις έγιναν σε διαλύματα πυκνών συγκεντρώσεων, προκειμένου να παρατηρηθούν οι κορυφές στα 600-900 nm, οι οποίες οφείλονται σε απαγορευμένες d-d μεταπτώσεις του μετάλλου και δεν είναι εμφανείς σε μικρότερες συγκεντρώσεις λόγω του μικρού συντελεστή μοριακής απορρόφησης (ε). Στην περιοχή 200-400 nm εντοπίστηκαν σε όλα τα σύμπλοκα ευρείες κορυφές, με πολύ υψηλό ε, που οφείλονται σε π-π μεταπτώσεις των οργανικών υποκαταστατών, λόγω των εκτεταμένων π συστημάτων που διαθέτουν και χαρακτηρίζονται ως ILCT.

[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)$_2$

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε πυκνό διάλυμα συγκέντρωσης 1,43 x 10^{-3} M. Στα 600-900 nm επιβεβαιώθηκαν οι επιθυμητές d-d μεταπτώσεις που υποδεικνύουν τη δημιουργία του συμπλόκου.



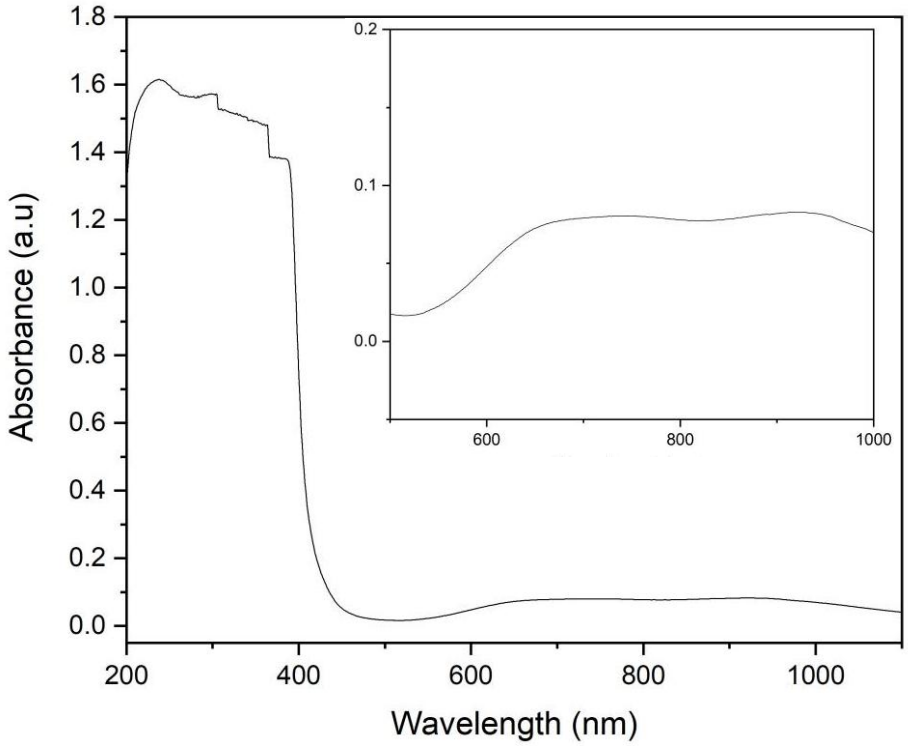
Σχήμα 10: Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$

Πίνακας 7: Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$

λ (nm)	**ε (M^{-1} cm^{-1})**	**Είδος ηλεκτρονιακής μετάπτωσης**
239	1170	π-πx (pq, phendione)
342	1060	π-πx (pq, phendione)
420	420	CT
≈800	56	d-d Cu(II)

$[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε πυκνό διάλυμα συγκέντρωσης 1,30 x 10^{-3} M. Στα 600-900 nm επιβεβαιώθηκαν οι επιθυμητές d-d μεταπτώσεις που υποδεικνύουν τη δημιουργία του συμπλόκου.



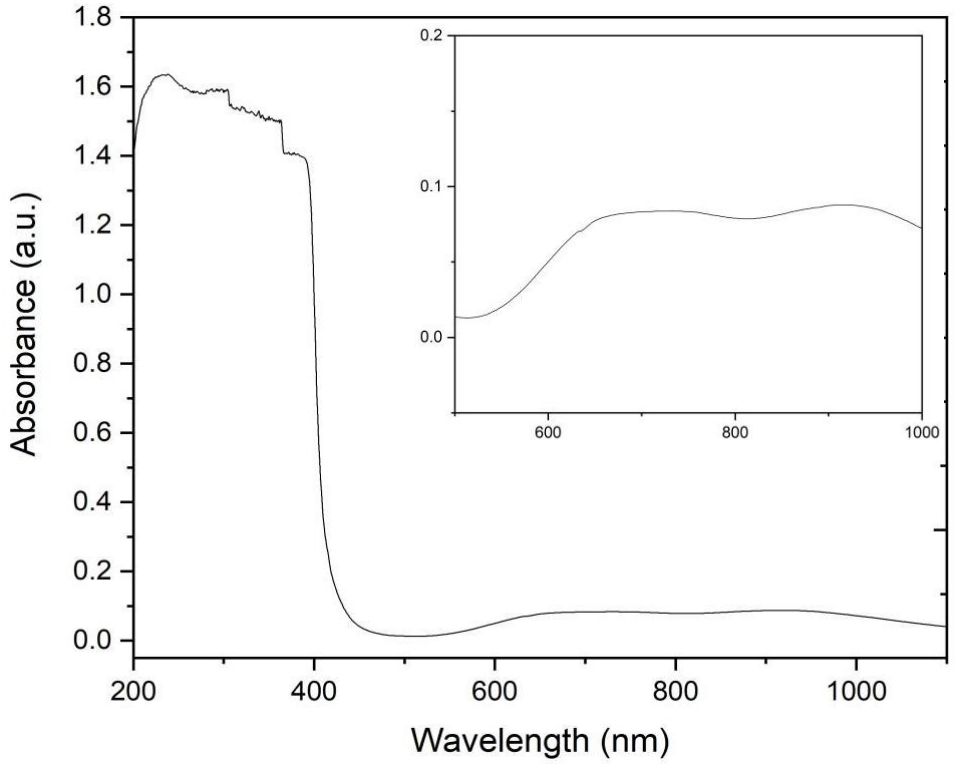
Σχήμα 11: Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$

Πίνακας 8: Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$

λ (nm)	**ε (M^{-1} cm^{-1})**	**Είδος ηλεκτρονιακής μετάπτωσης**
230	1230	π-πx (pq, dppz)
310	1220	π-πx (pq, dppz)
400	751	CT
625	54	d-d Cu(II)
930	65	d-d Cu(II)

$[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)ClO_4]ClO_4$

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε πυκνό διάλυμα συγκέντρωσης 1,24 x 10^{-3} Μ. Στα 600-900 nm επιβεβαιώθηκαν οι επιθυμητές d-d μεταπτώσεις που υποδεικνύουν τη δημιουργία του συμπλόκου.



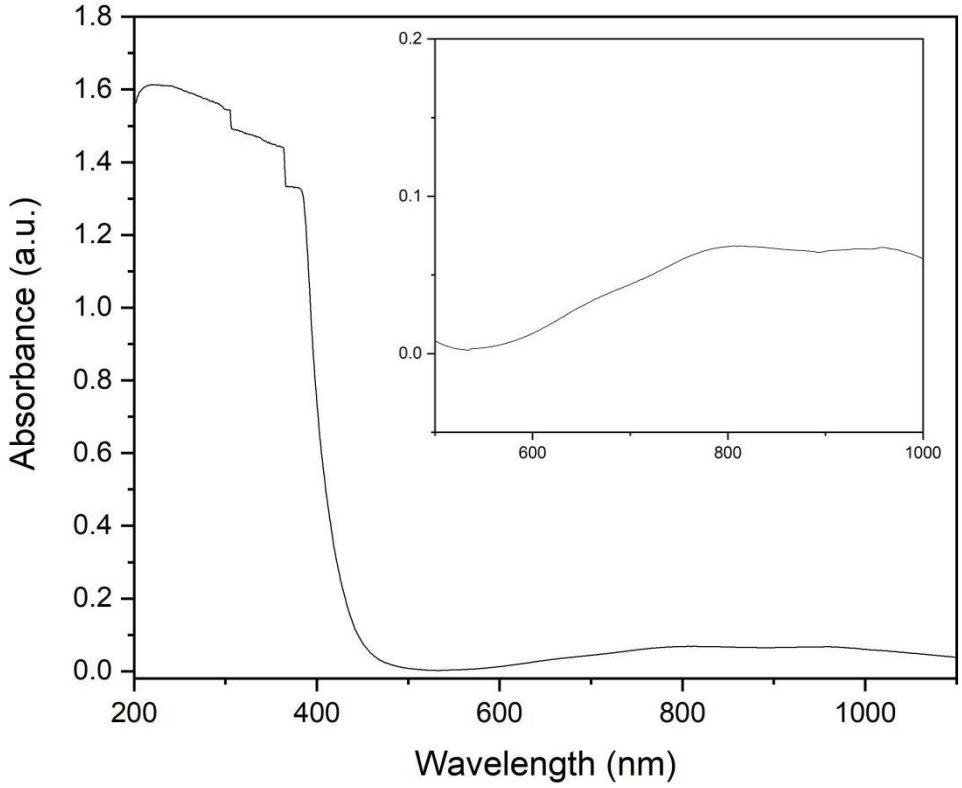
Σχήμα 12: Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$

Πίνακας 9: Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$

λ (nm)	**ε (M^{-1} cm^{-1})**	**Είδος ηλεκτρονιακής μετάπτωσης**
238	1319	π-πx (pq, cl-dppz)
310	1240	π-πx (pq, cl-dppz)
410	289	CT
650	62	d-d Cu(II)
930	71	d-d Cu(II)

$[Cu(pq)_2ClO_4]ClO_4$

Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε πυκνό διάλυμα συγκέντρωσης 0,96 x 10^{-3} M. Στα 600-900 nm επιβεβαιώθηκαν οι επιθυμητές d-d μεταπτώσεις που υποδεικνύουν τη δημιουργία του συμπλόκου.



Σχήμα 13: Φάσμα UV-Vis για στο σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Πίνακας 10: Απόδοση βασικών απορροφήσεωνγια στο σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

λ (nm)	**ε (M^{-1} cm^{-1})**	**Είδος ηλεκτρονιακής μετάπτωσης**
220	1670	π-πx (pq)
365	1510	π-πx (pq)
410	604	CT
780	70	d-d Cu(II)
950	68	d-d Cu(II)

6.4.3. Διαλυτότητα

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος διαλυτότητας των συμπλόκων σε διάφορους διαλύτες και συγκεκριμένα σε νερό, αιθανόλη, ακετονιτρίλιο, *N,*N-διμεθυλο-φορμαμίδιο, διμεθυλο-σουλφοξείδιο, πολυαιθυλενογλυκόλη 400 και μίγμα πολυαιθυλενογλυκόλης με tris-buffer saline (TBS), ώστε να κριθεί ο καταλληλότερος διαλύτης για τη διεξαγωγή των βιολογικών πειραμάτων. Το TBS παρασκευάστηκε με ανάμιξη 394,1

mg Tris-HCl και 1461,2 mg NaCl και αραίωση σε 500 mL με νερό Milli-Q. Το pH ρυθμίστηκε στο 7,0.

[Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

Όσον αφορά το σύμπλοκο [Cu(pq)(phendione(MeCN)]$(ClO_4)_2$, στο νερό ήταν πλήρως διαλυτό αλλά εμφάνισε αμέσως ένα ροζ χρώμα, επομένως ήταν εμφανές ότι το σύμπλοκο καταστράφηκε με πιθανή πορεία αναγωγής προς το σύμπλοκο του χαλκού(I). Σε αιθανόλη, το σύμπλοκο ήταν μη διαλυτό, εμφάνισε εναιώρημα και είχε επίσης ροζ χρώμα, οπότε και σε αυτή την περίπτωση το σύμπλοκο καταστρέφεται. Σε ακετονιτρίλιο, το σύμπλοκο ήταν πλήρως διαλυτό και σταθερό, δεν εμφάνισε αλλαγή χρώματος, σε αντίθεση με το DMSO και το DMF, όπου και στα δύο παρότι διαλυτό, το σύμπλοκο έγινε ροζ. Σε PEG400 το σύμπλοκο ήταν διαλυτό, αλλά εμφάνισε ροζ χροιά η οποία με την παραμονή στο διάλυμα για 10min εξαφανίστηκε και το διάλυμα παρέμεινε άχρωμο. Τέλος, σε διάλυμα PEG400-TBS, το σύμπλοκο εμφάνισε στιγμιαία μία ανοιχτή ροζ χροιά όσο διαλυόταν και αμέσως αποχρωματίστηκε και διαλύθηκε πλήρως, συμπεραίνοντας ότι πιθανόν δεσμεύει διαλύτη σε μία θέση συναρμογής όσο διαλύεται.

[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4

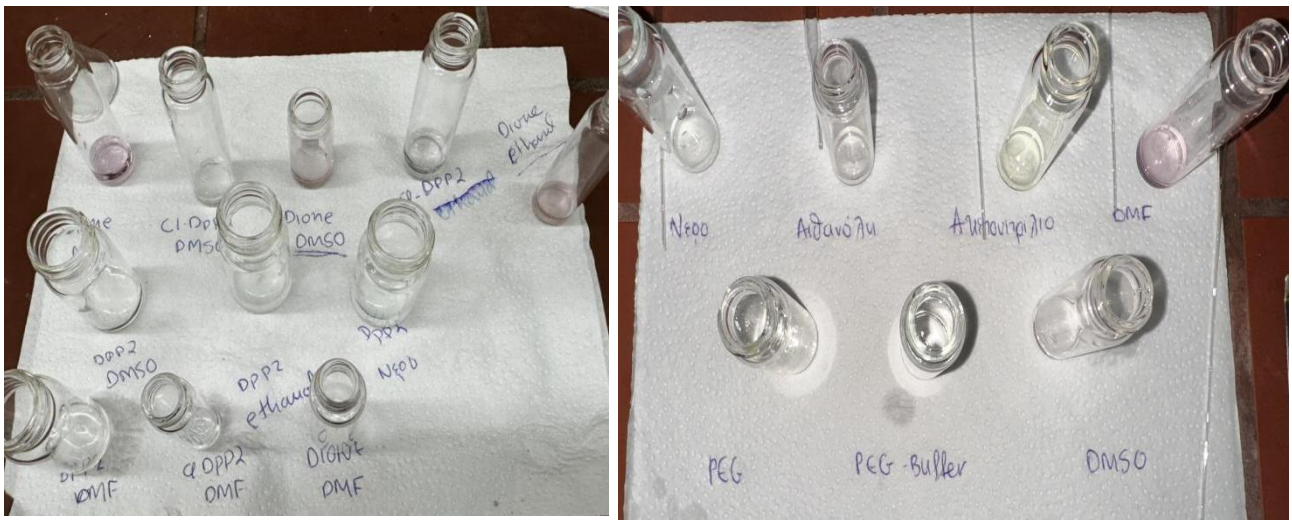
Το σύμπλοκο [Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4 δεν εμφάνισε καλή διαλυτότητα σε νερό και αιθανόλη, δημιουργήθηκε ένα γαλάζιο ίζημα κατά την παραμονή του και στα δύο. Σε ακετονιτρίλιο ήταν πλήρως διαλυτό και σταθερό καθ' όλη την διάρκεια. Σε DMF ήταν επίσης διαλυτό, αλλά όχι σταθερό καθώς στα πρώτα λεπτά το διάλυμα εμφάνισε μία μωβ ανοιχτή χροιά, επομένως το σύμπλοκο χάλασε και ο Cu(II) ανάχθηκε σε Cu(I). Σε PEG400 το σύμπλοκο διαλύθηκε και το διάλυμα εμφάνισε μία πράσινη ανοιχτή χροιά. Σε PEG400-TBS το σύμπλοκο ήταν διαλυτό, εμφάνισε αρχικά μία πράσινη ανοιχτή χροιά, η οποία στην πορεία εξασθένισε. Τέλος σε DMSO το σύμπλοκο ήταν διαλυτό, εμφάνισε αρχικά μία πολύ αχνή πράσινη χροιά και με το πέρασμα των πρώτων λεπτών το διάλυμα ήταν σχεδόν άχρωμο.

[Cu(pq)(Cl-dppz)ClO_4]ClO_4

Το σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$ εμφάνισε παρόμοια αποτελέσματα με το προηγούμενο, καθώς η μόνη τους διαφορά είναι η ύπαρξη ενός επιπλέον μορίου χλωρίου, επομένως δεν επηρέασε τη διαλυτότητα του σε μεγάλο βαθμό. Οι μόνες διαφορές που παρουσιάστηκαν είναι κατά τη διάλυση σε αιθανόλη ότι εμφανίστηκε ένα ροζ διάλυμα εκτός του γαλάζιου ιζήματος που υποδεικνύει την ύπαρξη Cu(I) στο διάλυμα και σε DMF ήταν λιγότερο έντονο το χρώμα του διαλύματος που δημιουργήθηκε.

$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Το σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ εμφάνισε πολύ καλή διαλυτότητα σε όλους τους διαλύτες που δοκιμάστηκαν, αλλά όχι το ίδιο καλή σταθερότητα. Ξεκινώντας, στο νερό το διάλυμα που σχηματίστηκε είχε ένα πολύ ανοιχτό πράσινο χρώμα, το οποίο με την παραμονή του για διάστημα 40min είχε μετατραπεί σε σχεδόν άχρωμο. Στην αιθανόλη, με το πέρασμα της ώρας το διάλυμα αποκτούσε μία ανοιχτή ροζ χροιά, επομένως το σύμπλοκο χάλασε. Σε ακετονιτρίλιο, το σύμπλοκο εμφάνισε λαχανί χρώμα όσο διαλυόταν και παρέμεινε έτσι καθ'όλη την παραμονή του στο διαλύτη. Συνεχίζοντας, σε DMSO, αρχικά το διάλυμα ήταν άχρωμο και με το πέρασμα της ώρας εμφάνισε ροζ χρώμα, γεγονός που παρατηρήθηκε και κατά τη διάλυση σε DMF με τη ροζ χροιά να εμφανίζεται πιο γρήγορα και να είναι πιο έντονη. Σε PEG400 καθώς και σε PEG400-TBS, το διάλυμα αρχικά είχε ένα πολύ ανοιχτό πράσινο χρώμα, το οποίο μετά από 10min αποχρωματίστηκε και παρέμεινε άχρωμο.



Εικ. 11: Απεικόνιση test διαλυτότητας

Πίνακας 11: : Συγκεντρωτικός πίνακας διαλυτοτήτων

	Νερό	***DMF***	***DMSO***	***Ακετονιτρίλιο***	***Αιθανόλη***	***PEG400***	***PEG400-TBS buffer***
1.	Διαλυτή Ροζ χροιά	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	**Διαλυτή, σταθερή**	Μη διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	**Διαλυτή Ανοιχτή πράσινη χροιά**
2.	Μη διαλυτή	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή, ανοιτχτή πράσινη χροιά	**Διαλυτή, σταθερή**	Μη διαλυτή, γαλάζιο ίζημα	Διαλυτή, πράσινη ανοιχτή χροιά	**Διαλυτή, πράσινη ανοιχτή χροιά**
3.	Μη διαλυτή	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή, ανοιτχτή πράσινη χροιά	**Διαλυτή, σταθερή**	Μη διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή, πράσινη ανοιχτή χροιά	**Διαλυτή, πράσινη ανοιχτή χροιά**
4.	Διαλυτή, Ανοιχτή πράσινη χροιά	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	**Διαλυτή, σταθερή**	Μη διαλυτή Αναγωγή σε Cu(I)	Διαλυτή, πράσινη ανοιχτή χροιά	**Διαλυτή, πράσινη ανοιχτή χροιά**

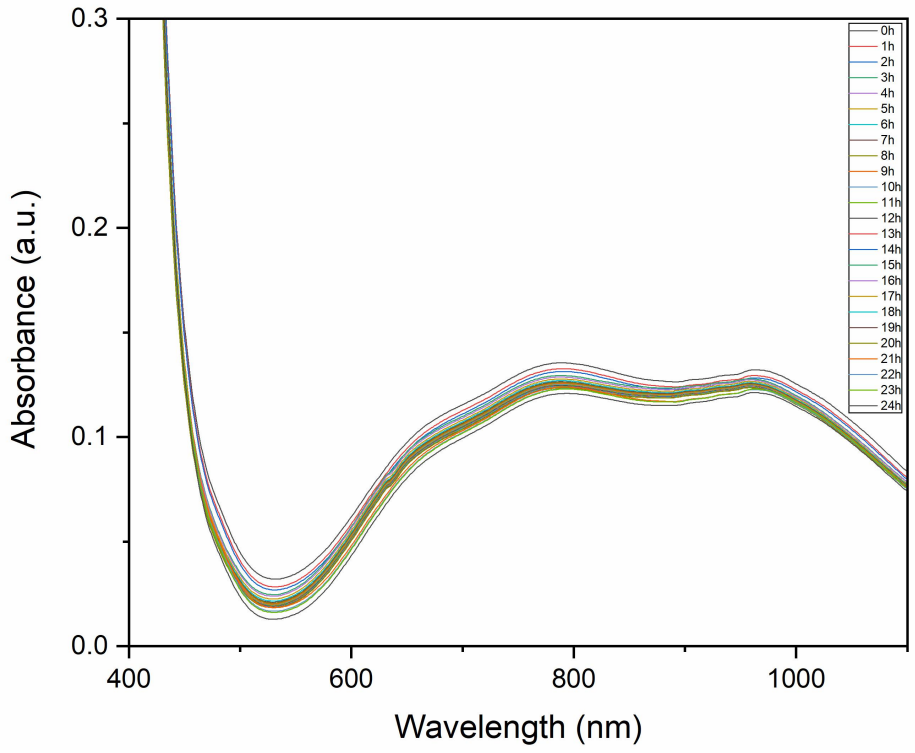
Από τον παραπάνω συγκεντρωτικό πίνακα καθίσταται φανερό ότι μόνο σε διαλύτη ακετονιτρίλιο οι ενώσεις είναι σταθερές και δεν καταστρέφονται. Παρόλα αυτά και σε διαλύτη μίγμα PEG400-TBS buffer 1:1 εμφανίστηκαν καλά αποτελέσματα κατά τις μετρήσεις παρά την αρχική στιγμιαία αλλαγή της διόνης. Για αυτό για τους χαρακτηρισμούς των συμπλόκων χρησιμοποιήθηκε διαλύτης ακετονιτρίλιο και για τα βιολογικά πειράματα μίγμα PEG400-TBS buffer 1:1 ως μία λιγότερο τοξική επιλογή για μελέτη σε DNA και κύτταρα.

6.4.4 Σταθερότητα

Οι μελέτες σταθερότητας για όλα τα σύμπλοκα πραγματοποιήθηκαν σε διαλύτη ακετονιτρίλιο για 24 ώρες και μελετήθηκε η περιοχή 600-900 nm που είναι η περιοχή των d-d μεταβάσεων που υποδεικνύουν το σχηματισμό του συμπλόκου.

[Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

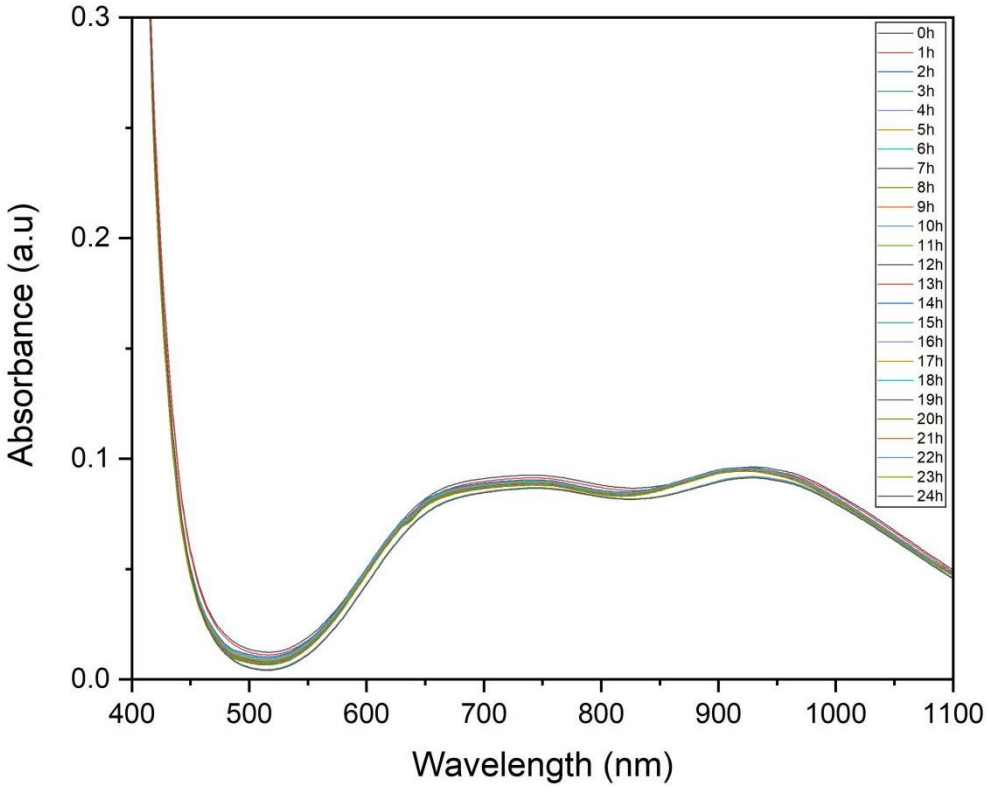
Από το φάσμα παρατηρείται ότι το σύμπλοκο σε διαλύτη ακετονιτρίλιο είναι σταθερό καθώς δεν υπάρχει έντονη ή απότομη αλλαγή της απορρόφησης ή του μέγιστου μήκους κύματος σε διάστημα 24 ωρών. Επίσης δεν εμφανίζονται νέες ζώνες επομένως το σύμπλοκο διατηρείται και δεν καταστρέφεται ή ανάγεται το μεταλλικό κέντρο. Οι απορροφοφήσεις εμφανίζουν ελάχιστο περίπου στα 500 nm. Κάτω απο αυτά, εμφανίζεται μία πολύ απότομη και έντονη αύξηση στις απορροφήσεις, η οποία αποδίδεται σε μεταβάσεις μεταφοράς φορτίου, πιθανώς LMCT, από τα τροχιακά των δύο υποκαταστατών στα d τροχιακά του μετάλλου καθώς και σε ενδομοριακές π-πx μεταπτώσεις από τα αρωματικά συστήματα των υποκαταστατών. Στα 600-900 nm, στην περιοχή των d-d μεταβάσεων, εμφανίζεται μία ευρεία ζώνη με χαμηλές απορροφήσεις λόγω του κανόνα Laporte. Τέλος, λόγω της παραμορφωμένης γεωμετρίας του συμπλόκου, εμφανίζεται και δεύτερη κορυφή μετά τα 900 nm, χαμηλότερης ενέργειας που προκύπτει από τη διάσχιση των d τροχιακών του μετάλλου.



Σχήμα 14: 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$ σε διαλύτη ακετονιτρίλιο

[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4

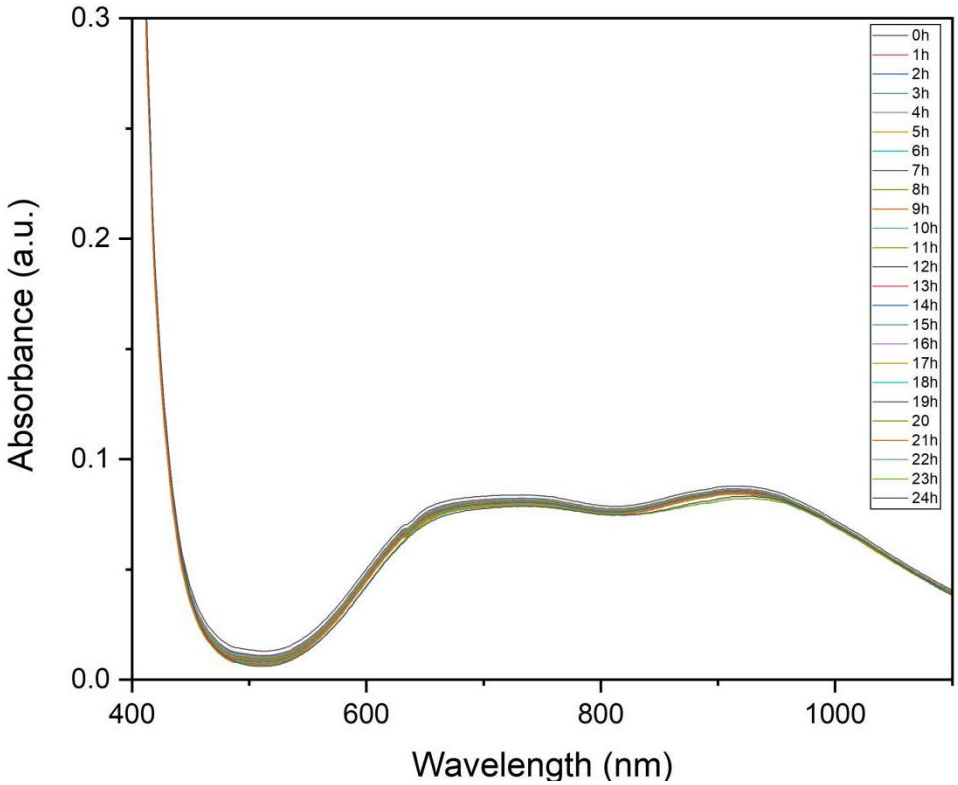
Συνεχίζοντας με το φάσμα του [Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4, παρατηρείται αντίστοιχη μορφή με το προηγούμενο, με λίγο πιο χαμηλές απορροφήσεις και μεγαλύτερη σταθερότητα. Στο συγκεκριμένο φάσμα με το πέρας των 24 ωρών, παρότι υπάρχει μία σταδιακή μείωση των απορροφήσεων, φαίνεται ακόμη μεγαλύτερη επικάλυψη των κορυφών και απουσία απότομων αλλαγών στην απορρόφηση ή στο μήκος κύματος. Αντίστοιχα, σε περιοχή κάτω των 500 nm παρατηρείται απότομη αύξηση στις απορροφήσεις, η οποία αποδίδεται σε μεταβάσεις μεταφοράς φορτίου, πιθανώς LMCT αλλά και ενδομοριακές π-πx λόγω των εκτεταμένων αρωματικών συστημάτων των υποκαταστατών. Στα 600-900 nm παρατηρείται η κορυφή από τις d-d μεταβάσεις του μετάλλου, δίνοντας μία πλατιά ζώνη και μία δεύτερη κορυφή μετά τα 900 nm λόγω της τετραγωνικής παραμόρφωσης του συμπλόκου (Jahn-Teller effect).



Σχήμα 15: 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου [Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4 σε διαλύτη ακετονιτρίλιο

[Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO_4)]ClO_4

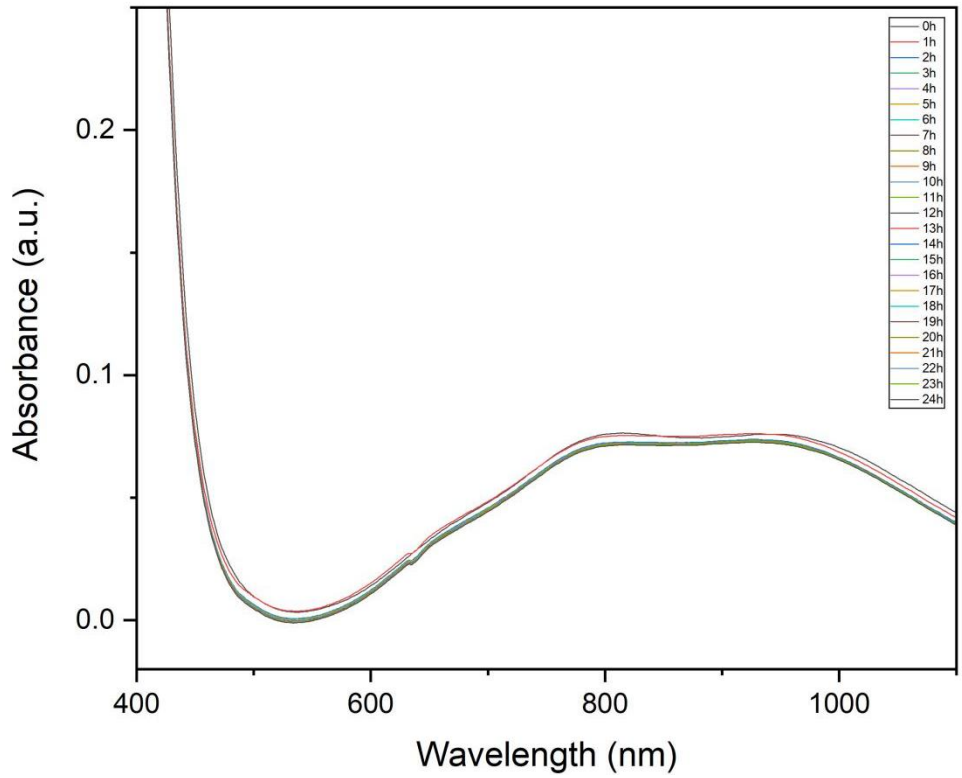
Στο φάσμα του [Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO_4)]ClO_4 παρατηρούνται ακόμα μικρότερες απορροφήσεις σε σχέση με τα δύο προηγούμενα και ακόμη μεγαλύτερη σταθερότητα καθώς οι ζώνες έχουν μικρότερη διαφορά μεταξύ τους. Αντίστοιχα και σε αυτό το φάσμα, κάτω από τα 500 nm εμφανίζεται απότομη αύξηση στις απορροφήσεις από μεταβάσεις μεταφοράς φορτίου, πιθανώς LMCT, αλλά και ενδομοριακές π-π* λόγω των εκτεταμένων αρωματικών συστημάτων των υποκαταστατών. Στα 600-900 nm παρατηρούνται οι d-d μεταπτώσεις του μετάλλου και μετά τα 900 nm παρατηρείται και σε αυτό, η κορυφή που προκύπτει από την παραμόρφωση της γεωμετρίας του συμπλόκου. Η έλλειψη απότομων αλλαγών στις απορροφήσεις και στο μέγιστο μήκος κύματος με το πέρας των ωρών δείχνουν διατήρηση του συμπλόκου στο διαλύτη χωρίς την αλλαγή γεωμετρίας, την αποικοδόμηση ή την αναγωγή του μεταλλικού κέντρου.



Σχήμα 16: 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου [Cu(pq)(Cl-dppz)ClO_4]ClO_4 σε διαλύτη ακετονιτρίλιο

[$Cu(pq)_2$(ClO_4)]ClO_4

Στο φάσμα του $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ οι απορροφήσεις είναι αντίστοιχης έντασης με τα προηγούμενα σύμπλοκα. Με το πέρας των 24 ωρών, δεν παρατηρείται κάποια απότομη αλλαγή στις απορροφήσεις ή στο μέγιστο μήκος κύματος, αντ'αυτού το σύμπλοκο εμφανίζει μία πολύ καλή σταθερότητα στο διαλύτη χωρίς κάποια αλλαγή στη γεωμετρία ή στον αριθμό οξείδωσης του μετάλλου. Κάτω από τα 500 nm εμφανίζεται, όπως σε όλα, μία μεγάλη αύξηση στις απορροφήσεις λόγω μεταπτώσεων μεταφοράς φορτίου, πιθανών LMCT και ενδομοριακών π-π* στο αρωματικό σύστημα του pq. Στα 600-900 nm παρατηρούνται οι δύο κορυφές από τις d-d μεταπτώσεις των τροχιακών του μετάλλου που προκαλούν και την παραμόρφωση της γεωμετρίας του συμπλόκου.



Σχήμα 17: 24ωρη μελέτη UV-Vis του συμπλόκου $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$ σε διαλύτη ακετονιτρίλιο

6.4.5 Φασματομετρία μάζας (HRMS)

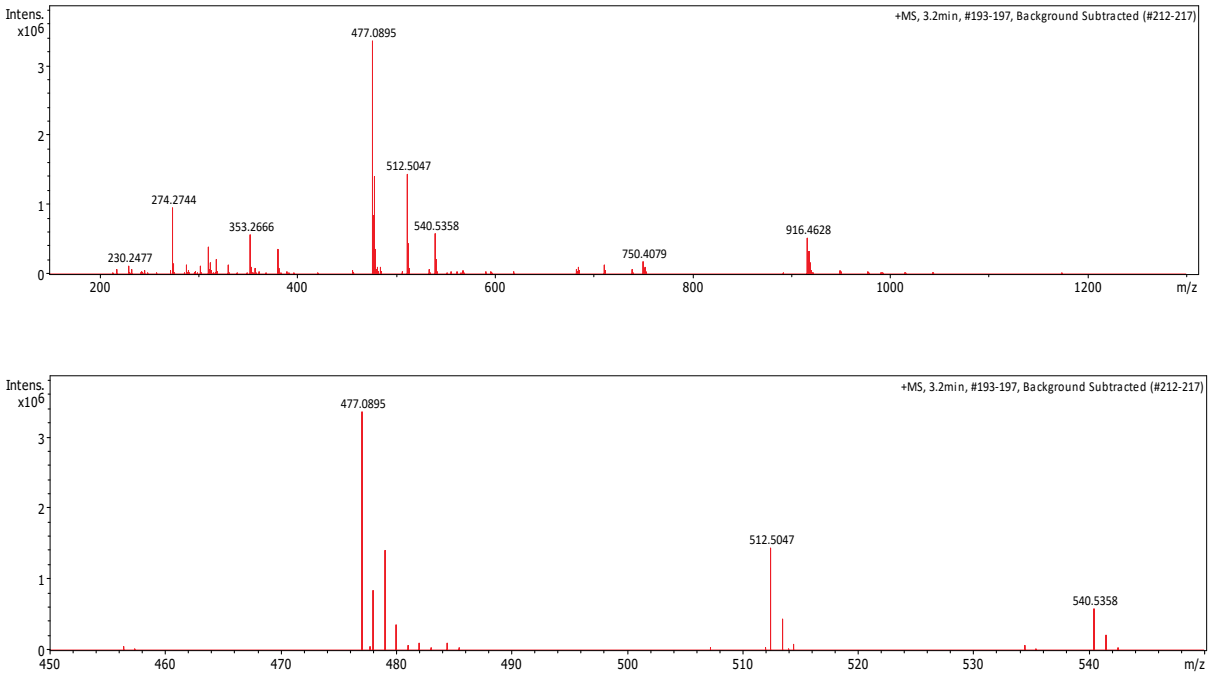
Αναλύθηκαν τα φάσματα HRMS για όλα τα σύμπλοκα και ανιχνεύθηκαν οι επιθυμητές δομές. Σημαντική παρατήρηση είναι ότι συχνά σε συνθήκες ιοντισμού ο Cu(II) ανάγεται σε Cu(I) για αυτό και το m/z δεν είναι πάντα υπολογισμένο με φορτίο

ίσο με δύο αλλά και με ένα. Σημειώνεται ότι για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε ως φέρων διαλύτης μεθανόλη LC-MS grade, επομένως στα αποτελέσματα έχει ληφθεί υπόψιν και το μοριακό της βάρος.

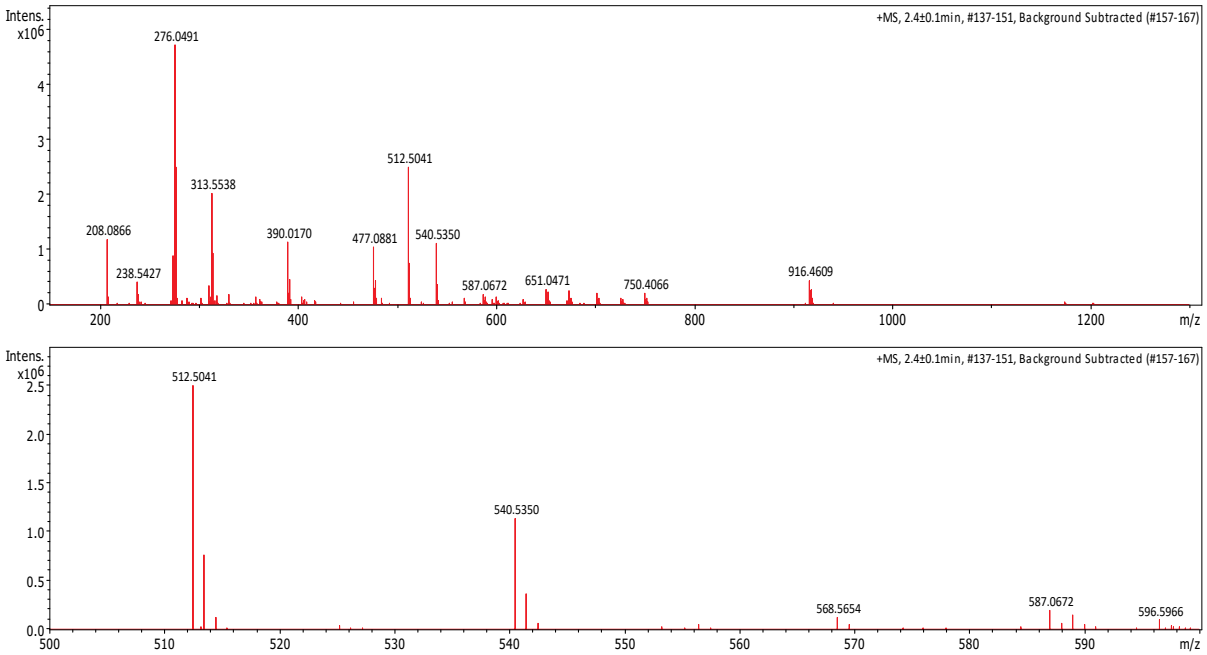
Συνολικά, τα φάσματα HRMS των συμπλόκων με υποκαταστάτες τους pq, phendione, dppz και Cldppz δείχνουν ότι οι συνθήκες μέτρησης σε διαλύτη MeOH ευνοούν μερική αναγωγή προς σχηματισμό συμπλόκων του Cu(I), τα οποία στη συνέχεια υφίστανται αντιδράσεις ανακατανομής των υποκαταστατών (scrambling) και εμφάνιση ομοληπτικών συμπλόκων στο φάσμα μάζας, όπως είναι γνωστό και από τη βιβλιογραφία [47]. Για το σύμπλοκο $[Cu(pq)_2]^{2+}$, παρατηρείται καθαρά το ιόν σε m/z 238.5432, ενώ ταυτόχρονα εμφανίζεται έντονο σήμα σε m/z 477.0896, συμβατό με το μονοκατιοντικό ανηγμένο $[Cu(pq)_2]^{+}$. Το ίδιο ιόν $[Cu(pq)_2]^{+}$ παρατηρείται συστηματικά και στα ετεροληπτικά σύμπλοκα, υποδεικνύοντας ότι σχηματίζεται εύκολα στις συνθήκες μέτρησης του HRMS. Στο φάσμα μάζας του $[Cu(pq)(phendione)]^{2+}$ το κύριο σήμα αντιστοιχεί στο $[Cu(pq)_2]^{+}$, χωρίς σαφή και αδιαμφισβήτητη ένδειξη για το ετεροληπτικό ιόν. Αντίθετα, Στο φάσμα μάζας του $[Cu(pq)(dppz)]^{2+}$ ανιχνεύεται καθαρά το ετεροληπτικό δικατιοντικό $[Cu(pq)(dppz)]^{2+}$ σε m/z 276.0491, ενώ παράλληλα εμφανίζονται τα σύμπλοκα λόγω ανακατανομής υποκαταστατών $[Cu(dppz)_2]^{2+}$ και $[Cu(pq)_2]^{+}$. Στο φάσμα μάζας του $[Cu(pq)(Cldppz)]^{2+}$, το κυρίαρχο σήμα είναι πάλι το $[Cu(pq)_2]^{+}$ σε m/z 477.0886, ενώ τα αναμενόμενα ετεροληπτικά κατιοντικά $[Cu(pq)(Cldppz)]^{2+}$ ή $[Cu(pq)(Cldppz)]^{+}$ δεν παρατηρούνται ως κύρια σήματα. Επομένως, τα δεδομένα HRMS υποστηρίζουν την ύπαρξη συμπλόκων χαλκού με τους αντίστοιχους υποκαταστάτες, αλλά πρέπει να ερμηνευθούν με προσοχή ως προς την οξειδωτική κατάσταση και τη στοιχειομετρία τους.

Η συστηματική παρουσία του $[Cu(pq)_2]^{+}$ δείχνει ότι η αναγωγή Cu(II) → Cu(I) και η ανακατανομή των υποκαταστατών είναι ταχείες διεργασίες σε διαλύτη MeOH κατά την προετοιμασία του δείγματος και τη μέτρηση των φασμάτων μάζας. Συνεπώς, η δομική ταυτοποίηση των αρχικών πράσινων ετεροληπτικών συμπλόκων Cu(II) αποδεικνύεται κυρίως από την κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ, επικουρικά από φασματοσκοπία UV-vis, ενώ η HRMS χρησιμοποιείται συμπληρωματικά ως ένδειξη για την επιτυχή συμπλοκοποίηση. Η απουσία σαφών προϊόντων όπου η μεθανόλη είναι συμπλεγμένη καθώς και η κυριαρχία του $[Cu(pq)_2]^{+}$ συμφωνούν με την παρατηρούμενη μεταβολή του χρώματος των συμπλόκων σε μεθανόλη, γεγονός

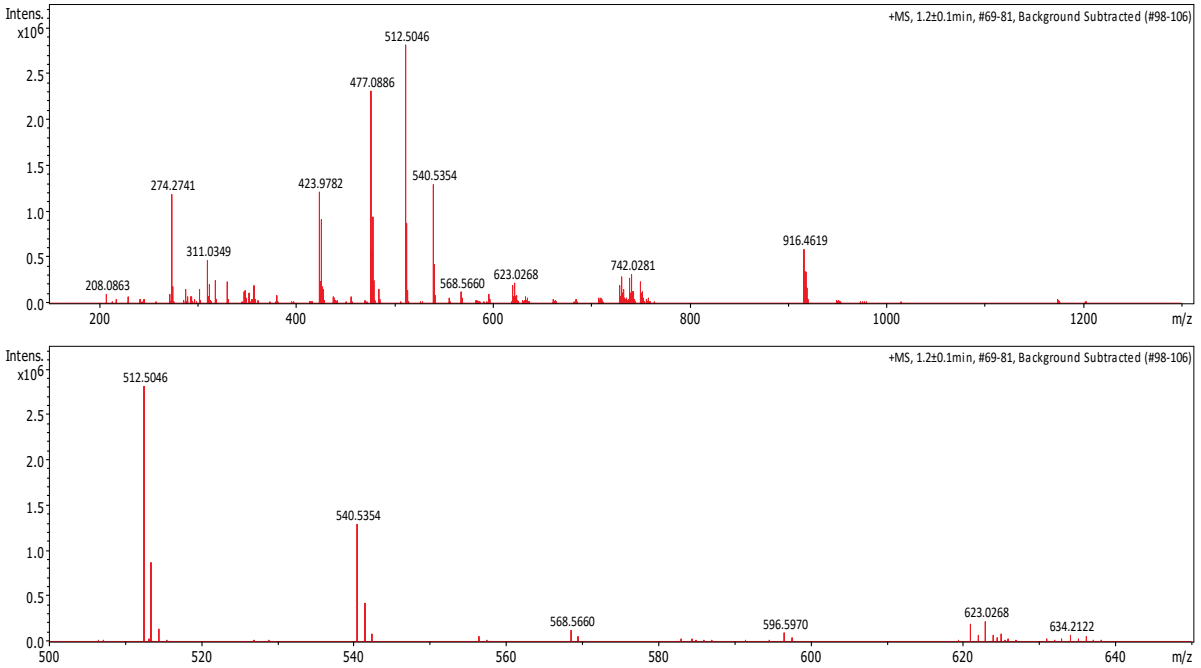
που υποδηλώνει ότι ο διαλύτης έχει πολυσύνθετο ρόλο, διευκολύνοντας την αναγωγή των συμπλόκων και την ανακατανομή των υποκαταστατών.



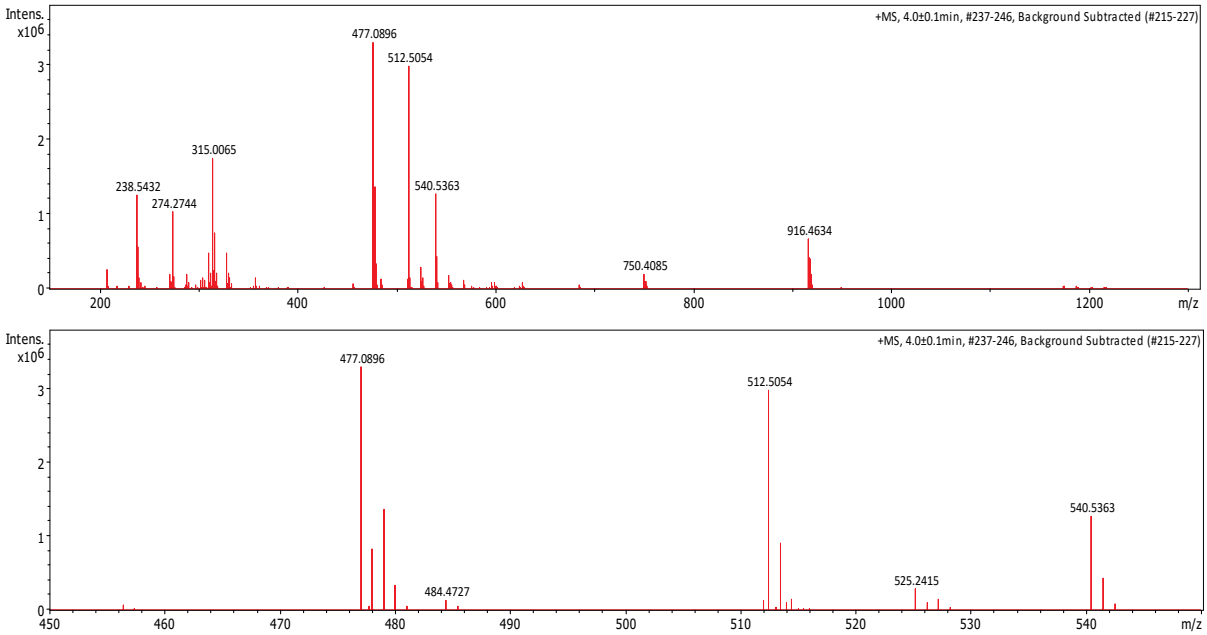
Σχήμα 18: Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$



Σχήμα 19: Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4$



Σχήμα 20: Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)(Cl\text{-}dppz)(ClO_4)]ClO_4$



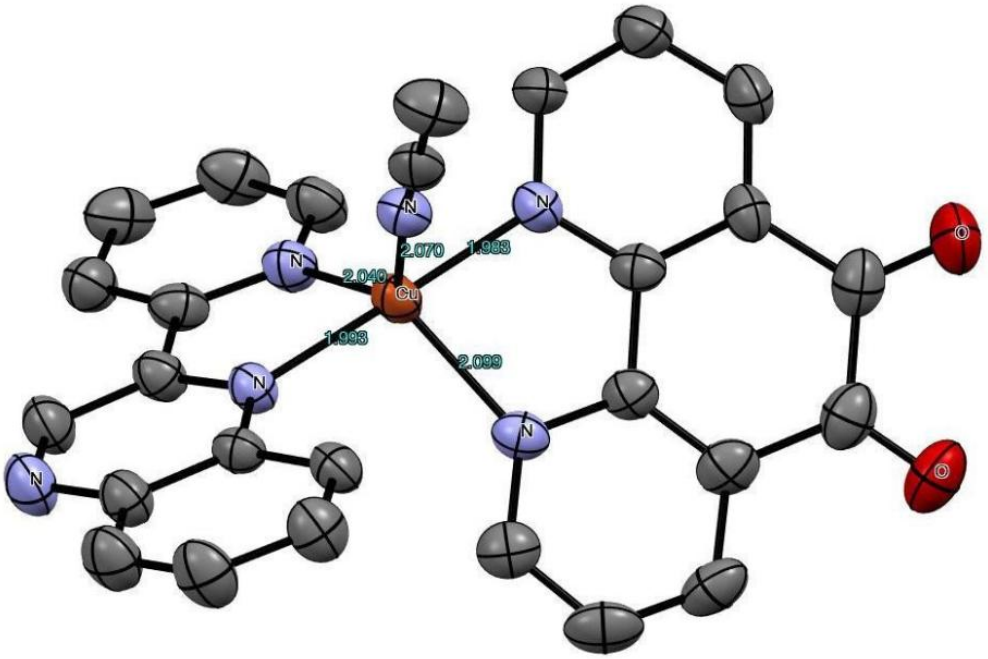
Σχήμα 21: Φάσμα MS για το σύμπλοκο $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

6.4.6. Περίθλαση Ακτίνων-Χ μονοκρυστάλλου (single crystal XRD)

$[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$

Το σύμπλοκο με τη διόνη αναλύθηκε με τη μέθοδο single crystal XRD, έχοντας απομονώσει κρυστάλλους με τη μέθοδο διάχυσης ατμών αιθέρα σε διάλυμα σε ακετονιτρίλιο μέσω της οποίας λήφθησαν οι παρακάτω πληροφορίες. Αρχικά το κρυσταλλικό σύστημα είναι μονοκλινικό με ομάδα χώρου P21/c. Καθίσταται φανερό ότι το σύμπλοκο έχει κρυσταλλώσει και έχει δεσμεύσει και τους δύο επιθυμητούς υποκαταστάτες, τη διόνη και το pq. Εκτός από αυτούς σε μία θέση συναρμογής, το σύμπλοκο έχει δεσμεύσει και διαλύτη, ακετονιτρίλιο. Το σύμπλοκο έχει υιοθετήσει γεωμετρία παραμορφωμένης τετραγωνικής πυραμίδας, το οποίο είναι χαρακτηριστικό των συμπλόκων του χαλκού(II). Το μεταλλικό κέντρο είναι πεντα-υποκατεστημένο με δύο διδοντικούς υποκαταστάτες που συνδέονται με το χαλκό μέσω αζώτων και με έναν πέμπτο δεσμό από ένα μόριο διαλύτη επίσης μέσω αζώτου. Ο λόγος της παραμόρφωσης είναι οι ογκώδεις και άκαμπτοι υποκαταστάτες που φέρουν επίπεδα αρωματικά συστήματα. Το pq έχει δύο θέσεις συναρμογής μέσω των αζώτων, που εμφανίζουν διαφορετικό μήκος δεσμών με το μέταλλο και επομένως διαφορετικές ικανότητες να δώσουν ηλεκτρόνια ως δότες μέσω των σ-δεσμών που δημιουργούν. Συγκεκριμένα, το άζωτο της κινοξαλίνης δημιουργεί δεσμό 1.993 Å και το άζωτο του πυριδυλικού δακτυλίου 2.040 Å. Βιβλιογραφικά το αναμενόμενο θα ήταν το άζωτο της κινοξαλίνης να δημιουργούσε μεγαλύτερο δεσμό καθώς διαθέτει μεγαλύτερη ικανότητα να δίνει σ ηλεκτρόνια συγκριτικά με τον πυριδυλικό δακτύλιο. [5] Αυτό συμβαίνει διότι ο Cu(II) στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι πενταϋποκατεστημένος και ο πυριδυλικός δακτύλιος έχει επιμηκυνθεί λόγω της ύπαρξης ακετονιτριλίου που καταλαμβάνει την αξονική θέση και παραμορφώνει περισσότερο τη γεωμετρία του συμπλόκου.

Η κρυσταλλική δομή που έχει ληφθεί έρχεται σε αντίθεση με το φάσμα IR που αναλύθηκε προηγουμένως, στο οποίο ήταν φανερό ότι στο σύμπλοκο υπήρχαν και υπερχλωρικά ιόντα, ενώ δεν εμφανίστηκε κορυφή που αντιστοιχεί στον τριπλό δεσμό C-N του ακετονιτριλίου. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε πιθανή ευκινησία του συμπλόκου, το οποίο παρότι κατά την σύνθεση του δεσμεύει υπερχλωρικό ιόν στην πέμπτη θέση συναρμογής του χαλκού, κατά τη διάλυση του σε ακετονιτρίλιο, ένα μόριο διαλύτη παίρνει τη θέση του.



Σχήμα 22: Απεικόνιση μονοκρυστάλλου του συμπλόκου [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

Πίνακας 12: Μήκη και γωνίες δεσμών [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

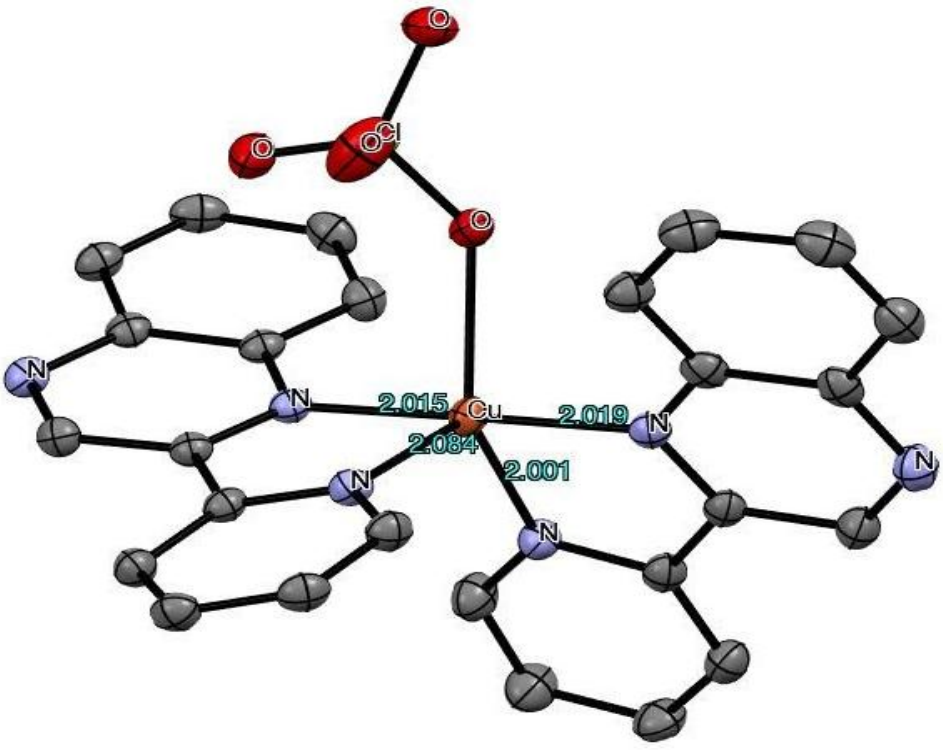
Άτομα	***Μήκος δεσμού***	***Άτομα***	***Γωνίες δεσμών***
Cu(1) - N(4)	2.099 Å	N(1) - Cu(1) - N(4)	99.17°
Cu(1) - N(3)	2.040 Å	N(4) - Cu(1) - N(5)	81.19°
Cu(1) - N(1)	1.993 Å	N(5) - Cu(1) - N(6)	88.8°
Cu(1) - N(6)	2.070 Å	N(6) - Cu(1) - N(3)	129.3°
Cu(1) - N(5)	1.983 Å	N(3) - Cu(1) - N(1)	81.01°

[Cu(pq)(dppz)(ClO_4)]ClO_4 και [Cu(pq)(Cl-dppz)(ClO_4)]ClO_4

Τα σύμπλοκα με τα dppz δεν κρυστάλλωσαν και δεν εμφάνισαν αποτέλεσμα στο XRD. Αντί αυτών, φάνηκε να δημιουργήθηκε το ομοληπτικό σύμπλοκο που θα αναλυθεί παρακάτω, με τα δύο pq ως υποκαταστάτες. Το γεγονός ότι δεν κρυστάλλωσαν δεν σημαίνει ότι δεν δημιουργήθηκαν τα σύμπλοκα, είναι πιθανό να χάλασαν στην πορεία ή να μην είναι τόσο σταθερά και να ευνοείται ο σχηματισμός του ομοληπτικού συμπλόκου αντί αυτών. Το ζήτημα αυτό χρήζει περαιτέρω διερεύνησης με την εκπόνηση συμπληρωματικών πειραμάτων και χαρακτηρισμών. Για αυτό το λόγο, η μελέτη της βιολογικής δραστικότητας πραγματοποιήθηκε μόνο για τα σύμπλοκα [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$ και [Cu$(pq)_2$$(ClO_4)$]$ClO_4$.

$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Το σύμπλοκο με τα δύο pq αναλύθηκε και αυτό με single crystal XRD (κρυσταλλικό σύστημα μονοκλινικό με ομάδα χώρου P21/c). Είναι εμφανής η δημιουργία του ομοληπτικού συμπλόκου, καθώς και η δέσμευση ενός ιόντος υπερχλωρικών (ClO_4^-) όπως απορρέει και από το φάσμα IR που ελήφθη προηγουμένως. Το σύμπλοκο εμφανίζει και αυτό γεωμετρία παραμορφωμένης τετραγωνικής πυραμίδας λόγω του pq και του υπερχλωρικού ιόντος στην πέμπτη θέση συναρμογής. Όσον αφορά το pq όπως αναφέρθηκε και στο σύμπλοκο 1, δημιουργεί δεσμούς με μήκος 2.019 και 2.015 Å μέσω του αζώτου της κινοξαλίνης και 2.001 και 2.084 Å μέσω του αζώτου του πυριδυλικού δακτυλίου. Και σε αυτή την περίπτωση παρατηρείται το ίδιο φαινόμενο όσον αφορά τους δεσμούς των αζώτων, καθώς και εδώ ο Cu είναι πενταϋποκατεστημένος και δημιουργείται μία ασσυμετρία γύρω από το μεταλλικό κέντρο



Σχήμα 23: Απεικόνιση μονοκρυστάλλου του συμπλόκου $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Πίνακας 13: Μήκη και γωνίες δεσμών $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

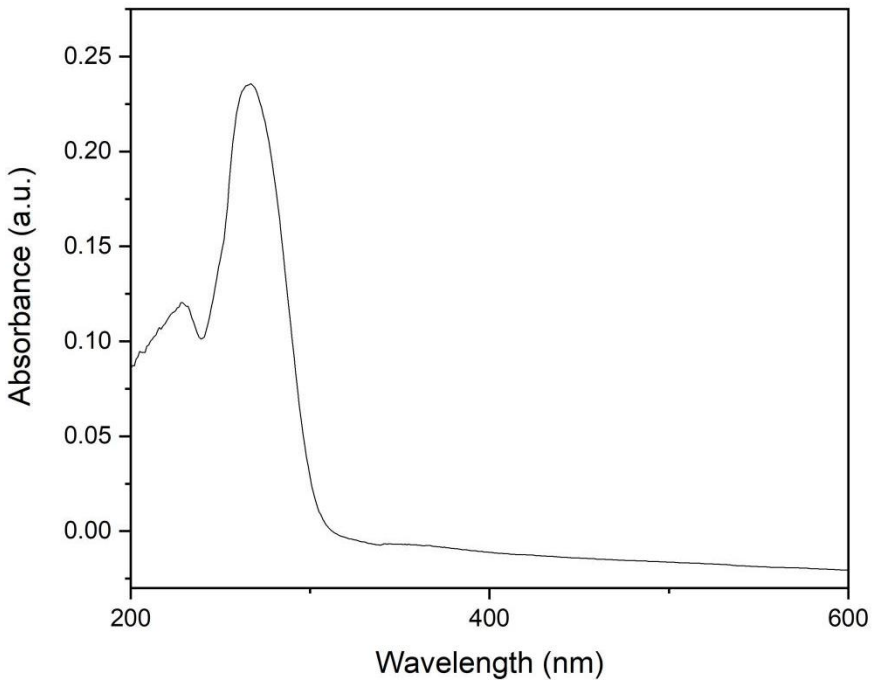
Άτομα	*Μήκος δεσμού*	*Άτομα*	*Γωνίες δεσμών*
Cu(1) - N(2)	2.001 Å	N(4) - Cu(1) - O(1)	88.48°
Cu(1) - N(1)	2.019 Å	O(1) - Cu(1) - N(1)	92.46°
Cu(1) - N(4)	2.015 Å	N(1) - Cu(1) - N(2)	82.23°
Cu(1) - N(5)	2.084 Å	N(2) - Cu(1) - N(5)	112.88°
Cu(1) - O(1)	2.139 Å	N(5) - Cu(1) - N(4)	80.29°

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

7.1. Παρασκευή διαλύματος CT-DNA

Πραγματοποιήθηκε παρασκευή διαλύματος DNA με διάλυση ινών φυσικού DNA από θύμο αδένα βοοειδούς σε ποσότητα 5 mg σε 5 mL διαλύματος buffer TBS (pH=7.0). Το διάλυμα αφέθηκε πωματισμένο για ανάδευση για 24 ώρες σε επώαση στους 25°C. Η συγκέντρωση του πυκνού διαλύματος DNA που προέκυψε, υπολογίστηκε ίση με 3.6 x 10^{-5} M, από τη μέτρηση της απορρόφησης με φασματοσκοπία UV-Vis, εφόσον είναι γνωστό ότι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης στα 258 nm είναι ίσος με 6600 M^{-1} cm^{-1}. Προκειμένου να αποφανθούμε αν το DNA είναι ελεύθερο πρωτεϊνών υπολογίζεται ο λόγος 260:280 που είναι δείκτης καθαρότητας του DNA, ο οποίος στην προκειμένη είναι ίσος με 1,33. Θεωρητικά από τη βιβλιογραφία ο λόγος αυτός ισούται με 1,8 όταν πρόκειται για DNA ελεύθερο πρωτεϊνών καθώς στα 260 nm είναι το μέγιστο μήκος κύματος απορρόφησης του DNA και στα 280 nm των πρωτεϊνών. Παρ'ολα αυτά δεδομένου ότι ως συνδιαλύτης έχει χρησιμοποιηθεί PEG400, η οποία απορροφά σημαντικά σε λ < 300, είναι πιθανό να ευθύνεται γα την αυξημένη απορρόφηση στα 280 nm.



Σχήμα 24: Φάσμα UV-Vis CT-DNA

7.2 Κινητική μελέτη διαλυμάτων συμπλόκων με CT-DNA

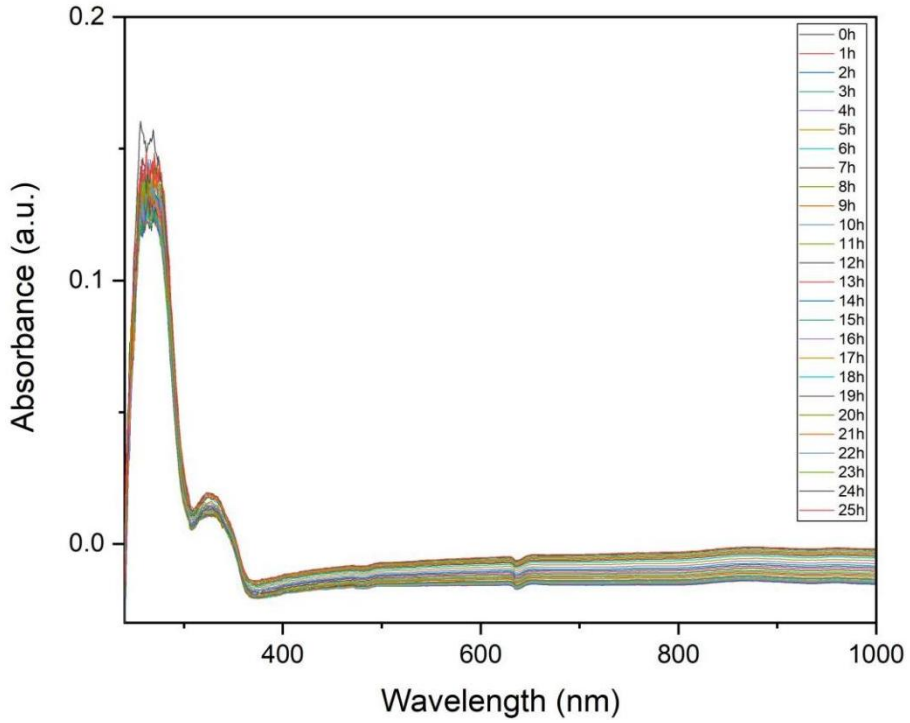
Το πρώτο βήμα της μελέτης της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA είναι η 24ωρη κινητική παρακολούθηση των διαλυμάτων συμπλόκου - CT-DNA προκειμένου να εξαχθεί συμπέρασμα τόσο για τη σταθερότητα των διαλυμάτων όσο και για τον τρόπο σύνδεσης με το DNA.

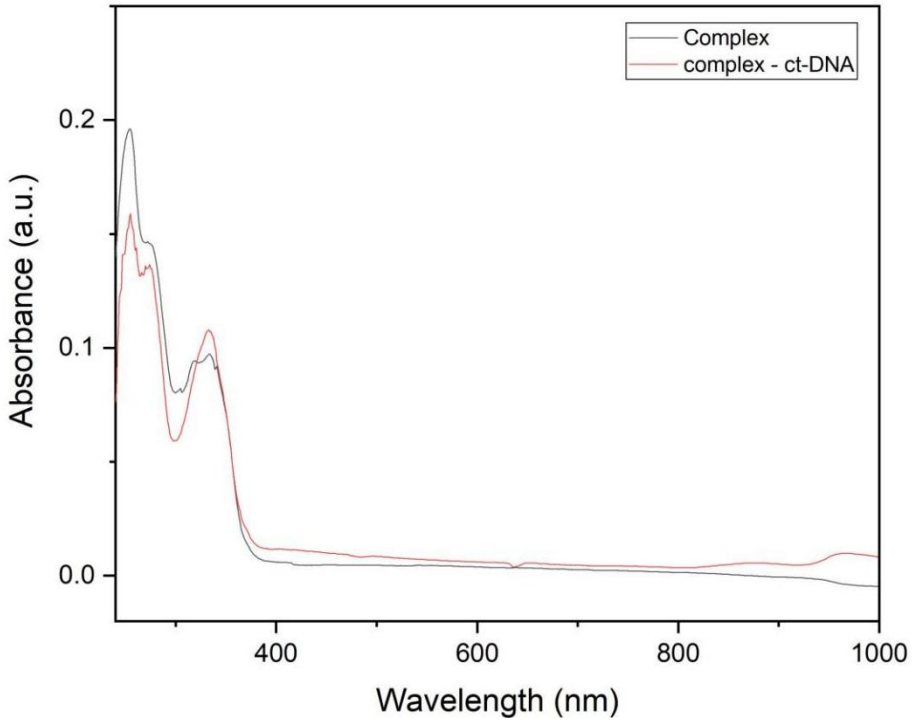
Για να γίνει αυτό, παρασκευάστηκαν διαλύματα συμπλόκου - CT-DNA με συγκεντρώσεις στο τελικό διάλυμα ίσες μεταξύ τους 1,6 10^{-5} M σε διαλύτη PEG400-TBS buffer 1:1 και διεξήχθη 24ωρη παρακολούθηση με UV-Vis φασματοσκοπία σε πωματισμένες κυψελίδες οπτικής διαδρομής 1,0 cm.

[Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

Κατά την 24ωρη παρακολούθηση του πρώτου συμπλόκου με το DNA, η μεγαλύτερη κορυφή εντοπίζεται στο λmax του DNA γύρω στα 260 nm. Οι κορυφές στο σημείο αυτό δεν είναι αρκετά ξεκάθαρες, αλλά φαίνεται ότι το σύμπλοκο αλληλεπιδρά με το DNA. Δεν παρατηρείται κάποια σημαντική μεταβολή της έντασης ή μετατόπιση του λmax του DNA με το πέρασμα του χρόνου. Επίσης δεν εμφανίζονται νέες κορυφές

που δεν υπάρχουν στο φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου, άρα δεν υπάρχει κάποια περαιτέρω μεταβολή ή αλλοίωση στη γεωμετρία του συμπλόκου ή στον αριθμό οξείδωσης του μετάλλου. Η απορρόφηση του DNA στο λmax έχει μειωθεί σε σχέση με το σκέτο DNA που ήταν στο 0,24, το οποίο είναι δείγμα υποχρωμισμού. Σε γενικότερο επίπεδο, η σταθερότητα του συμπλόκου είναι ικανοποιητική και από τις 24 ώρες και έπειτα δεν παρατηρείται καμία αξιοσημείωτη μεταβολή στο φάσμα απορρόφησης. Η μικρή αύξηση γύρω στα 800 nm αποδίδεται στις d-d μεταπτώσεις του συμπλόκου, το οποίο δείχνει ότι έχει πραγματοποιηθεί επιτυχώς η επώαση του DNA με το σύμπλοκο.

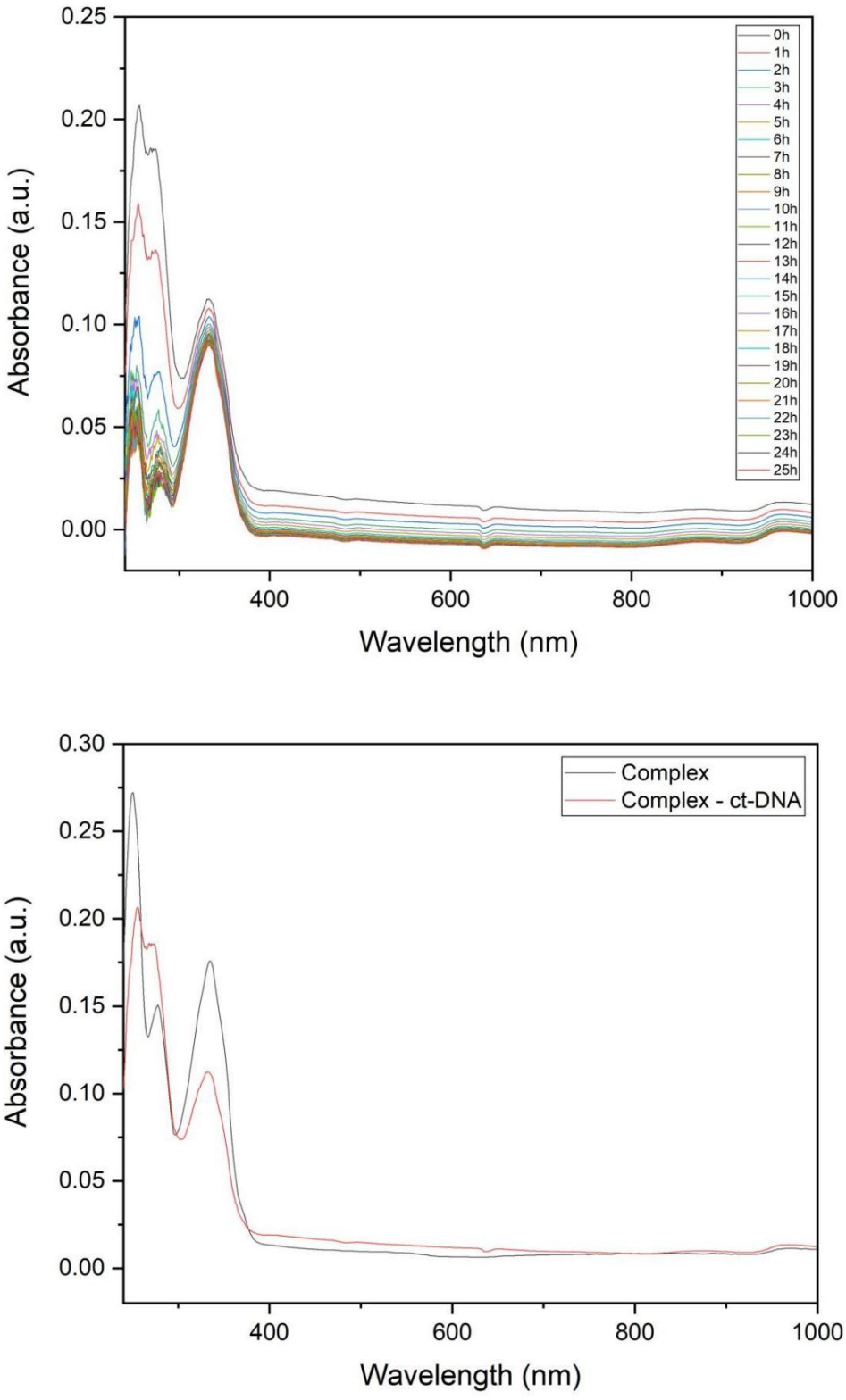




Σχήμα 25: 24ωρη μελέτη UV-Vis της αλληλεπίδρασης CT-DNA με [Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO$_4$)$_2$

[Cu(pq)$_2$(ClO$_4$)]ClO$_4$

Στο ομοληπτικό σύμπλοκο παρατηρείται μία μεγαλύτερη διαφορά στις πρώτες ώρες από ότι στο σύμπλοκο με τη διόνη. Η απορρόφηση μειώνεται αρκετά κατά το πέρας των τριών πρώτων ωρών, ενώ η απορρόφηση στο μέγιστο μήκος του DNA κατά την πρώτη μέτρηση πλησιάζει πολύ την απορρόφηση του σκέτου DNA. Αυτό υποδηλώνει πως το ομοληπτικό σύμπλοκο κατά πάσα πιθανότητα χρειάζεται περισσότερο χρόνο για να αλληλεπιδράσει με το DNA, καθώς μετά την τρίτη ώρα οι ζώνες απορρόφησης έχουν πολύ καλύτερη αλληλεπικάλυψη και δείχνουν μεγαλύτερη σταθερότητα στο διάλυμα. Και σε αυτή τη μελέτη η πιο έντονη κορυφή είναι στο λmax του DNA και παρατηρείται σταδιακά μείωση της απορρόφησης του DNA άρα και εδώ παρατηρείται υποχρωμισμός. Δεν παρατηρούνται έντονες μετατοπίσεις ή καινούριες κορυφές που δεν αναμένονται στο φάσμα του συμπλόκου, επομένως το σύμπλοκο διατηρείται και δεν καταστρέφεται ή αλλοιώνεται. Η μικρή αύξηση γύρω στα 800 nm αποδίδεται στις d-d μεταπτώσεις του συμπλόκου, το οποίο δείχνει ότι έχει πραγματοποιηθεί επιτυχώς η επώαση του DNA με το σύμπλοκο.



Σχήμα 26: 24ωρη μελέτη UV-Vis της αλληλεπίδρασης CT-DNA με $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

7.3. Τιτλοδότηση UV-Vis

Το δεύτερο βήμα της μελέτης της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA είναι η τιτλοδότηση με φασματοσκοπία υπεριώδους ορατού. Για να γίνει αυτό, παρασκευάστηκαν διαλύματα με διαφορετικούς λόγους συγκεντρώσεων DNA και συμπλόκου, με το δεύτερο να διατηρεί σταθερή συγκέντρωση, ενώ η συγκέντρωση του DNA ήταν μεταβλητή. Από την τιτλοδότηση μπορεί να εξαχθεί ένα πρώτο συμπέρασμα για το είδος της αλληλεπίδρασης μεταξύ συμπλόκου και DNA. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, εάν όσο αυξάνεται ο λόγος [DNA] / [σύμπλοκο], μειώνεται η απορρόφηση του σε συγκεκριμένο μήκος κύματος, η σύνδεση γίνεται μέσω παρεμβολής, ενώ στην αντίθετη περίπτωση, αν η απορρόφηση αυξάνεται, γίνεται μέσω εξωτερικής συναρμογής. Στην πρώτη περίπτωση παρατηρείται υποχρωμισμός, ενώ στη δεύτερη υπερχρωμισμός [30].

Για την τιτλοδότηση, παρασκευάστηκαν διαλύματα συμπλόκου-CT-DNA, τα οποία επωάστηκαν για 24h σε ρυθμιστικό διάλυμα PEG400-TBS και στη συνέχεια μετρήθηκε η απορρόφηση τους.

Μέσω αυτών των απορροφήσεων υπολογίστηκε η σταθερά σύνδεσης του συμπλόκου K_b με βάση τον παρακάτω τύπο:

$$\frac{[DNA]}{\varepsilon_\alpha - \varepsilon_f} = \frac{[DNA]}{\varepsilon_b - \varepsilon_f} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)}$$

Όπου ε_α : ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος του κάθε διαλύματος (υπολογίζεται ως A_{obs}/ [complex])

ε_f : ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης του ελεύθερου συμπλόκου

ε_b : ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης του δεσμευμένου με το DNA συμπλόκου

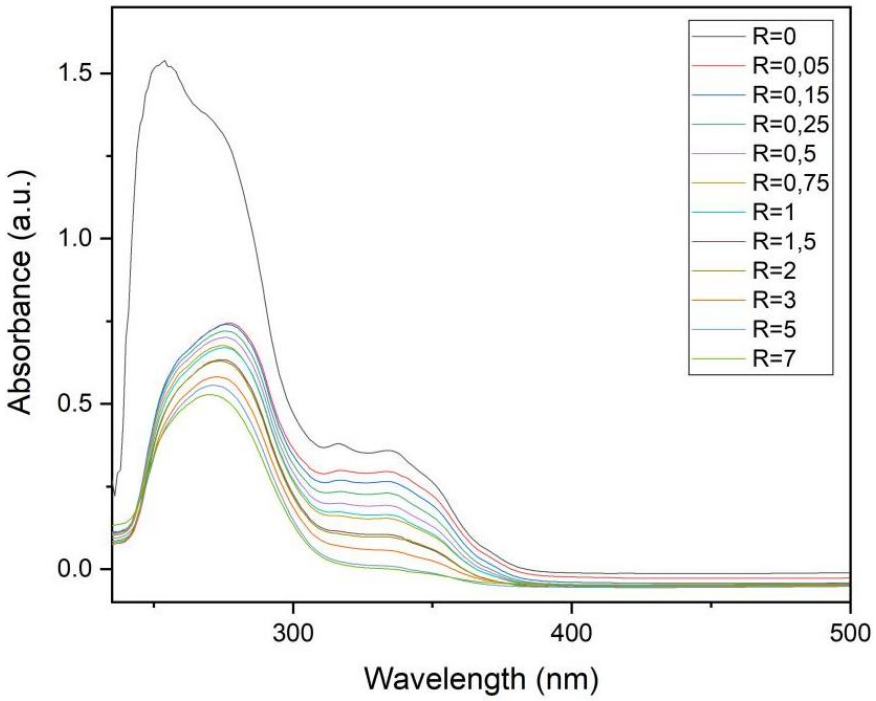
Η γραφική παράσταση του [DNA] / (ε_α - ε_f) συναρτήσει της συγκέντρωσης του DNA δίνει μία γραμμική ευθεία με κλίση 1 / (ε_b - ε_f) και τομή στον άξονα y ίση με 1 / K_b (ε_α - ε_f). Μέσω της μεθόδου των ελαχίστων τετραγώνων υπολογίζεται η σταθερά σύνδεσης K_b από το λόγο της κλίσης προς την τομή.

Και για τα δύο σύμπλοκα παρασκευάστηκαν 12 διαλύματα σταθερής συγκέντρωσης συμπλόκου και αυξανόμενης συγκέντρωσης DNA, με το πρώτο να λειτουργεί σαν τυφλό διάλυμα, μόνο με το σύμπλοκο. Οι συγκεντρώσεις του DNA ήταν 3,6 x 10^{-5} M και 3 x 10^{-5} M για κάθε τιτλοδότηση αντίστοιχα και παρασκευάστηκαν διαλύματα συμπλόκων με ίδιες αρχικές συγκεντρώσεις.

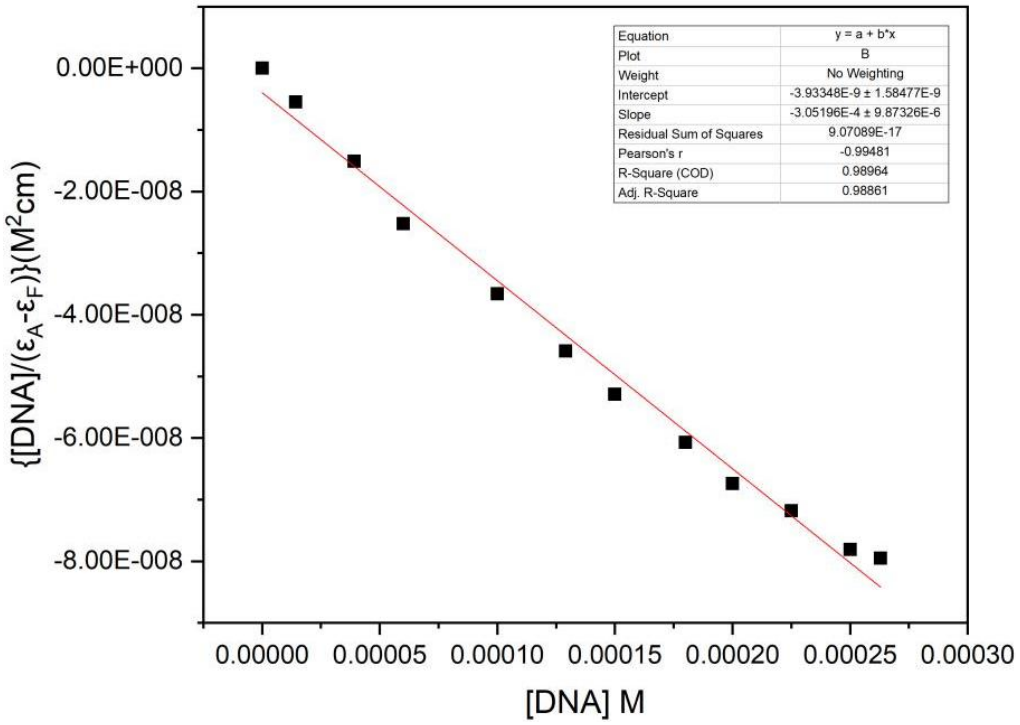
[Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

Στο φάσμα του συμπλόκου [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$ παρατηρείται εμφανής μείωση της τιμής της απορρόφησης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του DNA στο διάλυμα, τόσο στο λmax = 277 nm όσο και στον ώμο που έχει δημιουργηθεί σε μήκος κύματος λ = 334,87 nm. Μία ελάχιστη αύξηση και αλληλεπικάλυψη υπάρχει για R = 1 όπου οι συγκεντρώσεις των δύο ουσιών εξισώνονται. Η μείωση της απορρόφησης, ο υποχρωμισμός δηλαδή που παρατηρείται, οδηγεί στην εξαγωγή συμπεράσματος ότι η αλληλεπίδραση του συμπλόκου με το DNA γίνεται μέσω παρεμβολής. Η υποχρωμία είναι αποτέλεσμα των π-π αλληλεπιδράσεων του συμπλόκου λόγω του αρωματικού συστήματος που διαθέτει.

Η εύρεση της σταθεράς σύνδεσης του συμπλόκου επιτυγχάνεται μελετώντας τις διαφορές της απορρόφησης στα 277 nm και από το διάγραμμα της μεταβολής του λόγου [DNA] / (ε_α - ε_f) συναρτήσει της [DNA] εξάγεται η ακριβής τιμή. Για την εξαγωγή του ακριβούς συμπεράσματος έγινε επανάληψη του πειράματος και η K_b βρέθηκε ίση με 7,76 (± 0,06) x10^4 M^{-1}.



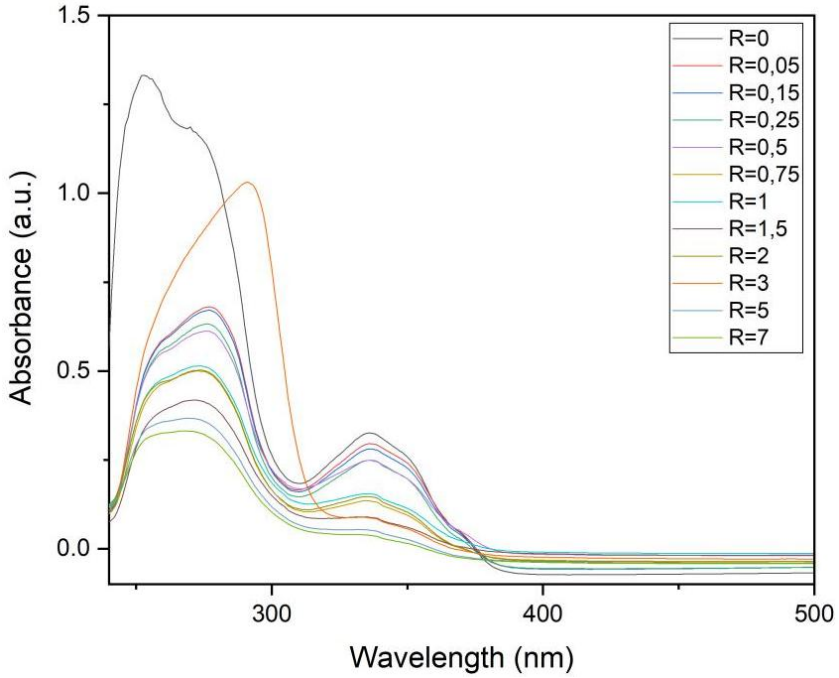
Σχήμα 27: Τιτλοδότηση CT-DNA με [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$



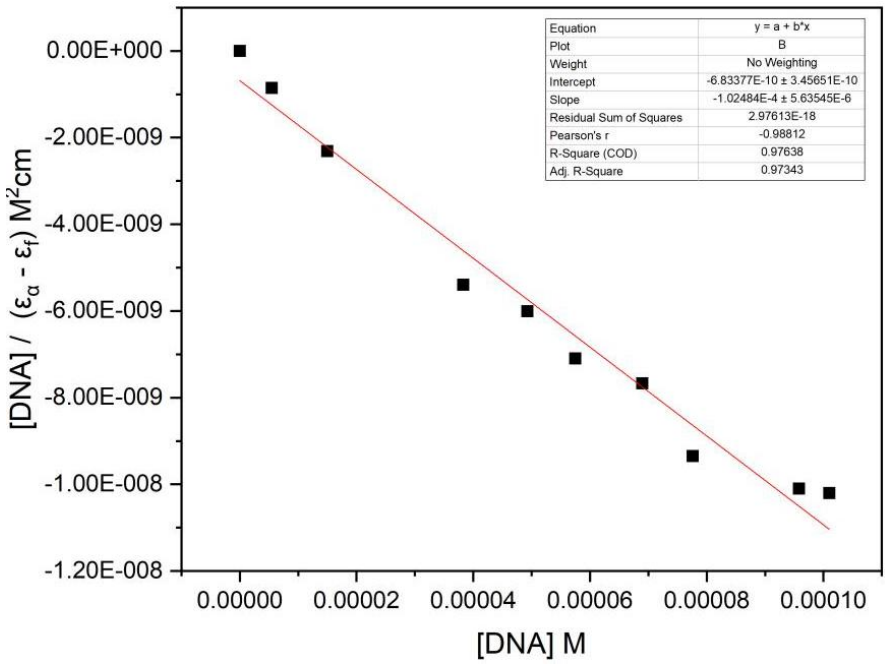
Σχήμα 28: Kb CT-DNA - [Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO₄)₂

[Cu(pq)₂(ClO₄)]ClO₄

Στο φάσμα του συμπλόκου Cu(pq)₂(ClO₄)]ClO₄ δεν υπάρχει ξεκάθαρη αύξηση ή μείωση της απορρόφησης. Για κάποιους λόγους η απορρόφηση μειώνεται ενώ για άλλους αυξάνεται. Συγκεκριμένα για για R=1 και σε ακόμη μεγαλύτερο βαθμό για R=3 η απορρόφηση αυξάνεται και παρατηρείται υπερχρωμισμός. Αυτό δείχνει πως η αλληλεπίδραση του συμπλόκου με το DNA μπορεί να γίνεται με παραπάνω από έναν τρόπους, με κύριο την παρεμβολή σε μικρές συγκεντρώσεις DNA, καθώς ως επί το πλείστον παρατηρείται υποχρωμισμός, αλλά για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις DNA υπάρχει και εξωτερική συναρμογή. Η εύρεση της σταθεράς σύνδεσης του συμπλόκου επιτυγχάνεται μελετώντας τις διαφορές της απορρόφησης στα 277 nm και από το διάγραμμα της μεταβολής του λόγου [DNA] / (ε_α - ε_f) συναρτήσει της [DNA] εξάγεται η ακριβής τιμή. Για την εξαγωγή του ακριβούς συμπεράσματος έγινε επανάληψη του πειράματος και η K_b βρέθηκε ίση με 1,5 (± 0,5) x10^5 M^{-1}.



Σχήμα 29: Τιτλοδότηση CT-DNA με$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$



Σχήμα 30: Kb CT-DNA - $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

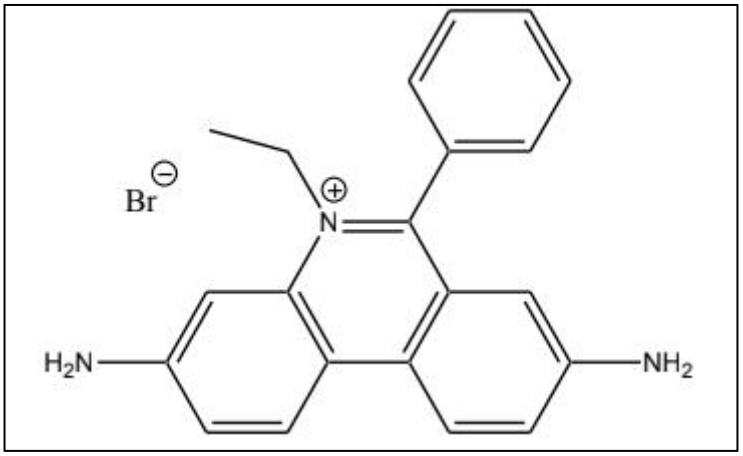
Πίνακας 14: Kb συμπλόκων

	λ (nm), ($\Delta A/A_0$ (%), Δλ (nm))	**K_b (M^{-1})**
[Cu(pq)(phendione)	277nm -65,13% , 16,17	7,76 (± 0,06) $x10^4$
$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$	277,2 -75% 14,06	1,5 (± 0,5) x 10^5

Από τον πίνακα και τις τιμές των σταθερών σύνδεσης για κάθε σύμπλοκο, καθίσταται φανερό ότι υπάρχει καλή αλληλεπίδραση με το DNA σε κάθε περίπτωση και οι τιμές αυτές συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα για σύμπλοκα Cu(II) με κινοξαλινικούς υποκαταστάτες καθώς και με φαινανθρολίνες, των οποίων οι τιμές κυμαίνονται σε τάξεις 10^4 - 10^6 M^{-1} [76 90]

7.4. Φθορισμομετρία

Επόμενη μελέτη που έγινε για την εξαγωγή συμπεράσματος ως προς την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT-DNA είναι η μέτρηση του φθορισμού με χρήση αιθιδίου βρωμιδίου. Το αιθίδιο βρωμίδιο (3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium bromide) είναι ένα κλασικό χρωμοφόρο που αλληλεπιδρά με DNA μέσω παρεμβολής μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας και αυξάνει έτσι το φθορισμό του. Μέσω του φθορισμού εξετάζεται η ανταγωνιστική δράση των συμπλόκων ως προς αυτό, προκειμένου να εξαχθεί συμπέρασμα αν αλληλεπιδρούν με τον ίδιο τρόπο με αυτό. Όταν διάλυμα αιθιδίου βρωμιδίου διεγερθεί στα 540 nm εμφανίζει μία ταινία εκπομπής περίπου στα 600 nm. Με προσθήκη διαλύματος DNA μελετάται η ταινία εκπομπής όπου εμφανίζεται αυξημένος φθορισμός, ο οποίος παρουσία συμπλόκου μειώνεται. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του συμπλόκου στο διάλυμα τόσο μειώνεται ο φθορισμός, καθώς το σύμπλοκο συναγωνίζεται το αιθίδιο για τη θέση συναρμογής ανάμεσα στις βάσεις. Εφόσον δεν παρατηρηθεί κάποια μείωση του φθορισμού, είναι πιθανό η ένωση να μην αλληλεπιδρά μέσω παρεμβολής με το DNA και πρέπει να εξεταστούν και άλλοι τρόποι σύνδεσης.



Εικ. 12: Δομή αιθιδίου βρωμιδίου

Για την παρασκευή των διαλυμάτων, παρασκευάστηκε διάλυμα CT-DNA, το οποίο είχε προηγουμένως επωαστεί γαι 24 ώρες σε διαλύτη PEG400-TBS buffer 1:1 και αντίστοιχα παρασκευάστηκε διάλυμα ΕΒ ίδιας συγκέντρωσης σε ίδιο μίγμα διαλυτών και αναμίχθηκαν. Αφού αφέθηκε το διάλυμα πωματισμένο σε σκιερό μέρος για επώαση μίας ώρας προκειμένου να δράσει το αιθίδιο, παρασκευάστηκαν 8 διαλύματα αυξανόμενης συγκέντρωσης συμπλόκου, τα οποία αφέθηκαν και αυτά για επώαση πριν μετρηθεί ο φθορισμός τους. Σημαντική παρατήρηση είναι ότι το αιθίδιο βρωμίδιο, παρότι πολύ αποτελεσματικό, είναι και πολύ καρκινογόνο και μεταλλαξιγόνο.

Για τα σύμπλοκα υπολογίστηκε η σταθερά K_{sv} που εξάγεται μέσω της γραμμικής εξίσωσης Stern-Volmer:

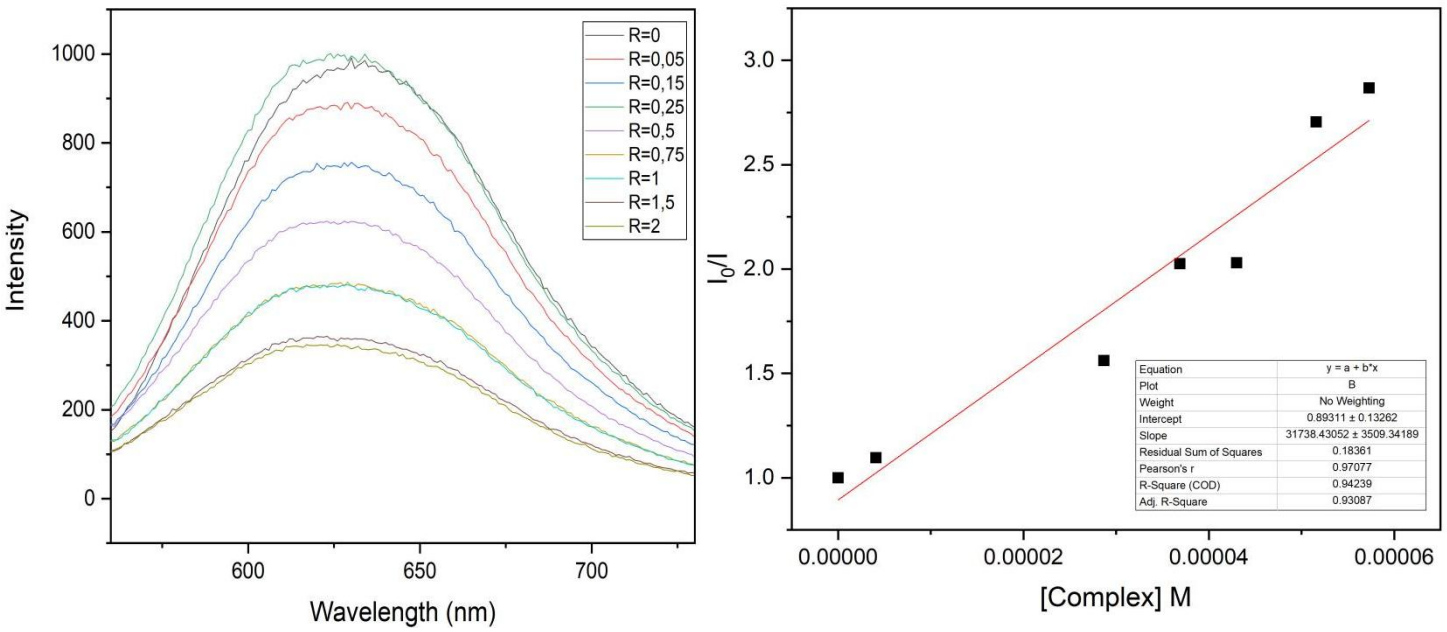
$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV} \times [Complex]$$

όπου I_o και I είναι οι εντάσεις απουσία και παρουσία του συμπλόκου που μελετάται αντίστοιχα.
Επίσης, ισχύει ότι $Ksv = K_q \times \tau_0$, όπου τ_0 = 23 ns είναι η μέση διάρκεια ζωής φθορισμού και K_q είναι η σταθερά απόσβεσης ($M^{-1}s^{-1}$) των συμπλόκων.

Για τις μετρήσεις παρασκευάστηκαν 9 διαλύματα σταθερής συγκέντρωσης DNA-EB και αυξανόμενης ποσότητας συμπλόκου, με το πρώτο να λειτουργεί ως τυφλό διάλυμα χωρίς σύμπλοκο, μόνο με DNA-EB. Το DNA που χρησιμοποιήθηκε είχε συγκέντρωση 8,6 x 10^{-5} M και 5,5 x 10^{-5} M αντίστοιχα για κάθε σύμπλοκο.

[Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

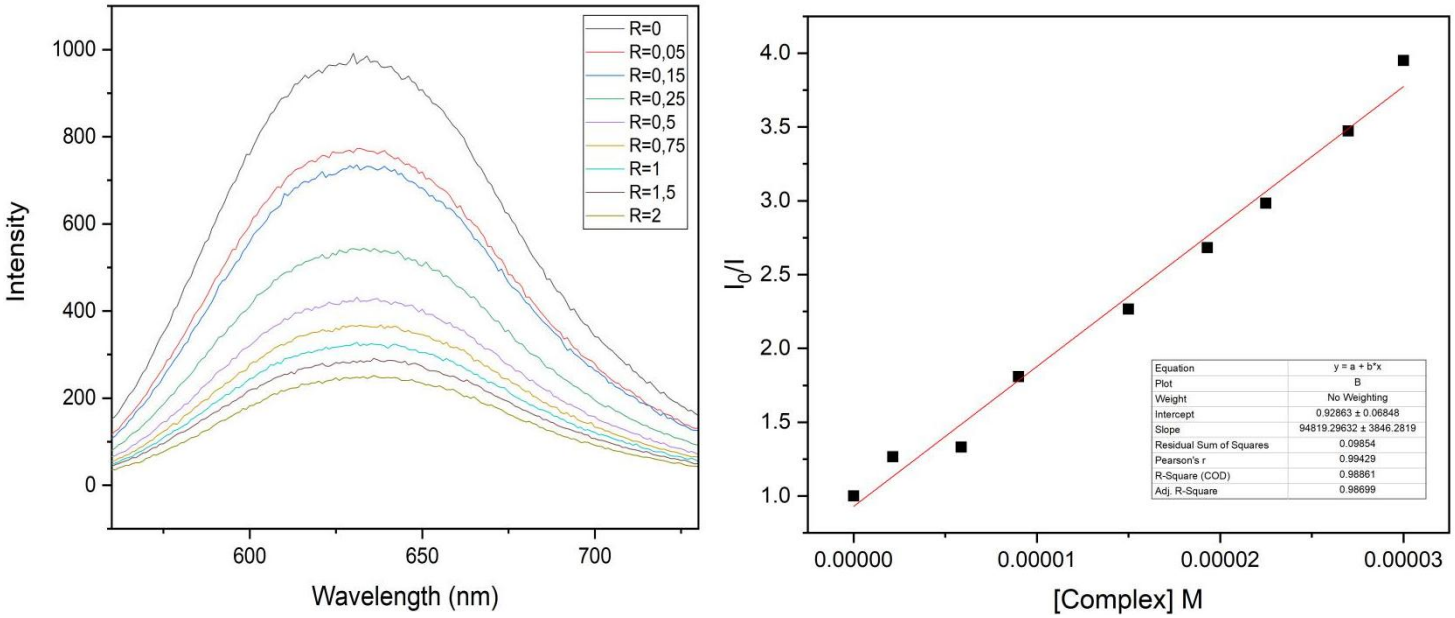
Όπως παρατηρείται στο φάσμα του πρώτου συμπλόκου, υπάρχει μία απόσβεση του φθορισμού όσο αυξάνεται η ποσότητα του συμπλόκου στο διάλυμα, άρα το σύμπλοκο ανταγωνίζεται ικανοποιητικά την δράση του αιθιδίου βρωμιδίου στο DNA. Το αποτέλεσμα αυτό οδηγεί σε συμπέρασμα ότι το σύμπλοκο αλληλεπιδρά μέσω παρεμβολής με το DNA επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα των τιτλοδοτήσεων. Μοναδική εξαίρεση αποτελεί ο λόγος για R=0,25 στον οποίο παρατηρείται μία μεγάλη αύξηση του φθορισμού. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι, καθώς σε κάθε διάλυμα πραγματοποιείται μία προσπάθεια του συμπλόκου να αντικαταστήσει το αιθίδιο βρωμίδιο που παρεμβάλλεται στο DNA είναι πιθανό για τη συγκεκριμένη αναλογία συγκεντρώσεων να μην ήταν αποτελεσματική η δράση του συμπλόκου. Παρόλα αυτά, επειδή η ένταση του φθορισμού στο συγκεκριμένο διάλυμα ξεπερνά την δράση του σκέτου αιθιδίου, μπορεί να οφείλεται και σε κάποιο σφάλμα στη μέτρηση. Μέσω της Stern-Volmer πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός των σταθερών Kq και Ksv που βρέθηκαν ίσες με 1,32 (±0,19) x 10^{12} M^{-1} s^{-1} και 3 (± 0,44)x 10^{4} M^{-1} αντίστοιχα.



Σχήμα 31: Φθορισμός [Cu(pq)(phendione)(MeCN)]$(ClO_4)_2$

$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Όσον αφορά το δεύτερο σύμπλοκο, παρατηρείται μία πολύ πιο ξεκάθαρη απόσβεση του φθορισμού του αιθιδίου βρωμιδίου από το σύμπλοκο χωρίς εξαίρεση σε κάποιο λόγο συγκεντρώσεων. Η αλληλεπίδραση με το DNA επιβεβαιώνεται ότι γίνεται μέσω παρεμβολής καθώς με την αύξηση της ποσότητας του συμπλόκου σταδιακά μειώνεται η δράση του EB. Μέσω της Stern-Volmer πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός των σταθερών Kq και Ksv που βρέθηκαν ίσες με 4,12 (±0,67) x 10^{12} M^{-1} s^{-1} και 9,48 (± 0,38)x 10^4 M^{-1} αντίστοιχα.



Σχήμα 32: Φθορισμός $[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$

Παρακάτω παρατίθεται και αναλυτικά ένας πίνακας με τις σταθερές απόσβεσης αλλά και την ελάττωση του φθορισμού για κάθε σύμπλοκο. Οι τιμές της Kq συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα και είναι αρκετά υψηλές (πάνω από 10^{10} που είναι το ελάχιστο όριο για να υπάρχει απόσβεση), επομένως θεωρούνται ότι μπορούν να αποσβέσουν επιτυχώς τη δράση του EB. Συγκρίνοντας τις τιμές της Ksv για τα δύο σύμπλοκα, στο ομοληπτικό $[Cu(pq)_2](ClO_4)_2$ είναι μεγαλύτερη, άρα εμφανίζει και καλύτερη ικανότητα σύνδεσης με το DNA από το ετεροληπτικό με τη phendione. Επιπλέον, η ελάττωση του φθορισμού είναι αρκετά υψηλή και για τα δύο σύμπλοκα (πάνω από 50%), επομένως και τα δύο σύμπλοκα έχουν αποτελεσματική δράση στο DNA. Η ελάττωση του φθορισμού απεικονίζεται και στο παρακάτω διάγραμμα συναρτήσει του λόγου των συγκεντρώσεων συμπλόκου - EB-DNA

Πίνακας 11: Kq και Ksv συμπλόκων

Πίνακας 15

Σύμπλοκο	**$\Delta I/I_0$ (%)**	**K_{sv} (M^{-1})**	**K_q ($M^{-1}s^{-1}$)**
$[Cu(pq)(phendione)(MeCN)](ClO_4)_2$	65,11	3 (± 0,44)x 10^4	1,32 (±0,19) x 10^{12}
$[Cu(pq)_2(ClO_4)]ClO_4$	74,69	9,48 (± 0,38)x 10^4	4,12 (±0,67) x 10^{12}

7.5. Ιξωδομετρία

Μέσω ιξωδομετρίας γίνεται υπολογισμός του ιξώδους του διαλύματος DNA. Μέσω ιξωδομετρίας εξετάζεται επίσης ο τρόπος σύνδεσης του συμπλόκου με το DNA και συγκεκριμένα αν παρατηρηθεί αύξηση του ιξώδους του διαλύματος, συμπεραίνεται ότι η διπλή έλικα έχει ξετυλιχτεί με αποτέλεσμα να αυξηθεί το μήκος της και άρα το σύμπλοκο αλληλεπιδρά μέσω παρεμβολής ανάμεσα στις βάσεις του DNA. Σε αντίθετη περίπτωση, μείωση του ιξώδους του διαλύματος, υποδεικνύει περαιτέρω περιστροφή της έλικας, μείωση του μήκους της και άρα αλληλεπίδραση μέσω εξωτερικής συναρμογής.

Για τη μέτρηση του ιξώδους παρασκευάστηκαν διαλύματα σταθερής συγκέντρωσης συγκέντρωσης DNA ίσης με 2,36 x 10^{-5} M και αυξανόμενης συγκέντρωσης συμπλόκου αρχικής συγκέντρωσης ίσης με την Co_{DNA}. Για τη λήψη ακριβέστερων αποτελεσμάτων και καλή επαναληψιμότητα το πείραμα επαναλήφθηκε τουλάχιστον τρεις φορές για κάθε δείγμα ώστε να είναι αποδεκτή η απόκλιση (όχι μεγαλύτερη από 0.4 s.) και λήφθηκε ο μέσος όρος των τιμών αυτών.

Το σχετικό ιξώδες υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\eta = \frac{t - t_0}{t_0}$$

όπου t = ο χρόνος ροής του δείγματος και

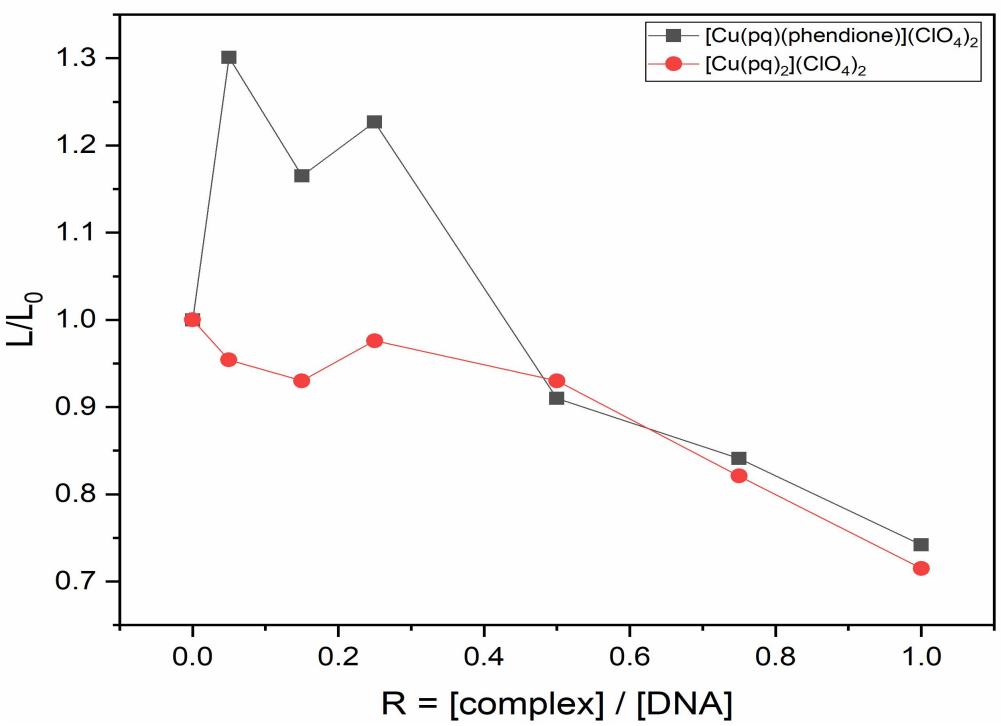
t_0 = ο χρόνος ροής του διαλύτη υπολογισμένα σε s

Η αύξηση του μήκους της έλικας του DNA υπολογίζεται από τα πειραματικά δεδομένα, σύμφωνα με την προσεγγιστική σχέση:

$$\frac{L}{L_0} = (\frac{\eta}{\eta_0})^{1/3} = (\frac{t - t_0}{t_{DNA} - t_0})^{1/3}$$

Όπου L, L_0 = το μήκος του DNA παρουσία και απουσία του συμπλόκου αντίστοιχα
η, η_0 = τα σχετικά ιξώδη παρουσία και απουσία συμπλόκου αντίστοιχα (για τις ανάγκες της έρευνας, θεωρούνται ίσα με το ανηγμένο ιξώδες) και
t, t_0, t_{DNA} = οι χρόνοι ροής των δειγμάτων παρουσία και απουσία DNA και του διαλύματος DNA αντίστοιχα.

Για την αποτελεσματική διεξαγωγή των συγκεκριμένων μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό σύστημα διαλυτών, από ότι στις προηγούμενες μελέτες,λόγω του πολύ μεγάλου ιξώδους που έχει το PEG-400, με αποτέλεσμα να μην καθίσταται δυνατό να ληφθούν τα αποτελέσματα. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε είναι TBS-buffer με 1% ACN, στο οποίο είναι γνωστό από τους χαρακτηρισμούς ότι τα σύμπλοκα είναι πλήρως διαλυτά και σταθερά.
Από το διάγραμμα φαίνεται ότι το ιξώδες δεν έχει μία σταθερή αύξηση ή μείωση για κανένα από τα δύο σύμπλοκα, επομένως θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε ότι αλληλεπιδρούν με το DNA με δύο διαφορετικούς τρόπους. Όσον αφορά το ομοληπτικό σύμπλοκο με τα δύο pq, παρατηρείται μία μείωση στην αρχή, ακολουθεί αύξηση για έναν λόγο συγκεντρώσεων και στη συνέχεια, συνεχίζει να μειώνεται, επομένως το σύμπλοκο αλληλεπιδρά κυρίως ηλεκτροστατικά αλλά για συγκεκριμένους λόγους εντοπίζεται και παρεμβολή. Στο ετεροληπτικό σύμπλοκο με τη φαινδιόνη αντίστοιχα, παρατηρείται μία μεγάλη αύξηση στην αρχή μόλις εισέλθει το σύμπλοκο στο DNA άρα και παρεμβολικής φύσης αλληλεπίδραση που συνοδεύεται από αυξομειώσεις όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του συμπλόκου, μέχρις ότου από ένα λόγο και μετά παρατηρείται μόνο μείωση και άρα εξωτερικής φύσης αλληλεπίδραση.
Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδίδεται στο συγκεκριμένο διαλύτη, καθώς οι μέχρι τώρα μετρήσεις έδειχναν συγκεκριμένα παρεμβολή στο DNA και για τα δύο σύμπλοκα.



Σχήμα 33: Ιξωδομετρία συμπλόκων

.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός με πληθώρα φασματοσκοπικών τεχνικών, τεσσάρων συμπλόκων του χαλκού(II) με κοινό υποκαταστάτη την 2-(2-πυριδυλ)κινοξαλίνη (pq). Τα σύμπλοκα διέφεραν μεταξύ τους ως προς το δεύτερο υποκαταστάτη που ήταν αντίστοιχα (1,10)-Φαινανθρολίνη-5,6-διόνη (phendione), 2-(2-πυριδυλ)κινοξαλίνη, διπυριδοφαιναζίνη (dppz) και χλωρο-διπυριδοφαιναζίνη (Cl-dppz). Από τους χαρακτηρισμούς φάνηκε το συμπέρασμα ότι καλύτερος διαλύτης για όλα τα σύμπλοκα είναι το ακετονιτρίλιο , στο οποίο όλα τα σύμπλοκα έδειξαν εξαιρετική σταθερότητα και διαλυτότητα, χωρίς να καταστρέφονται ή να αλλοιώνονται με αναγωγή του μετάλλου. Πολύ καλό σύστημα διαλυτών ήταν επίσης το μίγμα TBS-buffer και PEG-400 στο οποίο επίσης ήταν σταθερά τα σύμπλοκα και πλήρως διαλυτά.

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας πραγματοποιήθηκε μελέτη της αλληλεπίδρασης των δύο συμπλόκων από τα τέσσερα με το DNA ώστε να αξιολογηθεί η δράση τους ως φαρμακευτικοί παράγοντες με πιθανή αντιβακτηριακή και αντικαρκινική δράση. Τα άλλα δύο σύμπλοκα συγκεκριμένα αυτά που είχαν τους υποκαταστάτες dppz, Cl-dppz χρήζουν περαιτέρω μελέτης όσον αφορά τη σταθερότητα. Για την εξαγωγή συμπερασμάτων όσον αφορά την αλληλεπίδραση με το DNA, πραγματοποιήθηκαν διάφορες τεχνικές όπως φασματοσκοπία απορρόφησης UV-Vis, φθορισμομετρία, ιξωδομετρία. Τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι τα σύμπλοκα συνδέονται με το DNA με δύο διαφορετικούς τρόπους, τόσο με παρεμβολή στις βάσεις του DNA όσο και με ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση στις αύλακες, γεγονός που επηρεάζεται από το σύστημα διαλυτών στο οποίο βρίσκονται. Οι σταθερές σύνδεσης υπολογίστηκαν ίσες με 7,76 (± 0,06) $x10^4$ M^{-1} και 1,5 (± 0,5) x 10^5 M^{-1} για το σύμπλοκο με τη phendione και το ομοληπτικό με τα δύο pq αντίστοιχα και οι σταθερές απόσβεσης 3 (± 0,44)x 10^4 M^{-1} και 9,48 (± 0,38)x 10^4 M^{-1}.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η έρευνα που πραγματοποιήθηκε αφήνει πολλά περιθώρια ανοιχτά για περαιτέρω μελέτη των συμπλόκων. Εφόσον τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν την δέσμευση των συμπλόκων στο DNA, ανοίγει ο δρόμος για την εισαγωγή αυτών σε κύτταρα προκειμένου να εξακριβωθεί η αντιβακτηριακή ή και αντικαρκινική δράση που ενδέχεται να έχουν.

Επιπλέον, χρήζουν περισσότερης μελέτης τα σύμπλοκα με το dppz και το Cl-dppz καθώς οι φασματοσκοπίες IR, UV-Vis και MS έδειξαν το σχηματισμό αυτών, παρότι δεν ελήφθη μονοκρύσταλλος στο XRD. Είναι ενδιαφέρον να αναλυθούν στη συνέχεια και με φασματοσκοπία EPR προκειμένου να αποκτηθεί μία πιο ξεκάθαρη εικόνα για το σχηματισμό αυτών των συμπλόκων.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας 16: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	**Ελληνικός όρος**
Pyridyl quinoxaline	2-(2-πυριδυλ) κινοξαλίνη
(1,10)-phenanthroline-5,6-dione	1,10 φαινανθρολίνη-5,6 διόνη
Copper	Χαλκός
Dipyridophenazine	Διπυριδοφαιναζίνη
Copper Transporter	Μεταφορέας χαλκού
DNA-binding	Σύνδεση με το DNA
Copper Chaperone	Συνοδός χαλκού
Light-switch behavior	Φαινόμενο ενεργοποιούμενης φωταύγειας
Major groove	Μεγάλη αύλακα
Minor groove	Μικρή αύλακα
In vitro	Δοκιμασία σε δοκιμαστικούς σωλήνες
In vivo	Δοκιμασία σε ζωντανό οργανισμό
Pseudomonas aeruginosa	Ψευδομονάδα
Staphylococcus aureus	Σταφυλόκκοκος χρυσίζων
Starters	Εκκινητής
Ultrapure	Υπερκάθαρο
overnight	Ολονυκτί
Vapor diffusion	Τεχνική κρυστάλλωσης με διάχυση ατμών
powder X-ray diffraction	Διάθλαση ακτίνων Χ σε σκόνη
3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium bromide	Αιθίδιο βρωμίδιο
incubator	Επωαστής
complex	σύμπλοκο
Wavelength	Μήκος κύματος
Absorbance	Απορρόφηση
Wavenumber	Κυματικός αριθμός
Tranmittance	Διαπερατότητα
In situ	Παραγωγή και χρήση επιτόπου

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ - ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ - ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Πίνακας 17: Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους

Pq	Pyridyl quinoxaline
phendione	(1,10)-phenanthroline-5,6-dione
dppz	Dipyridophenazine
Cl-dppz	Chlorodipyridophenazine
ACN	Acetonitrile
DMF	Dimethylfourane
DMSO	Dimethyl soulfoxide
TBS	Tris-buffered saline
DNA	Deoxyribonucleic acid
CT-DNA	Calf thymus DNA
λ	Μήκος κύματος
nm	nanometers
IR	Infra-red
UV-Vis	Ultraviolet visible
MS	Mass spectrometry
pXRD	Powder x-ray diffraction
Cu	copper
EPR	Electron paramagnetic resonance
g, mg	Gram, milligram
mol	mole
M	molarity
mL	mililiter
Cm	centimeter
a.u.	Atomic unit
SOD	δισμουτάση υπεροξειδίου
CTR1	Copper Transporter
CCS	Copper Chaperone
ROS	Reactive oxygen species
HSAB	Hard-soft acid-base theory

DFT	Θεωρία Συναρτησιακής Πυκνότητας
HOMO	Highest occupied molecular orbital
LUMO	Lowest occupied molecular orbital
red	αναγωγικό μέσο
ox	οξειδωμένο προϊόν του red
GSH	γλουταθειόνη
•OH	ρίζες υδροξυλίου
ETC	αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων
MMPs	μεταλλοπρωτεϊνάσες
AMPK	πρωτεϊνική κινάση
VEGF	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
HIF-1α	παράγοντας-1α που επάγεται από την υποξία
MMP-2, MMP-9	μεταλλοπρωτεϊνάσες της μήτρας
ToSOH	τολουόλιο σουλφονικού οξέος
RNA	Ribonoucleix acid
DCM	dichloromethane
MLCT	Metal to ligand charge transfer
LMCT	Ligand to metal charge transfer
Mr	Molecular mass
NaCl	Sodium chloride
NaOH	Sodium hydroxide
Å	armstrong
MeOH	methanol
EB	Ethidium bromide
ε	Συντελεστής γραμμομοριακής απορροφητικότητας
H_2O_2	Hydrogen peroxide

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Abbas, A. (2021, August 15). Master Chemistry; The Master Chemistry. *Inorganic Chemistry- History, Scope, And Applications*.

[2] An Outline of the Progress of Chemistry in the Nineteenth Century. (n.d.). *Scientific American*. Retrieved November 5, 2025,

[3] Archer, N., Butler, J. S., & Nicholson, R. I. (2016). Redox activity and DNA cleavage by copper(II) complexes. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, *21*(4), 539–551.

[4] B. A. D. Neto, A. A. M. Lapis, Recent Developments in the Chemistry of Deoxyribonucleic Acid (DNA) Intercalators: Principles, Design, Synthesis, Applications and Trends, (2009), Molecules, 14 1725-1746

[5] Balou S., Zarkadoulas A., Koukouvitaki M., Marchio L., Efthimiadou E. K., Mitsopoulou C. A., Synthesis, DNA-Binding, Anticancer Evaluation, and Molecular Docking Studies of Bishomoleptic and Trisheteroleptic Ru-Diimine Complexes Bearing 2-(2-Pyridyl)-quinoxaline (2021) *Hindawi Bioinorganic Chemistry and Applications*

[6] Bertini, I., Gray, H. B., Stiefel, E. I., & Valentine, J. S. (2007). *Biological Inorganic Chemistry: Structure and Reactivity*. University Science Books.

[7] Bhagi-Damodaran, A., & Lu, Y. (2019). The periodic table’s impact on bioinorganic chemistry and biology's selective use of metal ions. *Structure and Bonding*, *182*, 153–173.

[8] Bruijnincx P.C.A., Sadler P. J., New trends for metal complexes with anticancr activity (2008) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12, 197-206

[9] Cannas, D., Loi, E., Serra, M., Firinu, D., Valera, P., & Zavattari, P. (2020). Relevance of essential trace elements in nutrition and drinking water for human health and autoimmune disease risk. *Nutrients*, *12*(7), 2074.

[10] Correia, I., & Draper, S. M. (2023). Grand challenges in bioinorganic chemistry. *Frontiers in Chemical Biology*, *2*(1165773).

[11] Crick F., Central Dogma of Molecular Biology (1970) *Nature*, 227, 561-563

[12] Daniel, K. G., Gupta, P., Harbach, R. H., Guida, W. C., & Dou, Q. P. (2004). Organic copper complexes as a new class of proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells. *Biochemical Pharmacology*, *67*(6), 1139–1151.

[13] da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martins, C. V. B., & de Fátima, Â. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research*, *2*(1), 1–8.

[14] Dave, (2019) Coordination Compounds: Geometry and Nomenclature

[15] David, S. S., & Meggers, E. (2008). Inorganic chemical biology: from small metal complexes in biological systems to metalloproteins. *Current Opinion in Chemical Biology*, *12*(2), 194–196.

[16] DeRose, V., & Michel, S. (2020). Editorial overview: Bioinorganic chemistry: Metals in biology: approaching the big picture. *Current Opinion in Chemical Biology*, *55*, A4–A6.

[17] Dhar. S. Senapati D. Reddy P. A. N., Das P. K., Chakravarty A. R., Metal-assisted red light-induced efficient DNA cleavage by dipyridoquinoxaline-copper(II) complex (2003) *Chem. Commun.* 19, 2452-2453

[18] Efthimiadou E. K., Thomadaki H., Sanakis Y., Raptopouloy C. P., Ktasaros N., Scorilas A., Psomas A., Structural and biological properties of the copper(II) complex with the quinolone antibacterial druf N-propylnorfloxacin and 2,2'-bipyridine (2007) *J. Inorg. Biochem.,* 101, 64-73

[19] Figueroa-DePaz Y., Pérez-Villanueva J., Soria-Arteche O., Martínez-Otero D., Gómez-Vidales V., Ortiz-Frade L., Ruiz-Azuara L., (2022) Casiopeinas of Third Generations: Synthesis, Characterization, Cytotoxic Activity and Structure–Activity Relationships of Mixed Chelate Compounds with Bioactive Secondary Ligands. *Molecules* 30;27(11):3504

[20] Freys, J. C., Wenger, O. S., & Wenger, R. H. (2008). Chlorinated dipyridophenazine ligands: Synthesis and photophysical properties. *Dalton Transactions*, *39*, 5160–5167.

[21] Fortner A., Wang S. G., Darbha G.K., Ray A., Yu H. T., Ray P. C., Kalluru R. R., Kim C. K., Rai V., Singh J. P., Near infrared photo-induces DNA damage in the presence of copper-dppz complex: Evidence for the involvement of singlet oxygen (2007), *Chem. Phys.* Lett434(1-3) 127-132

[22] Gaetke, L. M., & Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, *189*(1-2), 147–163.

[23] Galdino A. C., Viganor L., Mendonça Pereira M., (2022) *Copper(II) and silv Copper(II) and silver(I)‐ 1,10 phenanthroline‐ 5,6‐ dione complex dione complexes* School of Medicaland BioPharmaceutical Sciences

[24] interact with double act with double‐ stranded DNA: further evidence of their evidence of their apparent multi ent multi‐ modal activity towards Pseudomonas aeruginosa

[25] Gimeno L. ,Phelan B. T., Sprague-Klein E. A, Roisnel T., Blart E., Gourlaouen C., Chen L. X., Pellegrin Y., Bulky and Stable Copper(I)-Phenanthroline Complex: Impact of Steric Strain and Symmetry on the Excited-State Properties (2022), *Inorg.Chem*. 61,7296− 7 307

[26] Goodsell, D. S., & Dickerson, R. E. (1994). Bending and curvature calculations for DNA double helices. *Nucleic Acids Research*, *22*(3), 549–553.

[27] Guo, Z., Li, H., & Wang, C. (2021). Autophagy modulation by transition-metal complexes: From mechanism to therapy. *Coordination Chemistry Reviews*, *445*.

[28] Gupta, S., Mishra, A., & Srivastava, V. (2019). Speciation and biological implications of copper(II) complexes. *Journal of Coordination Chemistry*, *72*(5), 849–866.

[29] Hall, J. P., Mcintyre, P., Williams, L. D., & Keene, F. R. (1996). Structure of ruthenium-dipyridophenazine complexes bound to DNA. *Nucleic Acids Research*, *24*(21), 4464–4470.

[30] Hangan A. C., Oprean L. S.,Dican L., Procopciuc L.M., Sevastre B., Lucaciu, R.L., Metal-Based Drug–DNA Interactions and Analytical Determination Methods *Molecules* Journal 29 Issue 18

[31] Heffern, M. C., Matosziuk, L. M., & Meade, T. J. (2014). Lanthanide probes for bioresponsive imaging. *Chemical Reviews*, *114*(8), 4496–4539.

[32] Hernandez C. (2015) Timeline: History of Chemistry

[33] Högbom, M. (2023). Nobel symposium #168 Visions of bio-inorganic chemistry: metals and the molecules of life. *FEBS Letters*, *597*(1), 3–5.

[34] J.D. Watson, F.H. Crick., (1953) A structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature,* 171, 737-738

[35] Kagan, H. M., & Li, W. (2003). Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell. *Journal of Cellular Biochemistry*, *88*(4), 660–672.

[36] Kaplanis M., Metal complexes as molecular switches and probes in DNA (2014)

[37] Kaplanis M., Stamatakis G., Papakonstantinou V., Paravatou-Petsotas M., Demopoulos C. A., Mitsopoulou C. A., Re(I)tricarbonyl complex of 1,10-phenanthroline-5,6-dione: DNA binding, cytotoxicity, anti-inflammatory and anti-coagulant effects towards platelet activating factor (2014) *Journal of Inorganic Biochemistry*, 135 1-9

[38] Kardos, J., Héja, L., Simon, Á., Jablonkai, I., Kovács, R., & Jemnitz, K. (2018). Correction to: Copper signalling: causes and consequences. *Cell Communication and Signaling: CCS*, *16*(1), 80.

[39] Kathryn HaasDuke University. (2019, May 22). *1.1: What is Inorganic Chemistry?* Chemistry LibreTexts; Libretexts.

[40] Kim, B.-E., Nevitt, T., & Thiele, D. J. (2008). Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nature Chemical Biology*, *4*(3), 176–185.

[41] Kodama, H., Fujisawa, C., & Nishimura, M. (1999). Ceruloplasmin and other copper-containing oxidases in mammalian biology. *Metallomics*, *12*(9), 823–832.

[42] Kozlowski, H., Janicka-Klos, A., Brasun, J., Gaggelli, E., Valensin, D., & Valensin, G. (2009). Copper, iron, and zinc ions homeostasis and their role in neurodegenerative

disorders (metal uptake, transport, distribution and regulation). *Coordination Chemistry Reviews*, *253*(21-22), 2665–2685.

[43] Kuwabara, M., Yoon, C., Goyne, T., Thederahn, T., & Sigman, D. S. (1986). Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper ion: reaction with CGCGAATTCGCG and its complexes with netropsin and EcoRI. *Biochemistry*, *25*(23), 7401–7408.

[44] Li, D.-D., Huang, F.-P., Chen, G.-J., Gao, C.-Y., Tian, J.-L., Gu, W., Liu, X., & Yan, S.-P. (2010). Four new copper(II) complexes with 1,3-tpbd ligand: Synthesis, crystal structures, magnetism, oxidative and hydrolytic cleavage of pBR322 DNA. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *104*(4), 431–441.

[45] Li Y., Liang J., Chen Y., Wang Y., (2023) The mechanism of copper homeostasis and its role in disease. *iLABMED*

[46] Linder, M. C. (2016). Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, *8*(9), 887–905.

[47] Lioli E., Kollia E., Markaki P., Mitsopoulou C.A., (2021) Antifungal and antiaflatoxigenic assessment of new Cu(II)-pq complexes against Aspergillus parasiticus in dark conditions and under visible irradiation *FEMS Microbiology Letters* Volume 368, Issue 19

[48] Lippert B. (2000) Multiplicity of metal ion binding patterns to nucleobases *Coord. Chem. Rev.,* 200, 487-516

[49] Lutsenko, S. (2010). Human copper homeostasis: a network of interconnected pathways. *Current Opinion in Chemical Biology*, *14*(2), 211–217.

[50] Lyons, T. J., Gralla, E. B., & Valentine, J. S. (2018). Biological chemistry of copper-zinc superoxide dismutase and its link to amyotrophic lateral sclerosis. In *Metal Ions in Biological Systems* (pp. 125–177).

[51] Manivel J., Sangeetha S., Murali M., (2019) DNA and BSA Interaction, DNA cleavage an in vitro cytotoxicity of copper(II) complexesQ [Cu(bba)(phen)]$(ClO_4)_2$ is promising chemotherapeutic scaffold *Journal of Scientific Research* 12(1) 111-133

[52] Marzano, C., Tisato, F., Porchia, M., Pellei, M., & Gandin, V. (2019). Phosphine copper(I) complexes as anticancer agents: biological characterization. Part II. In *Copper(I) Chemistry of Phosphines, Functionalized Phosphines and Phosphorus Heterocycles* (pp. 83–107). Elsevier.

[53] Masuri S., Vaňhara P., Grazia Cabiddu M., Moráň L., Havel J., Cadoni E., Pivetta T., (2021) *Copper(II) Phenanthroline-Based Complexes as Potential AntiCancer Drugs: A Walkthrough on the Mechanisms of Action.* Molecules

[54] Mitsopoulou C. A., Dagas C. E., Makedonas C., (2008). Synthesis, characterization, DFT studies and DNA binding of mixed platinum (II) complexes containing quinoxaline and 1,2-dithiolate ligands *J. Inorg. Biochem.,* 102, 77-86

[55] Moucheron, C., Mesmaeker, A., & Kelly, J. M. (2002). Interactions of dipyridophenazine metal complexes with DNA: From binding to photoactivated cleavage. *Inorganic Chemistry*, *41*(2), 457–466.

[56] Nafisi S., Saboury A.A., Keramat N., Neault J.F., Tajmir-Riahi H. A., Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue (2007) *J.Mol. Struc.,* 827, 35-43

[57] Palchaudhuri R. Hergenrother P. J., (2007) DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action *Curr. Opin. Biotech.* 18, 497-503

[58] Pan, Q., Kleer, C. G., & Merajver, S. D. (2012). Copper complexes as antiangiogenic agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, *12*(4), 409–424.

[59] Parker, R. J., Smith, C. D., & Yates, C. J. (2017). Solution speciation and kinetic behavior of Cu(II) complexes. *Dalton Transactions,* 46(8), 2638–2650.

[60] Penning L, Berenguer M., Członkowska A., Weiskirchen R., (2023). A Century of Progress on Wilson Disease and the Enduring Challenges of Genetics, Diagnosis, and Treatment. *Biomedicines*

[61] Pickart, L., & Thaler, M. M. (2015). The human tripeptide GHK and its copper complex: Therapeutic implications. *BioMetals*, *28*(3), 437–447.

[62] Pinto, A. M., Rodrigues, A. S., & Costa Pessoa, J. (2020). Copper complexes as antimicrobial agents. *Coordination Chemistry Reviews*, *415*.

[63] Pinto, A. M., Rodrigues, A. S., & Costa Pessoa, J. (2020). Copper complexes as antimicrobial agents: Recent advances and perspectives. *Coordination Chemistry Reviews*, *415*.

[64] Rae, T. D., Schmidt, P. J., Pufahl, R. A., Culotta, V. C., & O'Halloran, T. V. (1999). Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase. *Science (New York, N.Y.)*, *284*(5415), 805–808.

[65] Rafique S., Idrees M., Nasim A., Akbar H., Athar A., (2004) Transition metal complexes as potential therapeutic agents. *Biotechnol. Mol. Biol.* 5(2), 38-45

[66] Rorabacher, D. B. (2004). A giant molecular proton pump: Structure and mechanism of respiratory complex I. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *104*(2), 375–388.

[67] Rorabacher, D. B., Ruiz-Azuara, L., & Bravo-Gómez, M. E. (2004). Copper compounds in cancer chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*, *104*(2), 3606–3615.

[68] Rosenberg, B., Vancamp, L., & Krigas, T. (1965). Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, *205*(4972), 698–699.

[69] Rossetto, D., & Mansy, S. S. (2022). Metals are integral to life as we know it. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*, 864830.

[70] Ruiz-Azuara, L., & Bravo-Gómez, M. E. (2010). Copper compounds in cancer chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*, *17*(31), 3606–3615.

[71] Santini, C., Pellei, M., Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F., & Marzano, C. (2014). Advances in copper complexes as anticancer agents. *Chemical Reviews*, *114*(1), 815–862.

[72] Santos, A. C. (2014). Antimicrobial and cytotoxic activity of copper(II)-phendione complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *138*, 1–10.

[73] Santos, A. C., Silva, J. G., Ferreira, A. M. D., Gama, S., & Cavaco, I. (2014). Antimicrobial and cytotoxic activity of copper(II)-phendione complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *138*, 1–10.

[74] Satyanarayana, S., Dabrowiak, J. C., & Chaires, J. B. (1993). Tris(phenanthroline)ruthenium(II) enantiomer interactions with DNA: mode and specificity of binding. *Biochemistry*, *32*(10), 2573–2584.

[75] Sazanov, L. A. (2015). A giant molecular proton pump: structure and mechanism of respiratory complex I. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *16*(6), 375–388.

[76] Selvakumar B., Rajendiran V., Maheswari P.U., Stoeckli-Evans H., Palaniandavar a M.,Structures (2006) Spectra, and DNA-binding properties of mixed ligand copper(II) complexes of iminodiacetic acid: The novel role of diimine co-ligands on DNA conformation and hydrolytic and oxidative double strand DNA cleavage *Journal of Inorganic Biochemistry* 100, issue 3, 316-330, 2006

[77] Serrano, J., Palmeira, C. M., & Rolo, A. P. (2019). Reactive oxygen species and mitochondrial signaling in cancer cell metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(19).

[78] Silva, G. C., Da Silva, J. G., Figueiredo, R. T., Soares, M. A., Ferreira, A. M. D., & Ferreira, C. A. (2011). Redox behavior and DNA interaction of Cu(II)-phendione complexes. *Dalton Transactions*, *40*(32), 8083–8092.

[79] Solomon, E. I., Sundaram, U. M., & Machonkin, T. E. (1997). ChemInform Abstract: Multicopper oxidases and oxygenases. *ChemInform*, *28*(10), no – no.

[80] Turel I., Kljun J., (2011) Interactions of Metal Ions with DNA, Its Constituents and Derivatives, which may be Relevant for Anticancer Research. C*urrent Topics in Medicinal Chemistry* 11(21):2661-87

[81] Turro, C., Barton, J. K., & Turro, N. J. (1995). Unusual DNA photophysical properties of ruthenium-dipyridophenazine complexes ("light-switch behavior"). *Accounts of Chemical Research*, *28*(7), 376–383.

[82] Wang, C., Li, Z., & Zhang, H. (2017). Mitochondrial pathways in copper-induced apoptosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *429*(1-2), 1–10.

[83] Watson, J. D., & Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, *171*(4356), 737–738.

[84] Winterbourn, C. C. (2013). The biological chemistry of hydrogen peroxide. *Methods in Enzymology*, *528*, 3–25.

[85] Zhang, H., Zhou, J., Liu, Y., & Zhang, Z. (2014). Synthesis, structure, and DNA-binding studies of copper(II)-quinoxaline complexes. *Inorganic Chemistry Communications*, *46*, 259–263.

[86] Zhang, Z., Bi, C., Schmitt, S. M., Fan, Y., Dong, L., Zuo, J., & Dou, Q. P. (2012). 1,10-Phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity. *Journal of Biological Inorganic Chemistry: JBIC: A Publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*, *17*(8), 1257–1267.

[87] Zhao, H. (2014). Mechanistic studies on ROS generation by copper(II) complexes. *Inorganic Chemistry*, *53*(11), 5738–5748.

[88] Zhao, Y., Zhang, X., Li, W., & Chen, Z. (2020). Structure-activity relationships of copper(II)-dipyridophenazine complexes: DNA binding and cytotoxicity studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*, *206*.

[89] Zhou, J., Li, Y., & Zhang, Z. (2021). Molecular docking and DFT study of copper(II)-phenanthroline complexes interacting with DNA. *Journal of Molecular Modeling*, *27*(12).

[90] Jinchan Zhu J, Tan M.,Pan Y, Chen Z, Liang C., Liu H, Wang H., (2009) Synthesis, Cytotoxic Activity, and DNA Binding Properties of Copper (II) Complexes with Hesperetin, Naringenin, and Apigenin *Bioinorganic Chemistry and Applications*