



Πανεπιστήμιο  
Ιωαννίνων



Πανεπιστήμιο  
ΕΚΠΑ



Πανεπιστήμιο  
ΑΠΘ



Πανεπιστήμιο  
Πατρών



Πανεπιστήμιο  
Κρήτης



Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ

ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

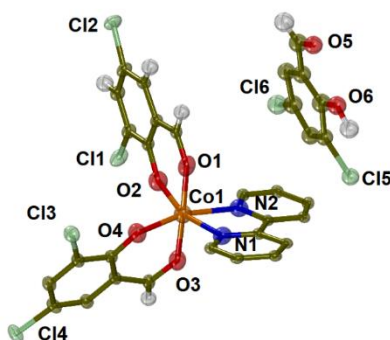
ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)

«ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΟΒΑΛΤΙΟΥ ΜΕ ΣΑΛΙΚΥΛΑΛΔΕΪΔΕΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ,  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ**

ΗΛΕΚΤΡΑ – ΒΑΛΕΝΤΙΝΗ ΤΡΥΓΩΝΗ, ΧΗΜΙΚΟΣ



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΨΩΜΑΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2023



Πανεπιστήμιο  
Ιωαννίνων



Πανεπιστήμιο  
ΕΚΠΑ



Πανεπιστήμιο  
ΑΠΘ



Πανεπιστήμιο  
Πατρών



Πανεπιστήμιο  
Κρήτης



Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

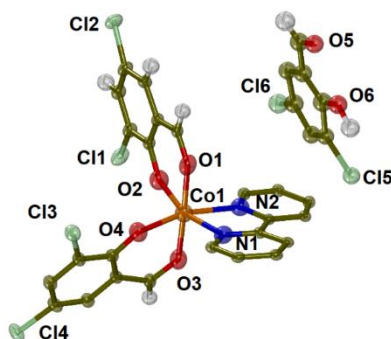
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ  
ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΟΒΑΛΤΙΟΥ ΜΕ ΣΑΛΙΚΥΛΑΛΔΕΪΔΕΣ: ΣΥΝΘΕΣΗ,  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

ΗΛΕΚΤΡΑ – ΒΑΛΕΝΤΙΝΗ ΤΡΥΓΩΝΗ, ΧΗΜΙΚΟΣ



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΨΩΜΑΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2023

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

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Γεώργιος Ψωμάς

Θέμα: «Σύμπλοκες ενώσεις του κοβαλτίου με σαλικυλαλδεΐδες: Σύνθεση, χαρακτηρισμός της δομής και μελέτη της βιολογικής δράσης»

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

- 1 Αναπληρωτής καθηγητής Γεώργιος Ψωμάς – Επιβλέπων καθηγητής
- 2 Καθηγητής Σωτήριος Χατζηκακού – Μέλος Εξεταστικής Επιτροπής
- 3 Καθηγητής Αθανάσιος Κουτσολέλος – Μέλος Εξεταστικής Επιτροπής

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις \_\_\_\_\_

Ο Διευθυντής του Δ.Π.Μ.Σ.  
Καθηγητής \_\_\_\_\_

Ο/Η Γραμματέας  
\_\_\_\_\_

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	6
A. Θεωρητικό Μέρος.....	7
A.1 Εισαγωγή.....	8
A.2 Κοβάλτιο .....	11
A.2.1 Εισαγωγικά στοιχεία για το κοβάλτιο.....	11
A.2.2 Γενικά χαρακτηριστικά .....	12
A.2.3 Παραγωγή .....	13
A.2.4 Χρήσεις .....	14
A.2.5 Ισότοπα του Κοβαλτίου .....	16
A.2.6 Ενώσεις Κοβαλτίου .....	17
A.2.7 Το Κοβάλτιο <i>in vivo</i> .....	20
A.2.7.1 Η βιολογική σημασία του Κοβαλτίου .....	20
A.2.7.2 Κοβαλαμίνη – Βιταμίνη B12 .....	21
A.2.8 Σύμπλοκες ενώσεις του Co με βιολογικό ενδιαφέρον.....	25
A.2.8.1 Σύμπλοκα κοβαλτίου με κινολόνες.....	25
A.2.8.2 Σύμπλοκες ενώσεις του κοβαλτίου με ΜΣΑΦ .....	27
A.3 Σαλικυλαλδεΐδες.....	29
A.3.1 Εισαγωγικά στοιχεία.....	29
A.3.2 Τρόπος συναρμογής των σαλικυλαλδεϊδών.....	30
A.3.3 Ενώσεις των σαλικυλαλδεϊδών με βιολογικό ενδιαφέρον.....	33
B. Πειραματικό Μέρος.....	35
B.1 Πειραματικές τεχνικές, όργανα μέτρησης και υλικά.....	36
B.1.1 Περιγραφή των ligands .....	36
B.1.2 Ετεροκυκλικές ενώσεις ως αζωτοδότες.....	36
B.1.3 Αντιδραστήρια – Διαλύτες.....	36
B.1.4 Όργανα Μέτρησης .....	37
B.2 Σύνθεση των συμπλόκων ενώσεων .....	37
B.2.1 Σύνθεση των πρόδρομων ενώσεων κοβαλτίου.....	37
B.2.1.1 Σύνθεση της πρόδρομης ένωσης [Co(bipy) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ]Cl (a) .....	38
B.2.1.2 Σύνθεση της πρόδρομης ένωσης [Co(phen) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ](H <sub>2</sub> O) (b) .....	38
B.2.2 Σύνθεση σαλικυλαλδεϊδικών συμπλόκων .....	38
B.2.2.1 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-nitro-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (1).....	39
B.2.2.2 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-nitro-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (2) .....	39
B.2.2.3 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-F-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (3).....	39
B.2.2.4 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-Cl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (4).....	39
B.2.2.5 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (5) .....	39

B.2.2.6 Παρασκευή του συμπλόκου $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ (6) .....	39
B.2.2.7 Παρασκευή του συμπλόκου $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ (7) .....	40
B.2.2.8 Παρασκευή του συμπλόκου $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ (8) .....	40
B.2.2.9 Παρασκευή του συμπλόκου $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})_2(\text{bipy})].0.5(3,5\text{-diCl-saloH})$ (9) .....	40
<b>B.3 Μελέτη των συμπλόκων 1-8 με φυσικοχημικές τεχνικές .....</b>	<b>41</b>
B.3.1 Διαλυτότητα των συμπλόκων ενώσεων .....	41
B.3.2 Αγωγιμομετρία .....	41
<b>B.4 Φασματοσκοπική μελέτη των συμπλόκων ενώσεων .....</b>	<b>43</b>
B.4.1 Μελέτη των συμπλόκων με φασματοσκοπία IR .....	43
B.4.2 Μελέτη των συμπλόκων ενώσεων με φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού (UV-vis) .....	49
<b>B.5 Χαρακτηρισμός της δομής των συμπλόκων ενώσεων .....</b>	<b>52</b>
B.5.1 Περιγραφή της κρυσταλλικής δομής της σύμπλοκης ένωσης $[\text{Co}(\text{bipy})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$ (a) .....	52
B.5.2 Περιγραφή της κρυσταλλικής δομής της σύμπλοκης ένωσης $[\text{Co}(\text{phen})_2\text{Cl}_2](\text{H}_2\text{O})$ (b) .....	53
B.5.3 Περιγραφή της κρυσταλλικής δομής του συμπλόκου $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ (6) .....	54
B.5.4 Περιγραφή της δομής του συμπλόκου $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})_2(\text{bipy})].0.5(3,5\text{-diCl-saloH})$ (9) .....	54
B.5.4 Προτεινόμενη δομή των συμπλόκων (1), (2), (3), (4), (5), (7) και (8) .....	55
<b>Γ. Βιολογικό Μέρος .....</b>	<b>57</b>
<b>Γ.1 Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με το DNA .....</b>	<b>58</b>
Γ.1.1 Εισαγωγή .....	58
Γ.1.2 Μελέτη αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis .....	63
Γ.1.3 Ιξωδομετρία .....	66
Γ.1.4 Μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης με το αιθίδιο βρωμίδιο .....	67
<b>Γ.2 Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με τις αλβουμίνες ορού αίματος .....</b>	<b>72</b>
Γ.2.1 Εισαγωγικά στοιχεία .....	72
Γ.2.2 Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με τις αλβουμίνες του ορού του αίματος .....	73
Γ.2.3 Αλληλεπίδραση με BSA .....	75
Γ.2.4 Αλληλεπίδραση με HSA .....	78
<b>Γ.3 Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων .....</b>	<b>83</b>
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>85</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>86</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....</b>	<b>90</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....</b>	<b>102</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>102</b>

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στόχος της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός της δομής και η μελέτη της βιολογικής δράσης σύμπλοκων ενώσεων του κοβαλτίου με υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες παρουσία των ετεροκυκλικών ligands δοτών ατόμων αζώτου 1,10-φαινανθρολίνη και 2,2'-διπυριδίνη. Τα σύμπλοκα μελετήθηκαν με φυσικοχημικές και φασματοσκοπικές τεχνικές και πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός της δομής τους. Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το calf-thymus (CT) DNA μελετήθηκε με φασματοσκοπία UV-Vis και ιξωδομετρία και μέσω της ανταγωνιστικής δράσης του με το αιθίδιο βρωμίδιο με φασματοσκοπία φθορισμού. Μελετήθηκε, επίσης, η αντιοξειδωτική ικανότητα των συμπλόκων μέσω της μείωσης της ενεργότητας των σταθερών ελεύθερων ριζών DPPH και ABTS και του ανταγωνισμού για τη δέσμευση ριζών υδροξυλίου. Τέλος, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με τις αλβουμίνες ορού του αίματος με φασματοσκοπία φθορισμού.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της μεταπτυχιακής αυτής εργασίας, αναπληρωτή καθηγητή του Τμήματος Χημείας του ΑΠΘ κ. Γεώργιο Ψωμά για τη στήριξη, την επιστημονική καθοδήγηση και την ενθάρρυνσή του καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Η υποστήριξη, η βοήθεια και η επιμονή του ήταν πολύτιμες, εξαιτίας των δύσκολων συνθηκών λόγω covid και του περιορισμένου χρόνου λόγω της εργασίας μου.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή του Τμήματος Χημείας των Ιωαννίνων κ. Χατζηκακού Σωτήριο και τον καθηγητή του Τμήματος Χημείας της Κρήτης κ. Κουτσοέλο Αθανάσιο που είναι μέλη της τριμελούς επιτροπής αυτής της Μεταπτυχιακής Διατριβής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω, επίσης, τον αναπληρωτή καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Α.Π.Θ. κ. Χατζηδημητρίου Αντώνιο για την επίλυση των κρυσταλλικών δομών.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά όλη την επιστημονική ομάδα του αναπληρωτή καθηγητή Γ. Ψωμά για τη βοήθεια τους, το ευχάριστο περιβάλλον εργασίας και την εξαιρετική συνεργασία και ειδικότερα ευχαριστώ τον υποψήφιο διδάκτωρα Γεώργιο Μαλή, για τη βοήθειά του και τη συμβολή του στη μελέτη των ελεύθερων ριζών.

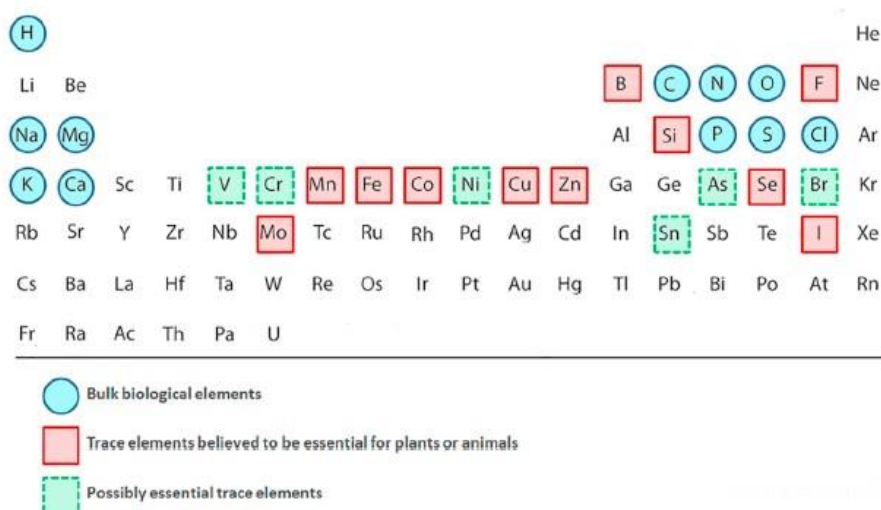
Αφιερώνω τη διπλωματική μου εργασία στη Σοφία, τη Μαρίλια, τη Χρυσούλα και το Στέλιο για την υποστήριξη, τη βοήθεια και τη διαρκή εμπύχωσή τους.

## **A. Θεωρητικό Μέρος**

## A.1 Εισαγωγή

Η Ανόργανη Βιολογική Χημεία ή Βιοανόργανη Χημεία, ένα διεπιστημονικό πεδίο που συνδέει την Ανόργανη Χημεία και τη Βιοχημεία, έχει συμβάλλει ιδιαίτερα στην ανάπτυξη της Ιατρικής και τη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας. Ανόργανα μόρια, όπως τα ιόντα των μεταβατικών μετάλλων και σύμπλοκες ενώσεις τους, διαθέτουν σημαντικό ρόλο στη ζωή των οργανισμών μέσω της σύνδεσής τους με πρωτεΐνες ή άλλα οργανικά μόρια. Έρευνες της Βιοανόργανης Χημείας περιλαμβάνουν τη χρήση μεταλλικών ιόντων για τη σύνθεση θεραπευτικών ενώσεων, ενώσεων μεταφοράς φαρμάκων και διαγνωστικών ενώσεων [1].

Οι οργανισμοί των φυτών και των ζώων χρειάζονται περίπου 20 από τα γνωστά στοιχεία, τα οποία θεωρούνται απαραίτητα ώστε να λειτουργήσουν φυσιολογικά. Τα στοιχεία αυτά είναι τα οργανικά ή “bulk” H, C, N και O, καθώς και τα Na, K, Mg, Ca, Cl, P, S, Mn, Fe, Zn, Se, Co, Mo και I. Στοιχεία όπως τα V, Ni, Br, Si και Sn, βρίσκονται υπό μελέτη για να χαρακτηριστούν απαραίτητα ιχνοστοιχεία για τη ζωή. Η θετική επίδραση του As και του Pb σε ορισμένους οργανισμούς υποδεικνύει την αβεβαιότητα που υπάρχει στην κατάταξη κάποιων ιχνοστοιχείων για το αν είναι απαραίτητα ή όχι για τους ζώντες οργανισμούς [2].

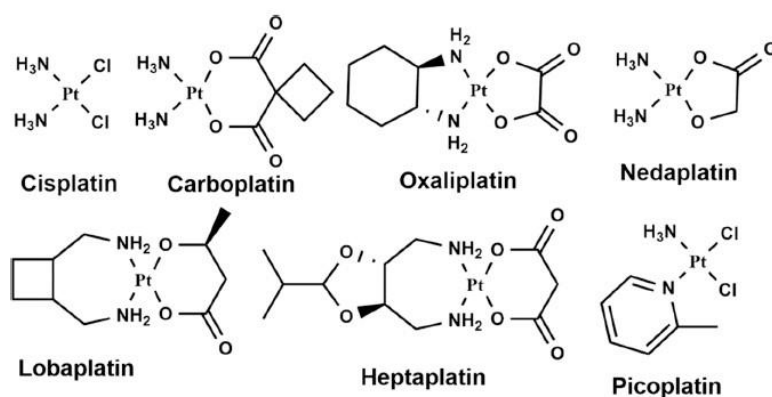


**Εικόνα 1.** Περιοδικός πίνακας των στοιχείων που είναι απαραίτητα για τη ζωή.

Ανόργανες ενώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη θεραπεία του καρκίνου, της κακοήθους αναιμίας και της νόσου του Alzheimer. Μέταλλα των μεταβατικών στοιχείων χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών φαρμάκων, λόγω της ποικιλίας τους στον αριθμό συναρμογής, τον αριθμό οξείδωσης και τη γεωμετρία τους. Η δομική αυτή διαφορετικότητα και ποικιλομορφία που προσδίδει νέες ιδιότητες στα μεταλλοφάρμακα δε θα μπορούσε να εμφανιστεί σε φάρμακα που βασίζονται σε οργανικές ενώσεις, εξαιτίας της περιορισμένης γεωμετρίας τους [3].

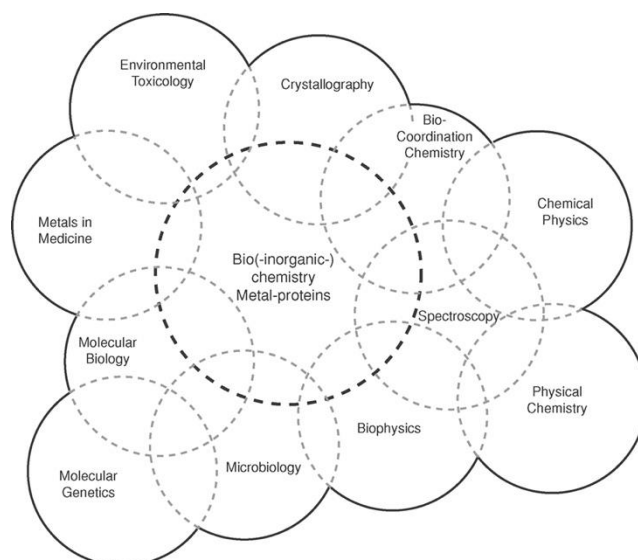


Το πιο ευρέως διαδεδομένο αντικαρκινικό φάρμακο είναι το μεταλλοφάρμακο *cisplatin* (cis-diamminedichloroplatinum(II), cis-DDP), το οποίο έδωσε το έναυσμα για την ανάπτυξη της Βιοανόργανης Χημείας. Το cisplatin χρησιμοποιείται για πάνω από 40 χρόνια για τη θεραπεία πολλών μορφών καρκίνου. Το ιόν Pt(II) που περιέχει προσδένεται στις αζωτούχες βάσεις του DNA, συγκεκριμένα στη γουανίνη και την αδενίνη, παρεμποδίζοντας έτσι την αντιγραφή του DNA και οδηγώντας στην απόπτωση του κυττάρου. Εξαιτίας της νεφρικής κυτταροτοξικότητας και άλλων παρενεργειών που προκαλεί το cisplatin, συντέθηκαν νέα αντικαρκινικά φάρμακα του λευκόχρυσου (**Εικόνα 2**) που προκαλούν μειωμένη κυτταροτοξικότητα, αλλά διαθέτουν παρόμοια θεραπευτική δράση με αυτή του cisplatin [4, 5].



**Εικόνα 2.** Αντικαρκινικά φάρμακα του λευκοχρύσου.

Η πιο σημαντική συνεισφορά της Βιοανόργανης Χημείας στη διαγνωστική είναι η χρήση συμπλόκων του γαδολινίου(III) ως παράγοντες αντίθεσης στην απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI-CA) και συμπλόκων του <sup>99</sup>Tc στην καρδιαγγειακή απεικόνιση. Ενώσεις του μαγγανίου και του σιδήρου εξετάζονται, επίσης, για τη χρήση τους ως μέσα αντίθεσης στη MRI και ισότοπα του χαλκού, του γάλλιου και του ινδίου για τη ραδιοσήμανση. Ως αποτέλεσμα, σύμπλοκες ενώσεις ιόντων μετάλλων συμβάλλουν σημαντικά στην ανάπτυξη της βιοϊατρικής τεχνολογίας.



**Εικόνα 3.** Τα επιστημονικά πεδία που συνδέονται με τη Βιοανόργανη Χημεία.

## A.2 Κοβάλτιο

### A.2.1 Εισαγωγικά στοιχεία για το κοβάλτιο

Το κοβάλτιο ως καθαρό μέταλλο δεν είχε χρησιμοποιηθεί μέχρι τις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Ενώσεις του κοβαλτίου, ωστόσο, χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες για να εμπλουτίσουν με έντονο μπλε χρώμα στα γυαλιά, το σμάλτο και τα κεραμικά. Ευρήματα του κοβαλτίου έχουν βρεθεί σε αγάλματα σε αιγυπτιακούς τάφους, σε περσικά κοσμήματα της τρίτης χιλιετίας π.Χ., στα ερείπια της Πομπηίας που καταστράφηκε το 79 μ. Χ., καθώς και σε κινεζικά ευρήματα που χρονολογούνται από τη δυναστεία των Τανγκ (618 – 907 μ. Χ.) και τη δυναστεία των Μινγκ (1368 – 1644 μ. Χ.) [6].

Μέχρι το 1700, οι χρωστικές ουσίες που προερχόντουσαν από το κοβάλτιο είχαν την ονομασία σμάλτο ή σαφράν και αποδίδονταν στο βισμούθιο, το χαλκό, το αρσενικό και το σίδηρο. Το κοβάλτιο απομονώθηκε στη μεταλλική του μορφή από το Σουηδό χημικό George Brandt (1694–1768) το 1735. Ο Brandt προσπαθούσε να αποδείξει ότι η εμφάνιση του μπλε χρώματος σε διάφορα ορυκτά οφείλονταν σε κάποιο νέο μέταλλο και όχι στο βισμούθιο, όπως θεωρούσαν μέχρι τότε. Η επιβεβαίωση της μελέτης του Brandt και του κοβαλτίου ως νέο στοιχείο διαπιστώθηκε τελικά από το Σουηδό επιστήμονα Torbern Bergman (1735–1784) το 1780.

Η ονομασία του κοβαλτίου χρονολογείται από τον 16<sup>ο</sup> αιώνα και προέρχεται από τη γερμανική λέξη “Kobalt” που σημαίνει κακό πνεύμα/δαίμονας. Οι μεταλλωρύχοι της Βόρειας Ευρώπης χρησιμοποιούσαν αυτόν τον όρο για να περιγράψουν τα ορυκτά που περιείχαν κοβάλτιο, καθώς τα θεωρούσαν άχρηστα και επιβλαβή. Ωστόσο, αργότερα, διαπιστώθηκε ότι τα κυανού χρώματος μεταλλεύματα περιείχαν δηλητηριώδες αρσενικό, με τη μορφή  $CoAs_2$ , η φρύξη του οποίου έδινε το τοξικό  $As_4O_6$  που πολλές φορές προκαλούσε το θάνατο των μεταλλωρύχων [7].



**Εικόνα 4.** Πορσελάνινες φιάλες της δυναστείας των Μινγκ, Βρετανικό Μουσείο [8].

### A.2.2 Γενικά χαρακτηριστικά

Το κοβάλτιο (Cobalt, Co) έχει ατομικό αριθμό 27 και ηλεκτρονιακή διαμόρφωση  $[Ar]3d^74s^2$ . Ταξινομείται στην 9<sup>η</sup> ομάδα (VIII B) του περιοδικού πίνακα, μαζί με το ρόδιο και το ιρίδιο, και βρίσκεται στην πρώτη σειρά των μετάλλων μετάπτωσης ανάμεσα στο νικέλιο και το σίδηρο. Είναι σκληρό, λαμπερό και αργυρόλευκο μέταλλο, ενώ η τομή του παρουσιάζει ασθενείς κυανές αποχρώσεις. Η πυκνότητα του κοβαλτίου είναι  $8.9 \text{ g/cm}^3$ , έχει σημείο τήξης στους  $1495 \text{ }^\circ\text{C}$  και σημείο βρασμού στους  $2870 \text{ }^\circ\text{C}$ . Το κοβάλτιο παρουσιάζει πολύ υψηλή θερμοκρασία Curie ( $T_c = 1123 \text{ }^\circ\text{C}$ ) και είναι σιδηρομαγνητικό μέχρι αυτό το σημείο. Το κοβάλτιο σε κρυσταλλική μορφή εμφανίζει δύο δομές, σε θερμοκρασίες κάτω από  $417 \text{ }^\circ\text{C}$  είναι εξαγωνικό, ενώ σε θερμοκρασίες πάνω από  $417 \text{ }^\circ\text{C}$  έχει κυβική δομή. Η μετατροπή από τη μία μορφή στην άλλη είναι αρκετά αργή και η εξαγωνική δομή παρουσιάζει μεγαλύτερη σταθερότητα.

Το κοβάλτιο είναι πυροφόρο στον αέρα όταν βρίσκεται σε λεπτό διαμερισμό, ενώ σε συμπαγή μάζα είναι αδρανές. Στο ατμοσφαιρικό οξυγόνο είναι σταθερό στη θερμοκρασία δωματίου, ενώ όταν ερυθροπυρωθεί οξειδώνεται αρχικά σε  $\text{Co}_3\text{O}_4$  και στη συνέχεια, σε θερμοκρασίες άνω των  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ , σε  $\text{CoO}$ . Το κοβάλτιο δεν προσβάλλεται από το νερό και τους υδρατμούς. Είναι ικανό να αντιδρά με θέρμανση με τα αλογόνα και τα αμέταλλα B, C, P, As και S, παραμένει, όμως, ανεπηρέαστο κατά την έκθεση του σε  $\text{H}_2$  και  $\text{N}_2$ . Το κοβάλτιο διαλύεται αργά στα οξέα σχηματίζοντας άλατα του Co (II), ενώ σε πυκνό  $\text{HNO}_3$  παρουσιάζει παθητική κατάσταση, όπως και ο σίδηρος [9, 10].

**Πίνακας 1.** Ορισμένες ιδιότητες του Κοβαλτίου.

Ιδιότητα	Co
Ατομικός Αριθμός	27
Ηλεκτρονιακή διαμόρφωση	$[Ar]3d^74s^2$
Ατομικό βάρος	58,93
Ατομική ακτίνα (Å)	1,25
Ιοντική ακτίνα $M^{2+}$ (Å)	0,74
Ιοντική ακτίνα $M^{3+}$ (Å)	0,63
$E^\circ$ (Volt), $M/M^{2+}$	0,28
Σημείο ζέσης ( $^\circ\text{C}$ )	3100
Σημείο τήξης ( $^\circ\text{C}$ )	1495
1 <sup>η</sup> ενέργεια ιονισμού (eV)	7,86
Ηλεκτραρνητικότητα	1,88

### A.2.3 Παραγωγή

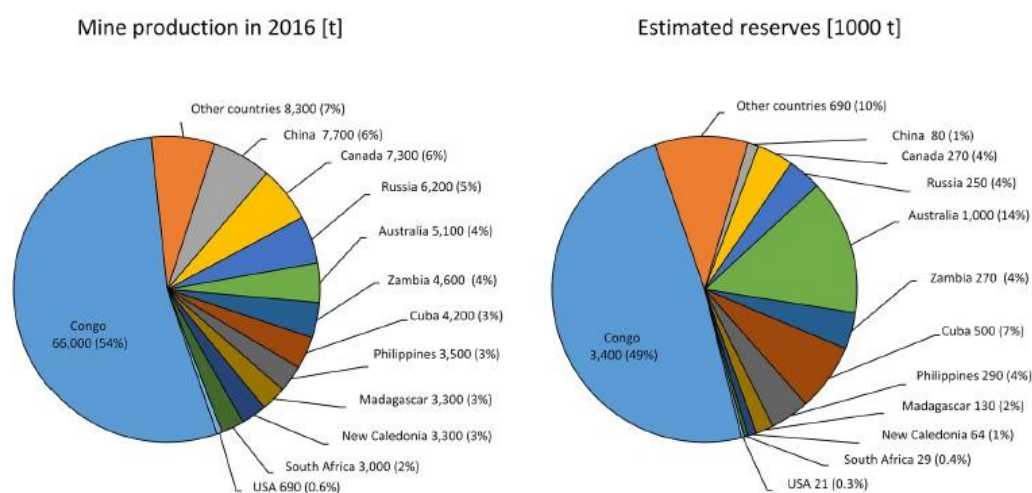
Το κοβάλτιο βρίσκεται στο φλοιό της Γης μόνο με τη μορφή μεταλλευμάτων και δεν απαντά ελεύθερο στη φύση. Σήμερα, ορισμένη ποσότητα του κοβαλτίου παράγεται από διάφορα μεταλλικά ορυκτά, όπως για παράδειγμα τον κοβαλτίτη ( $\text{CoAsS}$ ), ωστόσο, η μεγαλύτερη ποσότητα κοβαλτίου παράγεται ως παραπροϊόν της εξόρυξης χαλκού και νικελίου. Τα νικελιούχα ορυκτά εντοπίζονται, κυρίως, σε τροπικές περιοχές, ενώ θειούχα μεταλλεύματα τους βρίσκονται στη Βόρεια Αμερική και στο βορειότερο τμήμα της Σιβηρίας. Η εξόρυξη των μεταλλευμάτων αυτών πραγματοποιείται μόνο όταν η συγκέντρωσή τους σε Ni είναι μεγαλύτερη από 1% και του Co 0,05%. Το κοβάλτιο εντοπίζεται, επίσης, σε χαλκούχα μεταλλεύματα στην κεντρική Αφρική, ιδιαίτερα στη Λαϊκή Δημοκρατία του Κονγκό και τη Ζάμπια, και σε αρσενικούχα στο Μαρόκο. Μία ακόμη βασική πηγή Co προέρχεται από τα απορρίμμά τους ύστερα από ανακύκλωση. Αξίζει να σημειωθεί ότι το 2010 η παγκόσμια παραγωγή κοβαλτίου έφτασε τους 60.000 τόνους [11].

Το νικέλιο και το κοβάλτιο συνυπάρχουν σε μεταλλεύματα οξειδίων ή σουλφιδίων, ενώ κοβάλτιο εντοπίζεται και σε αρσενικούχα ή θειούχα μεταλλεύματα. Τα σημαντικότερα ορυκτά του κοβαλτίου είναι αρσενικούχα και θειούχα, όπως ο σμαλτίτης ( $\text{CoAs}_2$ ), ο σκουττερουδίτης ( $(\text{Co,Ni)As}_3$ ), ο κοβαλτίτης ( $\text{CoAsS}$ ), ο λιναιίτης ( $\text{Co}_3\text{S}_4$ ) και ο κατιερίτης ( $\text{CoS}_2$ ). Κάθε τύπος μεταλλεύματος χρήζει διαφορετική διαδικασία επεξεργασίας. Κάποιες μέθοδοι για την παραγωγή σκόνης κοβαλτίου από διάφορα μεταλλεύματα είναι οι εξής: η ηλεκτρολυτική μέθοδος, η αναγωγή οξειδίων, η υδρομεταλλουργική τεχνική, ο ψεκασμός, η καρβονυλική επεξεργασία και η τεχνική αμαλάματος. Παλιότερα χρησιμοποιούνταν η αναγωγή των οξειδίων, σήμερα, όμως, εφαρμόζεται ευρέως η ηλεκτρολυτική μέθοδος και ιδιαίτερα για την περίπτωση των χαλκούχων και των νικελιούχων μεταλλευμάτων [12].

Το μεγαλύτερο μέρος της σκόνης κοβαλτίου παράγεται με αναγωγή του οξειδίου του κοβαλτίου με υδρογόνο σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες, περίπου κάτω από 1073 K, ώστε να επιτευχθεί υψηλός βαθμός καθαρότητας του κοβαλτίου. Για να αποτραπεί η οξείδωση της σκόνης, ψύχεται στους 333 – 343 K σε αδρανή ή αναγωγική ατμόσφαιρα. Σκόνη κοβαλτίου μπορεί να παραλειφθεί και με την αναγωγή οξειδίου του κοβαλτίου με άνθρακα, μονοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο που πραγματοποιείται σε ειδικούς κλιβάνους, ωστόσο η τεχνική αυτή δεν έχει ακόμη εδραιωθεί. Μεταλλοθερμική αναγωγή των οξειδίων του κοβαλτίου μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση αλουμινίου, βορίου, μαγνησίου και πυριτίου σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 2700 έως 2900 K. Κοβάλτιο υψηλής καθαρότητας (περίπου 99,9%

περιεκτικότητα σε Co) λαμβάνεται με την επεξεργασία χλωριούχου κοβαλτίου με αλουμίνιο στους 903 K σε μείγμα NaCl – KCl.

Περίπου το 20% του κοβαλτίου που καταναλώνεται προέρχεται από την ανακύκλωση απορριμμάτων. Η παραγωγή του μεταλλικού κοβαλτίου από θραύσματα έχει σημαντικά πλεονεκτήματα. Αρχικά, επιβραδύνεται η εξάντληση των φυσικών πόρων της Γης και χρησιμοποιείται λιγότερη ενέργεια από αυτήν που απαιτείται για την παραγωγή κοβαλτίου από μέταλλευμα, καθώς παραλείπεται το στάδιο της εξόρυξης. Ακόμη, δεν παράγονται τα βλαβερά απόβλητα των ορυχείων και αποφεύγεται η σπατάλη μεγάλων εκτάσεων γης που θα απαιτούνταν για να πραγματοποιηθεί η εξόρυξη. Το μεγαλύτερο μέρος του ανακυκλώσιμου κοβαλτίου ανακτάται με τη χρήση επίσης ανακυκλωμένων κραμάτων. Τα κράματα έχουν παρόμοια σύσταση με αυτήν των απορριμμάτων και μπορούν να εξευγενιστούν σε μεταλλικό κοβάλτιο υψηλής καθαρότητας.



**Εικόνα 5.** Μέρη (α) της παγκόσμιας παραγωγής του Co και (β) των εκτιμώμενων αποθεμάτων σε Co [13].

#### A.2.4 Χρήσεις

Το κοβάλτιο μέχρι περίπου τον 20<sup>ο</sup> αιώνα, όπου έγινε η επιβεβαίωσή του ως νέο μέταλλο, χρησιμοποιούνταν, κυρίως, ως χρωστική για γυαλικά και κεραμικά. Σήμερα, ωστόσο, το κοβάλτιο βρίσκει ποικίλες εφαρμογές στη βιομηχανία και για το λόγο αυτό εντείνεται η αύξηση της παραγωγής του. Η παγκόσμια παραγωγή του κοβαλτίου έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια (από τους 10.000 τόνους κοβαλτίου το 2008 στους 140.000 τόνους το 2018), ενώ εκτιμάται ότι η ανάγκη για κοβάλτιο θα αυξηθεί ακόμη παραπάνω την επόμενη πενταετία.

Συγκεκριμένα, υπολογίζεται ότι έως το 2025 η παγκόσμια ανάγκη για μεταλλικό κοβάλτιο θα εκτιναχθεί στους 222.000 τόνους.

Η ραγδαία αυτή αύξηση της ποσότητας του κοβαλτίου οφείλεται κυρίως στη χρήση του στις μπαταρίες ιόντων λιθίου, ένα είδος επαναφορτιζόμενων μπαταριών. Τα τελευταία χρόνια εντατικοποιείται η ανάπτυξη νέων, φιλικών προς το περιβάλλον τεχνολογιών, όπως τα ηλεκτρικά οχήματα, ώστε να επιτευχθεί η μείωση των ρίπων. Οι μπαταρίες ιόντων λιθίου είναι η πλέον υποσχόμενη τεχνολογία για την ηλεκτροδότηση των ηλεκτροκίνητων οχημάτων, εξαιτίας της χαμηλής τους τάσης, του χαμηλού βάρους τους και της πυκνότητάς τους που είναι κατάλληλη για μεγάλο εύρος οδήγησης. Μία μπαταρία ιόντων λιθίου για ένα ηλεκτρικό αυτοκίνητο περιέχει ποσότητα κοβαλτίου που κυμαίνεται από 4,5 έως 9 κιλά. Στις εφαρμογές των μπαταριών ιόντων λιθίου, πέρα από τα ηλεκτρικά οχήματα, συμπεριλαμβάνεται η χρήση τους στα κινητά τηλέφωνα, του φορητούς υπολογιστές και τις φωτογραφικές μηχανές [14].

Το κοβάλτιο σε σκόνη και τα κράματά του χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία μεταλλουργίας σκόνης (Powder Metallurgy, PM) για την παραγωγή μόνιμων μαγνητών, υπερκράματων, δηλαδή κραμάτων ανθεκτικών σε υψηλές θερμοκρασίες και τριβές, και κραμάτων ανθεκτικών στη διάβρωση. Χάλυβες που περιέχουν κοβάλτιο σε ποσοστό έως και 60% χρησιμοποιούνται για την κατασκευή θαλάμων καύσης, όπως και τμημάτων και εξαρτημάτων αεροστρόβιλων και διαστημοπλοίων. Κράματα κοβαλτίου εμπλουτισμένα με άλλα μέταλλα, όπως μολυβδαίνιο, χρώμιο, βολφράμιο και τιτάνιο, ώστε να βελτιστοποιηθούν οι ιδιότητές τους, χρησιμεύουν για την κατασκευή χειρουργικών εργαλείων, εμφυτευμάτων οστών και γεωργικών εργαλείων, καθώς και για την επιμετάλλωση κοσμημάτων και άλλων υλικών.

Ενώσεις του κοβαλτίου χρησιμοποιούνται ευρέως για την παραγωγή χρωστικών υλών που βρίσκουν εφαρμογή στην υαλουργία και τη βιομηχανία κεραμικών. Χρησιμοποιούνται από την αρχαιότητα για να διακοσμήσουν με έντονο μπλε ή πράσινο χρώμα πορσελάνες, κεραμικά και γυαλικά. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων είναι το πυριτικό – κάλιο κοβάλτιο που παράγει κυανό σμάλτο, το αργλικό κοβάλτιο ή κυανό του Thernard και το ψευδαργυρικό κοβάλτιο ή πράσινο του Rinman. Ενώσεις του κοβαλτίου χρησιμοποιούνται, επίσης, για την παραγωγή λευκού σμάλτου, καθώς είναι ικανές να εξουδετερώσουν το κίτρινο χρώμα που παρατηρείται από τις προσμίξεις με σίδηρο. Οι ενώσεις του κοβαλτίου, πέρα από την απόχρωση που προσδίδουν, είναι ικανές να παρεμποδίσουν την οξειδωση και την ξήρανση των χρωστικών υλών, δίνοντας τους ανθεκτικότητα στο χρόνο.

Η ικανότητα του κοβαλτίου να συνδέεται με ποικίλους ligand σχηματίζοντας πληθώρα συμπλόκων το καθιστά κατάλληλο για τη χρήση του ως καταλύτη. Η σημαντικότερη εφαρμογή του κοβαλτίου ως καταλύτη είναι στη διαδικασία απομάκρυνσης του θείου από το πετρέλαιο μέσω υδροαποθείωσης, μία διαδικασία ύψιστης σημασίας για την προστασία του περιβάλλοντος και ιδιαίτερα στα αστικά κέντρα. Το κοβάλτιο είναι, επίσης, αποτελεσματικός καταλύτης για τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, εξαιτίας της ιδιότητάς του να μετατρέπεται ανάμεσα στις οξειδωτικές καταστάσεις +2 και +3. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται ως πρόσθετο σε όλους τους καταλύτες για τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στην Οργανική Χημεία, όπως για παράδειγμα στην οξείδωση του τολουολίου σε βενζοϊκό οξύ [20].

### A.2.5 Ισότοπα του Κοβαλτίου

Μέχρι σήμερα, έχουν ανακαλυφθεί 26 ισότοπα του κοβαλτίου με τιμές ατομικού βάρους που κυμαίνονται από 50 έως 75. Από τα ισότοπα αυτά, ένα είναι σταθερό στη φύση, το  $^{59}\text{Co}$ , εννιά είναι πλούσια σε πρωτόνια και 16 είναι πλούσια σε νετρόνια. Τα κυριότερα ραδιενεργά ισότοπα του κοβαλτίου είναι τα  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{58}\text{Co}$  και  $^{60}\text{Co}$  με χρόνους ημιζωής 17,5 ώρες, 272 μέρες, 71 μέρες και 5.271 χρόνια, αντίστοιχα. Τα ραδιοϊσότοπα που δεν υπάρχουν στη φύση μπορούν να παραχθούν σε πυρηνικούς αντιδραστήρες ή με την ακτινοβόληση του σταθερού κοβαλτίου ή άλλων στοιχείων, για παράδειγμα από την ακτινοβόληση του  $^{59}\text{Co}$  παράγεται το  $^{60}\text{Co}$ , του  $^{58}\text{Ni}$  το  $^{58}\text{Co}$  και από το  $^{54}\text{Fe}$  το  $^{55}\text{Co}$ . Η παραγωγή των ραδιοϊσοτόπων του κοβαλτίου έχει ιδιαίτερη σημασία εξαιτίας των ποικίλων εφαρμογών που βρίσκουν στη βιομηχανία και στην πυρηνική ιατρική, καθώς και της παρουσίας τους στα απόβλητα των πυρηνικών εργοστασίων [15-17].

Το πιο διαδεδομένο ραδιοϊσότοπο του κοβαλτίου είναι το Κοβάλτιο-60, το οποίο παράγεται με την ενεργοποίηση νετρονίων του ισότοπου  $^{59}\text{Co}$ . Απομονώθηκε για πρώτη φορά από τους Livingood και Seaborg το 1941. Αποτελεί σημαντικό μέρος της ραδιενεργής μόλυνσης μέσα και γύρω από τους πυρηνικούς αντιδραστήρες, στις μονάδες επεξεργασίας καυσίμων, στη λειτουργία διαχείρισης πυρηνικών αποβλήτων και στα εργαστήρια. Το Κοβάλτιο-60 έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως πηγή υψηλής ενέργειας  $\gamma$  στη ραδιοθεραπεία και ως απολυμαντικό μέσο ιατρικού εξοπλισμού, μπαχαρικών και τροφίμων. Άλλες εφαρμογές του  $^{60}\text{Co}$  εντοπίζονται στη βιομηχανική ακτινογραφία για την ανίχνευση δομικών ελαττωμάτων σε μεταλλικά εξαρτήματα, σε μηχανήματα κατεδάφισης, καθώς και σε μετρητές πάχους. Στην πυρηνική ιατρική το Κοβάλτιο-60 συμβάλλει ως ραδιενεργή πηγή στην ακτινοθεραπεία με διάφορες μεθόδους, όπως την τηλεθεραπεία (teletherapy), το μαχαίρι γάμα (gamma knife) και τη



βραχυθεραπεία (brachytherapy) και χρησιμοποιείται στη θεραπεία των όγκων του εγκεφάλου και των παραμορφώσεων των αιμοφόρων αγγείων.

Η έκθεση σε Κοβάλτιο-60 γίνεται στοχευμένα και κάτω από αυστηρές συνθήκες προστασίας κατά τη διάρκεια ιατρικών εξετάσεων και θεραπειών, ώστε να αποφευχθούν οι αρνητικές επιπτώσεις της ακτινοβολίας και να χρησιμοποιηθούν στο έπακρο τα οφέλη της για την ιατρική περίθαλψη. Ωστόσο, η εξωτερική έκθεση σε Co-60, κάτω από μη ελεγχόμενες συνθήκες, είναι ικανή να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Η μεγαλύτερη ποσότητα του Co-60 που απορροφάται από τον οργανισμό απεκκρίνεται από τα κόπρανα, όμως, σε περιπτώσεις υψηλής έκθεσης, μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται από το συκώτι, το ήπαρ και τα οστά προκαλώντας την εμφάνιση καρκίνου. Μία μη ορθή εκμετάλλευση μιας πηγής Κοβαλτίου-60 σε βιομηχανική κλίμακα μπορεί να οδηγήσει σε εξωτερική έκθεση σε μεγάλα ποσά ραδιενέργειας, με αποτέλεσμα να προκληθούν εγκαύματα στο δέρμα ή ακόμη και θάνατος σε περιπτώσεις παρατεταμένης έκθεσης. Το ατύχημα στο πυρηνικό εργοστάσιο του Τσερνόμπιλ, κατά το οποίο απελευθερώθηκαν τεράστια ποσά ραδιενεργού Κοβαλτίου-60, αποτελεί το πιο γνωστό παράδειγμα κακοδιαχείρισης ραδιενεργούς πηγής [18, 19].

**Πίνακας 2.** Σύγκριση των εκτιμώμενων δόσεων για την ενδοφλέβια χορήγηση των ισοτόπων του κοβαλτίου [16].

Ιστός	<sup>55</sup> Co	<sup>57</sup> Co	<sup>58</sup> Co	<sup>60</sup> Co
Συκώτι	5.7	2.3	2.2	1.8
Νεφροί	6.6	6.6	4.0	3.9
Επιφάνεια οστών	1.0	2.2	1.3	2.0
Μυελός των οστών	1.1	1.6	1.4	1.8
Άλλοι ιστοί	0.4 – 1.8	0.7 – 1.4	0.7 – 1.5	0.7 – 1.5

### A.2.6 Ενώσεις Κοβαλτίου

Το κοβάλτιο μπορεί να έχει οξειδωτικές βαθμίδες +1, +2, +3, +4 και +5. Οι οξειδωτικές βαθμίδες +2 και +3 είναι οι πιο συχνές για το κοβάλτιο, ενώ παραδείγματα ενώσεων όπου το κοβάλτιο έχει οξειδωτική βαθμίδα +4 ή +5 είναι αρκετά σπάνια και δεν είναι πλήρως χαρακτηρισμένα [10]. Το Co<sup>2+</sup> σχηματίζει ποικίλα απλά και εφυδατωμένα άλατα. Το υδροξείδιο του κοβαλτίου (Co(OH)<sub>2</sub>) είναι η πιο διαδεδομένη ένωση του κοβαλτίου και αποτελεί τη βάση για την παρασκευή των αλάτων του. Απαντά σε δύο μορφές, ανάλογα με τις συνθήκες της αντίδρασης, το λιγότερο σταθερό κυανό Co(OH)<sub>2</sub> το οποίο μετατρέπεται στο σταθερότερο ρόδινο στερεό, ενώ κατά την παραμονή του στον αέρα οξειδώνεται στο μαύρο στερεό Co<sup>III</sup>O·OH [21]. Τα σημαντικότερα καρβοξυλικά άλατα του Co(II) περιλαμβάνουν μυρμηκικό, οξικό, κιτρικό,

οξαλικό και 2 – αιθυλεξανοϊκό οξύ. Ένα παράδειγμα είναι το πορτοκαλί  $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ , το οποίο στην καθαρή του μορφή είναι λευκό και αποσυντίθεται όταν βρίσκεται στον αέρα ή όταν θερμαίνεται σε θερμοκρασίες υψηλότερες από  $50^\circ\text{C}$  [9].

Ο αριθμός των οξειδίων του κοβαλτίου, όπως και των υπολοίπων στοιχείων της 9<sup>ης</sup> ομάδας του περιοδικού πίνακα, είναι περιορισμένος, λόγω του μειωμένου εύρους των οξειδωτικών τους καταστάσεων. Το πράσινο μονοξείδιο του κοβαλτίου ( $\text{CoO}$ ) είναι το μόνο οξείδιο των στοιχείων της 9<sup>ης</sup> ομάδας που βρίσκεται στην οξειδωτική κατάσταση +2. Παρασκευάζεται με θέρμανση του μετάλλου σε αέρα ή ατμό ή, εναλλακτικά, με τη θέρμανση του υδροξειδίου, του νιτρικού ή του ανθρακικού κοβαλτίου απουσία αέρα. Έχει δομή “rock-salt”, είναι αντισιδηρομαγνητικό για θερμοκρασίες κάτω από τους 289 K και όταν αντιδρά με το διοξείδιο του πυριτίου παράγει χρωστικές που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία των κεραμικών. Το  $\text{CoO}$  είναι σταθερό στον αέρα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος και σε θερμοκρασίες άνω των  $900^\circ\text{C}$ , ωστόσο, αν θερμανθεί σε διαφορετικές θερμοκρασίες, όπως  $600\text{--}700^\circ\text{C}$ , μετατρέπεται στο μαύρο  $\text{Co}_3\text{O}_4$  που χρησιμοποιείται στην υαλουργία. Στο επιτεταρτοξείδιο κοβαλτίου, το οποίο έχει δομή σπινέλιου, το  $\text{Co}^{\text{II}}$  είναι τετραεδρικό και το  $\text{Co}^{\text{III}}$  είναι οκταεδρικό [10, 21].

Τα σουφλίδια του κοβαλτίου που έχουν απομονωθεί είναι περισσότερα συγκριτικά με τα οξείδια του, όμως, ορισμένα μόνο από αυτά έχουν χαρακτηριστεί πλήρως. Το κοβάλτιο σχηματίζει το  $\text{CoS}_2$  με δομή πυραμίδας, το  $\text{Co}_3\text{S}_4$  με δομή σπινέλιου και το  $\text{Co}_{1-x}\text{S}$  με δομή παρόμοια με το  $\text{NiAs}$  και ανεπάρκεια σε κοβάλτιο. Όλα τα σουλφίδια του κοβαλτίου είναι μεταλλικά. Οι αλογονούχες ενώσεις του κοβαλτίου είναι κυρίως διαλογονούχες. Το διχλωριούχο κοβάλτιο,  $\text{CoCl}_2$ , και το βρωμιούχο κοβάλτιο,  $\text{CoBr}_2$ , είναι διαλυτά στο νερό και σε οργανικούς πολικούς διαλύτες και δίνουν κρυσταλλικά ένυδρα άλατα. Το διφθοριούχο κοβάλτιο,  $\text{CoF}_2$ , παρουσιάζει μικρή διαλυτότητα και αντιδρώντας με φθόριο δίνει τριφθοριούχο κοβάλτιο,  $\text{CoF}_3$ , το οποίο χρησιμοποιείται ως ισχυρό φθοριωτικό αντιδραστήριο και αποτελεί το μοναδικό τριαλογονούχο άλας του κοβαλτίου που έχει απομονωθεί [10, 21].

Στις σύμπλοκες ενώσεις του το κοβάλτιο μπορεί να βρίσκεται σε οξειδωτική κατάσταση +1, +2, +3 και +4, με τις οξειδωτικές καταστάσεις +2 και +3 να εντοπίζονται συχνότερα. Στις απλές ενώσεις, το  $\text{Co}(\text{III})$  δεν είναι σταθερό και ανάγεται από το νερό πολύ γρήγορα, όμως, στην περίπτωση των συμπλόκων ενώσεων του είναι πολύ σταθερό. Τα περισσότερα σύμπλοκα του  $\text{Co}^{\text{III}}$  είναι χαμηλού spin και έχουν οκταεδρική δομή. Καθώς τα σύμπλοκα αυτά είναι κινητικά αδρανή, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται έμμεσοι μέθοδοι για την παρασκευή τους. Η πιο διαδεδομένη μέθοδος περιλαμβάνει σε πρώτο στάδιο την προσθήκη ligand σε υδατικό

διάλυμα του κατάλληλου άλατος του Co(II) και σε δεύτερο στάδιο την οξειδωση του συμπλόκου που σχηματίζεται με τη χρήση κάποιου οξειδωτικού μέσου και, συχνά, την παρουσία καταλύτη, όπως ο ενεργός άνθρακας. Συνήθως, ως οξειδωτικό μέσο χρησιμοποιείται μοριακό οξυγόνο, το οποίο παρέχεται στο διάλυμα μέσω αντλίας αέρα για ορισμένες ώρες, ή σε πολλές περιπτώσεις υδατικά διαλύματα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Τα σύμπλοκα του Co(III) που περιέχουν ligand δότες ατόμων αζώτου, όπως για παράδειγμα η 2,2'-διπυριδίνη ή η 1,10-φαινανθρολίνη, εμφανίζουν ακόμη μεγαλύτερη σταθερότητα. Το ιόν NO<sub>2</sub><sup>-</sup> χρησιμοποιείται, επίσης, ως αζωτοδότης και συμβάλλει στο σχηματισμό επαρκώς σταθερών συμπλόκων. Πολύ γνωστό παράδειγμα τέτοιου συμπλόκου είναι το πορτοκαλί Na<sub>3</sub>[Co(NO<sub>2</sub>)<sub>6</sub>], υδατικά διαλύματα του οποίου χρησιμοποιούνται για την ποσοτική κατακρήμνιση ιόντων K<sup>+</sup> ως K<sub>3</sub>[Co(NO<sub>2</sub>)<sub>6</sub>] στην κλασική ανάλυση. Σύμπλοκα του Co(III) με ligands δότες ατόμων οξυγόνου είναι λιγότερο σταθερά, ωστόσο το σύμπλοκο [Co(acac)<sub>3</sub>] σκούρου πράσινου χρώματος (acac = ακετυλακετόνη) εμφανίζει μεγάλη σταθερότητα λόγω του χηλικού δακτυλίου. Τα περισσότερα χαμηλού spin σύμπλοκα του Co<sup>3+</sup> με οκταεδρική δομή είναι διαμαγνητικά. Εξάιρεση αποτελούν τα πράσινα σύμπλοκα του Co(III) που περιέχουν σουπεροξειδικές γέφυρες, καθώς και τα μπλε σύμπλοκα φθορίου [CoF<sub>6</sub>]<sup>3-</sup> και [CoF<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>].

Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα βαρύτερα στοιχεία της 9<sup>ης</sup> ομάδας του περιοδικού πίνακα, η οξειδωτική κατάσταση +2 είναι από τις πιο σταθερές για το κοβάλτιο. Τα σύμπλοκα του κοβαλτίου(II) είναι λιγότερα αριθμητικά, είναι, κυρίως, υψηλού spin, παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλία και είναι πιο ασταθή σε σύγκριση με εκείνα του κοβαλτίου(III). Το Co(II) σχηματίζει ευκολότερα τετραεδρικά παρά οκταεδρικά σύμπλοκα, σε αντίθεση με άλλα μεταβατικά ιόντα d<sup>7</sup> διαμόρφωσης, ενώ σε πολλές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί ισορροπία μεταξύ των δύο δομών. Εξαιτίας της έλλειψης κέντρου συμμετρίας που οδηγεί στην ελάττωση της ενέργειας διέγερσης, τα τετραεδρικά σύμπλοκα του Co(II) εμφανίζουν εντονότερο χρώμα από τα οκταεδρικά. Το Co(II) μπορεί να σχηματίσει και τετραγωνικά σύμπλοκα με διδραστικά ligand, όπως η διμεθυλογλυοξίμη. Σύμπλοκα του Co(IV) και του Co(I) παρατηρούνται σπάνια και δεν είναι επαρκώς χαρακτηρισμένα. Το θερμοδυναμικά σταθερό, καφέ [Co(1-norbornyl)<sub>4</sub>] είναι παράδειγμα συμπλόκου όπου το Co έχει οξειδωτική βαθμίδα +4 και, μάλιστα, είναι η μοναδική ένωση τέτοιου είδους των μεταβατικών μετάλλων της πρώτης σειράς που έχει χαρακτηριστεί δομικά. Είναι τετράεδρο με διαμόρφωση d<sup>5</sup> και από τις μαγνητικές του μετρήσεις σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προκύπτει ότι είναι χαμηλού spin. Όσον αφορά την οξειδωτική βαθμίδα +1 για το κοβάλτιο, συνήθως, απαιτείται η χρήση ligand π-δέκτη που λειτουργεί ως παράγοντας σταθεροποίησης. Εξάιρεση αποτελεί το μαύρο Mg<sub>2</sub>[CoH<sub>5</sub>] με δομή τετραγωνικής

πυραμίδας, το οποίο παραλαμβάνεται με παρατεταμένη θέρμανση σκόνης μετάλλων κάτω από συνθήκες υψηλής πίεσης, και το κόκκινο γραμμικό ανιόν  $\text{CsK}_2[\text{CoO}_2]$ .

## **A.2.7 Το Κοβάλτιο *in vivo***

### **A.2.7.1 Η βιολογική σημασία του Κοβαλτίου**

Η πρωταρχική αξιοποίηση των μεταβατικών μετάλλων, όπως το κοβάλτιο, στη βιολογία αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα μυστήρια που αφορούν την έναρξη και την εξέλιξη της ζωής. Παρά τη μειωμένη διαθεσιμότητά του στο περιβάλλον, η βιολογική χρήση του κοβαλτίου έχει δώσει έναυσμα για την έρευνα της λειτουργίας, της μεταφοράς και της προέλευσής του στη βιολογία. Η ανάγκη των οργανισμών για κοβάλτιο θεωρείται ότι προέρχεται από τις συνθήκες που επικρατούσαν κατά τα πρώιμα στάδια της εξέλιξης. Η βιταμίνη B12 (ή κοβαλαμίνη) που περιέχει στο ενεργό κέντρο του το κοβάλτιο υπολογίζεται ότι εξελίχθηκε 2,7 δισεκατομμύρια χρόνια πριν, εξαιτίας της ικανότητάς της να βιοσυντίθεται παραλείποντας ένα στάδιο οξειδωσης, σε αντίθεση με την αίμη και τη χλωροφύλλη, και της παρουσίας της σε πρωτόγονους αναερόβιους οργανισμούς. Το κοβάλτιο τότε αποτελούσε κρίσιμο συμπράγοντα για τα μεταβολικά μονοπάτια του άνθρακα, ενώ αργότερα εξελίχθηκαν μονοπάτια εξαρτώμενα από την κοβαλαμίνη, λόγω μείωσης στη βιοδιαθεσιμότητα του Co.

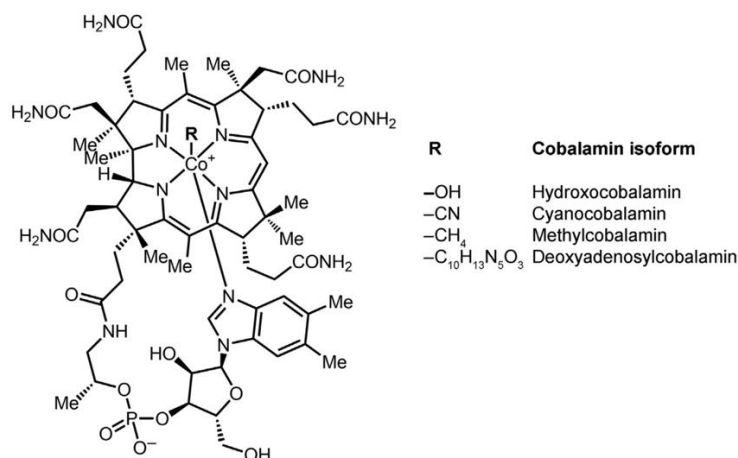
Μία πληθώρα κορρινοειδών μεθυλοτρανσφερασών κατέχουν σημαντικό ρόλο σε πρωτόγονους μεταβολισμούς, ιδιαίτερα σε οργανισμούς που αναπτύσσονται σε αναερόβιες συνθήκες. Η αναερόβια ακετογένεση, η μεθανογένεση και ο καταβολισμός του οξικού οξέος σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα εξαρτώνται από αντιδράσεις μεταφοράς μεθυλίου, που καταλύονται ενζυμικά από κοβαλαμίνες. Το τελικό στάδιο της βιοσύνθεσης της μεθειονίνης περιλαμβάνει τη μεταφορά μεθυλομάδας από το μεθυλοτετραϋδροφολικό οξύ στην L-ομοκυστεΐνη καταλυόμενη από τη συνθετάση της μεθειονίνης. Η μεθειονίνη μπορεί να παραχθεί είτε από συνθετάση της μεθειονίνης εξαρτώμενη από κοβαλαμίνη (MetH) είτε από συνθετάση ανεξάρτητη από κοβαλαμίνη (MetE). Ποικίλοι μικροοργανισμοί εφοδιάζονται με κοβαλαμίνη από τη συμβίωση τους με βακτήρια, ενώ πολλοί από αυτούς διαθέτουν και τα δύο μεταβολικά μονοπάτια MetH και MetE, επιτρέποντας τους να χρησιμοποιούν το MetH όταν το Co είναι διαθέσιμο. Παρομοίως, η ριβονουκλεοτιδική ρεδουκτάση που συμμετέχει στη σύνθεση του DNA, έχει δύο μορφές, μία εξαρτώμενη της κοβαλαμίνης και μία ανεξάρτητη, επιτρέποντας σε ορισμένα μικρόβια να εναλλάσσονται ανάμεσα στα δύο μονοπάτια ανάλογα με τη διαθεσιμότητα της κοβαλαμίνης [22].

Ο σημαντικός βιολογικός ρόλος του κοβαλτίου στηρίζεται στον εντοπισμό του στη βιταμίνη B12 (κοβαλαμίνη), έναν συμπαράγοντα που είναι απαραίτητος για τους ανθρώπους και τα ζώα, ως κεντρικό μεταλλοϊόν, καθώς και στην παρουσία του σε τουλάχιστον άλλα 8 ένζυμα, την αμινοπεπτιδάση μεθειονίνης, την προλιδάση, την υδρατάση νιτριλίου, την ισομεράση γλυκόζης, τη μεθυλομηλονυλο-CoA καρβοξυτρανσφεράση, την αλδεϋδική αποκαρβοξυλάση, τη 2,3-αμινομουτάση της λυσίνης και τη βρωμοπεροξιδάση. Τα μεταλλοένζυμα αυτά του κοβαλτίου έχουν χαρακτηριστεί πλήρως.

#### **A.2.7.2 Κοβαλαμίνη – Βιταμίνη B12**

Η απομόνωση της βιταμίνης B12 (κοβαλαμίνης) περίπου 60 χρόνια πριν συνέβαλε σημαντικά στη διεκρίνιση πολλών μηχανισμών, παρόλο που ο ίδιος ο μεταβολισμός της δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Η κοβαλαμίνη είναι η μεγαλύτερη και πιο περίπλοκη βιταμίνη και η γενική ονομασία βιταμίνη B12 χρησιμοποιείται για την περιγραφή μιας συγκεκριμένης ομάδας ενώσεων του κοβαλτίου με βιολογική δράση. Ο μεταβολισμός και η βιοσύνθεση της κοβαλαμίνης είναι αρκετά περίπλοκες διαδικασίες και απαιτούν πολλά στάδια. Το βιοσυνθετικό μονοπάτι της κοβαλαμίνης αποτελείται από περίπου 30 στάδια και πραγματοποιείται μόνο σε ορισμένους προκαρυώτες που διαθέτουν τα απαραίτητα ένζυμα. Τα θηλαστικά δεν έχουν τη δυνατότητα να συνθέτουν κοβαλαμίνη, ωστόσο την παραλαμβάνουν από ζωικής προέλευσης τροφή και έπειτα την απορροφούν, τη μετατρέπουν στους απαιτούμενους συμπαράγοντες και την αποθηκεύουν. Τα B<sub>12</sub>-παράγωγα είναι απαραίτητα για τους οργανισμούς, καθώς συμμετέχουν σε διάφορες σημαντικές λειτουργίες τους, όπως τη σύνθεση του DNA και την παραγωγή ενέργειας στα κύτταρα [23, 24].

Η κοβαλαμίνη έχει περίπλοκη δομή. Περιέχει ένα δακτύλιο κορρίνης, ο οποίος είναι παρόμοιος με τον πορφυρινικό δακτύλιο της αίμης, ωστόσο είναι μικρότερος σε μέγεθος, έχει δύο αντί για τέσσερις πυρρολικούς δακτυλίους και διαθέτει μικρότερο χώρο δέσμευσης για να σταθεροποιείται το Co(III). Η πέμπτη θέση του δακτυλίου καταλαμβάνεται από ένα ιμιδαζόλιο (τη βάση 5,6-διμεθυλοβενζιμιδαζόλη, DMB) και η έκτη θέση από κορεσμένη αλκυλο-ομάδα δημιουργώντας δεσμό Co-C, με αποτέλεσμα να σχηματίζεται ένα οκταεδρικής συμμετρίας χαμηλού σπιν d<sup>6</sup> σύμπλοκο. Ένα άνω αξονικό ligand συνδέεται με το κοβάλτιο, ο οποίος μπορεί να είναι υδροξυομάδα, κυανομάδα, γλουταθειόνη, μεθύλιο ή αδενосуλομάδα. Έχουν βρεθεί, επίσης, κοβαλαμίνες οι οποίες διαθέτουν βάσεις διαφορετικές από τη DMB, ωστόσο, οι μορφές αυτές δεν παρουσιάζουν συνενζυμική δραστηριότητα και χρησιμοποιούνται μόνο από ορισμένους μικροοργανισμούς [25, 26].



**Εικόνα 6.** Μοριακή δομή της κοβαλαμίνης και των ισόμορφών της [23].

Η καταλυτική λειτουργία της κοβαλαμίνης μπορεί να διαφοροποιηθεί ανάλογα με τη χημική ομάδα που καταλαμβάνει την έκτη β-αξονική θέση του κοβαλτίου. Η κυανοκοβαλαμίνη (CNCbl), δηλαδή η κοβαλαμίνη που περιέχει στη β-αξονική θέση μία κυανομάδα, είναι η πιο εμπορικά διαθέσιμη μορφή των φυσικών B<sub>12</sub>-παραγώγων, παρόλο που δε διαθέτει κάποια φυσιολογική λειτουργία, και χρησιμοποιείται στα συμπληρώματα βιταμινών, σε φάρμακα και σε πρόσθετα τροφίμων. Η υδροξοκοβαλαμίνη (OHCbl), που παράγεται από ορισμένα βακτήρια, έχει συνδεδεμένη μία υδροξυλομάδα στο κοβάλτιο και χρησιμοποιείται για τη βιομηχανική παραγωγή της CNCbl. Οι ενεργές μορφές συνενζύμου B<sub>12</sub> είναι η μεθυλοκοβαλαμίνη (MetCbl), που περιέχει μία μεθυλομάδα στη β-αξονική θέση, και η αδενοσυλοκοβαλαμίνη (AdoCbl), στην οποία το κοβάλτιο συνδέεται με τον 5'-άνθρακα της 5'-δεοξαδενοσυλοκοβαλαμίνης. Οι δύο τελευταίες μορφές είναι αυτές που εκτελούν τις διάφορες λειτουργίες στους οργανισμούς και αλληλομετατρέπονται ανάλογα με τις ανάγκες του.

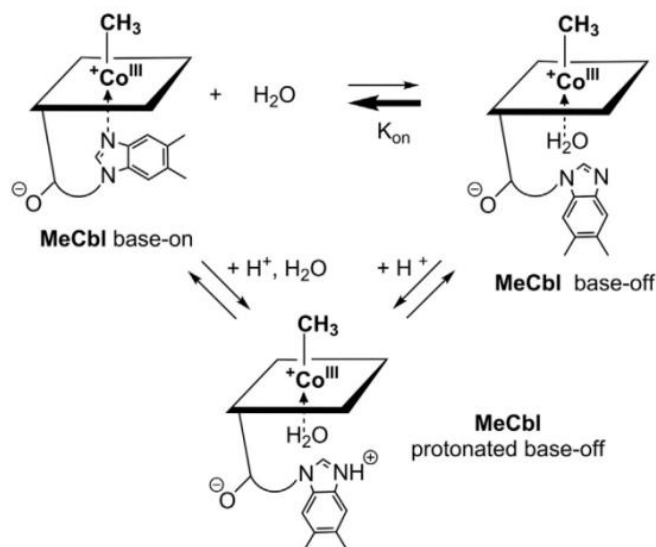
Οι βασικές δομές των B<sub>12</sub>-παραγώγων μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε «ολοκληρωμένα» ή «μη-ολοκληρωμένα» κορρινοειδή. Η βιταμίνη B<sub>12</sub> (CNCbl) και το συνένζυμο B<sub>12</sub> (AdoCbl) χαρακτηρίζονται ως «ολοκληρωμένα» κορρινοειδή, στα οποία η ψευδονουκλεοτιδική δομή συνδέεται στο μισό δακτύλιο κορρίνης μέσω της f-αλυσίδας. Το κορρινοειδές κοβυρικό οξύ (Cby), από το οποίο εκλείπει ένας νουκλεοτιδικός βρόχος, χαρακτηρίζεται ως «μη-ολοκληρωμένο». Παρομοίως, στα «μη-ολοκληρωμένα» αμίδια του κοβαλτίου (Cbi) μόνο ο πρώτος σύνδεσμος του νουκλεοτιδικού βρόχου, (R)-ισοπροπανολαμίνη, εκτείνεται από την f-αλυσίδα. Η κρυσταλλική δομή των «μη-ολοκληρωμένων κορρινοειδών, καθώς και ο χαρακτηρισμός τους με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X, συνέβαλε σημαντικά στην ανακάλυψη της σύνθεσης της βιταμίνης B<sub>12</sub>.

Η κρυσταλλική δομή της βιταμίνης B<sub>12</sub> (CNCbl) αποκάλυψε τη μοναδική 3D-δομή των αμοιβαίως αλληλοεπιδρώντων νουκλεοτιδικών βρόχων και των κορρινών. Η CNCbl είναι ένα 5',6'-διμεθυλοβενζιμιδαζολικό κοβαλαμίδιο ή κοβαλαμίνη (Cbl), στο οποίο η DMB συναρμόζει το κατιόν κοβαλτίου από την κάτω αξονική ή α πλευρά. Ονομάζεται συγκεκριμένα κυανοκοβαλαμίνη (CNCbl), εξαιτίας του κυανιδικού ligand, το οποίο συναρμόζεται στην πάνω αξονική ή β πλευρά. Οι κρυσταλλικές δομές διαφόρων κοβαλαμινών καθώς και άλλων «ολοκληρωμένων» κορρονοειδών έχουν επιλυθεί, δείχνοντας ότι η 3D-δομή των ασύμμετρων κοβαλαμινών στην περιοχή σύνδεσης του κοβαλτίου στην "base-on"-μορφή τους αποτελούν τοπικά ένα μοναδικά χειρόμορφο μόριο.

Οι εκτενείς κρυσταλλογραφικές μελέτες του συν-ενζύμου B<sub>12</sub> (AdoCbl) εξήγαγαν το συμπέρασμα ότι και οι 2 αξονικοί δεσμοί [Co-C = 2.030 Å και Co-N = 2.237 Å] είναι σχετικά μακρύτεροι συγκρινόμενοι με τους αξονικούς δεσμούς της MeCbl, της άλλης βιολογικά σημαντικής οργανοκοβαλαμίνης, που εμφανίζουν μικρότερο μήκος δεσμού. Η cob(II)alamin (Cbl<sup>II</sup>) αποτελεί το προϊόν αιμόλυσης του Co-C δεσμού του συνενζύμου (AdoCbl) και προκύπτει κατά τον καταλυτικό κύκλο των B<sub>12</sub>-εξαρτώμενων ενζύμων, για το λόγο αυτό η ταυτοποίηση των δομικών χαρακτηριστικών της είναι εξίσου σημαντική. Οι παρατηρήσεις αυτές, καθώς και η ομοιότητα μεταξύ των κρυσταλλικών δομών των AdoCbl και Cbl<sup>II</sup>, υπέδειξαν ότι στα AdoCbl-εξαρτώμενα ένζυμα η πρωτεϊνική ενεργοποίηση της αιμόλυσης του δεσμού Co-C προκύπτει από την πρωτεϊνική σχάση των θραυσμάτων της αιμόλυσης και καθίσταται δυνατή από την ισχυρή σύνδεση των διαχωριζόμενων τμημάτων.

Οι κοβαλαμίνες, καθώς και άλλα παρόμοια κορρινοειδή, μπορούν να λειτουργούν ως φυσικοί «μοριακοί διακόπτες», αλλάζοντας από μία μορφή σε μία άλλη. Η βάση DMB μπορεί να βρίσκεται είτε στη σφαίρα συναρμογής του κοβαλτίου, δίνοντας έτσι στο μόριο τη «base-on» μορφή, είτε μπορεί να είναι απομακρυσμένη, υιοθετώντας με αυτόν τον τρόπο το μόριο την «base-off» μορφή του (**Εικόνα 7**). Όταν η βάση DMB είναι συναρμοσμένη στο κοβάλτιο επικρατεί η "base-on" μορφή και η "base-off" μορφή είναι λιγότερο σταθερή. Αντίθετα, η πρωτονίωση της βάσης προκαλεί τη σταθεροποίηση της "base-off" δομής. Η συνύπαρξη των δύο αυτών μορφών, "base-on" ή "base-off" μπορεί να προκαλέσει μετασχηματισμό στη δομή και κατά συνέπεια να τροποποιήσει τη δραστηριότητα των B<sub>12</sub>-παραγώγων στις βιολογικές οργανομεταλλικές αντιδράσεις. Η ολοκληρωτική αλλαγή από τη "base-on" στην "base-off" μορφή είναι αποτέλεσμα της πρωτονίωσης της νουκλεοτιδικής βάσης και της αποσύνδεσής της από τη σφαίρα συναρμογής του κοβαλτίου. Η οξύτητα της πρωτονιωμένης "base-off" μορφής, όπως εκφράζεται μέσω της pK<sub>a</sub>, υποδεικνύει την ισχύ της ενδομοριακής συναρμογής της βάσης

DMB. Η (πρωτονιωμένη) “base off” μορφή είναι εμφανής στην AdoCbl και στη MeCbl, με το  $pK_a$  να ισούται με 2.9, ενώ για την περίπτωση της CNCbl η πρωτονιωμένη αποσύνδεση αναστέλλεται από την ισχυρή σύνδεση της βάσης στο κοβάλτιο, με  $pK_a$  κοντά στο 0. [27]



**Εικόνα 7.** Η συνύπαρξη των “base-on” και “base-off” μορφών της MeCbl.

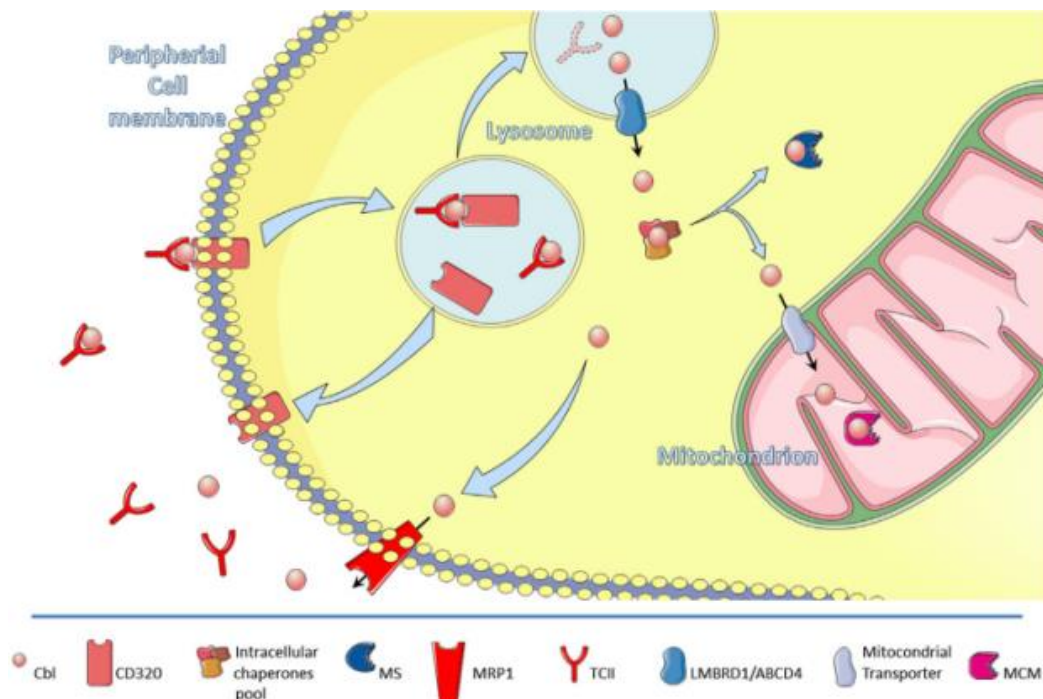
Η επαρκής πρόσληψη της Cbl στα θηλαστικά γίνεται μέσω της τροφής τους, καθώς όπως προαναφέρθηκε, δε διαθέτουν τους απαραίτητους μηχανισμούς, ώστε να μπορέσουν να τη συνθέσουν. Τα μηρυκαστικά επωφελούνται από τη μικροβιακή βιοσύνθεση της Cbl κατά τη ζύμωση της τροφής του από το γαστρικό μικροβίωμα, για το λόγω αυτό τα μηρυκαστικά συσσωρεύουν περισσότερη βιταμίνη-B12 στους ιστούς τους σε σύγκριση με άλλα θηλαστικά, όπως τα πουλερικά και τους χοίρους. Η βιοσυσσωρευση της κοβαλαμίνης στους ιστούς είναι άμεσα εξαρτώμενη από το χρόνο, δηλαδή τα ηλικιωμένα θηλαστικά εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης σε σύγκριση με τα νεότερα. Η συγκέντρωση της βιταμίνης στους ιστούς εξαρτάται, επίσης, από το είδος του μεταβολισμού, οξειδωτικός ή γλυκολυτικός, καθώς και από το ποσοστό λίπους στον οργανισμό λόγω της υδατοδιαλυτότητας της Cbl. Στον Πίνακα συνοψίζονται ποικίλες συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης σε διαφορετικά είδη θηλαστικών. [28]

**Πίνακας 3.** Μέσος όρος και εύρος των συγκεντρώσεων κοβαλαμίνης (mg) από διαφορετικών ειδών κρέατα.

	<b>Μοσχάρι</b>	<b>Χοιρινό</b>	<b>Κοτόπουλο</b>	<b>Αρνί</b>
Μέσος όρος (mg)	2.66	0.56	2.3	2.3
Εύρος (mg)	1.73-4.33	0.38-0.74	2.04-2.53	0.39-0.42



Το σύστημα μεταφοράς της κοβαλαμίνης από τη στοματική κοιλότητα μέσω των εξωκυττάρων υγρών στην κατάλληλη θέση στο εσωτερικό του κυττάρου είναι αρκετά περίπλοκο. Οι μεταφορείς παρουσιάζουν υψηλή συγγένεια με την κοβαλαμίνη και προσδέονται μόνο σε κατάλληλα μόρια, ώστε να αποφεύγεται η πρόσληψη μορίων που μπορεί να παρουσιάσουν αντιβιταμινική δράση. Εκτός αν η Cbl προσληφθεί μέσω κάποιου συμπληρώματος διατροφής, εισέρχεται στον οργανισμό με τη μορφή των AdoCbl και MetCbl, συνδεδεμένων σε πρωτεΐνες της τροφής, ή με τη μορφή OHcbl, στην περίπτωση που η τροφή έχει υποστεί κάποιου είδους επεξεργασία ή μαγείρεμα. Το μεταβολικό μονοπάτι της Cbl περιλαμβάνει πλήθος πρωτεϊνών της βιταμίνης για τη μεταφορά, εξωκυτταρική και ενδοκυτταρική, και το μεταβολισμό της, ενώ η περίσσεια της Cbl αποβάλλεται με τα ούρα, λόγω της υδατοδιαλυτότητάς της.



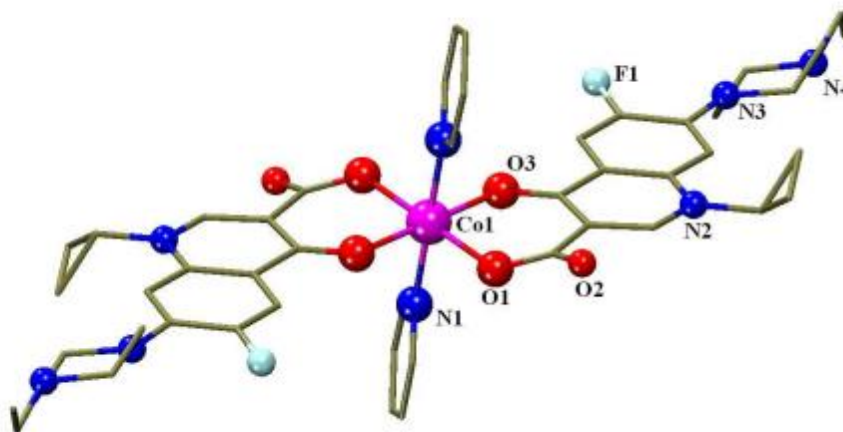
**Εικόνα 8.** Ενδοκυτταρική μεταφορά της Cbl από τη διαπέραση της κυτταρικής μεμβράνης έως την είσοδό της στα μιτοχόνδρια.

## A.2.8 Σύμπλοκες ενώσεις του Co με βιολογικό ενδιαφέρον

### A.2.8.1 Σύμπλοκα κοβαλτίου με κινολόνες

Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί εκτενώς η αλληλεπίδραση των μεταλλοϊόντων με πλήθος κινολονών, λόγω της γνωστής πλέον συνεργιστικής δράσης των ιόντων των μεταβατικών μετάλλων με πληθώρα φαρμάκων. Οι περισσότερες ενώσεις μετάλλου-κινολόνη είναι ουδέτερα μονοπυρηνικά σύμπλοκα, στα οποία η κινολόνη συναρμόζεται διδραστικά με το κεντρικό μεταλλοϊόν μέσω ενός ή περισσοτέρων -O, ενώ μπορεί να συναρμόζονται και δότες ατόμων

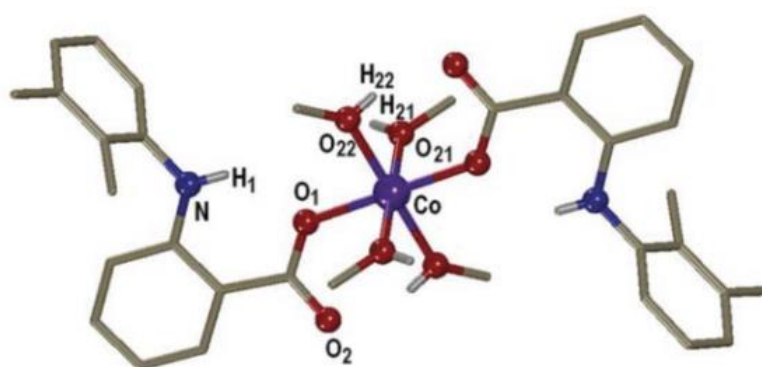




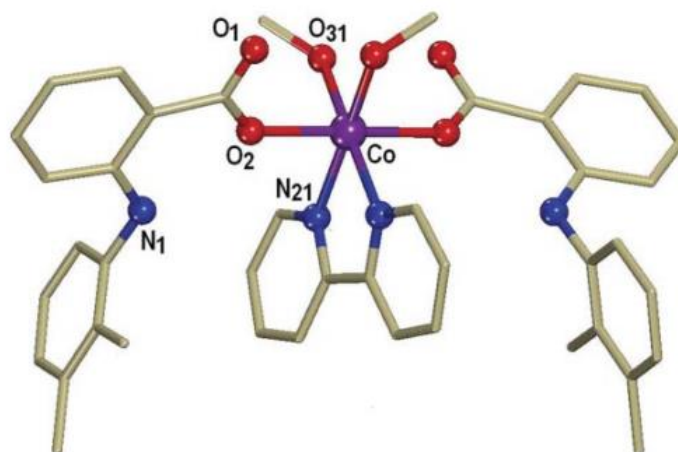
**Εικόνα 10.** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου  $[Co(erg)_2(py)_2] \cdot MeOH \cdot 6H_2O, 2 \cdot MeOH \cdot 6H_2O$ .

#### A.2.8.2 Σύμπλοκες ενώσεις του κοβαλτίου με ΜΣΑΦ

Τα μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) είναι από τα πιο συχνά στη χρήση φάρμακα, και χρησιμοποιούνται ως αναλγητικά, αντιφλεγμονώδη και αντιπυρετικά. Τα ΜΣΑΦ είναι φάρμακα που παρουσιάζουν σημαντική αντικαρκινική δράση, καθώς έχει παρατηρηθεί ότι μειώνουν σημαντικά τον αριθμό και του μεγέθους των καρκινικών κυττάρων στους όγκους του παχέος εντέρου, για το λόγο αυτό είναι σημαντική η μελέτη της συνεργιστικής τους δράσης με άλλα φάρμακα. Τα σύμπλοκα του κοβαλτίου με το ΜΣΑΦ mefenamic acid,  $[Co(mef)_2(MeOH)_4] \cdot 2MeOH, 1 \cdot 2MeOH$  (**Εικόνα 11**) και  $[Co(mef)_2(bipy)(MeOH)_2]$  (**Εικόνα 12**), παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες, παρουσιάζοντας σημαντική ικανότητα δέσμευσης των σουπεροξειδικών ριζών. [31]

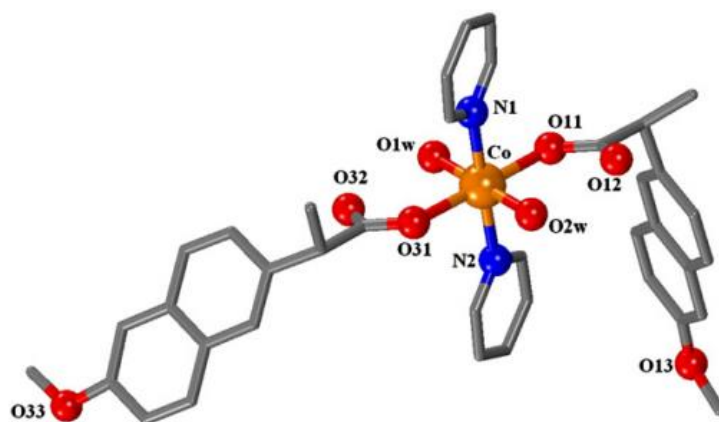


**Εικόνα 11.** Μοριακή δομή του συμπλόκου  $[Co(mef)_2(MeOH)_4] \cdot 2MeOH, 1 \cdot 2MeOH$ .



**Εικόνα 12.** Μοριακή δομή του συμπλόκου  $[Co(mef)_2(bipy)](MeOH)_2$ .

Το παροχεν ανήκει στα φαινυλο-αλκανοϊκά οξέα και είναι ένα ΜΣΑΦ, το οποίο χρησιμοποιείται για οδυνηρές καταστάσεις φλεγμονής, όπως είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η οστεοαρθρίτιδα και η σπονδυλίτιδα. Η σύμπλοκη ένωση του κοβαλτίου με το παροχεν παρουσία πυριδίνης,  $[Co(par)_2(py)_2(H_2O)_2]$  (**Εικόνα 13**), μελετήθηκε εκτενώς ως προς τη δομή και τις βιολογικές ιδιότητες και ήταν το δεύτερο σύμπλοκο του  $Co(II)$  με ΜΣΑΦ φαινυλο-αλκανοϊκού οξέος που χαρακτηρίστηκε δομικά. [32]

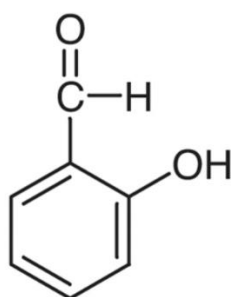


**Εικόνα 13.** Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου  $[Co(par)_2(py)_2(H_2O)_2]$ .

## A.3 Σαλικυλαλδεΐδες

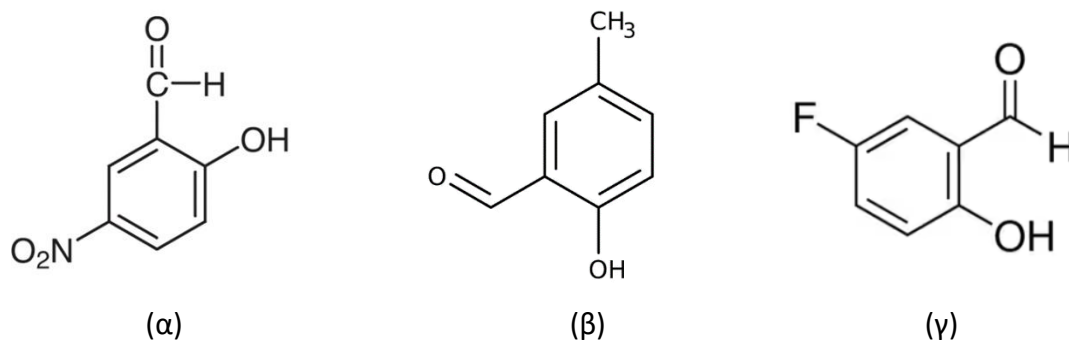
### A.3.1 Εισαγωγικά στοιχεία

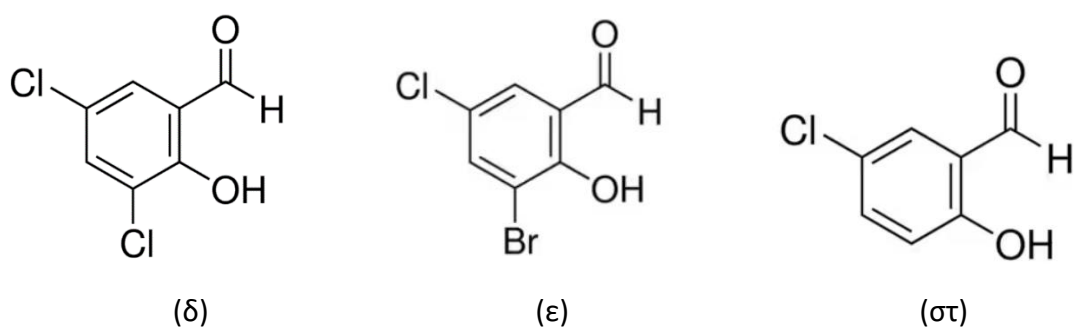
Η σαλικυλαλδεΐδη ή 2-υδροξυβενζαλδεΐδη (salOH) (**Εικόνα 14**) είναι μία αρωματική οργανική ένωση, η οποία σε συνθήκες περιβάλλοντος (25°C, 1 atm) είναι ένα κιτρινωπό ελαιώδες υγρό με οσμή πικραμύγδαλου. Η ισχυρή συναρμοστική ιδιότητα της σαλικυλαλδεΐδης και των παραγώγων της έχει ως αποτέλεσμα τη σχετικά εύκολη συναρμογή τους με τα μεταβατικά μέταλλα προς σχηματισμό συμπλόκων ενώσεων με εφαρμογές τόσο στην καθαρή όσο και στην εφαρμοσμένη χημεία, ειδικά ως αντιδραστήρια εκχύλισης στη μεταλλουργία και τη βιομηχανία [34-37]. Γενικά, έχει βρεθεί ότι οι ενώσεις αυτές διαθέτουν αντιμικροβιακές ιδιότητες [38, 39].



**Εικόνα 14.** Ο συντακτικός τύπος της σαλικυλαλδεΐδης ή 2-υδροξυβενζαλδεΐδης (salOH).

Οι υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία είναι η 5-νιτρο-σαλικυλαλδεΐδη (5-NO<sub>2</sub>-salOH), η 5-χλωρο-σαλικυλαλδεΐδη (5-Cl-salOH), η 5-φθορο-σαλικυλαλδεΐδη (5-F-salOH), η 5-μεθυλο-σαλικυλαλδεΐδη (5-Me-salOH), η 3,5-διβρωμο-σαλικυλαλδεΐδη (3,5-diBr-salOH) και η 3,5-διχλωρο-σαλικυλαλδεΐδη (3,5-diCl-salOH). Οι συντακτικοί τύποι των υποκατεστημένων σαλικυλαλδεΐδών που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται στην **Εικόνα 15**.

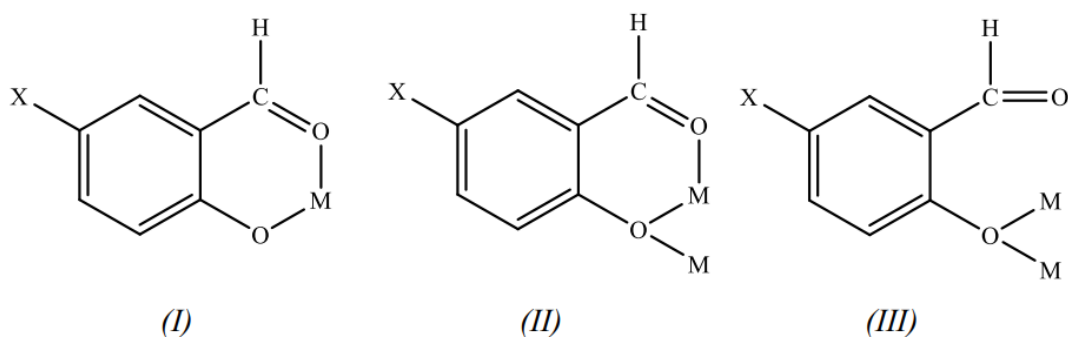




**Εικόνα 15.** Οι συντακτικοί τύποι των υποκατεστημένων σαλικυλαλδεϋδών (α) 5-NO<sub>2</sub>-salOH, (β) 5-Me-salOH, (γ) 5-F-salOH, (δ) 3,5-diCl-salOH, (ε) 3,5-diBr-salOH και (στ) 5-Cl-salOH.

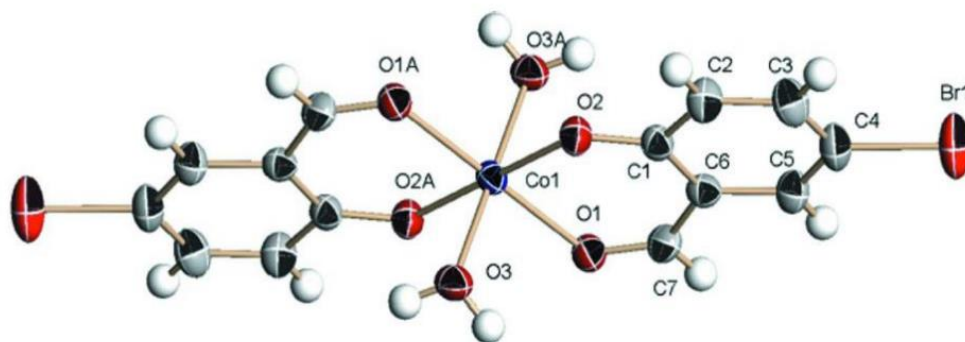
### A.3.2 Τρόπος συναρμογής των σαλικυλαλδεϋδών

Το πρώτο στάδιο για τη συναρμογή των σαλικυλαλδεϋδών με υποκατάσταση στην 5-θέση αποτελεί η αποπρωτονίωση του φαινολικού υδρογόνου τους. Στη συνέχεια, οι υποκατεστημένες σαλικυλαλδεϋδες μπορούν να συναρμοστούν στα μεταλλικά ιόντα με τρεις διαφορετικούς τρόπους, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 16**. Τα μέταλλα μετάπτωσης υιοθετούν διάφορες γεωμετρίες, όπως την επίπεδη τετραγωνική, την τετραγωνική πυραμιδική και την οκταεδρική γεωμετρία.



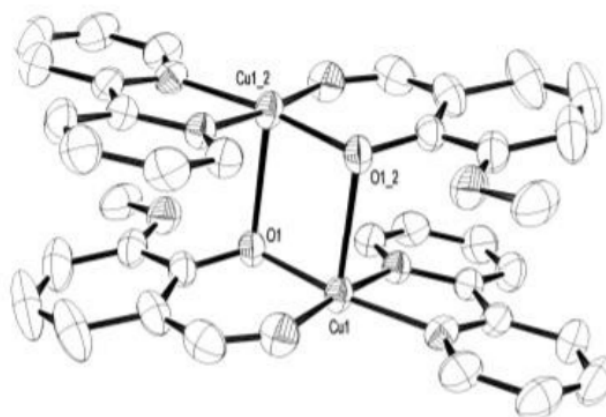
**Εικόνα 16.** Τρόποι συναρμογής των 5-X-salO<sup>-</sup> (X= -H, -Cl, -Br, -NO<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>).

Στην περίπτωση (I) η συναρμογή γίνεται με διδραστικό χηλικό τρόπο και το 5-X-salO<sup>-</sup> συναρμόζεται στο μεταλλικό ιόν μέσω του αλδεϋδικού και του φαινολικού οξυγόνου, όπως έχει βρεθεί σε μία σειρά από μονοπυρηνικά σύμπλοκα του Co(II) [40-42], του Mn [43], του Zn(II) [44] και του Cr(III) [45]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτού του τρόπου συναρμογής είναι το σύμπλοκο [Co(5-Br-salO)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>], η δομή του οποίου φαίνεται στην **Εικόνα 17**.

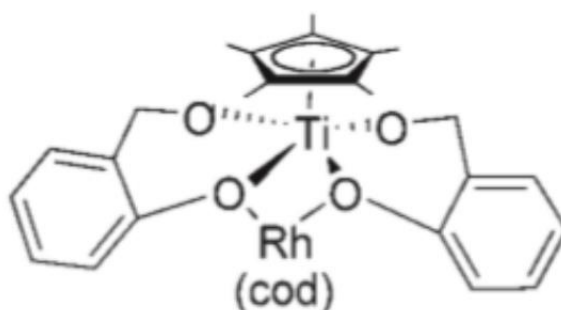


**Εικόνα 17.** Μοριακή δομή του συμπλόκου  $[\text{Co}(5\text{-Br-salo})_2(\text{H}_2\text{O})]$ . Το κοβάλτιο συνδέεται με δύο διδραστικά ligand 5-Br-salo<sup>-</sup> σχηματίζοντας δύο χηλικούς δακτυλίους.

Στην περίπτωση (II), η συναρμογή γίνεται τριδραστικά, όπου το φαινολικό οξυγόνο του 5-X-salo<sup>-</sup> συναρμόζεται διδραστικά με δύο μεταλλικά ιόντα σχηματίζοντας μία μονοατομική γέφυρα, και το καρβονυλικό οξυγόνο συναρμόζεται μονοδραστικά. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι διπυρηνικές ενώσεις του Cu(II) [46, 47] και οι ετερο-διμεταλλικές ενώσεις (Ti-Rh) [48].



(α)

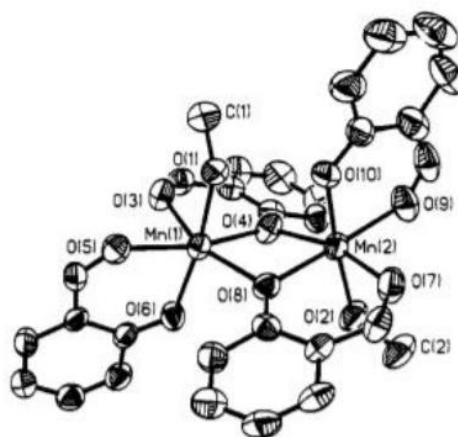


(β)

**Εικόνα 18.** (α) Μοριακή δομή του συμπλόκου  $[\text{Cu}(3\text{-OMe-salo})(\text{bipy})(\text{ClO}_4)]$ . (β) Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου  $[\text{Ti}(\text{Cp}^*)(\text{salo})_2\{\text{Rh}(\text{cod})\}_2](\text{OTf})$ .

Στην περίπτωση (III), η συναρμογή είναι διδραστική γεφυρωτική. Το 5-X-salo<sup>-</sup> συναρμόζεται με δύο μεταλλικά ιόντα μέσω του φαινολικού οξυγόνου σχηματίζοντας μονοατομική γέφυρα, ενώ το αλδεϋδικό οξυγόνο παραμένει μη συναρμοσμένο.

Συνδυασμός των τρόπων συναρμογής I και II έχει αναφερθεί στην ένωση  $[\text{Mn}_2(\text{salo})_4(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ , η δομή της οποίας φαίνεται στην **Εικόνα 19** [49].



**Εικόνα 19.** Μοριακή δομή της σύμπλοκης ένωσης  $[\text{Mn}_2(\text{salo})_4(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ .

Τα παραπάνω συνοψίζονται στον **Πίνακα 4**.

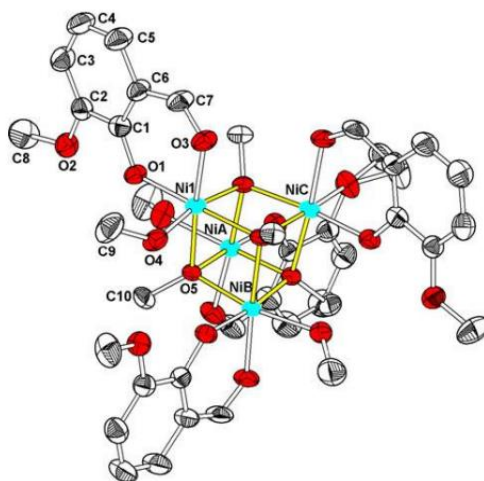
**Πίνακας 4.** Παραδείγματα διαφορετικών τρόπων συναρμογής των 5-X-salo<sup>-</sup> ligands από τη βιβλιογραφία.

Τρόπος συναρμογής	Ένωση	Αναφορά
I	$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})_2(\text{phen})]$	[40]
	$[\text{Co}(5\text{-CH}_3\text{-salo})_2(\text{neoc})]$	[40]
	$[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})_2(\text{neoc})]$	[40]
	$[\text{Co}(\text{bipyam})_2(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{NO}_3)]$	[41]
	$[\text{Co}(5\text{-Br-salo})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	[42]
	$[\text{Zn}(5\text{-Br-salo})_2(\text{CH}_3\text{OH})_2]$	[44]
II	$[\text{Cu}(\text{salo})(\text{bipy})(\text{NO}_3)]_2$	[46]
	$[\text{Cu}(\text{salo})(\text{phen})(\text{ClO}_4)]_2$	[46]
	$[\text{Cu}(\text{salo})(\text{phen})(\text{NO}_3)]_2$	[46]
III	-	-
I+II	$[\text{Mn}_2(\text{salo})_4(\text{CH}_3\text{OH})_2]$	[49]



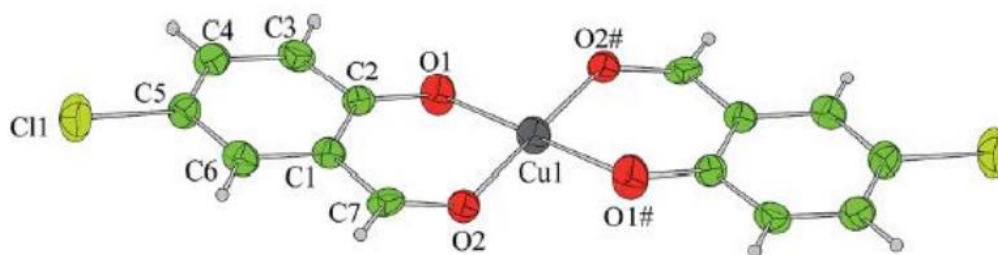
### A.3.3 Ενώσεις των σαλικυλαλδεϋδών με βιολογικό ενδιαφέρον

Οι πολυπυρηνικές ενώσεις του νικελίου παρουσιάζουν σημαντικό βιολογικό ενδιαφέρον λόγω της βιομιμητικής τους ικανότητας [50]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας ένωσης η τετραπυρηνική ένωση του νικελίου με ligand την ορθο-βανιλίνη, η δομή της οποίας δίνεται στην **Εικόνα 20** [51-54].



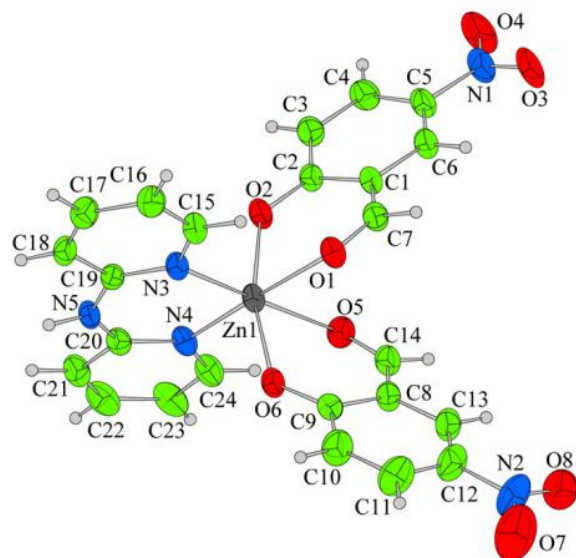
**Εικόνα 20.** Κρυσταλλική δομή της ένωσης  $[\text{Ni}(\mu_3\text{-OCH}_3)(3\text{-OCH}_3\text{-salo})(\text{CH}_3\text{OH})]_4$ .

Η σύμπλοκη ένωση  $[\text{Cu}(5\text{-Cl-salo})_2]$  (**Εικόνα 21**) μελετήθηκε ως προς την αλληλεπίδρασή της με το CT DNA και τις αλβουμίνες του ορού του αίματος, δίνοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Δύο ligands  $5\text{-Cl-salo}^-$  συναρμόζονται διδραστικά χηλικά με το ιόν του χαλκού μέσω του φαινολικού οξυγόνου (O1) και του καρβονυλικού οξυγόνου (O2). Η γεωμετρία γύρω από το μεταλλικό κέντρο είναι επίπεδη τετραγωνική [55].



**Εικόνα 21.** Η κρυσταλλική δομή της ένωσης  $[\text{Cu}(5\text{-Cl-salo})_2]$ .

Μία ακόμη ένωση που συντέθηκε και μελετήθηκε ως προς την αλληλεπίδρασή της με το CT DNA είναι η σύμπλοκη ένωση  $[\text{Zn}(5\text{-NO}_2\text{-salo})_2(\text{bipyam})]$  (**Εικόνα 22**) [44]. Η μελέτη έδειξε ότι το σύμπλοκο αυτό του ψευδαργύρου αλληλεπιδρά με το CT DNA μέσω παρεμβολής, δίνοντας με αυτό τον τρόπο ενθαρρυντικό έναυσμα για τη σύνθεση συμπλόκων με σαλικυλαλδεϋδες με στόχο τη δημιουργία νέων μεταλλοφαρμάκων.



**Εικόνα 22.** Μοριακή δομή της ένωσης  $[Zn(5-NO_2-salo)_2(bipyam)]$ .

## **B. Πειραματικό Μέρος**

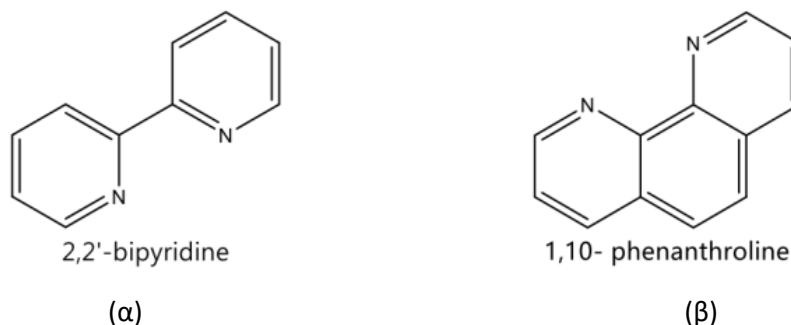
## B.1 Πειραματικές τεχνικές, όργανα μέτρησης και υλικά

### B.1.1 Περιγραφή των ligands

Για την παρασκευή των συμπλόκων ενώσεων, ως ligands χρησιμοποιήθηκαν οι υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες 5-NO<sub>2</sub>-salOH, 3,5-diCl-salOH, 5-Me-salOH, 3,5-diBr-salOH, 5-F-salOH και 5-Cl-salOH. Οι υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες επιλέχθηκαν λόγω της αντιμικροβιακής δράσης που παρουσιάζουν έναντι ορισμένων βακτηρίων και μυκήτων με σκοπό τη βελτίωση των βιολογικών ιδιοτήτων των συμπλόκων κοβαλτίου που παρασκευάστηκαν. [56-65]

### B.1.2 Ετεροκυκλικές ενώσεις ως αζωτοδότες

Για την παρασκευή των συμπλόκων ενώσεων ως ligands δότες ατόμων αζώτου χρησιμοποιήθηκαν, οι N-ετεροκυκλικές ενώσεις 2,2'-διπυριδίνη (bipy) και η 1,10-φαινανθρολίνη (phen) (Εικόνα 23).



Εικόνα 23. Οι συντακτικοί τύποι της (α) bipy και (β) phen.

### B.1.3 Αντιδραστήρια – Διαλύτες

Οι υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες (5-NO<sub>2</sub>-salOH, 3,5-diCl-salOH, 5-Me-salOH, 3,5-diBr-salOH, 5-F-salOH και 5-Cl-salOH), και οι ενώσεις CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, phen, bipy, εξαφθοροφωσφορικό αμμώνιο (NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>), KOH, πυκνό HCl (35 % v/v), NaCl, κιτρικό νάτριο (trisodium citrate), CT DNA, BSA, HSA και EB (αιθίδιο βρωμίδιο) χρησιμοποιήθηκαν όπως παραλήφθηκαν από την εταιρία Sigma–Aldrich. Οι διαλύτες, όπως το διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και η μεθανόλη, χρησιμοποιήθηκαν χωρίς επιπλέον καθαρισμό για τη σύνθεση των συμπλόκων και τις λοιπές μετρήσεις και παραλήφθηκαν από την εταιρία Chemlab σε βαθμό καθαρότητας «χημικώς καθαρά».

Το διάλυμα DNA παρασκευάστηκε διαλύοντας calf-thymus DNA (CT DNA) σε ρυθμιστικό διάλυμα (που περιέχει 150 mM NaCl και 15 mM κιτρικού νατρίου, του οποίου το pH = 7.0

ρυθμίστηκε με διάλυμα HCl συγκέντρωσης 0.1 M). Ο λόγος των εντάσεων απορρόφησης στα 260 nm και 280 nm ( $A_{260}/A_{280}$ ) για το διάλυμα του DNA είναι ίσος με 1.85-1.9, ένδειξη ότι το DNA είναι καθαρό από πρωτεϊνικές προσμίξεις. Η συγκέντρωση καθορίστηκε από την απορρόφηση στα 260 nm, μετά από 1:20 αραιώση κατ' όγκο του αρχικού διαλύματος χρησιμοποιώντας την τιμή  $\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , σύμφωνα με τον τύπο Lambert-Beer  $A = \epsilon \cdot c \cdot d$ .

#### **B.1.4 Όργανα Μέτρησης**

Τα φάσματα υπερύθρου (IR) ελήφθησαν με τη μορφή δισκίων KBr στην περιοχή 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  σε φασματόμετρο Nicolet FT-IR 6700. Τα ηλεκτρονικά φάσματα UV-visible (UV-vis) λήφθηκαν στην περιοχή συγκεντρώσεων  $10^{-5}$  -  $5 \times 10^{-3}$  M σε φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης Hitachi U-2001. Τα φάσματα αυτά ελήφθησαν σε διάλυμα της ένωσης σε DMSO ή/και buffer με κυψελίδες πάχους 1 cm. Τα φάσματα φθορισμού καταγράφηκαν σε φθορισμόμετρο Hitachi F-7000. Οι μετρήσεις μοριακής αγωγιμότητας εκτελέστηκαν σε αγωγιμόμετρο Crimson Basic 30 σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η συγκέντρωση των διαλυμάτων των συμπλόκων σε DMSO ήταν  $10^{-3}$  M. Για τη μέτρηση του ιξώδους χρησιμοποιήθηκε περιστροφικό ιξωδόμετρο τύπου ALPHAL της Fungilab, εξοπλισμένο με 18 mL LCP spindle στα 100 rpm.

Η επίλυση της κρυσταλλικής δομής των συμπλόκων ενώσεων πραγματοποιήθηκε με περίθλαση ακτίνων-X σε περιθλασίμετρο Bruker Kappa APEX II εξοπλισμένο με μονοχρωμάτορα τύπου TRIUMPH σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για τη συλλογή και την επεξεργασία των ανακλάσεων, ώστε να επιλυθούν οι δομές, είναι το πακέτο Bruker SAINT χρησιμοποιώντας narrow-frame αλγόριθμο. Η διόρθωση των δεδομένων για απορρόφηση έγινε με την αριθμητική μέθοδο (SADAPS) με βάση τις διαστάσεις των κρυστάλλων, ενώ όλες οι δομές επιλύθηκαν με το πρόγραμμα SUPERFLIP. Η βελτίωση των δομών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος CRYSTALS 14.61\_build\_6236 [66, 67]. Όλα τα άτομα, εκτός των H, προσδιορίστηκαν ανισότροπα. Τα άτομα H βρέθηκαν στις αναμενόμενες θέσεις.

## **B.2 Σύνθεση των συμπλόκων ενώσεων**

### **B.2.1 Σύνθεση των πρόδρομων ενώσεων κοβαλτίου**

Πριν τη σύνθεση των συμπλόκων με ligand τις υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες, συντέθηκαν πρόδρομες ενώσεις του κοβαλτίου με στόχο ύπαρξη δύο αζωτοδοτών ως ligand. Για τη σύνθεση των πρόδρομων αυτών συμπλόκων κοβαλτίου απαιτείται η συνεχόμενη παροχή οξυγόνου, ώστε το Co(II) να οξειδωθεί σε Co(III). Τα υδατικά διαλύματα των κρυστάλλων των

πρόδρομων ενώσεων εμφανίζουν ερυθρό ή βιολετί χρώμα. Οι δομές είναι σταθερές σε αιθανολικά και μεθανολικά διαλύματα, ενώ σε υδατικά διαλύματα παρουσιάζουν μία αστάθεια λόγω της συνύπαρξης της *cis*- και *trans*- μορφή τους. [68-70]

#### **B.2.1.1 Σύνθεση της πρόδρομης ένωσης [Co(bipy)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]Cl (a)**

Μεθανολικό διάλυμα (8 mL) bipy (0.2 mmol, 250 mg) προστίθεται σε υπό ανάδευση μεθανολικό διάλυμα (5 mL) CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0.1 mmol, 190 mg). Το διάλυμα αναδεύτηκε για 1 ώρα υπό την παροχή οξυγόνου. Έπειτα προστέθηκε μικρή ποσότητα πυκνού HCl (12 N, 37% v/v) και το διάλυμα συνέχισε να αναδεύεται για άλλη μια ώρα. Στη συνέχεια το διάλυμα αφέθηκε σε ηρεμία και μετά το πέρας μερικών ημερών, σχηματίστηκαν μωβ ή/και σκουροπράσινοι κρύσταλλοι (φαινόμενο διχρωισμού [71]). Οι κρύσταλλοι ήταν κατάλληλοι για επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων-Χ.

#### **B.2.1.2 Σύνθεση της πρόδρομης ένωσης [Co(phen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>](H<sub>2</sub>O) (b)**

Μεθανολικό διάλυμα (8 mL) 1,10-φαινανθρολίνης (0.2 mmol, 288 mg) προστίθεται σε υπό ανάδευση μεθανολικό διάλυμα (5 mL) CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (0.1 mmol, 190 mg). Το διάλυμα αναδεύτηκε για 1 ώρα υπό την παροχή οξυγόνου. Έπειτα προστέθηκε μικρή ποσότητα πυκνού HCl (12 N, 37% v/v) και το διάλυμα συνέχισε να αναδεύεται για άλλη μια ώρα. Στη συνέχεια το διάλυμα αφέθηκε σε ηρεμία και μετά το πέρας μερικών ημερών, σχηματίστηκαν σκουροκόκκινοι κρύσταλλοι. Οι κρύσταλλοι ήταν κατάλληλοι για επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων-Χ.

### **B.2.2 Σύνθεση σαλικυλαλδεϋδικών συμπλόκων**

Για τη σύνθεση των συμπλόκων **1-9** χρησιμοποιήθηκαν οι πρόδρομες ενώσεις a και b. Στο πρώτο στάδιο πραγματοποιείται αποπρωτονίωση μεθανολικού διαλύματος (~7,5 mL) της εκάστοτε σαλικυλαλδεΐδης (X-salOH) (0.05 mmol) με KOH (50 μL, 1 M) υπό σταθερή ανάδευση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στο διάλυμα αυτό προστίθεται υδατικό διάλυμα (2.5 mL) της πρόδρομης ένωση a ή b (0.05 mmol). Για την παρασκευή των συμπλόκων **1-8**, τα διαλύματα τοποθετούνται σε Reflux στους 60°C και αφήνονται υπό ανάδευση όλο το βράδυ. Την επόμενη μέρα, αφού κρυώσουν, προστίθενται υπό ανάδευση NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> (0.0163 g, 0.1 mmol). Τα διαλύματα αφήνονται σε ηρεμία σε θερμοκρασία δωματίου. Για την παρασκευή του συμπλόκου **9**, το διάλυμα αναδεύεται και στη συνέχεια αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου.

#### **B.2.2.1 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-nitro-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (1)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (1), χρησιμοποιήθηκαν 8.4 mg (0.05 mmol) 5-nitro-saloH, 0.0163 g (0.1 mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 23.9 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης a. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο (30 mg) σε μορφή ιζήματος.

#### **B.2.2.2 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-nitro-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (2)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (2) χρησιμοποιήθηκαν 8.4 mg (0.05 mmol) 5-nitro-saloH, 0.0163 g (0.1mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 25.4 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης b. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο (37 mg) σε μορφή ιζήματος. Παραλήφθηκαν.

#### **B.2.2.3 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-F-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (3)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (3) χρησιμοποιήθηκαν 7 mg (0.05 mmol) 5-F-saloH, 0.0163 g (0.1mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 23.9 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης a. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο (36 mg) σε μορφή ιζήματος.

#### **B.2.2.4 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-Cl-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (4)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (4) χρησιμοποιήθηκαν 7.8 mg (0.05 mmol) 5-Cl-saloH, 0.0163 g (0.1 mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 23.9 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης a. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο (27 mg) σε μορφή ιζήματος.

#### **B.2.2.5 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(3,5-diCl-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (5)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (5) χρησιμοποιήθηκαν 9.6 mg (0.05 mmol) 3,5-diCl-saloH, 0.0163 g (0.1 mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 23.9 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης a. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο (35 mg) σε μορφή ιζήματος.

#### **B.2.2.6 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (6)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (6) χρησιμοποιήθηκαν 6.8 mg (0.05 mmol) 5-Me-saloH, 0.0163 g (0.1 mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 25.4 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης b. Παραλήφθηκαν πορτοκαλοκόκκινοι κρύσταλλοι (20 mg) κατάλληλοι για επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων-Χ.

#### **B.2.2.7 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(5-F-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (7)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (7) χρησιμοποιήθηκαν 7 mg (0.05 mmol) 5-F-salOH, 0.0163 g (0.1 mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 25.4 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης b. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο (30 mg) σε μορφή ιζήματος.

#### **B.2.2.8 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(3,5-diBr-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (8)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (8) χρησιμοποιήθηκαν 14 mg (0.05 mmol) 3,5-diBr-salOH, 0.0163 g (0.1 mmol) NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, και 25.4 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης b. Παραλήφθηκε το σύμπλοκο σε μορφή ιζήματος. Παραλήφθηκαν 22.2 mg.

#### **B.2.2.9 Παρασκευή του συμπλόκου [Co(3,5-diCl-salo)<sub>2</sub>(bipy)].0.5(3,5-diCl-salOH) (9)**

Για την παρασκευή του συμπλόκου (9) χρησιμοποιήθηκαν 9.6 mg (0.05 mmol) 3,5-diCl-salOH και 23.9 mg (0.05 mmol) της πρόδρομης ένωσης a. Παραλήφθηκαν κρύσταλλοι σε πορτοκαλοκίτρινο χρώμα κατάλληλοι για επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων-Χ.



## B.3 Μελέτη των συμπλόκων 1-8 με φυσικοχημικές τεχνικές

### B.3.1 Διαλυτότητα των συμπλόκων ενώσεων

Στον Πίνακα 5 φαίνεται η διαλυτότητα των συμπλόκων 1-8. Όλα τα σύμπλοκα είναι διαλυτά σε ακετόνη, σε διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF), σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και σε ακετονιτρίλιο (CH<sub>3</sub>CN) (εκτός από το σύμπλοκο 6 που είναι αδιάλυτο) και αδιάλυτα σε νερό και σε μεθανόλη (CH<sub>3</sub>OH) (εκτός από το σύμπλοκο 2 που είναι μερικώς διαλυτό).

Πίνακας 5. Διαλυτότητες των συμπλόκων 1-8.

Σύμπλοκο	Ακετόνη	H <sub>2</sub> O	DMF	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	DMSO	CH <sub>3</sub> CN	CH <sub>3</sub> OH
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (1)	Δ	A	MΔ	A	Δ	Δ	A
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (2)	MΔ	A	Δ	A	MΔ	MΔ	MΔ
[Co(5-F-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (3)	Δ	A	Δ	A	Δ	Δ	A
[Co(5-Cl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (4)	Δ	A	Δ	MΔ	Δ	Δ	A
[Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (5)	Δ	A	Δ	MΔ	Δ	Δ	A
[Co(5-Me-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (6)	Δ	A	MΔ	MΔ	MΔ	A	A
[Co(5-F-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (7)	Δ	A	Δ	A	Δ	Δ	A
[Co(3,5-diBr-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) (8)	Δ	A	Δ	MΔ	Δ	Δ	A

Δ: διαλυτό, MΔ: μερικώς διαλυτό, A: αδιάλυτο

### B.3.2 Αγωγιμομετρία

Μελετήθηκε η γραμμομοριακή αγωγιμότητα των διαλυμάτων των συμπλόκων 1-8 σε DMSO. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ως ηλεκτρολύτης 1:1 χαρακτηρίζεται μια ένωση σε διάλυμα DMSO (1 mM) όταν η γραμμομοριακή του αγωγιμότητα ( $\Lambda_{\mu}$ ) είναι 50-70  $\mu\text{S}/\text{cm}$  και ηλεκτρολύτης 2:1 όταν η γραμμομοριακή του αγωγιμότητα είναι περίπου 90-110  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Οι τιμές της γραμμομοριακής αγωγιμότητας των συμπλόκων 1-8 που μετρήθηκαν σε διάλυμα DMSO  $10^{-3}\text{M}$  φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6). Από τις τιμές  $\Lambda_{\mu}$  για τα σύμπλοκα 1-8 ( $\Lambda_{\mu} = 45\text{-}62 \mu\text{S}/\text{cm}$ ), συμπεραίνεται ότι όλα τα σύμπλοκα είναι ηλεκτρολύτες σε διάλυμα DMSO, σε συμφωνία με τον προτεινόμενο μοριακό τύπο.

Πίνακας 6. Τιμές μοριακής αγωγιμότητας  $\Lambda_{\mu}$  των συμπλόκων 1-8 σε διάλυμα DMSO ( $10^{-3}\text{M}$ ).

<b>Σύμπλοκο</b>	<b>Λ<sub>μ</sub> (μS/cm)</b>
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(1)</b>	53
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(2)</b>	46
[Co(5-F-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(3)</b>	49
[Co(5-Cl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(4)</b>	55
[Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(5)</b>	62
[Co(5-Me-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(6)</b>	48
[Co(5-F-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(7)</b>	45
[Co(3,5-diBr-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(8)</b>	60

## B.4 Φασματοσκοπική μελέτη των συμπλόκων ενώσεων

Στην παρούσα εργασία, οι φασματοσκοπικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των συμπλόκων ενώσεων **1-8**, ήταν η φασματοσκοπία υπέρυθρου (IR) και η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-vis).

### B.4.1 Μελέτη των συμπλόκων με φασματοσκοπία IR

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου είναι μία μέθοδος για εύκολη και γρήγορη ταυτοποίηση της ύπαρξης χαρακτηριστικών ομάδων και ατόμων σε ένα μόριο. Η περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, που περιγράφεται με τον όρο υπέρυθρο, είναι αυτή που τα μήκη κύματος κυμαίνονται μεταξύ των 750 nm και 200 μm περίπου. Η ενέργεια της υπέρυθρης ακτινοβολίας μπορεί να υπολογισθεί με βάση οποιαδήποτε από τις γνωστές σχέσεις που συνδέουν ακτινοβολία και ύλη και εκφράζεται με πολλούς τρόπους. Η επικρατούσα έκφραση γίνεται σε κυματάρια ( $\text{cm}^{-1}$ ), οπότε η περιοχή στην οποία αναφέρεται εκτείνεται μεταξύ των  $14.000 \text{ cm}^{-1}$  έως  $50 \text{ cm}^{-1}$ . Η υπέρυθρη περιοχή διακρίνεται σε επιμέρους περιοχές, στο εγγύς υπέρυθρο ( $14.000 \text{ cm}^{-1} - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ ), στο μέσο υπέρυθρο ( $4.000 \text{ cm}^{-1} - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) και στο άπω υπέρυθρο ( $< 400 \text{ cm}^{-1}$ ). Το μικρό κόστος του φασματομέτρου IR, η ελάχιστη ποσότητας ένωσης που απαιτείται για τη λήψη του φάσματος και η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του δείγματος καθιστούν τη φασματοσκοπία IR εύχρηστη και χρήσιμη μέθοδο ως πρώτο βήμα για την ταυτοποίηση των ενώσεων. Η αλληλεπίδραση του υπέρυθρου φωτός με την εκάστοτε ένωση, προκαλεί μεταβολές στη διπολική ροπή του μορίου δημιουργώντας δονήσεις στο μόριο. Μέσω των δονήσεων αυτών, που αποτυπώνονται σε ένα φάσμα υπέρυθρου, είναι δυνατή η ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο.

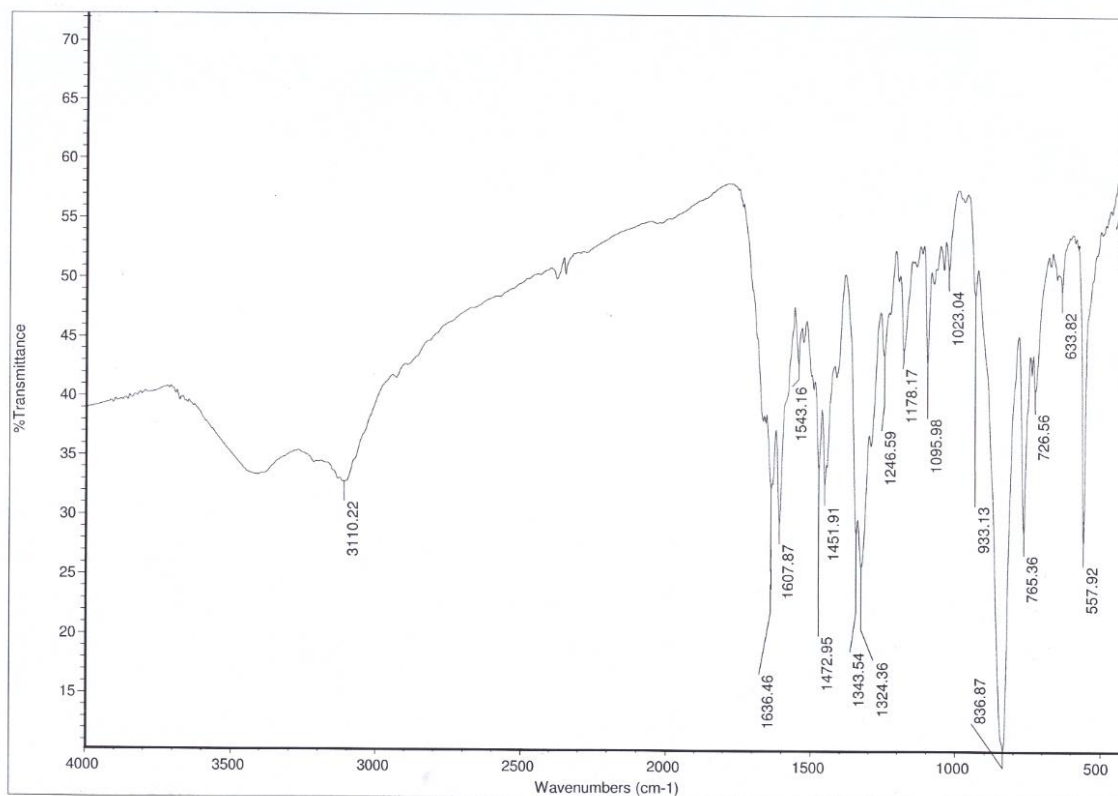
Η φασματοσκοπία υπέρυθρου χρησιμοποιήθηκε για την επιβεβαίωση της αποπρωτονίωσης και τη διευκρίνιση του τρόπου συναρμογής των αλδεϋδικών ligands. Στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 7**) συνοψίζονται οι δονήσεις τάσης  $\nu(\text{O-H})$ ,  $\nu(\text{C-OH})_{\text{aldehyde}}$ ,  $\nu(\text{C=O})_{\text{carbonyl}}$  των ελεύθερων αλδεϋδών 5-nitro-salOH, 5-CH<sub>3</sub>-salOH, 3,5-diBr-salOH, 3,5-diCl-salOH, 5-Cl-salOH και 5-F-salOH, ενώ τα φάσματα IR των υποκατεστημένων αυτών αλδεϋδών βρίσκονται στο παράρτημα.

**Πίνακας 7.** Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσης και κάμψης (σε  $\text{cm}^{-1}$ ) των ελεύθερων αλδεϋδών.

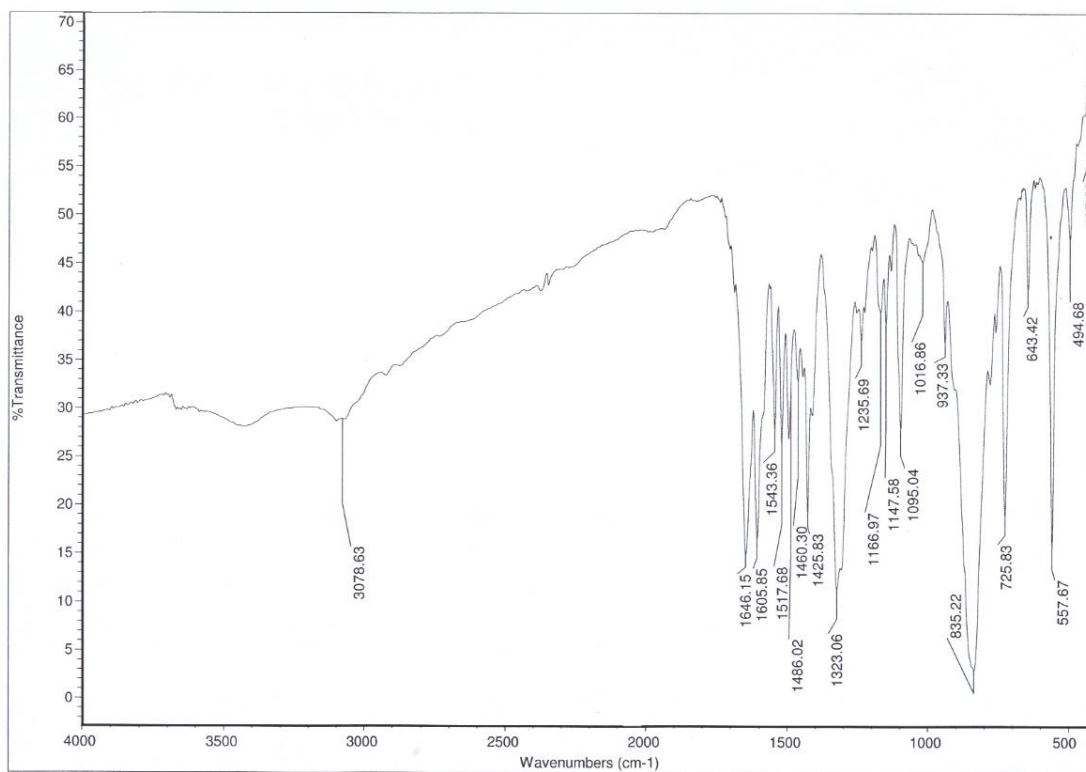
Αλδεϋδη	$\nu(\text{O-H})$	$\nu_{\text{καμ}}(\text{O-H})$	$\nu(\text{C-OH})_{\text{φαινολ}}$	$\nu(\text{C=O})_{\text{carbon}}$	$\nu(\text{C-H})_{\text{carbon}}$
5-NO <sub>2</sub> -salOH	3069	1473	1288	1665	2887

5-CH <sub>3</sub> -salOH	3060	1455	1256	1655	2840
3,5-diBr-salOH	3183	1407	1281	1679	2851
3,5-diCl-salOH	3062	1432	1277	1666	2856
5-Cl-salOH	3214	1467	1272	1656	2868
5-F-salOH	3059	1479	1266	1657	2886

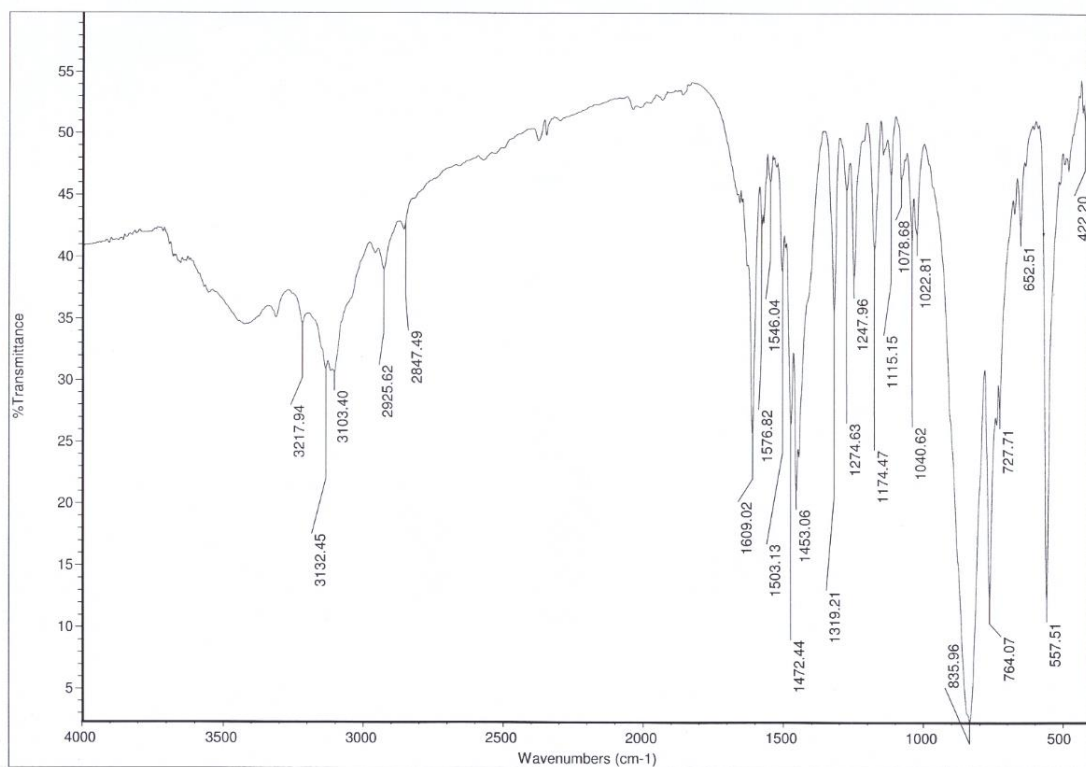
Τα φάσματα IR των συμπλόκων ενώσεων **1-8** παρατίθενται στις **Εικόνες 24-31**.



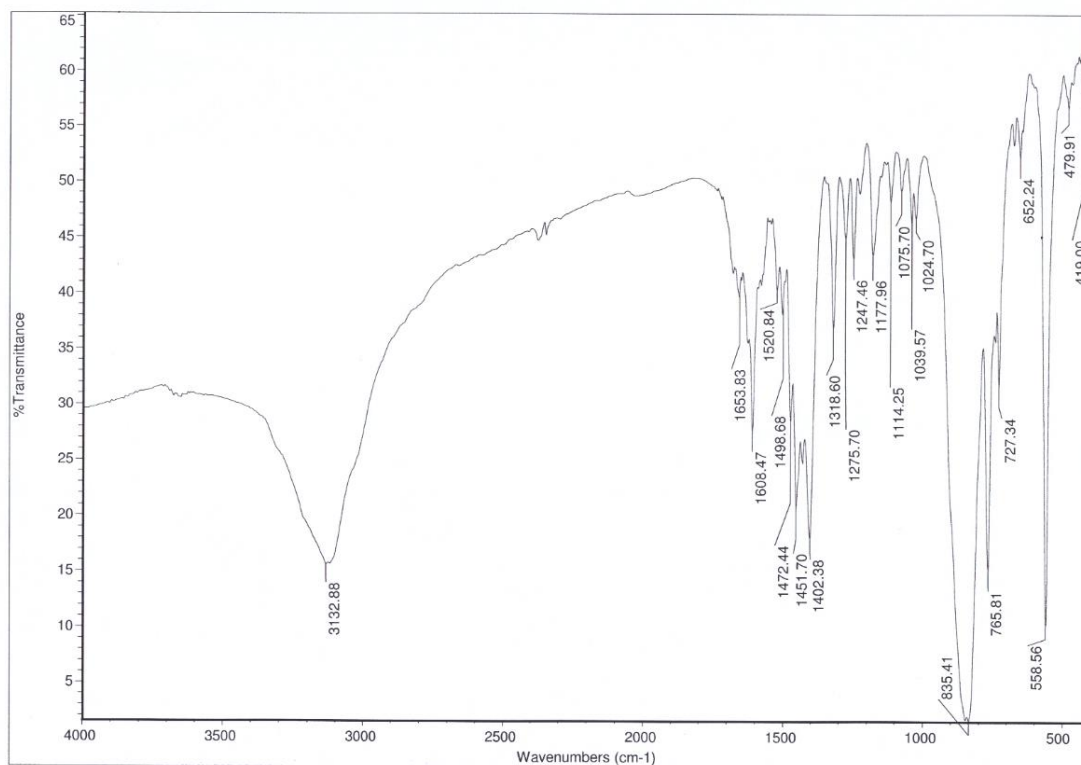
**Εικόνα 24.** Φάσμα IR του συμπλόκου [Co(5-NO<sub>2</sub>-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**1**).



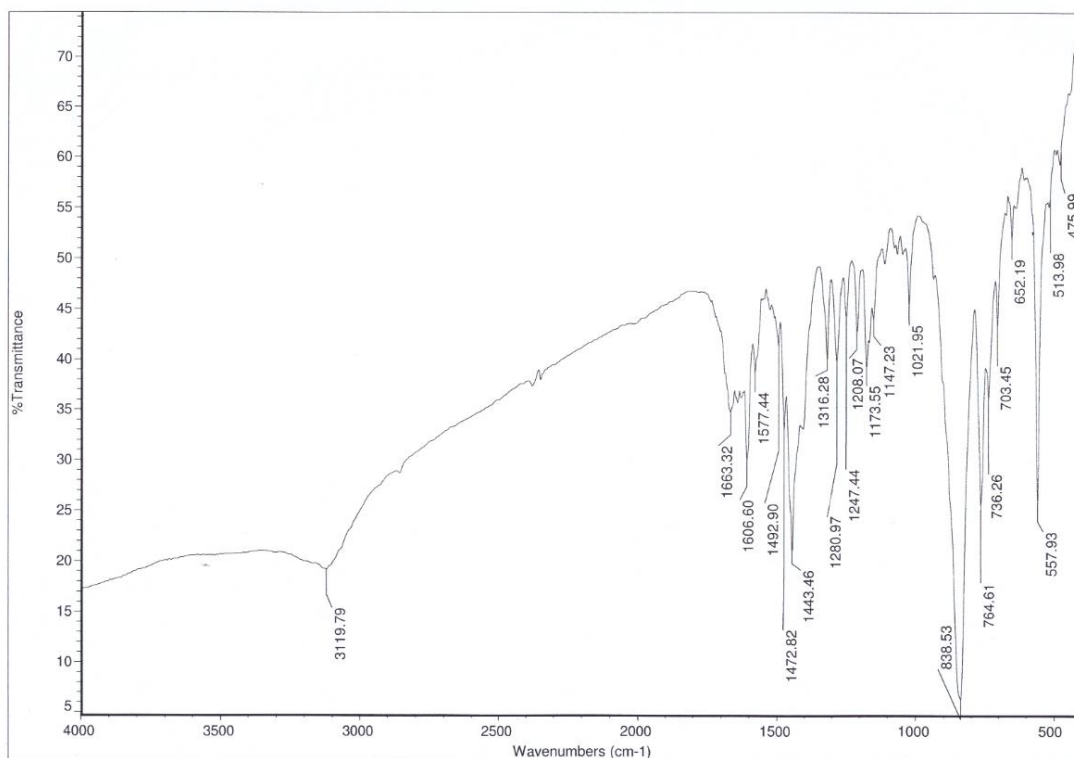
**Εικόνα 25.** Φάσμα IR του συμπλόκου [Co(5-NO<sub>2</sub>-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**2**).



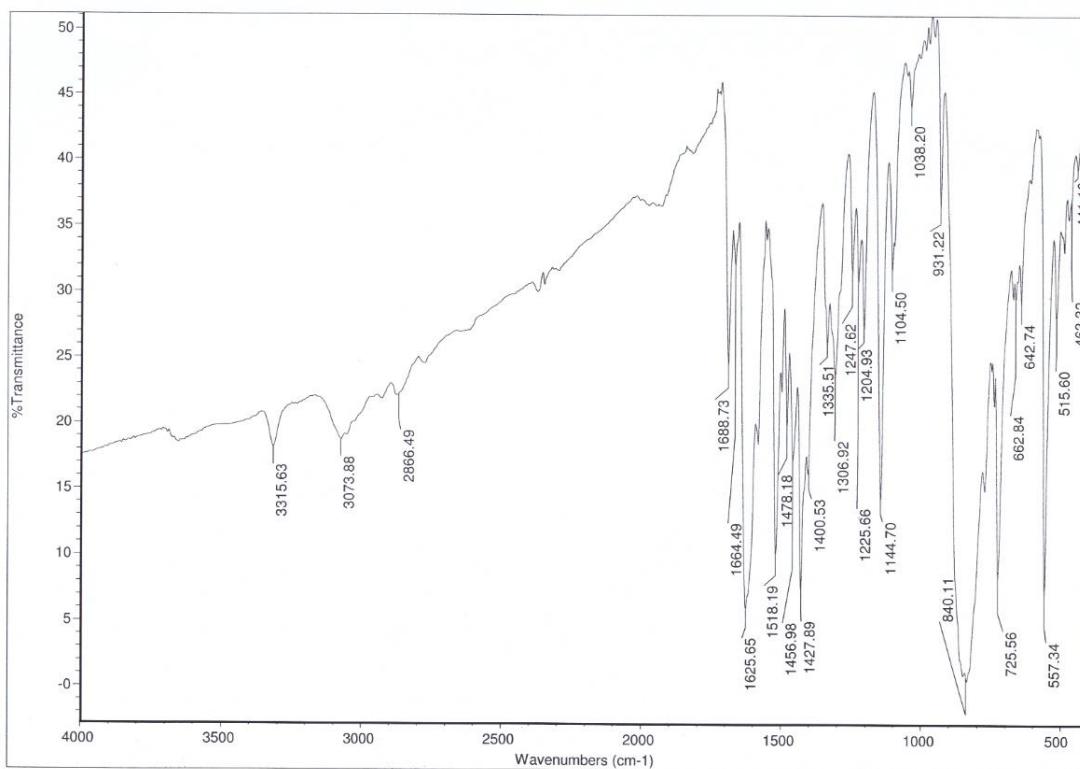
**Εικόνα 26.** Φάσμα IR του συμπλόκου [Co(5-F-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**3**).



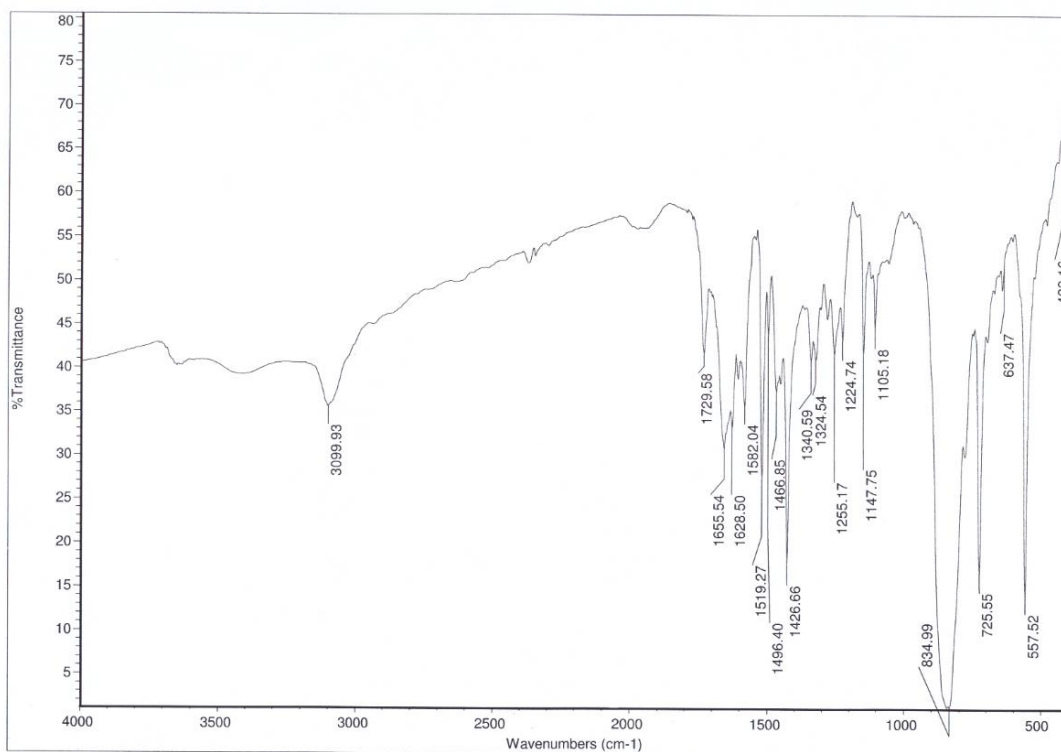
**Εικόνα 27.** Φάσμα IR του συμπλόκου  $[\text{Co}(\text{5-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**).



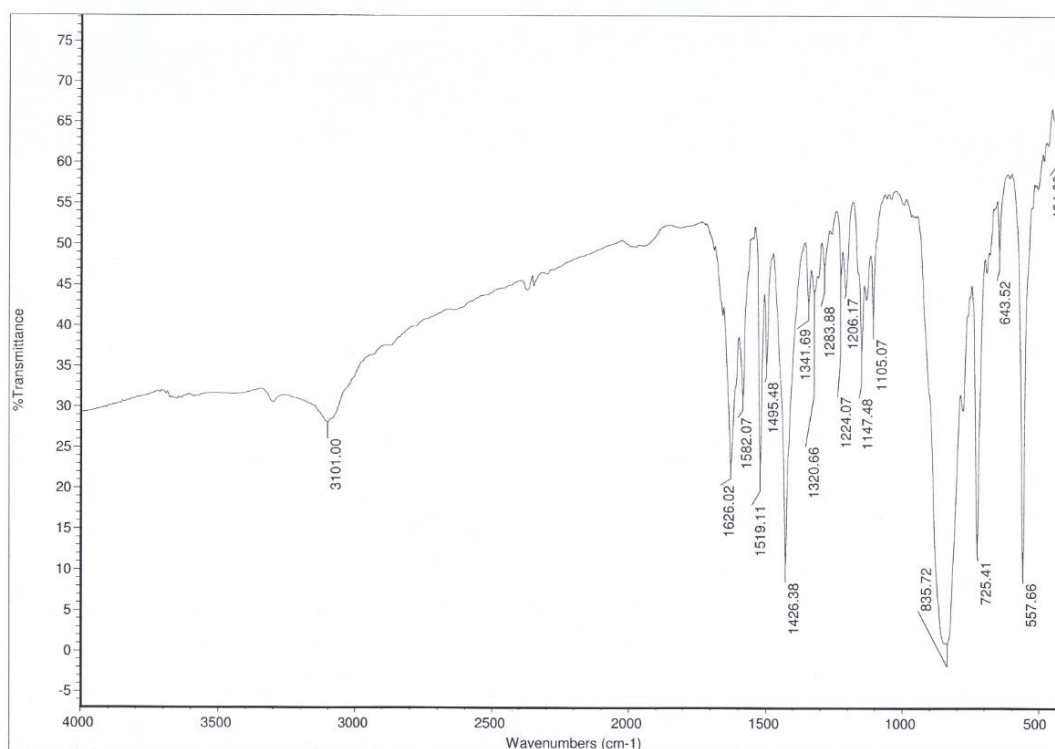
**Εικόνα 28.** Φάσμα IR του συμπλόκου  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**5**).



**Εικόνα 29.** Φάσμα IR του συμπλόκου [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**6**).



**Εικόνα 30.** Φάσμα IR του συμπλόκου [Co(5-F-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**7**).



**Εικόνα 31.** Φάσμα IR του συμπλόκου  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**).

Στα φάσματα IR των συμπλόκων **1-8** παρατηρούνται χαρακτηριστικές αλλαγές σε ορισμένες κορυφές, οι οποίες δίνονται στον **Πίνακα 8**.

- Οι οξείες χαρακτηριστικές κορυφές από τις δονήσεις τάσης και κάμψης του φαινολικού -OH, οι οποίες στα φάσματα των ελεύθερων αλδευδών εμφανίζονται στα  $3200\text{ cm}^{-1}$  και  $1410\text{ cm}^{-1}$  αντίστοιχα, απουσιάζουν από τα φάσματα των συμπλόκων ενώσεων, γεγονός που υποδεικνύει την αποπρωτονίωση των αλδευδικών ligands σε όλα τα σύμπλοκα. [102,103]
- Οι κορυφές που προέρχονται από τις δονήσεις τάσης του δεσμού C-O(H) στα  $1258 - 1285\text{ cm}^{-1}$ , μετατοπίζονται θετικά στα  $1306 - 1324\text{ cm}^{-1}$ , υποδεικνύοντας τη συναρμογή μέσω του φαινολικού οξυγόνου στο κοβάλτιο.
- Η κορυφή στα  $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ , που αποδίδεται στον καρβονυλικό δεσμό  $\nu(\text{C}=\text{O})$  της ελεύθερης αλδεΐδης, μετατοπίζεται κατά τη συναρμογή σε χαμηλότερες συχνότητες  $1605 - 1628\text{ cm}^{-1}$ , υποδηλώνοντας τη συναρμογή των αλδευδικών ligands και μέσω του καρβονυλικού οξυγόνου.
- Οι κορυφές στα  $764\text{-}765\text{ cm}^{-1}$  και  $725\text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται στις εκτός του επιπέδου παραμορφώσεις των δεσμών C-H των αρωματικών,  $\rho(\text{C-H})$ , των N-δοτών bipy και phen, αντίστοιχα.



- Οι δύο κορυφές στα 834-840  $\text{cm}^{-1}$  και στα 557-558  $\text{cm}^{-1}$  είναι χαρακτηριστικές της ύπαρξης ιόντων  $\text{PF}_6$  στις σύμπλοκες ενώσεις.

**Πίνακας 8.** Χαρακτηριστικές κορυφές (σε  $\text{cm}^{-1}$ ) των φασμάτων IR των συμπλόκων **1-8**.

Σύμπλοκο	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{C}-\text{O}\rightarrow\text{Co})$	$\rho(\text{C}-\text{H})_{\text{N-δότες}}$	$\nu(\text{PF}_6)$
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>1</b> )	1607	1324	765	836, 557
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salO})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>2</b> )	1605	1323	725	835, 557
$[\text{Co}(5\text{-F-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>3</b> )	1609	1319	764	835, 557
$[\text{Co}(5\text{-Cl-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>4</b> )	1608	1318	765	835, 558
$[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>5</b> )	1606	1316	764	838, 557
$[\text{Co}(5\text{-Me-salO})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>6</b> )	1625	1306	725	840, 557
$[\text{Co}(5\text{-F-salO})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>7</b> )	1628	1324	725	834, 557
$[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salO})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>8</b> )	1626	1320	725	835, 557

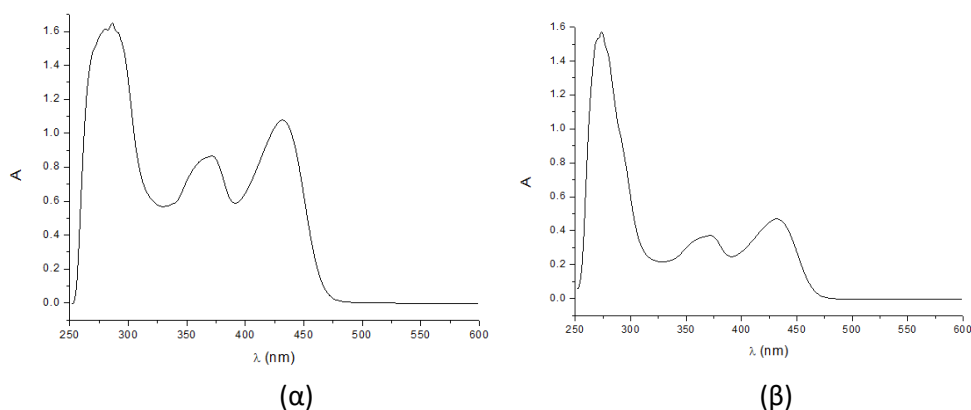
#### **B.4.2 Μελέτη των συμπλόκων ενώσεων με φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού (UV-vis)**

Η φασματοσκοπία υπεριώδους–ορατού καταγράφει τις ηλεκτρονικές μεταπτώσεις, που γίνονται μέσα στο μόριο. Η μελέτη των ενώσεων με τη φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού γίνεται κυρίως σε διαλύματα των ουσιών αυτών. Τα φάσματα των συμπλόκων πολλές φορές επηρεάζονται τόσο από την κατάσταση στην οποία λαμβάνονται (στερεή, υγρή, αέρια), όσο και από το διαλύτη που χρησιμοποιείται για τη μελέτη των συμπλόκων σε διάλυμα. Η επίδραση του διαλύτη μερικές φορές είναι σημαντική προκαλώντας διάσπαση ή επιδιαλύτωση ή αλλαγή της στερεοχημείας ή πολυμερισμό, κλπ. Για περαιτέρω επιβεβαίωση της ηλεκτρονικής συμπεριφοράς ενός συμπλόκου τα φάσματα υπεριώδους-ορατού λαμβάνονται και σε σειρά διαλυτών, με διαφορετικές ιδιότητες ή λαμβάνονται δύο φάσματα, ένα σε στερεά κατάσταση και ένα σε διάλυμα.

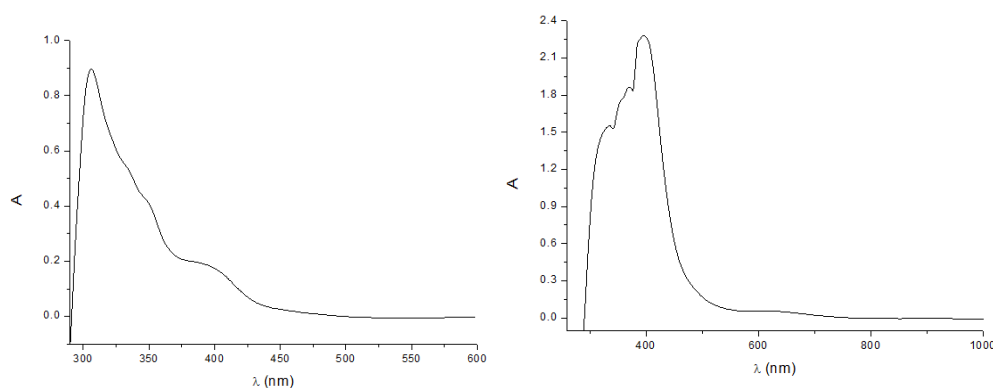
Η φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού ( $\lambda = 200\text{-}1100\text{ nm}$ ) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να διερευνηθεί η δομή των ενώσεων και σε διάλυμα αλλά και σε στερεά κατάσταση, μέσω της καταγραφής των ηλεκτρονικών μεταπτώσεων που γίνονται στο μόριο. Η απορρόφηση ή η ανάκλαση επηρεάζει άμεσα το χρώμα των χημικών ουσιών και βοηθά στη μελέτη των ηλεκτρονικών διεγέρσεων σε μια σύμπλοκη ένωση. Εκτός των ενεργειακών καταστάσεων των ligands, υπάρχουν και ενεργειακές καταστάσεις οι οποίες εντοπίζονται στα τροχιακά του μετάλλου. Οι ηλεκτρονικές διεγέρσεις μπορούν να ταξινομηθούν αναλόγως της αρχικής και τελικής κατάστασης του ηλεκτρονίου ως εξής:

- Διεγέρσεις μεταξύ των τροχιακών που εντοπίζονται στο μέταλλο, γνωστές ως d-d μεταπτώσεις. Προκύπτουν μετά την επίδραση του πεδίου των ligands στα τροχιακά του μετάλλου και εμφανίζονται με τη χαμηλότερη ενέργεια, δηλαδή σε μεγαλύτερα μήκη κύματος.
- Διεγέρσεις μεταξύ των τροχιακών του μετάλλου και των ligands. Είναι γνωστές ως ταινίες μεταφοράς φορτίου (CT), επειδή στη διεγερμένη κατάσταση ένα ηλεκτρόνιο βρίσκεται σε ένα τροχιακό, που εντοπίζεται σε άλλο τμήμα του μορίου από εκείνο στο οποίο ανήκε στη βασική κατάσταση. Διακρίνονται σε ταινίες μεταφοράς από το ligand στο μέταλλο (LMCT) ή από το μέταλλο στο ligand (MLCT).
- Στις υψηλότερες ενέργειες, δηλαδή χαμηλότερα μήκη κύματος, εντοπίζονται οι διεγέρσεις μεταξύ των ενεργειακών σταθμών των ligands (Intraligand, IL)

Τα φάσματα υπεριώδους – ορατού των συμπλόκων **1-8** λήφθηκαν στην περιοχή 200 έως 1100 nm σε διάλυμα DMSO σε διαφορετικές συγκεντρώσεις  $5 \times 10^{-5}$  έως  $5 \times 10^{-3}$  M, με σκοπό τη διερεύνηση της δομής και της σταθερότητάς τους σε διάλυμα. Ενδεικτικά φάσματα των συμπλόκων παρουσιάζονται στις **Εικόνες 32** και **33** και τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα για όλα τα σύμπλοκα στον **Πίνακα 9**.



**Εικόνα 32.** Φάσματα UV-Vis του συμπλόκου  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**) σε DMSO σε συγκέντρωση (α)  $10^{-4}$  M και (β)  $5 \times 10^{-5}$  M.



(α)

(β)

**Εικόνα 33.** Φάσματα UV-Vis του συμπλόκου [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**6**) σε DMSO σε συγκέντρωση (α) 10<sup>-3</sup> Μ και (β) 10<sup>-4</sup>Μ.

**Πίνακας 9.** Μήκη κύματος των μεγίστων των ταινιών των φασμάτων απορρόφησης UV-vis ( $\lambda_{max}$ , nm) σε διάλυμα DMSO των ενώσεων **1-8**. Στις παρενθέσεις δίνονται οι τιμές του συντελεστή μοριακής απόσβεσης  $\epsilon$  (σε M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>).

Σύμπλοκο	Ταινία I	Ταινία II	Ταινία III
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>1</b> )	446 (330)	370 (1900)	285 (28100)
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>2</b> )	432 (1600)	370 (8500)	287 (16200)
[Co(5-F-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>3</b> )	386 (2500)	369 (3920)	335 (16400)
[Co(5-Cl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>4</b> )	401 (440)	384 (1790)	338 (9200)
[Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>5</b> )	401 (500)	372 (19500)	333 (1590)
[Co(5-Me-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>6</b> )	396 (450)	368 (18500)	335 (11500)
[Co(5-F-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>7</b> )	382 (2100)	370 (1980)	335 (328)
[Co(3,5-diBr-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>8</b> )	439 (332)	370 (1860)	279 (28100)

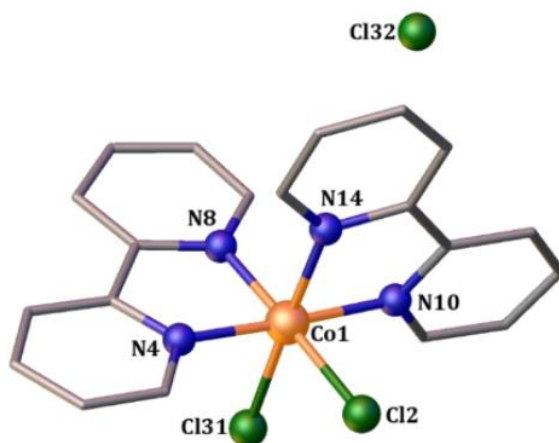
Στα φάσματα UV-vis σε DMSO βρέθηκε μία ταινία (Ταινία I) που μπορεί να αποδοθεί σε d-d μεταπτώσεις ή μεταφοράς φορτίου (CT, charge-transfer) από το μέταλλο στα ligands και δύο ταινίες (Ταινία II και III) που μπορούν να αποδοθούν σε IL μεταπτώσεις.

## B.5 Χαρακτηρισμός της δομής των συμπλόκων ενώσεων

Τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα σχετικά με τις κρυσταλλικές δομές των πρόδρομων ενώσεων **a** και **b**, καθώς και των συμπλόκων **6** και **9** δίνονται στον πίνακα του παραρτήματος.

### B.5.1 Περιγραφή της κρυσταλλικής δομής της σύμπλοκης ένωσης $[\text{Co}(\text{biry})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$ (**a**)

Η μοριακή δομή του  $[\text{Co}(\text{biry})_2\text{Cl}_2]\text{Cl}$  φαίνεται στην **Εικόνα 34** και στον **Πίνακα 10** δίνονται επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών. Πρόκειται για ένα κατιονικό μονοπυρηνικό σύμπλοκο με κεντρικό ιόν το  $\text{Co}^{3+}$  που έχει αριθμό συναρμογής έξι. Επίσης ένα ιόν χλωριδίου βρίσκεται ως αντισταθμιστικό φορτίο. Τα ligand biry συναρμόζονται διδραστικά χηλικά μέσω των ατόμων αζώτου, σχηματίζοντας πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Η γεωμετρία του  $\text{Co}(\text{III})$  είναι παραμορφωμένη οκταεδρική.



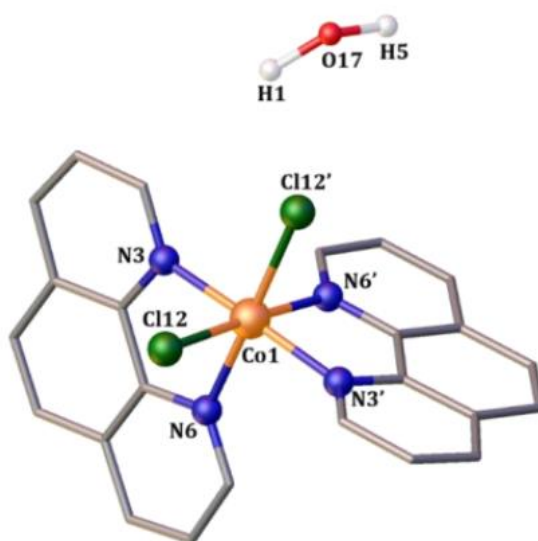
**Εικόνα 34.** Μοριακή δομή της πρόδρομης ένωσης **a**.

**Πίνακας 10.** Επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών για το σύμπλοκο **a**.

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Δεσμός	Απόσταση (Å)
Co1-Cl2	2.244(4)	Co1-N8	1.920(10)
Co1-Cl31	2.231(3)	Co1-N10	1.953(10)
Co1-N4	1.933(10)	Co1-N14	1.950(9)
Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
Cl2-Co1-N4	95.7(3)	N8-Co1-N14	91.9(4)
Cl2-Co1-N8	178.3(3)	N10-Co1-N14	82.7(4)
N4-Co1-N8	82.7(5)	Cl2-Co1-N10	91.23(13)
Cl2-Co1-N10	86.3(3)	N4-Co1-Cl31	86.8(3)
N4-Co1-N10	177.5(4)	N8-Co1-Cl31	87.9(3)
N8-Co1-N10	95.3(4)	N10-Co1-Cl31	177.4(4)

### B.5.2 Περιγραφή της κρυσταλλικής δομής της σύμπλοκης ένωσης [Co(rhen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>](H<sub>2</sub>O) (b)

Η μοριακή δομή του [Co(rhen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>](H<sub>2</sub>O) φαίνεται στην **Εικόνα 35** και στον **Πίνακα 11** δίνονται επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών. Πρόκειται για ουδέτερο μονοπυρηνικό σύμπλοκο με κεντρικό ιόν το Co<sup>2+</sup> που έχει αριθμό συναρμογής έξι. Επίσης υπάρχει και ένα μόριο νερού στο κρυσταλλικό πλέγμα. Τα ligand rhen συναρμόζονται διδραστικά χηλικά μέσω των ατόμων άζωτου, σχηματίζοντας πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Η γεωμετρία της ένωσης είναι παραμορφωμένη οκταεδρική.



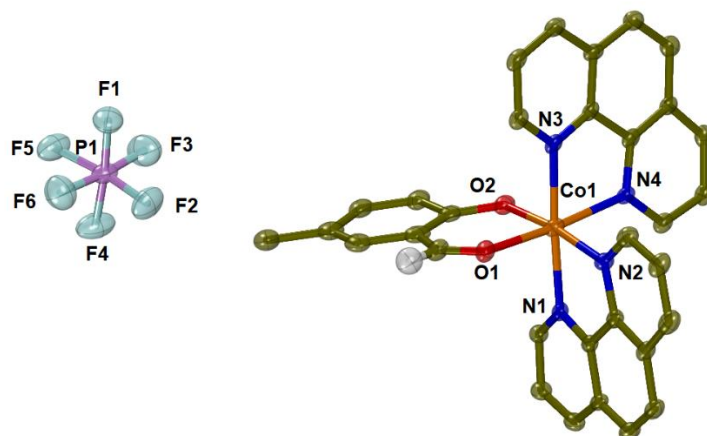
**Εικόνα 35.** Μοριακή δομή της πρόδρομης ένωσης b.

**Πίνακας 11.** Επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών για το σύμπλοκο b.

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Δεσμός	Απόσταση (Å)
Co1-Cl12	2.264(2)	Co1-Cl12'	2.264(2)
Co1-N3	1.990(6)	Co1-N3'	1.990(6)
Co1-N6	2.020(6)	Co1-N6'	2.020(6)
Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
N6'-Co1-N3'	82.9(2)	Cl12'-Co1-N3	95.04(17)
N6'-Co1-Cl12'	88.67(15)	N6'-Co1-Cl12'	88.95(16)
N3'-Co1-Cl12'	88.95(16)	N6'-Co1-N6	89.8(3)
N6'-Co1-Cl12	177.36(16)	N3'-Co1-N6	93.0(2)
N3'-Co1-Cl12	95.04(17)	Cl12'-Co1-N6	177.36(16)
N6'-Co1-N3	93.0(2)	N3-Co1-N6	82.9(2)

### B.5.3 Περιγραφή της κρυσταλλικής δομής του συμπλόκου [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (6)

Η μοριακή δομή του [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) φαίνεται στην **Εικόνα 36** και στον **Πίνακα 12** δίνονται επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών. Πρόκειται για ένα μονοπυρηνικό κατιονικό σύμπλοκο με κεντρικό ιόν το Co<sup>2+</sup> που έχει αριθμό συναρμογής έξι. Το ρόλο του αντισταθμιστικού ιόντος έχει ιόν PF<sub>6</sub><sup>-</sup>. Τα ligand phen συναρμόζονται διδραστικά χηλικά μέσω των ατόμων αζώτου, σχηματίζοντας πενταμελείς χηλικούς δακτυλίους. Το αποπρωτονιωμένο 5-Me-salo<sup>-</sup> ligand συναρμόζεται διδραστικά μέσω του αλδεϋδικού O και του αποπρωτονιωμένου φαινολικού O σχηματίζοντας εξαμελή χηλικό δακτύλιο. Η γεωμετρία γύρω από τον ιόν Co(II) είναι παραμορφωμένη οκταεδρική.



**Εικόνα 36.** Μοριακή δομή του συμπλόκου [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (6).

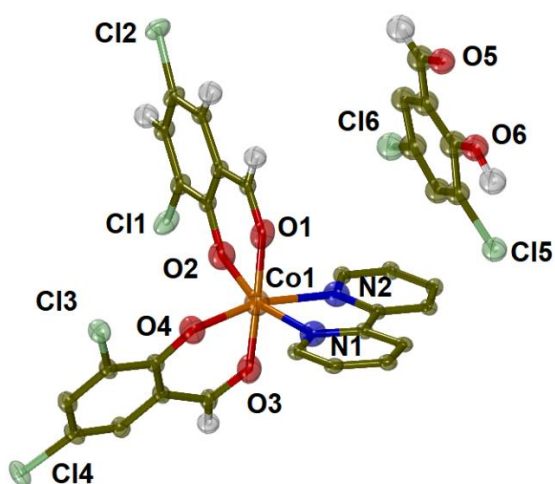
**Πίνακας 12.** Επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών για το σύμπλοκο (6).

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Δεσμός	Απόσταση (Å)
Co1-O1	2.120(3)	Co1-N2	2.066(3)
Co1-O2	1.966(3)	Co1-N3	2.082(3)
Co1-N1	2.099(2)	Co1-N4	2.094(3)
Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
O1-Co1-O2	92.1(1)	O2-Co1-N2	172.7(1)
O1-Co1-N1	88.4(1)	O2-Co1-N3	88.4(1)
O1-Co1-N2	85.5(1)	O2-Co1-N4	92.1(1)
O1-Co1-N3	93.9(1)	N1-Co1-N2	79.2(1)
O1-Co1-N4	171.4(1)	N1-Co1-N3	176.7(1)
O2-Co1-N1	93.9(1)	N1-Co1-N4	98.7(1)

### B.5.4 Περιγραφή της δομής του συμπλόκου [Co(3,5-diCl-salo)<sub>2</sub>(bipy)]·0.5(3,5-diCl-saloH) (9)

Η μοριακή δομή του [Co(3,5-diCl-salo)<sub>2</sub>(bipy)]·0.5(3,5-diCl-saloH) φαίνεται στην **Εικόνα 37** και στον **Πίνακα 13** δίνονται επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών. Πρόκειται για ένα

μονοπυρηνικό ουδέτερο σύμπλοκο με κεντρικό ιόν το  $\text{Co}^{2+}$  που έχει αριθμό συναρμογής έξι και παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Επίσης, στο κρυσταλλικό πλέγμα βρέθηκε και ένα μόριο της αλδεΐδης 3,5-diCl-salOH μεταξύ δύο μορίων του συμπλόκου. Το ligand bipy συναρμόζεται διδραστικά χηλικά μέσω των ατόμων αζώτου, σχηματίζοντας πενταμελή χηλικό δακτύλιο. Τα αποπρωτονιωμένα ligand 3,5-diCl-salo<sup>-</sup> συναρμόζονται διδραστικά μέσω του αλδεΐδικού O και του αποπρωτονιωμένου φαινολικού O σχηματίζοντας εξαμελείς χηλικούς δακτυλίους.



Εικόνα 37. Μοριακή δομή του συμπλόκου  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})_2(\text{bipy})] \cdot 0.5(3,5\text{-diCl-salOH})$  (9).

Πίνακας 13. Επιλεγμένες αποστάσεις και γωνίες δεσμών για το σύμπλοκο (9).

Δεσμός	Απόσταση (Å)	Δεσμός	Απόσταση (Å)
Co1-N1	2.174(4)	Co1-O2	2.022(3)
Co1-N2	2.175(4)	Co1-O3	2.140(3)
Co1-O1	2.100(3)	Co1-O4	1.993(3)
Δεσμός	Γωνία (°)	Δεσμός	Γωνία (°)
N1-Co1-N2	74.3(1)	N2-Co1-O2	93.1(1)
N1-Co1-O1	81.2(1)	N2-Co1-O3	84.1(1)
N1-Co1-O2	162.6(1)	N2-Co1-O4	164.2(1)
N1-Co1-O3	102.3(1)	O1-Co1-O2	88.3(1)
N1-Co1-O4	93.9(1)	O1-Co1-O3	176.2(1)
N2-Co1-O1	95.8(1)	O1-Co1-O4	92.7(1)

#### B.5.4 Προτεινόμενη δομή των συμπλόκων (1), (2), (3), (4), (5), (7) και (8)

Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα, τα σύμπλοκα (1), (2), (3), (4), (5), (7) και (8) αναμένεται να παρουσιάζουν παρόμοια δομή με το σύμπλοκο  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (6). Πρόκειται για κατιονικά μονοπυρηνικά σύμπλοκα με το κεντρικό ιόν  $\text{Co}^{2+}$  να έχει αριθμό συναρμογής έξι και παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία και έχουν ως αντισταθμιστικό ιόν ένα ιόν  $\text{PF}_6^-$ . Από τα φάσματα IR φαίνεται ότι η υποκατεστημένη σαλικυλαλδεΐδη στο εκάστοτε σύμπλοκο είναι αποπρωτονιωμένη και

συναρμόζεται διδραστικά με το κοβάλτιο μέσω του αλδεϋδικού O και του φαινολικού O, ενώ τα ligand phen ή bipy συναρμόζονται διδραστικά χηλικά μέσω των ατόμων αζώτου.

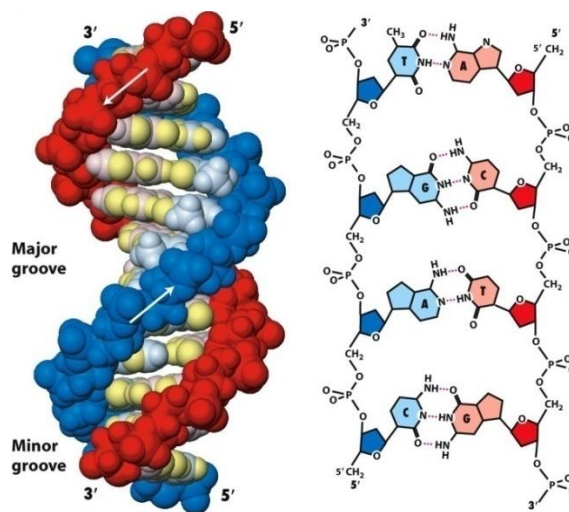


## **Γ. Βιολογικό Μέρος**

## Γ.1 Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με το DNA

### Γ.1.1 Εισαγωγή

Το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (deoxyribonucleic acid, DNA) είναι ένα νουκλεϊκό οξύ που περιέχει τις γενετικές πληροφορίες που καθορίζουν τη βιολογική ανάπτυξη όλων των κυτταρικών μορφών ζωής και των περισσότερων ιών. Το DNA έχει συνήθως τη μορφή διπλής έλικας και αποτελείται από δύο νουκλεοτιδικές αλυσίδες σε μορφή δύο αντιπαραβαλλόμενων κλώνων που σχηματίζουν στο χώρο μία δεξιόστροφη έλικα. Κάθε νουκλεοτίδιο αποτελείται από μία πεντόζη, τη δεοξυριβόζη, ενωμένη με μία φωσφορική ομάδα και μία αζωτούχα βάση. Η διπλή έλικα έχει σταθερό σκελετό που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες φωσφορικής ομάδας-δεοξυριβόζης, ενωμένες με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Ο σκελετός αυτός είναι υδρόφιλος και βρίσκεται στο εξωτερικό του μορίου DNA, ενώ η τρισιδιάστατη δομή του είναι συνέπεια της γεωμετρίας του σακχάρου. Οι υδρόφοβες βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό του μορίου του DNA και συνδέονται με τις αζωτούχες βάσεις του απέναντι κλώνου με δεσμούς υδρογόνου.



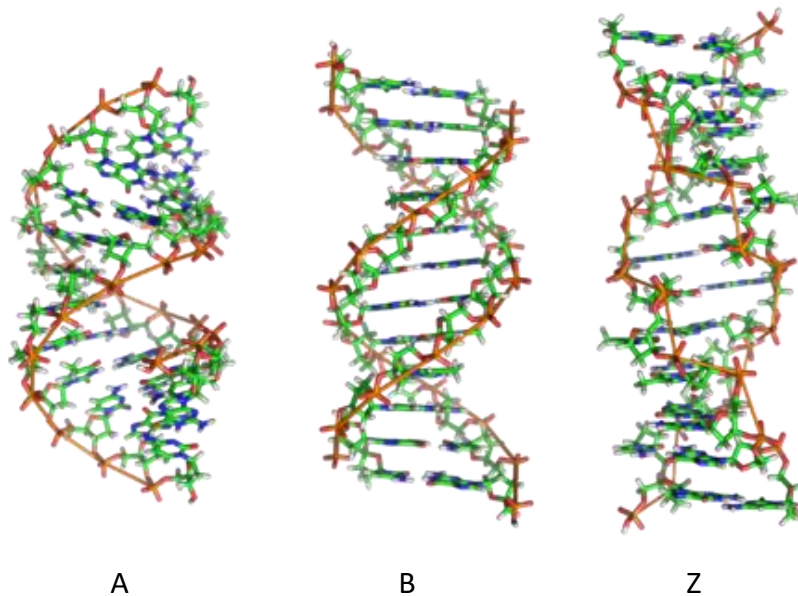
**Εικόνα 38.** Η δομή του DNA στο χώρο και οι δεσμοί μεταξύ των αζωτούχων βάσεων.

Η σταθεροποίηση της δευτεροταγούς δομής του DNA οφείλεται κυρίως σε π-π αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ π-τροχιακών των αρωματικών δακτυλίων των νουκλεοβάσεων. Καθώς οι αλυσίδες του DNA περιστρέφονται η μια γύρω από την άλλη, υπάρχουν αύλακες (grooves) μεταξύ των φωσφορικών ομάδων, αποκαλύπτοντας έτσι τις βάσεις του εσωτερικού της έλικας. Υπάρχουν δύο διαφορετικές αύλακες που σχηματίζονται στην επιφάνεια της διπλής έλικας:

- η κύρια αύλακα (major groove) με πλάτος 22 Å που είναι ευρεία και σχετικά ρηχή

- η στενή δευτερεύουσα αύλακα (minor groove) με πλάτος 12 Å.

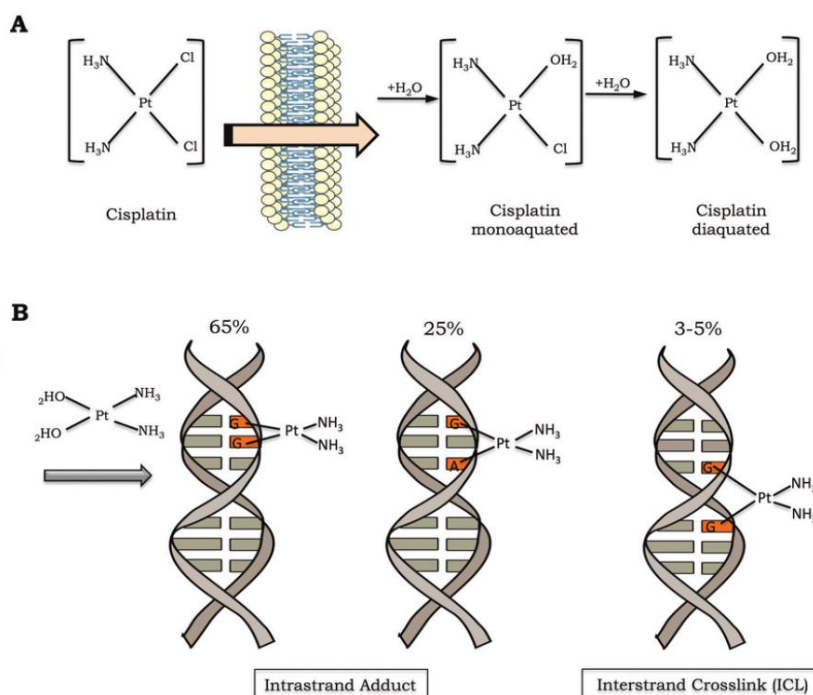
Το πλάτος της δευτερεύουσας αύλακας μεταβάλλεται ευκολότερα και είναι στενότερο στις περιοχές που είναι πλουσιότερες σε ζεύγη αδενίνης-θυμίνης (A-T) από αυτές όπου υπερτερούν σε γουανίνη-κυτοσίνη (G-C). Τα άκρα των βάσεων στην κύρια αύλακα είναι πιο προσιτά προς αλληλεπίδραση με άλλα μόρια σε σχέση με τις αντίστοιχες βάσεις της δευτερεύουσας αύλακας λόγω στενότητας. Το DNA μπορεί να υπάρχει σε πολλές διαμορφώσεις. Παρόλα αυτά, μόνο η A-, η B- και η Z- μορφή του DNA έχουν παρατηρηθεί στους οργανισμούς. Η διαμόρφωση του DNA εξαρτάται από την ακολουθία των βάσεων του DNA, το μέγεθος και τη διεύθυνση της υπερελίκωσης, πιθανές χημικές τροποποιήσεις των βάσεων καθώς και τις συνθήκες του διαλύματος, όπως η συγκέντρωση των μεταλλικών ιόντων και των πολυαμινών. Μεταξύ των τριών παραπάνω διαμορφώσεων, η B- είναι η πιο κοινή με βάση τις συνθήκες που επικρατούν στα κύτταρα.



**Εικόνα 39.** Οι διαμορφώσεις A-, B- και Z- του DNA.

Μικρά μόρια δεσμεύονται στο DNA αντιστρεπτά ή μόνιμα, με την τελευταία περίπτωση να περιλαμβάνει συνήθως το σχηματισμό των ομοιοπολικών δεσμών. Η αντιστρεπτή δέσμευση στα νουκλεϊκά οξέα περιλαμβάνει μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις συνήθως ηλεκτροστατικής φύσης, τόσο μέσω της κύριας όσο και μέσω της δευτερεύουσας αύλακας. Τα σύμπλοκα των μετάλλων συνδέονται με το DNA είτε μέσω ομοιοπολικών είτε μέσω ετεροπολικών αλληλεπιδράσεων, ενώ μπορούν να προκαλέσουν και ρήξη του DNA.

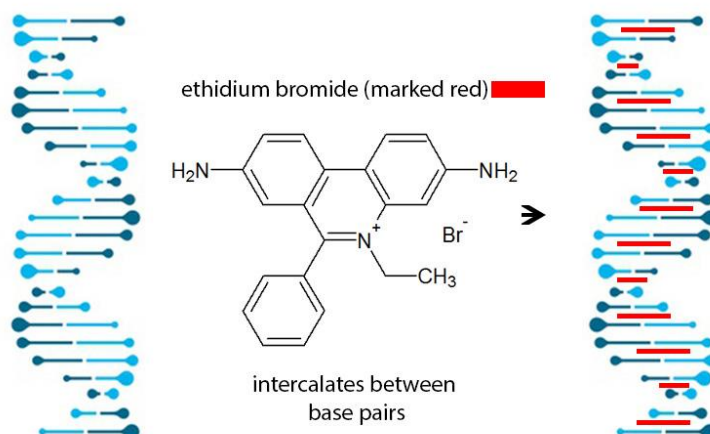
Στην περίπτωση των ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, κάποιο ή κάποια από τα ευκίνητα ligands των συμπλόκων αντικαθίστανται από μία βάση του αζώτου του DNA, όπως αυτή του αζώτου-7 της γουανίνης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της κατηγορίας αποτελεί το *cisplatin*,  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ , ένα μόριο πολύ γνωστό για την αντικαρκινική του δράση. Το *cisplatin* είναι ένα σύμπλοκο του λευκόχρυσου, το οποίο αφού αποβάλλει δύο ανιόντα χλωρίου συναρμόζεται στην έλικα του DNA ως κατιόν,  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ , προκαλώντας κάμψη 26° στην κύρια αύλακα του DNA.



**Εικόνα 40.** Η ενεργοποίηση του cisplatin και η πρόσδεσή του στο DNA. Τα ποσοστά αντιπροσωπεύουν τη συχνότητα του κάθε τύπου πρόσδεσης.

Στην περίπτωση των μη-ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων περιλαμβάνονται η παρεμβολή (intercalation) που συνήθως πραγματοποιείται με τη μερική εισχώρηση αρωματικών ετεροκυκλικών δακτυλίων των ligand μεταξύ των βάσεων του DNA, οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και η επιφανειακή συναρμογή συμπλόκων στην εξωτερική πλευρά της έλικας του DNA μέσω της κύριας ή της δευτερεύουσας αύλακας. Τα κατιονικά σύμπλοκα μπορούν επίσης να συναρμολογούνται εξωτερικά στην επιφάνεια του DNA αναπτύσσοντας ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με τη φωσφορική ομάδα. Κατά την αλληλεπίδραση μπορεί να προκληθούν αλλαγές και στο DNA και στα ligands του συμπλόκου, ώστε να διευκολυνθεί η δέσμευσή τους. Οι μη-ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις, συμπεριλαμβανομένων της υδρόφοβης επίδρασης, των δυνάμεων van der Waals, των π-π

αλληλεπιδράσεων και των δεσμών υδρογόνου γενικά σταθεροποιούν τη δομή του DNA-συμπλόκου.



**Εικόνα 41.** Παρεμβολή του βρωμιούχου αιθίδιου (EB) μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA.

Ορισμένα μεταβατικά μέταλλα μπορούν να δράσουν ως χημικές νουκλεάσες και να προκαλέσουν ρήξη του DNA. Οι χημικές νουκλεάσες αποδομούν το DNA και εισχωρούν σ' αυτό μέσω διάρρηξης του, μέσω των φωσφορικών μονοεστέρων ή τροποποιώντας τα σάκχαρα στην 3'- και 5'-θέση. Στη ρήξη παρατηρείται ο κατακερματισμός του DNA και η ύπαρξη μικρών θραυσμάτων. Ως ρήξη του DNA χαρακτηρίζεται και η απομάκρυνση των δύο κλώνων του δίκλωνου DNA ως αποτέλεσμα της κατάργησης των διακλωνικών δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων του DNA. Σε αυτήν την περίπτωση όλο ή μέρος του δίκλωνου DNA μετατρέπεται σε μονόκλωνο.

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία μελετήθηκε την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT DNA (calf-thymus DNA) με φασματοσκοπία UV-vis και ιξωδομετρία. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων με το EB μέσω της φασματοσκοπίας φθορισμού, με σκοπό τη διερεύνηση της ύπαρξης πιθανής παρεμβολής των συμπλόκων στο CT-DNA.

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με το CT DNA μελετήθηκε με φασματοσκοπία UV-vis με σκοπό τη διερεύνηση του πιθανού τρόπου σύνδεσης στο CT DNA και

τον υπολογισμό της σταθεράς σύνδεσης ( $K_b$ ). Τα φάσματα UV-vis του CT DNA καταγράφηκαν παρουσία του κάθε συμπλόκου σε διάφορους λόγους  $r = [\text{συμπλόκου}]/[\text{DNA}]$ . Οι τιμές της  $K_b$  καθορίστηκαν από την εξίσωση Wolfe-Shimer **(Εξίσωση 1)**

$$\frac{[\text{DNA}]}{\varepsilon_A - \varepsilon_f} = \frac{[\text{DNA}]}{\varepsilon_b - \varepsilon_f} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} \quad \text{(Εξίσωση 1)}$$

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

Η αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT DNA μελετήθηκε επίσης με ιζωδομετρία. Το ιζώδες του DNA ( $[\text{DNA}] = 0.1 \text{ mM}$ ) σε διάλυμα buffer (150 mM NaCl και 15 mM κιτρικού νατρίου σε  $\text{pH} = 7.0$ ) μετρήθηκε παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου. Όλα τα δεδομένα που λήφθηκαν παρουσιάζονται ως διαγράμματα  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  προς  $r$ , όπου  $\eta$  το ιζώδες του DNA παρουσία του συμπλόκου και  $\eta_0$  είναι το ιζώδες μόνο του DNA σε διάλυμα buffer.

Οι μελέτες της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων με το αιθίδιο βρωμίδιο (EB) πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού εκπομπής με σκοπό να εξεταστεί αν μία ένωση μπορεί να αντικαταστήσει το EB στην ένωση DNA-EB. Η ένωση DNA-EB παρασκευάστηκε προσθέτοντας 20  $\mu\text{M}$  EB σε 26  $\mu\text{M}$  CT DNA σε ρυθμιστικό διάλυμα buffer. Η ικανότητα των συμπλόκων να παρεμβάλλονται στο DNA μελετήθηκε με την προσθήκη σταδιακά αυξανόμενης ποσότητας του διαλύματος του συμπλόκου σε διάλυμα DNA-EB. Η επίδραση της προσθήκης καθενός συμπλόκου στο διάλυμα DNA-EB λήφθηκε καταγράφοντας την αλλαγή στο φάσμα εκπομπής με μήκος κύματος διέγερσης στα 540 nm. Οι σταθερές Stern-Volmer ( $K_{SV}$ , σε  $M^{-1}$ ) υπολογίστηκαν σύμφωνα με τη γραμμική εξίσωση Stern-Volmer **(Εξίσωση 2)** και από τη κλίση της γραφικής παράστασης  $I_0/I$  προς  $[Q]$ :

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

όπου  $I_0$  και  $I$  είναι οι εντάσεις εκπομπής απουσία και παρουσία της υπό μελέτη ένωσης αντίστοιχα, και  $[Q]$  η συγκέντρωση της ένωσης. Λαμβάνοντας ως χρόνο φθορισμού του

συστήματος EB-DNA την τιμή  $\tau_0 = 23$  ns, η σταθερά απόσβεσης ( $k_q$ , σε  $M^{-1}s^{-1}$ ) των συμπλόκων υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση **(Εξίσωση 3)** [72].

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

### Γ.1.2 Μελέτη αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis

Η φασματοσκοπία UV-vis παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA καθώς και με την ισχύ της σύνδεσής τους με αυτό, μέσω του υπολογισμού της σταθεράς  $K_b$ . Η μελέτη της αλληλεπίδρασης μιας ένωσης με το DNA, με φασματοσκοπία UV-vis, περιλαμβάνει δύο στάδια.

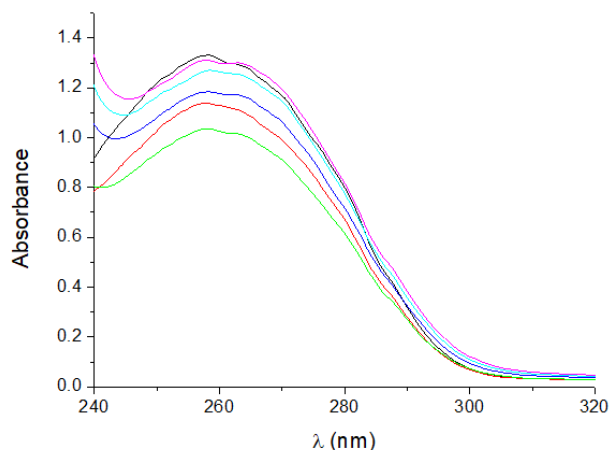
Στο πρώτο στάδιο, μελετάται η μεταβολή του φάσματος UV διαλύματος CT DNA, το οποίο είναι συνήθως Β-μορφής, στην περιοχή  $\lambda_{max} = 200-400$  nm με την προσθήκη σε αυξανόμενες ποσότητες της υπό μελέτη ένωσης. Εξετάζεται αν και με ποιο τρόπο η ένωση μπορεί να αλληλεπιδράσει με το DNA. Συγκεκριμένα, μελετάται η μεταβολή της απορρόφησης της ταινίας με  $\lambda_{max} = 258$  nm καθώς και οι πιθανές μετατοπίσεις του  $\lambda_{max}$  της ίδιας ταινίας. Οποιαδήποτε μεταβολή της απορρόφησης στο  $\lambda_{max}$  αποτελεί ένδειξη αλληλεπίδρασης. Ειδικότερα, η αύξηση της απορρόφησης (λόγω έκθεσης των πουρινών και πυριμιδινών του DNA), δηλαδή η υπερχρωμία, αποτελεί ένδειξη καταστροφής δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων, άρα και της δευτεροταγούς δομής του DNA, ενώ αντίθετα, η περίπτωση υποχρωμίας, αποτελεί ένδειξη παρεμβολής. Η μετατόπιση της θέσης του  $\lambda_{max}$  προς μεγαλύτερα μήκη κύματος, βαθυχρωμία ή ερυθρή μετατόπιση (red-shift), ή προς μικρότερα μήκη κύματος, υψιχρωμία ή κυανή μετατόπιση (blue-shift), δείχνει σταθεροποίηση της ελικοειδούς δομής του DNA ή αποσταθεροποίηση της έλικας του DNA, μετά την αλληλεπίδραση με την ένωση.

Στο δεύτερο στάδιο, τιτλοδοτείται διάλυμα της ένωσης με προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του CT DNA και καταγράφονται τα φάσματα καθώς και οι μεταβολές των απορροφήσεων και της τιμής του  $\lambda_{max}$  που παρατηρούνται. Οι μεταβολές που παρατηρούνται μπορούν να οδηγήσουν σε αξιόπιστα συμπεράσματα σχετικά με το είδος της αλληλεπίδρασης. Μετατόπιση της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος σε συνδυασμό με μείωση της απορρόφησης (υποχρωμία) υποδηλώνει παρεμβολή της ένωσης στο CT DNA και σταθεροποίηση. Η υπερχρωμία υποδηλώνει ότι η ένωση συναρμόζεται πιθανότατα στην εξωτερική επιφάνεια του DNA, στην κύρια ή τη δευτερεύουσα αύλακα.

Κατά την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το DNA με παρεμβολή παρατηρείται στα φάσματα UV-vis βαθυχρωμία (red-shift), η οποία οφείλεται στη μείωση της ενέργειας μετάπτωσης  $\pi \rightarrow \pi$  κατά τη σύζευξη του  $\pi$ -αρωματικού συστήματος του ligand με το  $\pi$ -αρωματικό

σύστημα των βάσεων του DNA. Όταν το τροχιακό π σύζευξης συμπληρώνεται με ηλεκτρόνια, περιορίζονται σημαντικά οι πιθανότητες μεταπτώσεων με αποτέλεσμα την εμφάνιση υποχρωμίας.

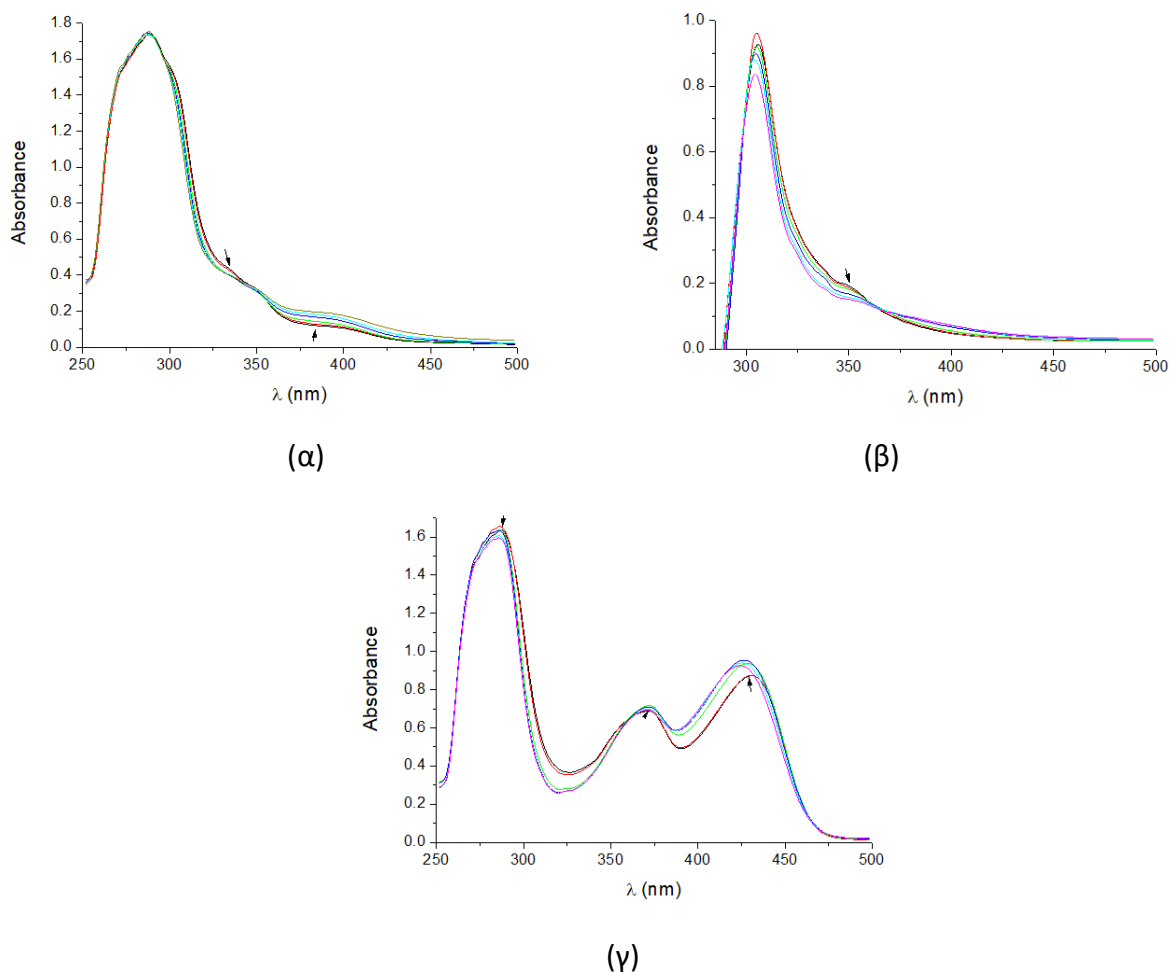
Τα φάσματα UV καταγράφηκαν για σταθερή συγκέντρωση CT DNA με προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων **1-8** σε διαφορετικούς λόγους  $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{DNA}]$ . Ενδεικτικά παρατίθενται τα φάσματα του DNA παρουσία των συμπλόκων



**Εικόνα 42.** Φάσμα UV του CT-DNA σε ρυθμιστικό διάλυμα παρουσία διαλύματος του συμπλόκου  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**).

Στο δεύτερο στάδιο της μελέτης των συμπλόκων με φασματοσκοπία UV-vis, πραγματοποιήθηκε προσθήκη αυξανόμενης ποσότητας διαλύματος DNA, γνωστής συγκέντρωσης σε διάλυμα των συμπλόκων. Τα φάσματα καταγράφηκαν καθώς και οι μεταβολές των απορροφήσεων, συμπεριλαμβανομένης και της τιμής  $\lambda_{\text{max}}$ . Οι παρατηρούμενες μεταβολές οδηγούν σε πιο αξιόπιστα συμπεράσματα σχετικά με το είδος της αλληλεπίδρασης. Μετατόπιση προς μεγαλύτερα μήκη κύματος σε συνδυασμό με υποχρωμία υποδηλώνει παρεμβολή της ένωσης στο DNA και σταθεροποίηση, ενώ η υπερχρωμία υποδηλώνει πως η ένωση συναρμόζεται πιθανότατα στην εξωτερική επιφάνεια του DNA ή/και μέσω δέσμησης στη μικρή ή μεγάλη αύλακά του (**Εικόνα 43**).





**Εικόνα 43.** Φάσμα UV-vis διαλύματος DMSO των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**) και (γ)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**7**) παρουσία CT DNA σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη διαλύματος CT DNA.

**Πίνακας 14.** Μελέτη της αλληλεπίδρασης των ενώσεων με CT DNA με φασματοσκοπία UV-vis. Δίνονται τα μέγιστα των ταινιών  $\lambda_{\text{max}}$  (σε nm), τα ποσοστά υπερχρωμίας ή υποχρωμίας ( $\Delta A, A_0$ , σε %) καθώς και η σταθερά σύνδεσης των συμπλόκων με το DNA  $K_b$ .

Ένωση	$\lambda_{\text{max}}$ (nm) ( $\Delta A, A_0$ , %)	$K_b$ ( $\text{M}^{-1}$ )
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>1</b> )	271(-0.69 <sup>α</sup> ), 360(+12.5(sh <sup>β</sup> ))	$2.16(\pm 0.16) \times 10^6$
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>2</b> )	287(-3.93 <sup>α</sup> ), 371(+3.77 <sup>α</sup> ), 429(+9.54 <sup>α</sup> )	$3.02(\pm 1.02) \times 10^5$
$[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>3</b> )	289(+2.19 <sup>α</sup> ), 379(-51.9(sh <sup>β</sup> ))	$3.73(\pm 0.62) \times 10^5$
$[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>4</b> )	302(-23.47 <sup>α</sup> ), 349 (-22.14(sh <sup>β</sup> )), 404(+53.52(sh <sup>β</sup> ))	$1.49(\pm 0.72) \times 10^5$

[Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>5</b> )	294(+6.58 <sup>α</sup> ), 393(+71.0(sh) <sup>β</sup> )	7.31(±1.02)×10 <sup>5</sup>
[Co(5-Me-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>6</b> )	334(-8.47(sh) <sup>β</sup> ), 384(+63.3(sh) <sup>β</sup> )	1.26(±0.8)×10 <sup>5</sup>
[Co(5-F-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>7</b> )	349(-21.65(sh) <sup>β</sup> )	1.57(±0.45)×10 <sup>5</sup>
[Co(3,5-diBr-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>8</b> )	346(-17.02(sh) <sup>β</sup> ), 424(+28.17(sh) <sup>β</sup> )	2.82(±1.08)×10 <sup>5</sup>

<sup>α</sup> το “+” δηλώνει υπερχρωμία, το “-” δηλώνει υποχρωμία

<sup>β</sup> “sh” = shoulder

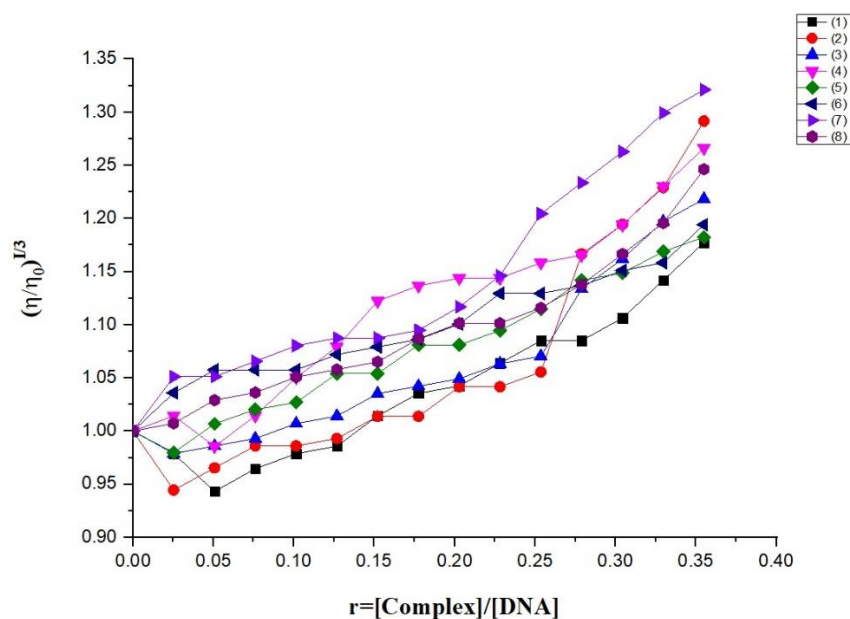
### Γ.1.3 Ιξωδομετρία

Το ιξώδες διαλύματος του CT DNA είναι ευαίσθητο στις αλλαγές του μήκους του DNA, γι’ αυτό η ιξωδομετρία αποτελεί μια αξιόπιστη μέθοδο για την εξακρίβωση του τρόπου σύνδεσης. Στην περίπτωση της κλασικής παρεμβολής, παρατηρείται αύξηση του μήκους της έλικας του DNA, καθώς τα ζεύγη βάσεων του DNA διαχωρίζονται για να εισέλθει η παρεμβαλλόμενη ένωση, και κατά συνέπεια αυξάνεται το ιξώδες. Αν η ένωση συνδέεται εξωτερικά με το DNA, είτε ηλεκτροστατικά είτε στην αύλακα, παρατηρείται μικρή κάμψη της έλικας του DNA, μειώνοντας ελάχιστα το μήκος της, με αποτέλεσμα το ιξώδες να μειώνεται ή να παραμένει αμετάβλητο. Τέλος, αν η ένωση προκαλεί ρήξη στην έλικα του DNA, προκύπτουν θραύσματα μικρότερου μήκους και το ιξώδες ελαττώνεται σημαντικά. Η σχέση μεταξύ του σχετικού ιξώδους του διαλύματος η/η<sub>0</sub> και του μήκους του DNA (L/L<sub>0</sub>) δίνεται από την εξίσωση

$$\frac{L}{L_0} = \left(\frac{\eta}{\eta_0}\right)^{1/3} \text{ (Εξίσωση 4)}$$

όπου το L<sub>0</sub>: μήκος απουσίας της ένωσης, η: το ιξώδες του DNA παρουσία της ένωσης και η<sub>0</sub> το ιξώδες του DNA μόνο του στο διάλυμα buffer [73, 74].

Οι μετρήσεις του ιξώδους πραγματοποιήθηκαν σε διάλυμα CT DNA με προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στην Εικόνα, όπου φαίνεται ότι κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων ενώσεων **1-8**, αυξάνεται το ιξώδες του CT DNA. Έτσι οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι η παρεμβολή είναι ο πιο πιθανός τρόπος αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με το CT DNA.

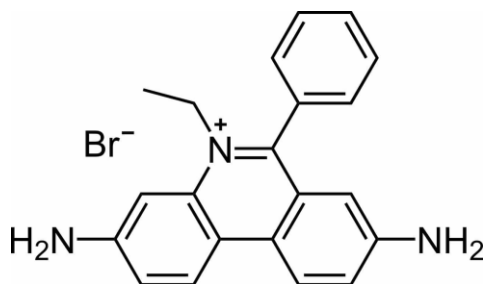


**Εικόνα 44.** Διάγραμμα του ιξώδους  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  σε συνάρτηση με το  $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{DNA}]$  παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων.

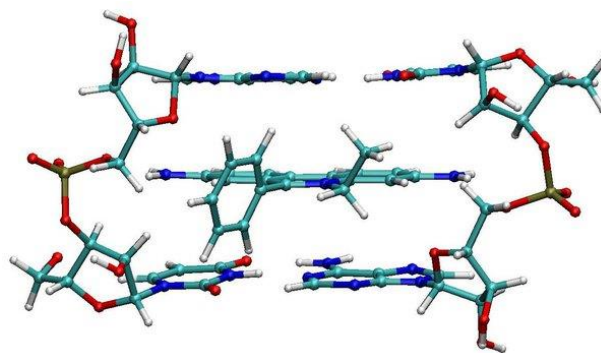
#### Γ.1.4 Μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης με το αιθίδιο βρωμίδιο

Για να επιβεβαιωθεί ο τρόπος σύνδεσης μιας ένωσης στο DNA, πραγματοποιείται μελέτη της ανταγωνιστικής της δράσης με μία ένωση, η οποία συνδέεται στο DNA με γνωστό τρόπο. Η ένωση που μελετάται θα πρέπει να παρουσιάζει παρόμοια σταθερά σύνδεσης στο DNA με την ένωση αναφοράς. Προκειμένου να επιβεβαιωθεί ο τρόπος σύνδεσης στο DNA μέσω παρεμβολής, χρησιμοποιείται τις περισσότερες φορές ως ένωση αναφοράς (φθορισμομετρικός αισθητήρας) το αιθίδιο βρωμίδιο.

Το αιθίδιο βρωμίδιο (EB = 3,8-diamino-5-ethyl-6-phenyl-phenanthridinium bromide ή ethidium bromide) (**Εικόνα 45**) είναι μία φαινανθριδίνη με φθορίζουσες ιδιότητες, που μπορεί να σχηματίζει ευδιάλυτα σύμπλοκα με νουκλεϊκά οξέα. Το EB συνδέεται με το DNA με παρεμβολή του επιπέδου δακτυλίου της φαινανθρίνης μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας του DNA.



**Εικόνα 45.** Αιθίδιο βρωμίδιο (EB).



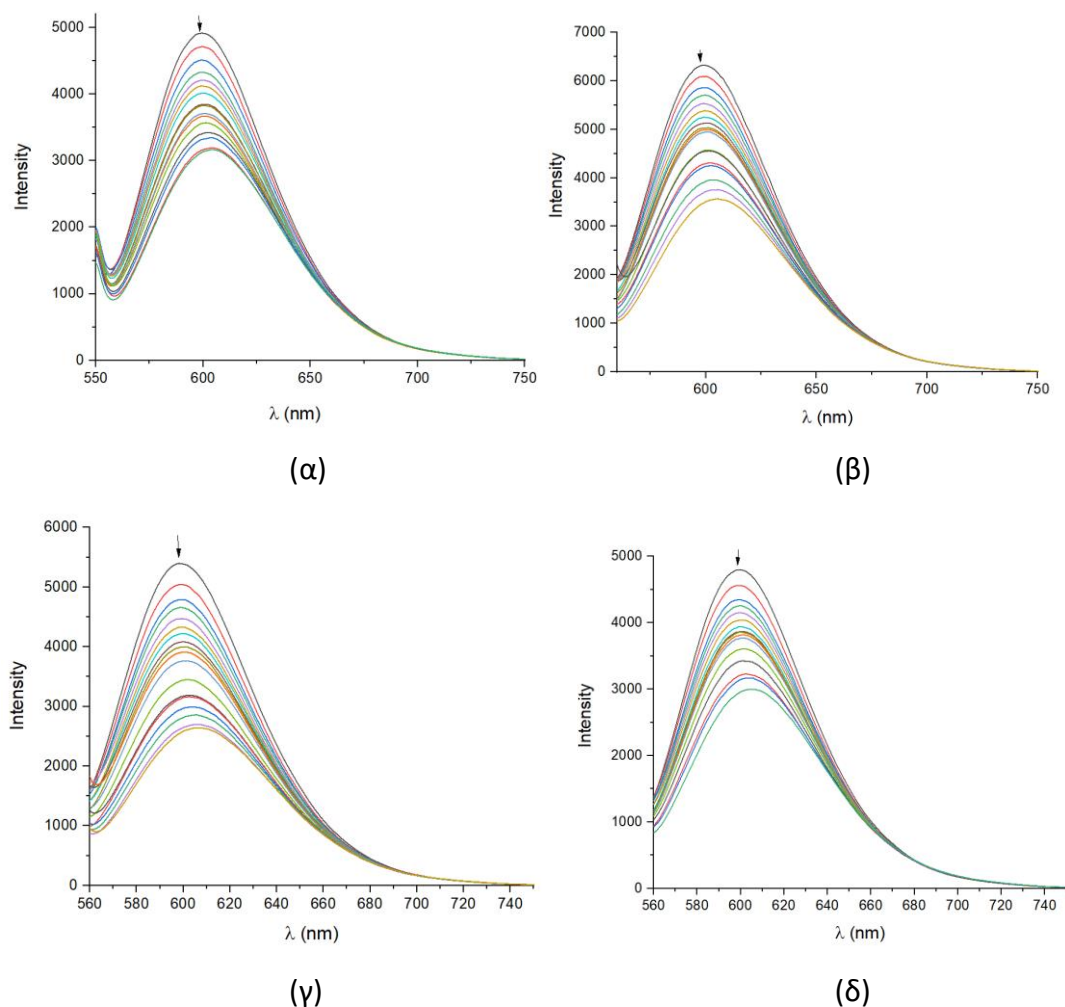
**Εικόνα 46.** Παρεμβολή του EB στη διπλή έλικα του DNA.

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

Όταν διάλυμα EB διεγερθεί με ακτινοβολία μήκους κύματος  $\lambda_{\max} = 540$  nm, τότε αυτό εμφανίζει ασθενή φθορισμό εκπομπής με  $\lambda_{\max} = 600$  nm. Όταν στο διάλυμα αυτό προστεθεί ποσότητα DNA εμφανίζεται έντονος φθορισμός εκπομπής με  $\lambda_{\max} = 592-594$  nm, που οφείλεται στη σύνδεση του EB με το DNA με παρεμβολή. Η ένταση της ταινίας εκπομπής στο συγκεκριμένο μήκος κύματος που αποδίδεται στο σύμπλοκο EB-DNA ελαττώνεται κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων ένωσης που έχει την ικανότητα να συνδέεται με το DNA πιο ισχυρά από ότι το EB. Αυτή η ελάττωση του φθορισμού του EB-DNA μπορεί να αποκαλύψει τον ανταγωνισμό μεταξύ της ένωσης και του EB στη σύνδεσή τους με το DNA [75].

Η ικανότητα των ενώσεων να αντικαθιστούν το EB μελετήθηκε με τη φασματοσκοπία φθορισμού. Η ένωση DNA-EB παρασκευάζεται με την προσθήκη 20  $\mu\text{M}$  EB και 26  $\mu\text{M}$  CT DNA σε διάλυμα buffer (150 mM NaCl και 15 mM κιτρικό νάτριο σε pH = 7.0). Η ικανότητα παρεμβολής των ενώσεων στο DNA μελετήθηκε προσθέτοντας σταδιακά συγκεκριμένη ποσότητα διαλύματος της ένωσης, στο διάλυμα που περιείχε το σύμπλοκο DNA-EB. Η επίδραση της προσθήκης της κάθε ένωσης στο διάλυμα του DNA-EB αξιολογείται με την παρακολούθηση των αλλαγών στο φάσμα φθορισμού EB-DNA. Εφόσον κατά την προσθήκη μίας ένωσης εμφανίζεται σημαντική ελάττωση του φθορισμού, θεωρείται ότι η ένωση αυτή έχει την ικανότητα να αντικαταστήσει το EB στο σύμπλοκό του με το DNA και πιθανώς ανταγωνίζεται με

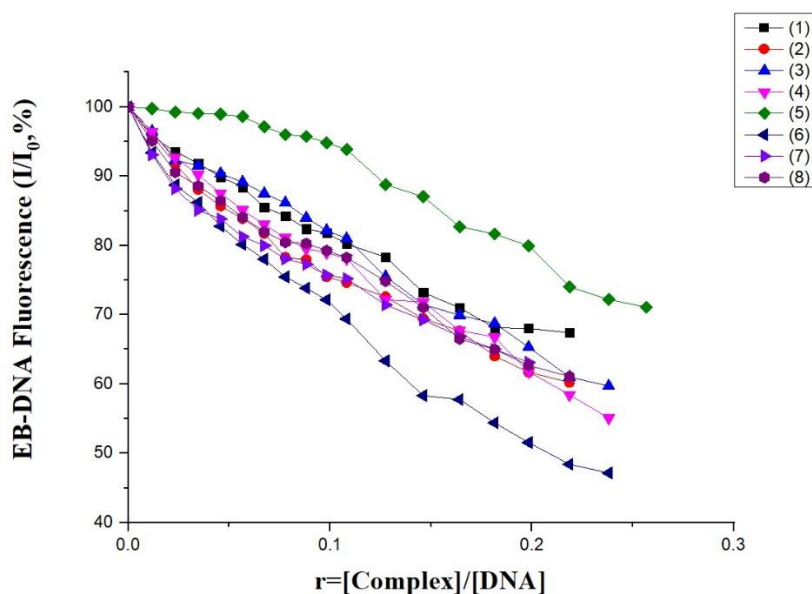
αυτό για την ίδια θέση σύνδεσης στο DNA. Μικρή ή αμελητέα ελάττωση φθορισμού υποδηλώνει μη ικανότητα αντικατάστασης του EB και έχει παρατηρηθεί κυρίως για ενώσεις που δε συμπεριφέρονται ως παρεμβολείς. Ενδεικτικά παρατίθενται στην **Εικόνα 47** φάσματα φθορισμού εκπομπής EB-DNA παρουσία ορισμένων συμπλόκων, όπου είναι εμφανής η ελάττωση αυτή.



**Εικόνα 47.** Φάσματα εκπομπής φθορισμού ( $\lambda_{\text{διέγ}} = 540 \text{ nm}$ ) του DNA-EB κατά την προσθήκη των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-nitro-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**), (γ)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**) και (δ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**). Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές κατά την προσθήκη των συμπλόκων.

Παρατηρείται ότι τα σύμπλοκα **1-8** έχουν αξιόλογη ικανότητα ελάττωσης του φθορισμού του EB-DNA (**Εικόνα 48**). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την ικανότητα αντικατάστασης του EB από τις ενώσεις στο σύμπλοκο EB-DNA. Λόγω της ικανότητας των συμπλόκων να αντικαταστήσουν το EB, ο πιθανότερος τρόπος αλληλεπίδρασης με το DNA θεωρείται η

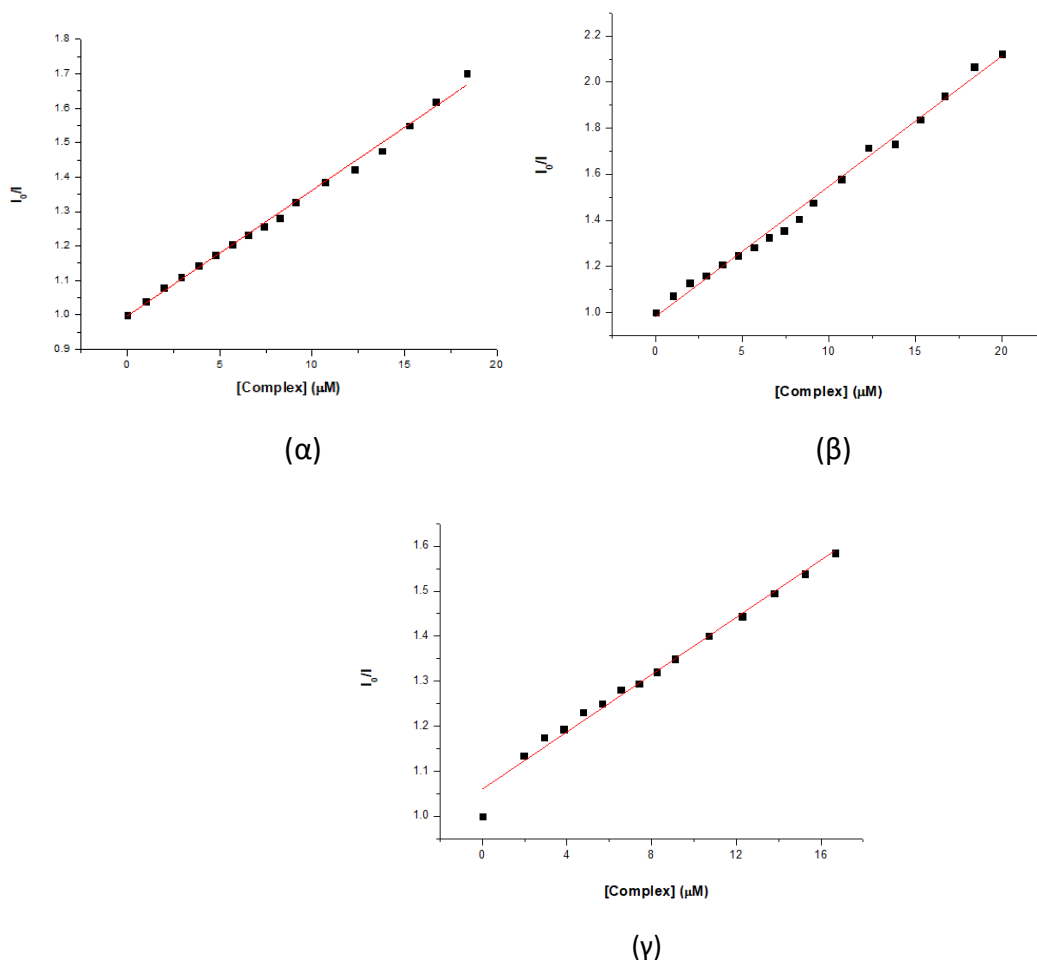
παρεμβολή. Το σύμπλοκο που έχει μεγαλύτερη ικανότητα ελάττωσης φθορισμού είναι το **6**, ενώ το σύμπλοκο που εμφανίζει τη μικρότερη ικανότητα αντικατάστασης είναι το **5** (**Εικόνα 48**).



**Εικόνα 48.** Διάγραμμα ποσοστού έντασης φθορισμού ( $I/I_0$ , %) σε  $\lambda = 592$  nm σε συνάρτηση με το λόγο  $r$  ( $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{DNA}]$ ).

Από τα παραπάνω (**Εικόνα 47, Εικόνα 48**), είναι εμφανές ότι για όλες τις σύμπλοκες ενώσεις κατά την προσθήκη τους σε διάλυμα EB-DNA παρατηρείται ελάττωση του φθορισμού η οποία ανέρχεται έως 52.9% του αρχικού φθορισμού (**Εικόνα 48**). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την ικανότητα των ενώσεων να αντικαθιστούν το EB.

Ο υπολογισμός της σταθεράς Stern-Volmer ( $K_{SV}$ ) είναι απαραίτητος για την εκτίμηση της ικανότητας μείωσης του φθορισμού που προκαλείται από την κάθε ένωση και δίνεται από την **Εξίσωση 2**. Η σταθερά  $K_{SV}$  υπολογίζεται από την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων στα διαγράμματα  $I/I_0$  σε συνάρτηση της συγκέντρωσης της ένωσης. Το μέγεθος της  $K_{SV}$  σχετίζεται με την ικανότητα σύνδεσης της ένωσης στο CT-DNA. Οι τιμές της  $K_{SV}$  υπολογίστηκαν από τα αντίστοιχα διαγράμματα Stern-Volmer (**Εικόνα 49**) και δίνονται στον **Πίνακα 15**.



**Εικόνα 49.** Διαγράμματα Stern-Volmer της ελάττωσης φθορισμού του συστήματος EB-DNA για τα σύμπλοκα (α)  $[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**) και (γ)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**7**).

**Πίνακας 15.** Τιμές σταθερών  $K_{SV}$  και  $k_q$  και ποσοστό ελάττωσης φθορισμού ( $\Delta I/I_0$ , %) των συμπλόκων **1-8**.

Ένωση	$\Delta I/I_0$ (%)	$K_{SV}$ ( $M^{-1}$ )	$K_q$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>1</b> )	32.7	$2.80(\pm 0.06) \times 10^4$	$1.22(\pm 0.03) \times 10^{12}$
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>2</b> )	39.8	$3.50(\pm 0.07) \times 10^4$	$1.52(\pm 0.03) \times 10^{12}$
$[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>3</b> )	40.3	$3.37(\pm 0.10) \times 10^4$	$1.47(\pm 0.05) \times 10^{12}$
$[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>4</b> )	44.9	$3.65(\pm 0.06) \times 10^4$	$1.59(\pm 0.03) \times 10^{12}$
$[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>5</b> )	27.4	$1.60(\pm 0.10) \times 10^4$	$6.94(\pm 0.41) \times 10^{11}$
$[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>6</b> )	52.9	$5.66(\pm 0.11) \times 10^4$	$2.46(\pm 0.05) \times 10^{12}$
$[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>7</b> )	36.9	$3.18(\pm 0.10) \times 10^4$	$1.38(\pm 0.05) \times 10^{12}$
$[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>8</b> )	38.2	$3.37(\pm 0.07) \times 10^4$	$1.46(\pm 0.03) \times 10^{12}$

## Γ.2 Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με τις αλβουμίνες ορού αίματος

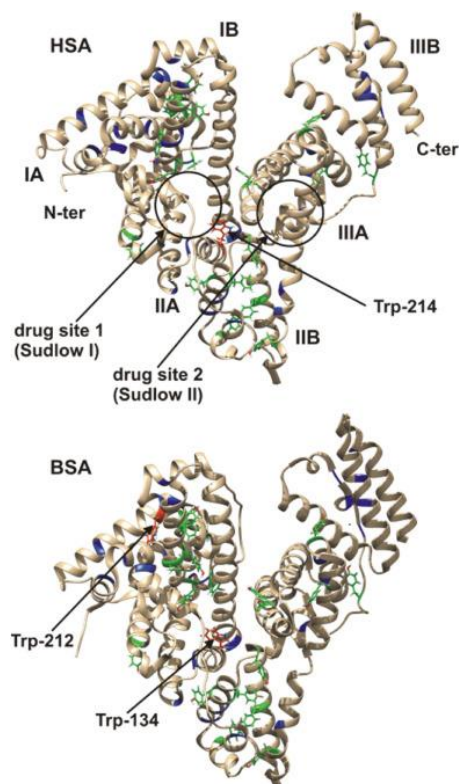
### Γ.2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Η αλβουμίνη ορού, ή αλλιώς λευκωματίνη, είναι μία υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη που βρίσκεται στο πλάσμα του αίματος των θηλαστικών, παράγεται στο συκώτι και εξέρχεται ως μια μη-γλυκοσυλιωμένη πρωτεΐνη. Η αλβουμίνη είναι η σημαντικότερη πρωτεΐνη του κυκλοφορικού συστήματος, καθώς αποτελεί το 60% των συνολικών πρωτεϊνών του πλάσματος, ενώ το υπόλοιπο 40% αποτελείται από τις σφαιρίνες. Είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ωσμωτικής πίεσης, που απαιτείται για τη διατήρηση του φυσιολογικού όγκου του αίματος και τη φυσιολογική περιεκτικότητα σε νερό στο μεσοκυττάριο υγρό και στους ιστούς. Σχετίζεται με τη μεταφορά φαρμάκων και οργανικών ουσιών σε όλο τον οργανισμό και η αλληλεπίδρασή της με τα φάρμακα μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση ή απώλεια των αρχικών βιολογικών δραστηριοτήτων τους.

Η βοοειδής αλβουμίνη ορού (Bovine Serum Albumin, BSA) είναι η πιο εκτενώς μελετημένη πρωτεΐνη, εξαιτίας της δομικής ομοιότητας της με την ανθρώπινη αλβουμίνη ορού (Human Serum Albumin, HSA) [76]. Τα διαλύματα των BSA και HSA εμφανίζουν έντονο φθορισμό εκπομπής στα  $\lambda_{em,max} = 342$  nm και 350 nm, αντίστοιχα, όταν διεγείρονται στα 295 nm, εξαιτίας των τρυπτοφανών που διαθέτουν [77]. Η BSA αποτελείται από τρεις ομόλογους τομείς (I, II, III) και 607 αμινοξέα, δύο μόνο από τα οποία είναι τρυπτοφάνες, η Trp-134 και η Trp-212, που είναι ενσωματωμένες στους υποτομείς IB και IIA, αντίστοιχα. Η HSA αποτελείται, επίσης, από τρεις ομόλογους τομείς (I, II και III) και 585 αμινοξέα, ενώ διαθέτει μία μόνο τρυπτοφάνη στον υποτομέα IIA [78, 79].

Η BSA και η HSA μπορούν να δεσμεύσουν αντιστρεπτά ένα μεγάλο αριθμό ενδογενών και εξωγενών ενώσεων. Η ικανότητα δέσμευσης αρωματικών και ετεροκυκλικών ενώσεων στις αλβουμίνες εξαρτάται, κυρίως, από την ύπαρξη δύο περιοχών σύνδεσης, της θέσης Sudlow I (ή θέση βενζοδιαζεπίνης) και της θέσης Sudlow II (ή θέση βαρφαρίνης), οι οποίες εντοπίζονται μέσα σε ειδικές κοιλότητες στις υποπεριοχές IIA και IIIA, αντίστοιχα.





**Εικόνα 50.** Δομή και δομική ομοιότητα των HSA και BSA.

## Γ.2.2 Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με τις αλβουμίνες του ορού του αίματος

Η πιο αποτελεσματική μέθοδος για τη μελέτη σύνδεσης των φαρμάκων σε αλβουμίνες είναι η φασματοσκοπία φθορισμού, λόγω της ισχυρής ταινίας εκπομπής φθορισμού που εμφανίζουν στα 342-343 nm, εξαιτίας της παρουσίας των τρυπτοφανών. Χρησιμοποιήθηκαν BSA (3μM) και HSA (3μM) σε ρυθμιστικό διάλυμα (κιτρικό νάτριο 15 mM και χλωριούχο νάτριο 150 mM σε pH = 7.0) και μελετήθηκε η ελάττωση της εκπομπής φθορισμού στα 343 nm για το διάλυμα BSA και στα 351 nm για το διάλυμα HSA, με τη χρήση των συμπλόκων ενώσεων ως αποσβέστες σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις. Η ελάττωση της έντασης φθορισμού της BSA και της HSA αποτελεί ένδειξη της αλληλεπίδρασης της ένωσης με την αντίστοιχη αλβουμίνη. Τα φάσματα φθορισμού εκπομπής καταγράφηκαν στα 300-500 nm με μήκος κύματος διέγερσης στα 295 nm. Τα φάσματα εκπομπής των ελεύθερων συμπλόκων καταγράφηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Οι ποσοτικές μελέτες των φασμάτων φθορισμού έγιναν μετά από διόρθωση αφαιρώντας το φάσμα του συμπλόκων. Η επίδραση του φαινομένου εσωτερικού φίλτρου στις μετρήσεις αξιολογήθηκε με την παρακάτω εξίσωση

$$I_{\text{corr}} = I_{\text{meas}} \times 10^{\frac{\epsilon(\lambda_{\text{exc}})cd}{2}} \times 10^{\frac{\epsilon(\lambda_{\text{em}})cd}{2}} \quad (\text{Εξίσωση 5})$$

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

Οι εξισώσεις Stern-Volmer (**Εξίσωση 5**) και Scatchard (**Εξίσωση 6**) και τα αντίστοιχα γραφήματα χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό να υπολογιστεί η σταθερά  $K_{SV}$  (σε  $M^{-1}$ ), η σταθερά απόσβεσης  $k_q$  (σε  $M^{-1}s^{-1}$ ), η σταθερά πρόσδεσης στην αλβουμίνη  $K$  (σε  $M^{-1}$ ) και ο αριθμός θέσεων σύνδεσης ανά αλβουμίνη  $n$ . Με βάση την εξίσωση Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q] \quad \text{(Εξίσωση 6)}$$

όπου  $I_0$  = ο αρχικός φθορισμός της αλβουμίνης,  $I$  = ο φθορισμός της αλβουμίνης μετά την προσθήκη της ένωσης,  $k_q$  = η σταθερά απόσβεσης των αλβουμινών,  $K_{SV}$  = η σταθερά Stern-Volmer,  $\tau_0$  = ο μέσος χρόνος ζωής φθορισμού των αλβουμινών,  $[Q]$  = η συγκέντρωση της ένωσης,  $K_{SV} = k_q \tau_0$ . Λαμβάνοντας  $\tau_0 = 10^{-8}s$  και αφού υπολογιστεί η σταθερά Stern-Volmer από την κλίση του διαγράμματος  $I_0/I$  προς  $[Q]$  μπορεί να υπολογιστεί η σταθερά απόσβεσης  $k_q$ . Με βάση την εξίσωση Scatchard:

$$\frac{\Delta I/I_0}{[Q]} = nK - K \frac{\Delta I}{I_0} \quad \text{(Εξίσωση 7)}$$

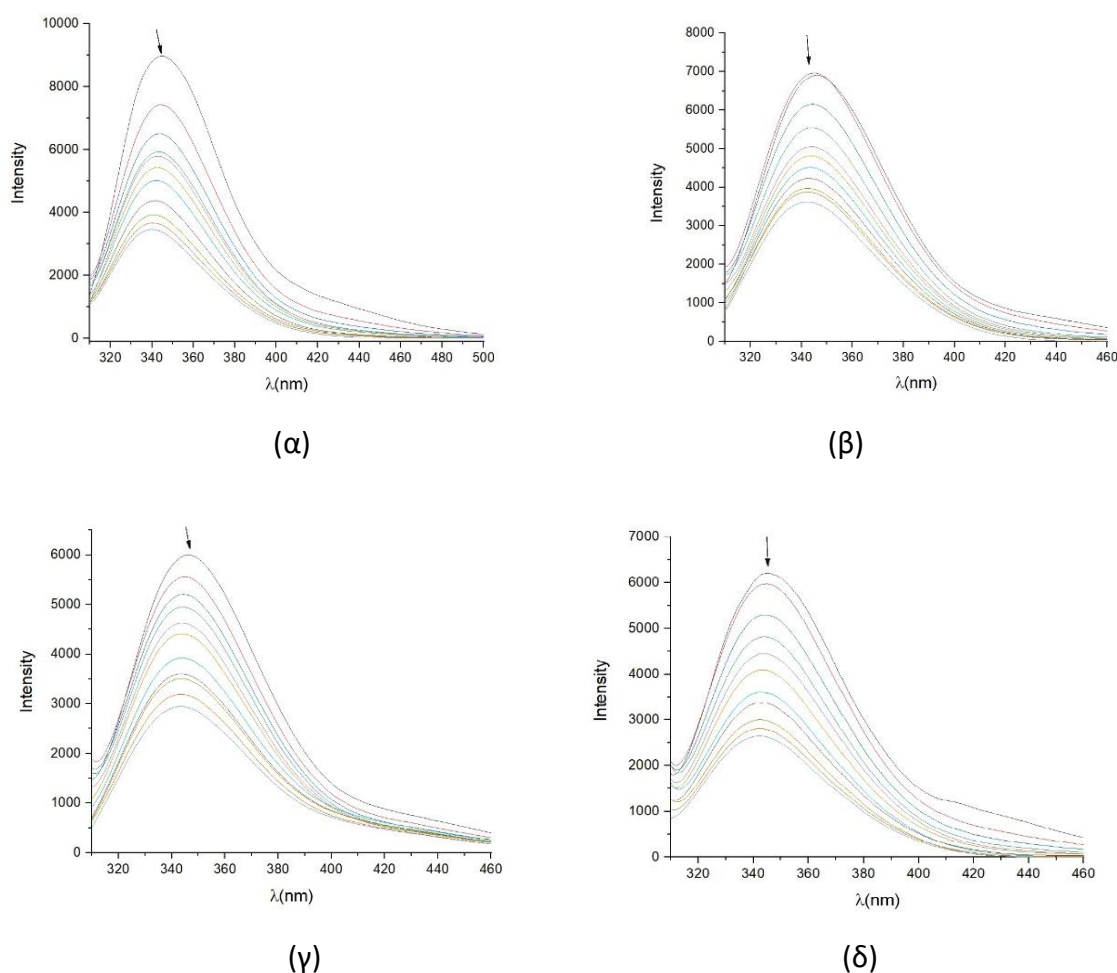
όπου  $K$  είναι η σταθερά σύνδεσης της αλβουμίνης με την ένωση, η οποία μπορεί να υπολογιστεί από την κλίση της ευθείας στο διάγραμμα  $\frac{\Delta I/I_0}{[Q]}$  προς  $\frac{\Delta I}{I_0}$  και  $n$  ο αριθμός των θέσεων σύνδεσης ανά αλβουμίνη που υπολογίζεται από την τεταγμένη επί την αρχή προς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

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης των αλβουμινών με τα σύμπλοκα **1-8** έγινε με πειράματα μελέτης της ελάττωσης της έντασης εκπομπής φθορισμού, χρησιμοποιώντας BSA (3μM) και HSA (3μM) σε ρυθμιστικό διάλυμα (κιτρικό νάτριο 15 mM και χλωριούχο νάτριο 150 mM σε pH=7.0). Τα διαλύματα HSA και BSA παρουσιάζουν έντονη εκπομπή φθορισμού στα  $\lambda_{em,max} = 352$  nm και 343 nm, αντίστοιχα, λόγω της παρουσίας των τρυπτοφανών, όταν διεγείρονται στα 295 nm. Τα φάσματα εκπομπής φθορισμού λήφθηκαν στην περιοχή 300-500 nm, και οι υπολογισμοί για τις ενώσεις έγιναν με κατάλληλη διόρθωση των φασμάτων τους, αφαιρώντας τα φάσματα εκπομπής των ενώσεων από τα φάσματα της αλβουμίνης. Οι πιθανές αλλαγές στα φάσματα του φθορισμού των SA οφείλονται στην αλλαγή της πρωτεϊνικής διαμόρφωσης, στην ένωση των υπομονάδων, στη σύνδεση των υποστρωμάτων ή ακόμα και στη μετουσίωση. Συγκεκριμένα, όταν κατά την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων μιας ένωσης στα διαλύματα αυτά,

παρατηρείται ελάττωση της έντασης φθορισμού της BSA και της HSA, αυτό αποτελεί ένδειξη της αλληλεπίδρασης της ένωσης με την αλβουμίνη.

### Γ.2.3 Αλληλεπίδραση με BSA

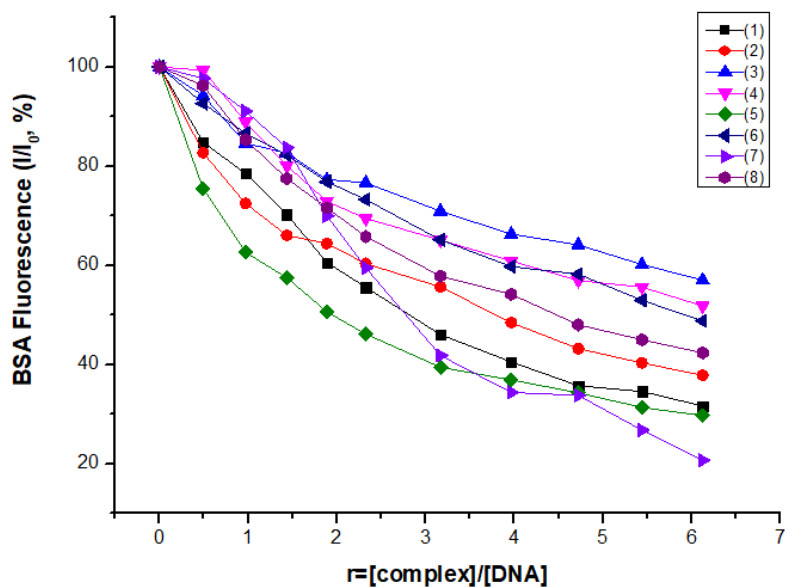
Παρατίθενται ενδεικτικά μερικά από τα φάσματα φθορισμού εκπομπής BSA παρουσία των συμπλόκων (**Εικόνα 51**). Παρατηρείται σημαντική μείωση της έντασης φθορισμού στα  $\lambda_{\max} = 344$  nm, με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του εκάστοτε συμπλόκου, ένδειξη ότι λαμβάνει χώρα η αλληλεπίδρασή της με την αλβουμίνη.



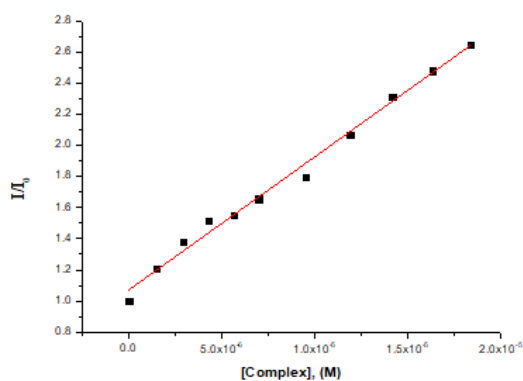
**Εικόνα 51.** Φάσμα φθορισμού εκπομπής της BSA ( $\lambda_{\text{ διεγ }} = 295$  nm) παρουσία των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**), (γ)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**) και (δ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**). Το βέλος υποδεικνύει τη μεταβολή της έντασης εκπομπής φθορισμού.

Όλα τα σύμπλοκα προκάλεσαν σημαντική ελάττωση φθορισμού εκπομπής κατά την προσθήκη τους στην BSA. Η ελάττωση αυτή μπορεί να οφείλεται στην πιθανή αλλαγή της δευτεροταγούς δομής της BSA. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο (**7**) έχει το μεγαλύτερο ποσοστό

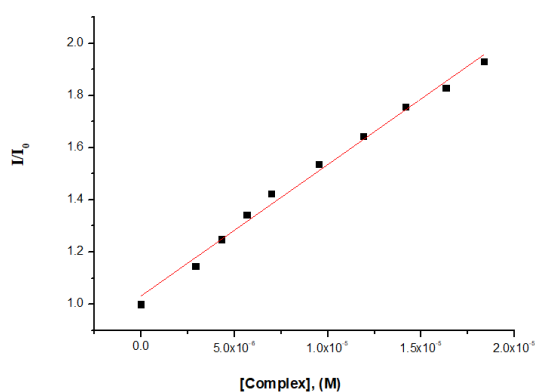
μείωσης έντασης εκπομπής της BSA, μεταξύ των ενώσεων. Από τις εξισώσεις και τα διαγράμματα Stern - Volmer και Scatchard (Εξισώσεις 6, 7), υπολογίστηκαν με τη βοήθεια των αντίστοιχων διαγραμμάτων (Εικόνα 52 και Εικόνα 53) οι σταθερές  $K_{SV}$ ,  $k_q$  και  $K$ . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 16.



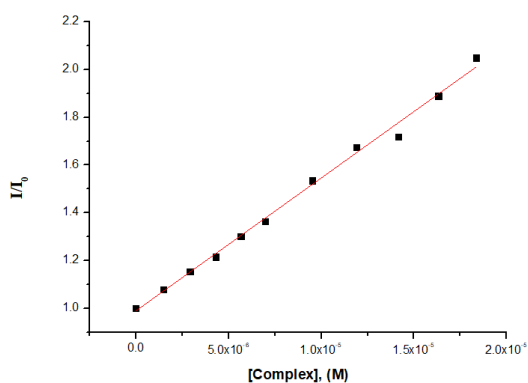
**Εικόνα 54.** Μεταβολή του ποσοστού φθορισμού εκπομπής της BSA ( $I/I_0$ , %) στα  $\lambda = 342$  nm σε συνάρτηση με το λόγο  $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{BSA}]$ .



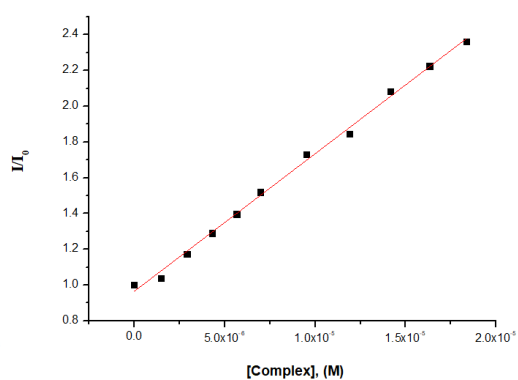
(α)



(β)

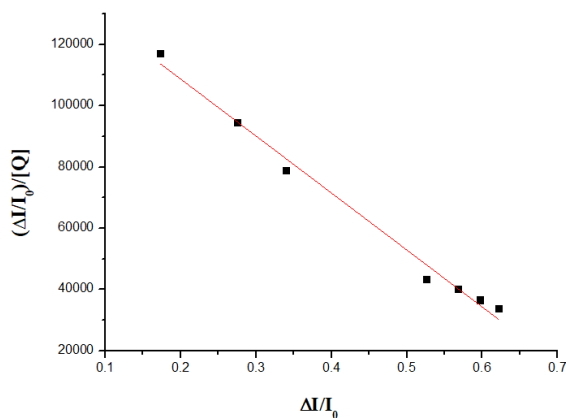


(γ)

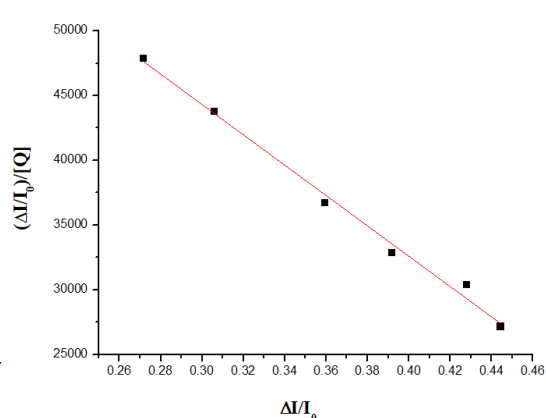


(δ)

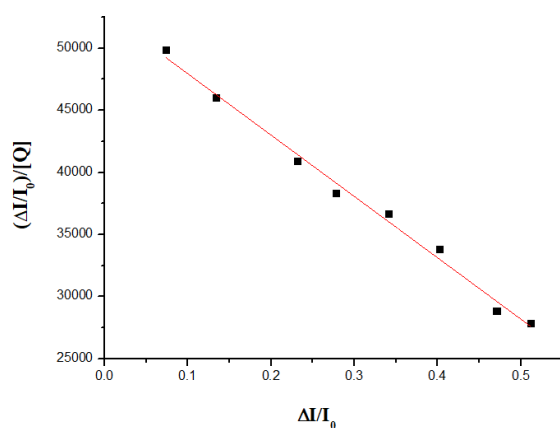
**Εικόνα 52.** Διαγράμματα Stern-Volmer των συμπλόκων (α) [Co(5-NO<sub>2</sub>-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**2**), (β) [Co(5-Cl-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**4**), (γ) [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**6**) και (δ) [Co(3,5-diBr-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**8**) για την BSA.



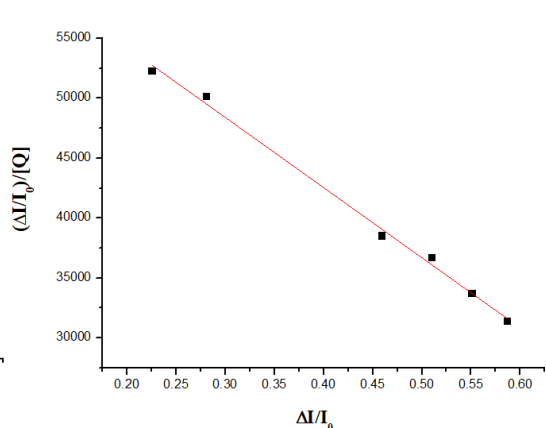
(α)



(β)



(γ)



(δ)

**Εικόνα 53.** Διαγράμματα Scatchard των συμπλόκων (α) [Co(5-NO<sub>2</sub>-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**2**), (β) [Co(5-Cl-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**4**), (γ) [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**6**) και (δ) [Co(3,5-diBr-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) (**8**) για την BSA.

**Πίνακας 16.** Οι σταθερές και οι παράμετροι για την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με την BSA.

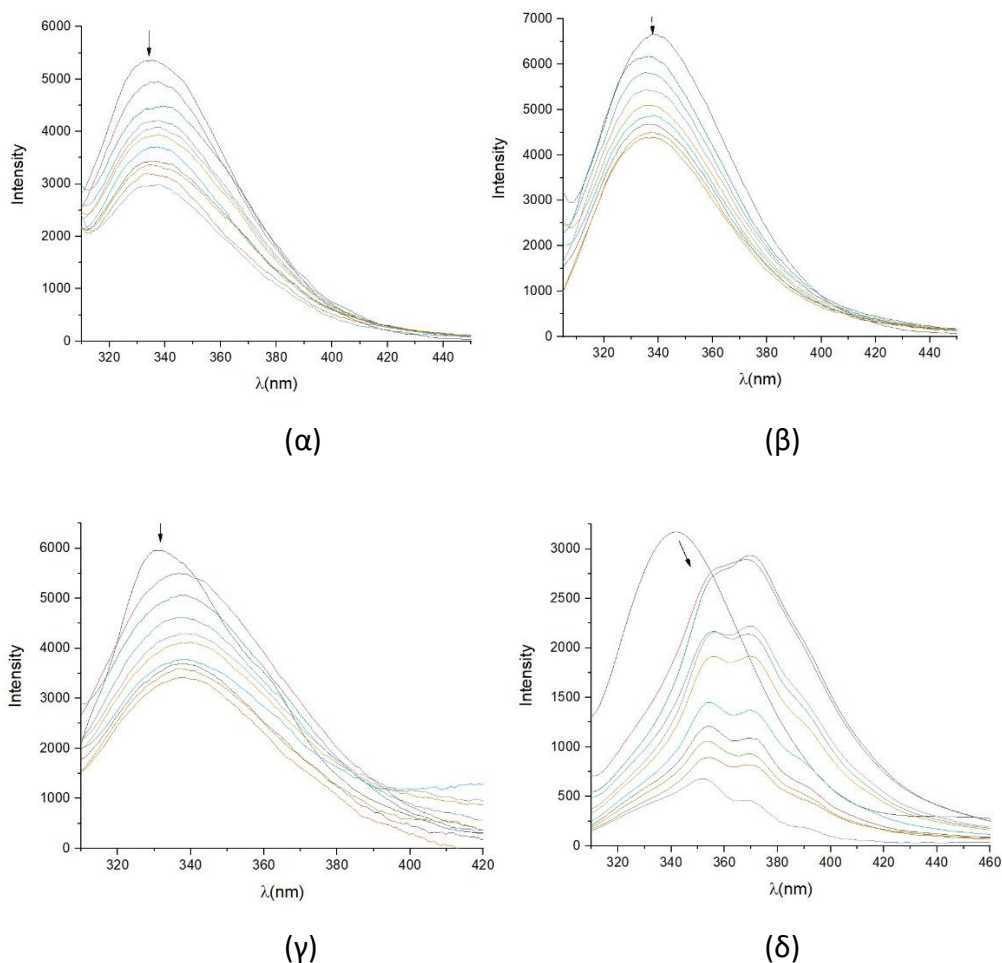
Ένωση	$K_{SV} (M^{-1})$	$K_q (M^{-1} s^{-1})$	$K (M^{-1})$	$n$
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(1)</b>	12.19(±0.3)×10 <sup>4</sup>	1.22(±0.03)×10 <sup>13</sup>	11.83(±0.48)×10 <sup>4</sup>	1.00
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(2)</b>	8.57(±0.26)×10 <sup>4</sup>	8.57(±0.26)×10 <sup>12</sup>	18.60(±0.82)×10 <sup>4</sup>	0.78
[Co(5-F-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(3)</b>	3.91(±0.13)×10 <sup>4</sup>	3.91(±0.13)×10 <sup>12</sup>	6.49(±0.24)×10 <sup>4</sup>	0.77
[Co(5-Cl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(4)</b>	5.04(±0.16)×10 <sup>4</sup>	5.04(±0.16)×10 <sup>12</sup>	11.72(±0.48)×10 <sup>4</sup>	0.68
[Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(5)</b>	12.42(±0.49)×10 <sup>4</sup>	1.24(±0.05)×10 <sup>13</sup>	28.09(±0.82)×10 <sup>4</sup>	0.83
[Co(5-Me-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(6)</b>	5.56(±0.13)×10 <sup>4</sup>	5.56(±0.14)×10 <sup>12</sup>	4.94(±0.17)×10 <sup>4</sup>	1.07
[Co(5-F-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(7)</b>	2.62(±0.1)×10 <sup>5</sup>	2.62(±0.1)×10 <sup>13</sup>	9.15(±1.32)×10 <sup>4</sup>	1.25
[Co(3,5-diBr-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) <b>(8)</b>	7.70(±0.14)×10 <sup>4</sup>	7.70(±0.14)×10 <sup>12</sup>	5.86(±0.18)×10 <sup>4</sup>	1.13

Η σταθερά απόσβεσης ( $k_q$ ) αφορά την αλληλεπίδραση των ενώσεων με τις αλβουμίνες και υπολογίστηκε από τα διαγράμματα Stern-Volmer μέσω της εξίσωσης Stern-Volmer (**Πίνακας 17**). Η τιμή  $k_q$  που υπολογίστηκε είναι υψηλότερη από  $10^{10} M^{-1}s^{-1}$  υποδηλώνοντας την ύπαρξη στατικού μηχανισμού απόσβεσης. Οι σταθερές  $k_q$  των συμπλόκων **1-8** δείχνουν σημαντική ικανότητα απόσβεσης με το σύμπλοκο **5** να εμφανίζει την υψηλότερη τιμή  $k_q$  για την BSA.

Οι σταθερές σύνδεσης ( $K$ ) των συμπλόκων **1-8** καθορίστηκαν από τα διαγράμματα Scatchard χρησιμοποιώντας την εξίσωση Scatchard. Η σταθερά  $K$  των συμπλόκων **1-8** είναι σχετικά υψηλή και δείχνει τη σύνδεση των ενώσεων στις αλβουμίνες με σκοπό τη μεταφορά τους στους πιθανούς βιολογικούς στόχους. Τη μεγαλύτερη τιμή της σταθεράς σύνδεσης για την BSA παρουσιάζει το σύμπλοκο **5**.

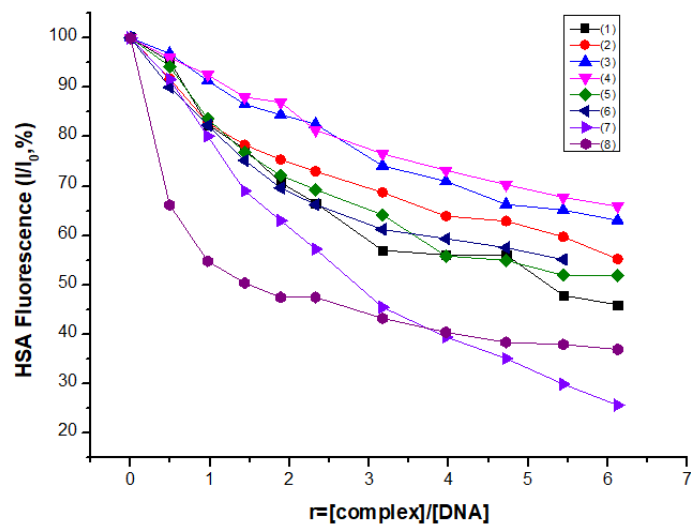
#### Γ.2.4 Αλληλεπίδραση με HSA

Παρατίθενται ενδεικτικά μερικά από τα φάσματα φθορισμού εκπομπής HSA παρουσία των συμπλόκων (**Εικόνα 54**). Παρατηρείται σημαντική μείωση στα  $\lambda_{max} = 353$  nm με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων της ένωσης αυτής, ένδειξη ότι λαμβάνει χώρα η αλληλεπίδρασή της με την αλβουμίνη.

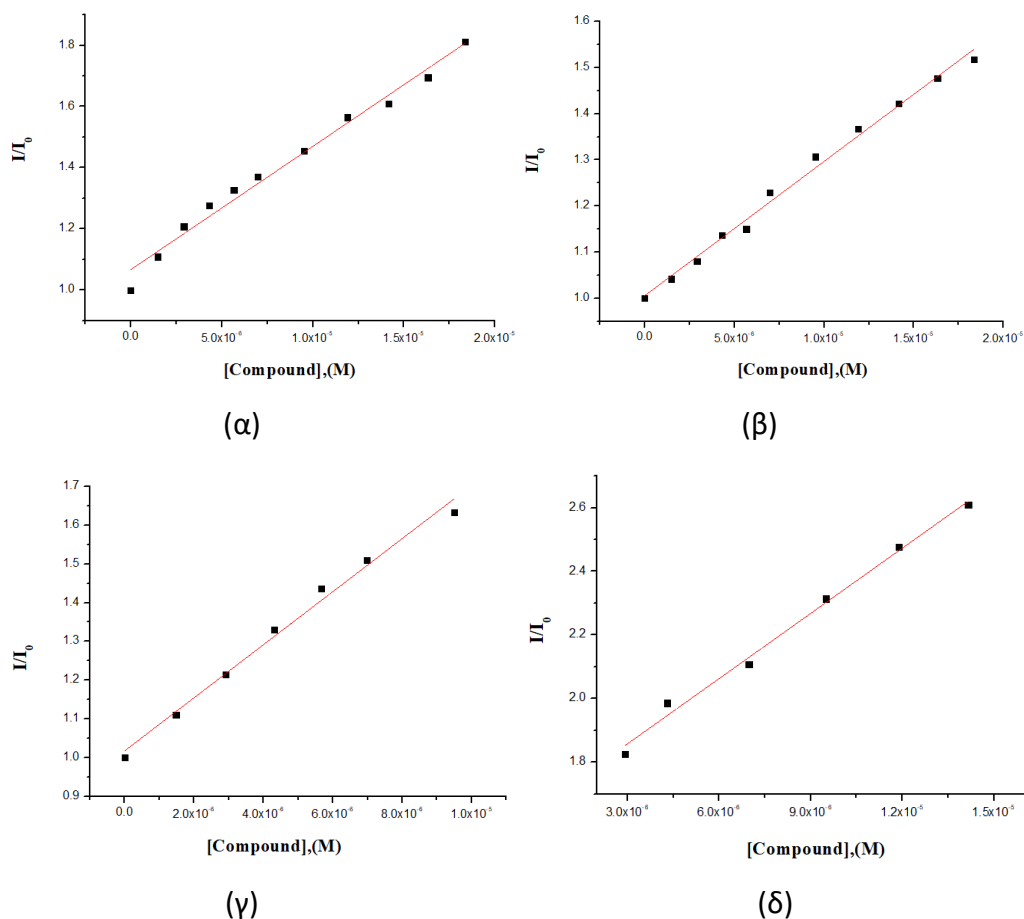


**Εικόνα 54.** Φάσμα φθορισμού εκπομπής της HSA ( $\lambda_{\text{διεγ}} = 295 \text{ nm}$ ) παρουσία των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**), (γ)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**) και (δ)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**7**). Το βέλος υποδεικνύει τη μεταβολή της έντασης εκπομπής φθορισμού.

Όλα τα σύμπλοκα παρουσίασαν σημαντική ελάττωση φθορισμού εκπομπής κατά την προσθήκη τους στην HSA. Η ελάττωση αυτή μπορεί να οφείλεται στην πιθανή αλλαγή της δευτεροταγούς δομής της HSA. Συγκεκριμένα, το σύμπλοκο **7** έχει το μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης έντασης εκπομπής της HSA, μεταξύ των ενώσεων. Από τις εξισώσεις και τα διαγράμματα Stern-Volmer και Scatchard (**Εξισώσεις 6, 7**), υπολογίστηκαν με τη βοήθεια των αντίστοιχων διαγραμμάτων (**Εικόνες 56 και 57**) οι σταθερές  $K_{\text{SV}}$ ,  $k_q$  και  $K$ . Τα αποτελέσματα των διαγραμμάτων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 17**.

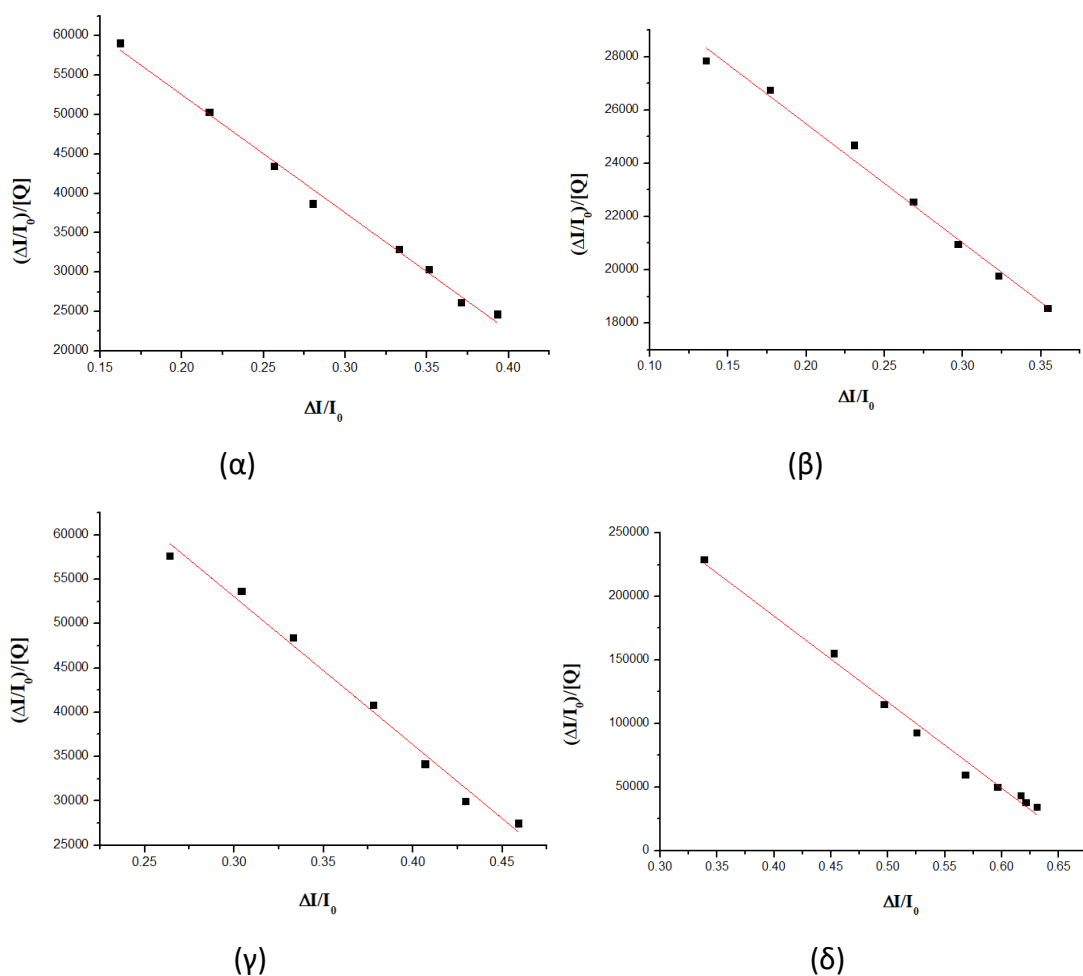


**Εικόνα 55.** Μεταβολή του ποσοστού φθορισμού εκπομπής της HSA ( $I/I_0$ , %) στα  $\lambda = 353$  nm σε συνάρτηση με το λόγο  $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{HSA}]$ .



**Εικόνα 56.** Διαγράμματα Stern-Volmer των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**), (γ)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**) και (δ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**) για την HSA.





**Εικόνα 57.** Διαγράμματα Scatchard των (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**4**), (γ)  $[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**6**) και (δ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**) για την HSA.

**Πίνακας 17.** Οι σταθερές και οι παράμετροι για την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με την HSA.

Ένωση	$K_{\text{SV}} (\text{M}^{-1})$	$K_d (\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})$	$K (\text{M}^{-1})$	n
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>1</b> )	$6.58(\pm 0.21) \times 10^4$	$6.58(\pm 0.21) \times 10^{12}$	$8.38(\pm 0.31) \times 10^4$	0.90
$[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>2</b> )	$4.03(\pm 0.17) \times 10^4$	$4.03(\pm 0.17) \times 10^{12}$	$14.99(\pm 0.49) \times 10^4$	0.55
$[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>3</b> )	$3.34(\pm 0.08) \times 10^4$	$3.34(\pm 0.08) \times 10^{12}$	$4.26(\pm 0.11) \times 10^4$	0.87
$[\text{Co}(5\text{-Cl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>4</b> )	$2.91(\pm 0.08) \times 10^4$	$2.91(\pm 0.08) \times 10^{12}$	$4.46(\pm 0.2) \times 10^4$	0.77
$[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>5</b> )	$5.71(\pm 0.19) \times 10^4$	$5.71(\pm 0.19) \times 10^{12}$	$9.62(\pm 0.41) \times 10^4$	0.77
$[\text{Co}(5\text{-Me-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>6</b> )	$6.85(\pm 0.31) \times 10^4$	$6.85(\pm 0.31) \times 10^{12}$	$1.67(\pm 0.08) \times 10^5$	0.62
$[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>7</b> )	$1.55(\pm 0.07) \times 10^5$	$1.55(\pm 0.07) \times 10^{13}$	$3.81(\pm 1.08) \times 10^4$	1.94
$[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$ ( <b>8</b> )	$6.83(\pm 0.28) \times 10^4$	$6.83(\pm 0.28) \times 10^{12}$	$6.77(\pm 0.24) \times 10^5$	0.67

Η σταθερά απόσβεσης ( $k_q$ ) αφορά την αλληλεπίδραση των ενώσεων με τις αλβουμίνες και υπολογίστηκε από τα διαγράμματα Stern-Volmer μέσω της εξίσωσης Stern-Volmer (**Πίνακας 18**). Η τιμή  $k_q$  που υπολογίστηκε είναι αρκετά μεγαλύτερη από  $10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  υποδηλώνοντας την ύπαρξη στατικού μηχανισμού απόσβεσης. Οι σταθερές  $k_q$  των συμπλόκων **1-8** δείχνουν σημαντική ικανότητα απόσβεσης με το σύμπλοκο **6** να εμφανίζει την υψηλότερη τιμή  $k_q$  για την HSA.

Οι σταθερές σύνδεσης ( $K$ ) των συμπλόκων **1-8** καθορίστηκαν από τα διαγράμματα Scatchard χρησιμοποιώντας την εξίσωση Scatchard. Η σταθερά  $K$  των συμπλόκων **1-8** είναι σχετικά υψηλή και δείχνει τη σύνδεση των ενώσεων στις αλβουμίνες με σκοπό τη μεταφορά τους στους πιθανούς βιολογικούς στόχους. Τη μεγαλύτερη τιμή της σταθεράς σύνδεσης για την HSA παρουσιάζει το σύμπλοκο **8**.

### Γ.3 Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων

Αντιοξειδωτικές ουσίες ονομάζονται ποικίλα μόρια, τα οποία κατέχουν ρόλο ζωτικής σημασίας για την προστασία όλων των ζωντανών οργανισμών από τις βλάβες που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ικανές να προκαλέσουν πλήθος βλαβών, είτε προκαλώντας οξειδωτικό στρες ακολουθούμενο από εκτεταμένη φλεγμονή, εξαιτίας της ικανότητάς τους να ξεκινούν αλυσιδωτές αντιδράσεις, είτε προκαλώντας ακόμη και καρκίνο [80]. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες είναι ικανές να συμβάλλουν στην εξάλειψη αυτού του φαινομένου μέσω της ικανότητάς τους να αναστέλλουν ή και να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες και τα παράγωγά τους. Η μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων **1-8** πραγματοποιήθηκε έναντι των ελεύθερων ριζών DPPH και ABTS, οι οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τον καθορισμό της αντιοξειδωτικής δράσης στη βιβλιογραφία, και μέσω της ελάττωσης του  $H_2O_2$ . Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τις ενώσεις BHT, NDGA, Trolox και L-ascorbic acid, ενώσεις γνωστές για την αντιοξειδωτική δράση τους από τη βιβλιογραφία και παρουσιάζονται αναλυτικά στον **Πίνακα 18** [81].

Η εξουδετέρωση της ελεύθερης ρίζας DPPH αποτελεί μία αρκετά κοινή και εκτενώς μελετημένη μέθοδο προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων. Το DPPH εμφανίζει μία χαρακτηριστική ταινία απορρόφησης στα 527 nm, που προκύπτει από ένα ιώδες διάλυμα, το οποίο κατά την προσθήκη συμπλόκων μπορεί να αποχρωματιστεί υποδεικνύοντας την αντιοξειδωτική τους δράση [82]. Οι μετρήσεις που αφορούν τα σύμπλοκα **1-8** καταγράφηκαν σε δύο χρόνους, 30 και 60 λεπτά μετά την προσθήκη του συμπλόκου στο διάλυμα της ελεύθερης ρίζας, ώστε να αποδειχθεί ότι η αντιοξειδωτική δράση των συμπλόκων είναι ανεξάρτητη του χρόνου. Τα σύμπλοκα **1-8** παρουσιάζουν μέτρια αντιοξειδωτική δράση έναντι του DPPH, με το σύμπλοκο **2** να εμφανίζει το μεγαλύτερο ποσοστό ελάττωσης της δράσης, ενώ το σύμπλοκο **3** δεν εμφανίζει καμία δράση.

Η μελέτη της οξειδωτικής ικανότητας των συμπλόκων **1-8** πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια της ελεύθερης ρίζας ABTS. Ομοίως με το DPPH, οι ελεύθερες ρίζες ABTS σε διάλυμα παρουσιάζουν ένα σκούρο πράσινο χρώμα, εξαιτίας της κατιονικής ρίζας  $ABTS^{*+}$ , και εμφανίζουν μία ισχυρή ταινία απορρόφησης στα 734 nm. Ο αποχρωματισμός του διαλύματος αποτελεί μία πρώτη ένδειξη της πιθανής αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων [83]. Τα σύμπλοκα **6** και **7** εμφανίζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, πλησιάζοντας το ποσοστό δράσης της ένωσης Trolox, ενώ το σύμπλοκο **3** παρουσιάζει το χαμηλότερο ποσοστό δράσης.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) είναι μία επικίνδυνη ένωση, εξαιτίας της ικανότητάς του να προσβάλλει τη βιολογική μεμβράνη και να παράγει ρίζες υδροξυλίου, οι

οποίες είναι ικανές να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες [84]. Για το λόγο αυτό, ταυτόχρονα με τη μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης έναντι των ελεύθερων ριζών είναι σημαντική και η μελέτη της εξουδετέρωσης του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ώστε να αποφευχθεί η μετατροπή του σε επικίνδυνα παράγωγα. Τα σύμπλοκα **1-8** εμφανίζουν σημαντικά ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση (96.31-99.68%) σε σύγκριση με το L-ascorbic acid (60.80±0.20%), με την ένωση **1** να εμφανίζει το μεγαλύτερο ποσοστό δράσης.

**Πίνακας 18.** Ποσοστό αντιοξειδωτικής δράσης των συμπλόκων **1-8** έναντι των ελεύθερων ριζών DPPH και ABTS και της ένωσης H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Ένωση	DPPH% 30min	DPPH% 60min	ABTS%	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> %
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>1</b> )	11.74±0.49	12.92±0.46	36.21±0.28	99.68±0.10
[Co(5-NO <sub>2</sub> -salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>2</b> )	33.91±0.53	36.29±0.49	69.02±0.70	98.52±0.10
[Co(5-F-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>3</b> )	-3.77±0.34	-4.67±0.43	6.29±1.02	97.95±0.93
[Co(5-Cl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>4</b> )	2.80±0.02	2.58±0.30	20.51±2.66	98.78±0.45
[Co(3,5-diCl-salo)(bipy) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>5</b> )	8.65±0.49	8.24±0.14	62.71±0.21	98.30±0.47
[Co(5-Me-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>6</b> )	26.21±0.80	24.48±0.49	93.06±1.72	96.31±1.49
[Co(5-F-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>7</b> )	12.03±0.32	8.94±0.54	89.84±1.02	97.95±0.90
[Co(3,5-diBr-salo)(phen) <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>8</b> )	16.77±0.86	21.24±0.69	79.39±0.69	99.39±0.21
NDGA	87.08±0.12	87.47±0.12	ΔΠ	ΔΠ
BHT	61.30±1.16	79.78±1.12	ΔΠ	ΔΠ
Trolox	ΔΠ	ΔΠ	98.10±0.48	ΔΠ
L-ascorbic acid	ΔΠ	ΔΠ	ΔΠ	60.80±0.20

ΔΠ = Δεν προσδιορίσθηκε.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν 9 σύμπλοκα του δισθενούς κοβαλτίου. Η σύνθεση έγινε με ligands τις υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες 5-NO<sub>2</sub>-σαλικυλαλδεΐδη, 5-F-σαλικυλαλδεΐδη, 5-Cl-σαλικυλαλδεΐδη, 3,5-diCl-σαλικυλαλδεΐδη, 5-Me-σαλικυλαλδεΐδη και 3,5-diBr-σαλικυλαλδεΐδη, ενώ ως ετεροκυκλικοί N-δότες χρησιμοποιήθηκαν η 1,10-φαινανθρολίνη και η 2,2'-διπυριδίνη. Οι σύμπλοκες ενώσεις αυτές χαρακτηρίστηκαν δομικά με φυσικοχημικές και φασματοσκοπικές τεχνικές και επιλύθηκε η δομή δύο εκ των 9 συμπλόκων ενώσεων με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ. Όλα τα σύμπλοκα είναι μονοπυρηνικά με κεντρικό μεταλλοϊόν το Co(II), το οποίο έχει αριθμό συναρμογής 6. Τα ligands υποκατεστημένης σαλικυλαλδεΐδης συναρμόζονται διδραστικά μέσω του φαινολικού και του καρβονυλικού οξυγόνου σχηματίζοντας χηλικούς δακτυλίους, ενώ οι αζωτοδότες συναρμόζονται και αυτοί διδραστικά χηλικά μέσω των ατόμων αζώτου τους. Ο τρόπος συναρμογής των σαλικυλαλδεΐδών επιβεβαιώθηκε και τα φάσματα IR. Τα σύμπλοκα είναι διαλυτά οργανικούς διαλύτες, όπως η ακετόνη, το DMF, το DMSO, και το CH<sub>3</sub>CN (εκτός από το σύμπλοκο **6** που είναι αδιάλυτο) και αδιάλυτα σε νερό και σε CH<sub>3</sub>OH (εκτός από το σύμπλοκο **2** που είναι μερικώς διαλυτό).

Για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το CT DNA χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία UV-vis και ιξωδομετρία και πραγματοποιήθηκε μελέτη αντικατάστασης του EB. Η εμφάνιση στα φάσματα UV-vis σε μερικές περιπτώσεις υπερχρωμίας και σε άλλες υποχρωμίας είναι χαρακτηριστική της αλληλεπίδρασης με το DNA, η οποία, μετά από τον υπολογισμό της σταθερής σύνδεσης K<sub>b</sub>, αποδείχθηκε αρκετά ισχυρή. Η αύξηση του ιξώδους του DNA κατά την προσθήκη σε αυτό αυξανόμενων ποσοτήτων των ενώσεων αποτελεί ένδειξη παρεμβολής. Από τη μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης με το βρωμιούχο αιθίδιο παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση του φθορισμού που οφείλεται στην ικανότητα των συμπλόκων να αντικαθιστούν το EB στο EB-DNA και κατά συνέπεια είναι έμμεση ένδειξη της ύπαρξης παρεμβολής στο DNA.

Από τη μελέτη αλληλεπίδρασης των ενώσεων με τις αλβουμίνες ορού αίματος BSA και HSA υπολογίστηκε η τιμή της σταθεράς σύνδεσης K των συμπλόκων. Βρέθηκε ότι τα σύμπλοκα παρουσιάζουν την ικανότητα να δεσμεύονται σημαντικά με τις αλβουμίνες, ενώ η δέσμευση δεν είναι τόσο έντονη, ώστε να μπορούν να αποδεσμευθούν από αυτές όταν φτάσουν στο στόχο τους.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] S. Cohen, *Current Opinion in Chemical Biology* **2007**, 2, 115 – 120.
- [2] M. Zaroddu, J. Aaseth, G. Crisponi, S. Medici, M. Peana, V. Nurchi, *Journal of Inorganic Biochemistry* **2019**, 195, 120 – 129.
- [3] S. Van Rijt, P. Sadler, *Drug Discovery Today* **2009**, 14, 23 – 24.
- [4] N. Hosmane, *Advanced Inorganic Chemistry* **2017**, 225 – 249.
- [5] S. Ghosh, *Bioorganic Chemistry* **2019**, 88, 102925.
- [6] F. Morrai, *Journal of Chemical Education* **1957**, 34, 185.
- [7] E. Schwab, *Chemical & Engineering News* **2003**, 81.
- [8] [https://www.britishmuseum.org/collection/object/A\\_PDF-B-667](https://www.britishmuseum.org/collection/object/A_PDF-B-667)
- [9] D. Lison, *Handbook on the Toxicology of Metals 4<sup>th</sup> edition*, Elsevier, **2015**.
- [10] N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemistry of the Elements 2<sup>nd</sup> edition* **1997**, 1113 – 1143.
- [11] M. Moats, W. Davenport, *Treatise on Process Metallurgy* **2014**, 3, 625 – 668.
- [12] O. Neikov, S. Naboychenko, I. Murashova, *Handbook of Non – Ferrous Metal Powders* **2019**, 669 – 684.
- [13] A. Tkaczyk, A. Bartl, A. Amato, V. Lapkovskis, M. Petranikova, *Journal of Physics D: Applied Physics* **2018**, 51.
- [14] L. Prause, *The Material Basis of Energy Transitions* **2020**, 153 – 167.
- [15] T. Szymanski, M. Thoennesen, *Atomic Data and Nuclear Data* **2010**, 96, 848 – 854.
- [16] R. Leggett, *Science of the Total Environment* **2008**, 389, 259 – 269.
- [17] M. Cataldi, *Cobalt*, Elsevier Inc., **2010**.
- [18] G. Malkoske, *Radiation Physics and Chemistry* **1999**, 54, 601 – 608.
- [19] <https://www.world-nuclear.org/information-library/safety-and-security/safety-of-plants/chernobyl-accident.aspx>
- [20] P. Enghag, *Encyclopedia of the Elements*, Verlag GmbH & Co KGaA, **2004**.
- [21] Π. Καραγιαννίδης, *Ειδική Ανόργανη Χημεία 4<sup>η</sup> έκδοση*, Εκδόσεις ΖΗΤΗ, **2009**.
- [22] E. Moore, J. Hao, A. Prabhu, H. Zhong, B. Jelen, M. Meyer, R. Hazen, P. Falkowski, *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* **2018**, 123, 743 – 759
- [23] G. Rizzo, A. Laganà, *Molecular Nutrition*, Elsevier Inc., **2020**.
- [24] E. Andres, N. Dali – Youcef, *Molecular Nutrition*, Elsevier Inc., **2020**.
- [25] S. Stabler, *Present Knowledge in Nutrition* **2020**, 1, 257 – 271.
- [26] Δ. Κεσίσσoglou, Γ. Ψωμάς, *Βιοανόργανη Χημεία*, Εκδόσεις ΖΗΤΗ, **2015**.
- [27] Bernhard Kräutler, Biological Organometallic Chemistry of Vitamin B<sub>12</sub>-Derivatives, Chapter 20
- [28] G. Rizzo, A. Lagana, A review of vitamin B12, Chapter 6
- [29] G. Psomas, D. Kessissoglou, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 6252.
- [30] E. Irgi, G. Geromichalos, S. Bakala, J. Iljun, S. Kalogiannis, A. Papadopoulos, I. Turel, G. Psomas, *RSC Adv.*, **2015**, 5, 36353.
- [31] F. Dimiza, A. Papadopoulos, V. Tangoulis, V. Psycharis, C. Raptopoulou, D. Kessissoglou, G. Psomas, *Dalton Trans*, **2010**.

- [32] F. Dimiza, A. Papadopoulos, V. Tangoulis, V. Psycharis, C. Raptopoulou, D. Kessissoglou, G. Psomas, *J. Inorg. Biochem.*, **2012**, 107, 54–64.
- [33] C. Protogeraki, E. Andreadou, F. Perdih, I. Turel, A. Pantazaki, G. Psomas, *Europ. Journal of Med. Chem*, **2014**.
- [34] R.N. Prasad, A. Agrawal, *J. Ind. Chem. Soc.* 83, **2006**, 75–77.
- [35] R.N. Prasad, M. Agrawal, R. George, *J. Ind. Chem. Soc.* 82, **2005**, 444–447.
- [36] S.T. Hussain, H. Ahmad, M.A. Atta, M. Afzal, M. Saleem, *J. Trace Microprobe Tech.* 16, **1998**, 139–149.
- [37] K. Fujinaga, Y. Sakaguchi, T. Tsuruhara, Y. Seike, M. Okumura, *Solvent Extract. Res. Develop.* 8, **2001**, 144–158.
- [38] E. Pelttari, E. Karhumaki, J. Langshaw, H. Perakyla, H. Elo, *Z. Naturforsch.* 62c, **2007**, 487–497.
- [39] A. Jayamani, N. Sengottuvelan, G. Chakkaravarthi, *Polyhedron* 81 **2014**, 764–776.
- [40] C. Papadopoulos, M. Lalia–Kantouri, J. Jaud, A. G. Hatzidimitriou, *Inorg. Chim. Acta* 60 **2007**, 3581–3589.
- [41] V. Tangoulis, M. Lalia–Kantouri, M. Gdaniec, C. Papadopoulos, V. Miletic, A. Czapik, *Inorg. Chem.* 52 **2013**, 6559–6569.
- [42] Y. Xiao, M. Zhang, *Acta Cryst.* **2008**, E64 m 1231.
- [43] I. Raja, K.M. Lo, S.W. Ng, *Acta Cryst.* E67 **2011**, m674.
- [44] A. Zianna, G. Psomas, A. Hatzidimitriou, E. Coutouli–Argyropoulou, M. Lalia–Kantouri, *J. Inorg. Biochem.* 127, **2013**, 116–126.
- [45] H. L. Zhu, Y. Qu, Z.L. You, M.Y. Tan, W.S. Liu, J.L. Ma, *Z. Kristallogr. NCS* 218, **2003**, 519–520.
- [46] R. Loganathan, S. Ramakrishnan, E. Suresh, M. Palaniandavar, A. Riyasdeen, M.A. Akbarsha, *Dalton Trans.* 43, **2014**, 6177–6194.
- [47] Y. M. Chumakov, L. G. Paladi, B. Ya. Antosyak, Yu. A. Simonov, Tsapkov, G. Bocelli, A. P. Gulea, D. Ginju, S. A. Palomares–Sanchez, *Crystallography Reports* 56, **2011**, 260–264.
- [48] R. Fandos, C. Hernandez, A. Otero, C. Pastor, P. Terreros, G. Aullon, S. Alvarez, *Chem. Eur. J.* 13, **2007**, 2831–2836.
- [49] S. B. Yu, C. P. Wang, E. P. Day, R. H. Holm, *Inorg. Chem.* 30, **1991**, 4067–4074.
- [50] J.A. Bertrand, A.P. Ginsberg, R.I. Kaplan, C.E. Kirkwood, R.L. Martin, R.C. Sherwood, *Inorg. Chem.* 10, **1971**, 240–246.
- [51] G. M. Yu, L. Zhao, L.F. Zou, Y.N. Guo, G.F. Xu, Y.H. Li, J. Tang, *J Chem Cryst*, 41, **2011**, 606–609.
- [52] F. Habib, C. Cook, I. Korobkov, M. Murugesu, *Inorg. Chim. Acta* 380 **2012**, 378–385.
- [53] J.P. Costes, G. Novitchi, L. Vendier, G. Pilet, D. Luneau, *Comptes Rendue Chimie* 15 **2012**, 849–855.
- [54] S.H. Zhang, N. Li, C.M. Ge, C. Feng, L.F. Ma, *Dalton Trans.* 40 (2011) 3000–3007.
- [55] A. Zianna, G. Psomas, A. Hatzidimitriou, M. Lalia–Kantouri, *RSC Adv.* **2015**, 5 37495–37511.
- [56a] Erich Koepf, Fritz Vögtle, *Synthesis*, **1987** (02), 177–179.
- [56b] Aalto-Korte, K., Valimaa, J., Henriks-Eckerman, M.-L., Jolanki, R., Allergic contact dermatitis from salicyl alcohol and salicylaldehyde in aspen bark (*Populus tremula*). *Contact Dermatitis*, **2005**, 52(2), 93–95.

- [57] Bougault J., Cattelain E., Chabrier P., and Quevauviller A., Sur quelques derives halogenes de l'aldehydesalicylique. Bull. Soc. Chim. **1949**, 433-436.
- [58] Burton D. E., Clarke K., and Gray G. W., The mechanism of the antibacterial action of phenols and salicylaldehydes. Part II. Substituted phenols. J. Chem. Soc., **1964**, 1314-1318.
- [59] Burton D. E., Clarke K., and Gray G. W., The mechanism of the antibacterial action of phenols and salicylaldehydes. Part III. Substituted benzaldehydes. J. Chem. Soc. **1964b**, 2458-2460 .
- [36] Burton D. E., Clarke K., and Gray G. W., The mechanism of the antibacterial action of phenols and salicylaldehydes. Part IV. Substituted salicylaldehydes. J. Chem. Soc. **1965**, 438-443.
- [60] Clarke K., Cowen R. A., Gray G. W., and Osborne E. H., The mechanism of the antibacterial action of phenols and salicylaldehydes. Part I. J. Chem. Soc. **1963**, 168-173.
- [61] Cronenberger L., Gaige T., Pacheco H., and Pillon D., Nouvelles bases de Schiff derivees des aldehydes dihalogeno-3,5 salicyliques et possedant des proprietesantifongiques et antibacteriennes. ChimieTherapeutique3, **1968**, 87-99.
- [62] Cronenberger L., Gaige T., and Pacheco H., Mecanisme de l'actionantibacterienne et antifongique des aldehydes dihalogeneno-3,5-salicyliques et de leurs bases de Schiff. Bull. Soc. Chim. Biol. 50 **1968**, 929-932.
- [63] Cronenberger L., Dolfin B., and Pacheco H., Correlation entre les proprietesantifongiques d'aldehydes salicyliques substitue's et le de'placementchimique du proton phenolique. Sci. Paris Ser. D **1969** 269, 1334-1337.
- [64] Rehn D., Nolte H., and Zerling W., ZurantimikrobiellenWirksamkeitssubstituierteraromatischer Aldehyde. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B **1981**, 172, 508-519.
- [65] Taillandier G. and Pera M. H., Analyse QSAR d'uneserie d'aldehydesalicyliques inhibiteurs d'unesouch de Saccharomyces cerevisiae a l'aide des parameters  $\Sigma D \Sigma S$ . Pharmazie **1991** 46, 146-147.
- [66] P. W. Betteridge, J. R. Carruthers, R. I. Cooper, K. Prout, D. J. Watkin, J. Appl. Crystallogr. **2003**, 36, 1487–1487. [150] L. Palatinus, G. Chapuis, J. Appl. Crystallogr. **2007**, 40, 786–790.
- [67] E. D. McKenzie, Coord. Chem. Rev. **1971**, 6, 187–216.
- [68] A. A. Vlček1, Inorg. Chem. **1967**, 6, 1425–1427.
- [69] B. Bosnich, C. K. Poon, M. L. Tobe, Inorganica Chim. Acta **1965**, 4, 1102–1108.
- [70] R.M. Silverstein, G.C. Bassler, G. Morvill, Spectrometric identification of organic compounds, 6th ed., Wiley, New York **1998**.
- [71] K. Nakamoto, Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part B: Applications in Coordination, Organometallic and Bioinorganic Chemistry 6th ed. Wiley, New Jersey **2009**.
- [72] S. U. Rehman, T. Sarwar, M. A. Husain, H. M. Ishqi, M. Tabish, Arch. Biochem. Biophys. **2015**, 576, 49-60.
- [73] D. Li, J. Tian, W. Gu, X. Liu, S. Yan, J. Inorg. Biochem. **2010**, 104, 171–179.
- [74] J. L. Garcia–Gimenez, M. Gonzalez–Alvarez, M. Liu–Gonzalez, B. Macias, J. Borrás, G.
- [75] W.D. Wilson, L. Ratmeyer, M. Zhao, L. Strekowski, D. Boykin, Biochemistry **1993**, 32, 4098–4104.
- [76] C. Tan, J. Liu, H. Li, W. Zheng, S. Shi, L. Chen, L. Ji, J. Inorg. Biochem. **2008**, 102, 347– 358.
- [77] G. Zhao, H. Lin, S. Zhu, H. Sun, Y. Chen, J. Inorg. Biochem. **1998**, 70, 219–226.



- [78] I. Petitpas, T. Grune, A.A. Bhattacharya, S. Twine, M. East, S. Curry, *J. Mol. Biol.* **2001**, 314 955–960.
- [79] V. Rajendiran, R. Karthik, M. Palaniandavar, H. Stoeckli–Evans, V.S. Periasamy, M.A. Akbarsha, B.S. Srinag, H. Krishnamurthy, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 8208–8221.
- [80] R. Cini, G. Giorgi, A. Cinquantini, C. Rossi, M. Sabat, *Inorg. Chem.* 29 (**1990**) 5197–5200.
- [81] C. Gkisiou, G. Malis, A. Hatzidimitriou, G. Psomaw, *Inorg. Chem.* **2023**, 242, 112–161.
- [82] C. Kontogiorgis, D. Hadjipavlou-Litina, *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2003**, 1863–69.
- [83] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, 26 1231–1237.
- [84] M. Wettasinghe, F. Shahidi, *Food Chem.* **2000**, 70, 17–26.

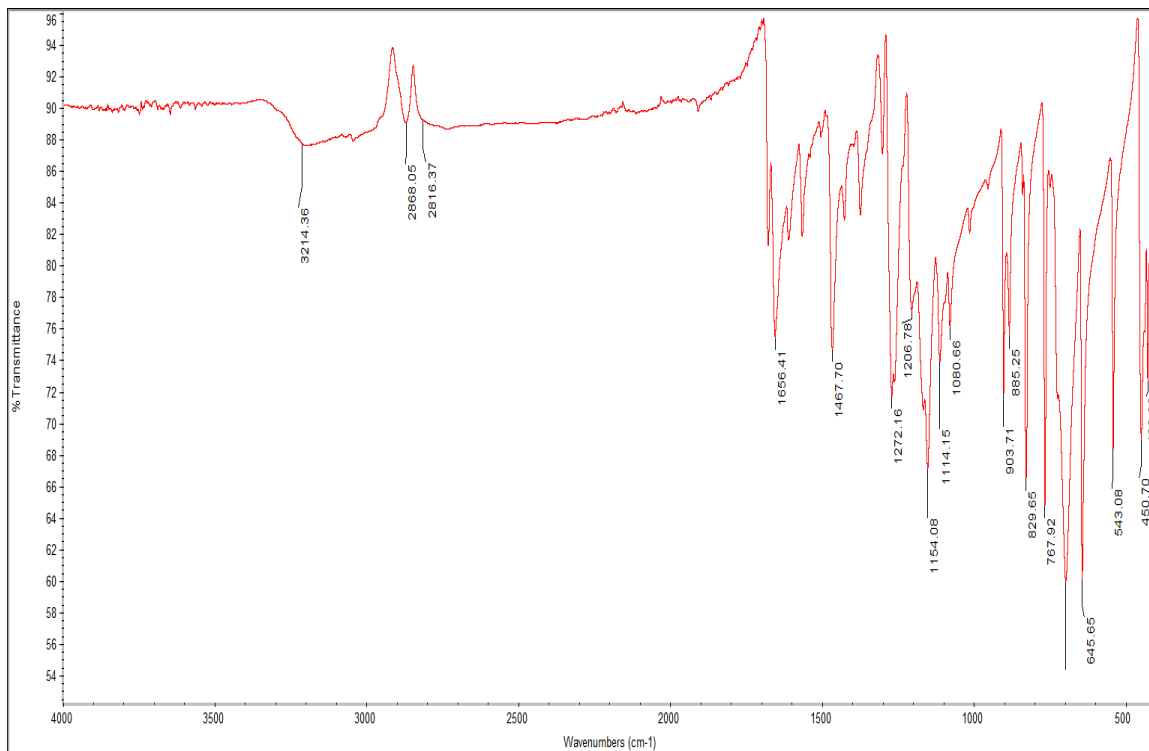
## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### Συντομογραφίες

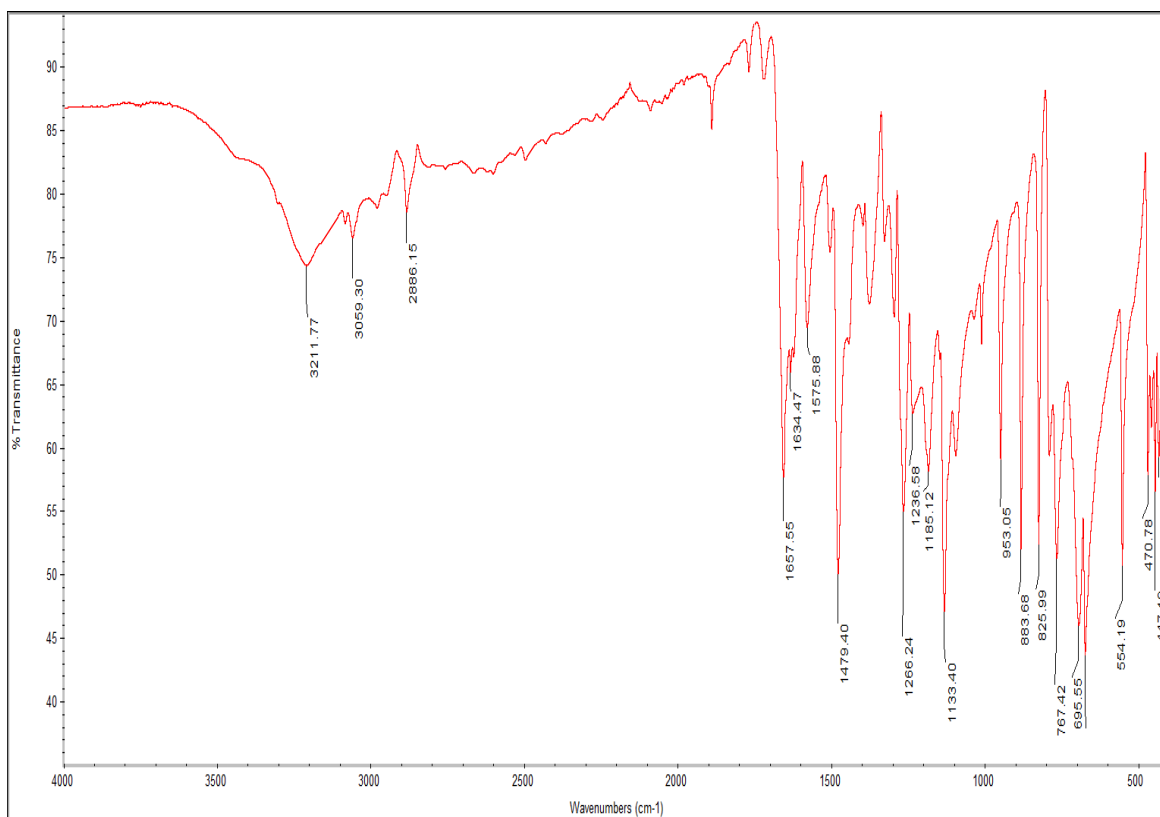
**Πίνακας 19.** Συντομογραφίες Κειμένου

5-NO <sub>2</sub> -salOH	5-νίτρο-σαλικυλαλδεΐδη
5-F-salOH	5-φθόρο-σαλικυλαλδεΐδη
5-Cl-salOH	5-χλώρο-σαλικυλαλδεΐδη
3,5-diCl-salOH	3,5-διχλώρο-σαλικυλαλδεΐδη
5-Me-salOH	5-μέθυλο-σαλικυλαλδεΐδη
3,5-diBr-salOH	3,5-διβρωμο-σαλικυλαλδεΐδη
phen	1,10-φαινανθρολίνη
bi <sub>2</sub> py	2,2'-διπυριδίνη
CT DNA	Calf thymus DNA
EB	Ethidium bromide, αιθίδιο βρωμίδιο
DMSO	διμεθυλοσουλφοξείδιο
HSA	Human Serum Albumin, ανθρώπινη αλβουμίνη
BSA	Bovine Serum Albumin, βοοειδής αλβουμίνη
CT	Charge transfer, μεταφορά φορτίου
$\lambda_{\max}$	Μέγιστο μήκος κύματος

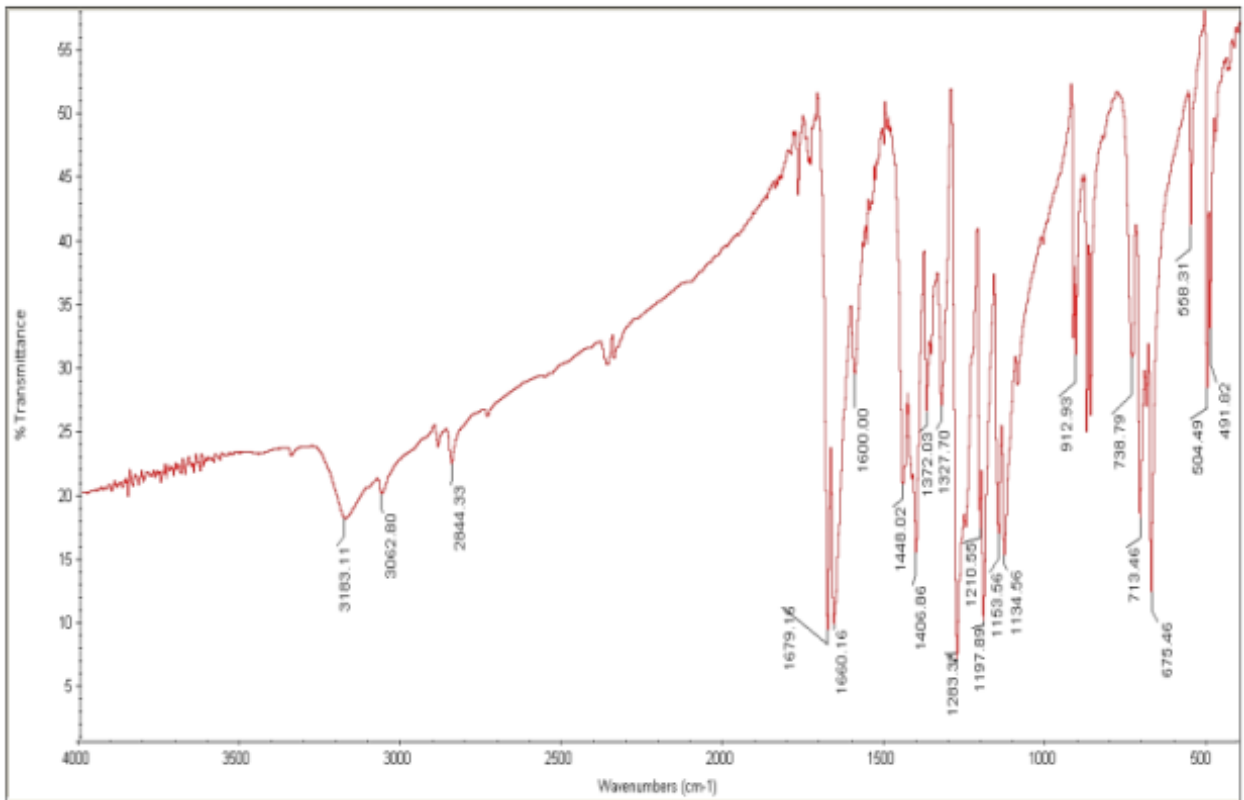
## Φάσματα IR των υποκατεστημένων σαλικυλαδεϊδών



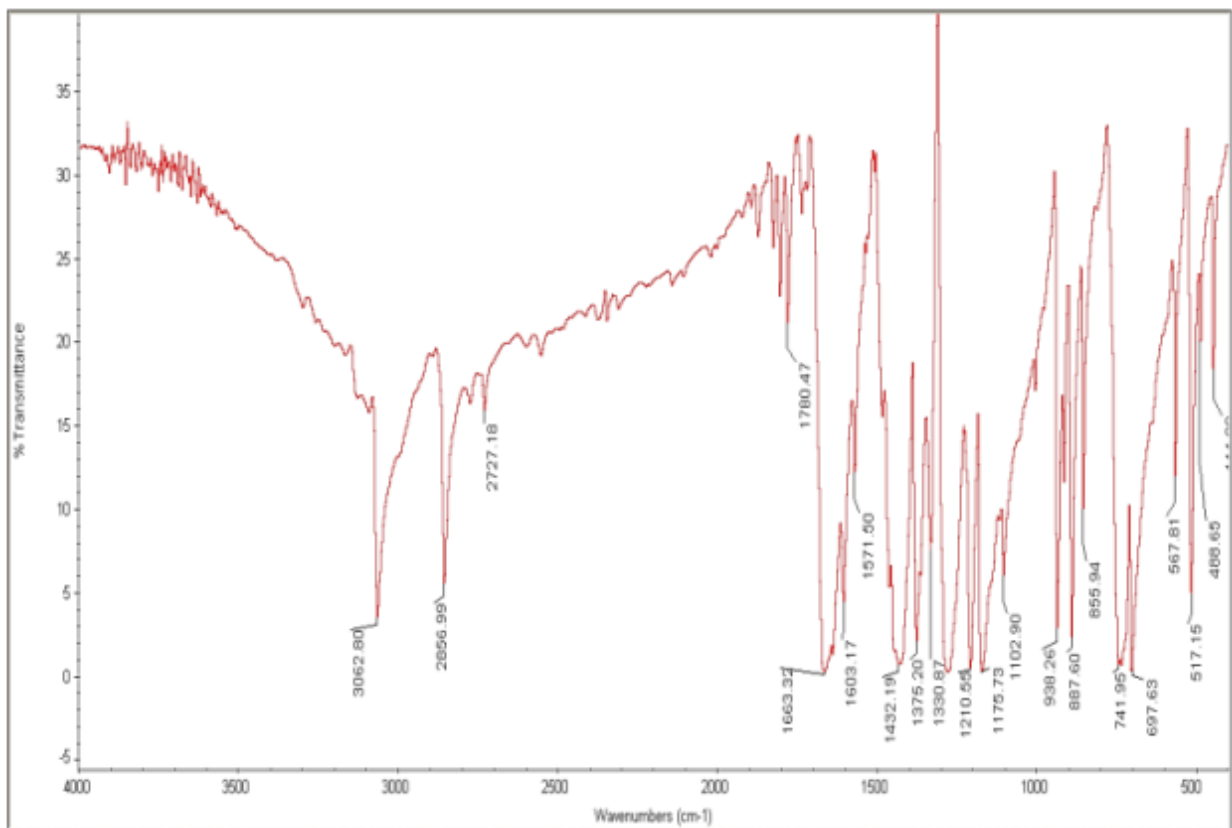
Εικόνα 58. Φάσμα IR της υποκατεστημένης σαλικυλαδεϊδης 5-Cl-salOH.



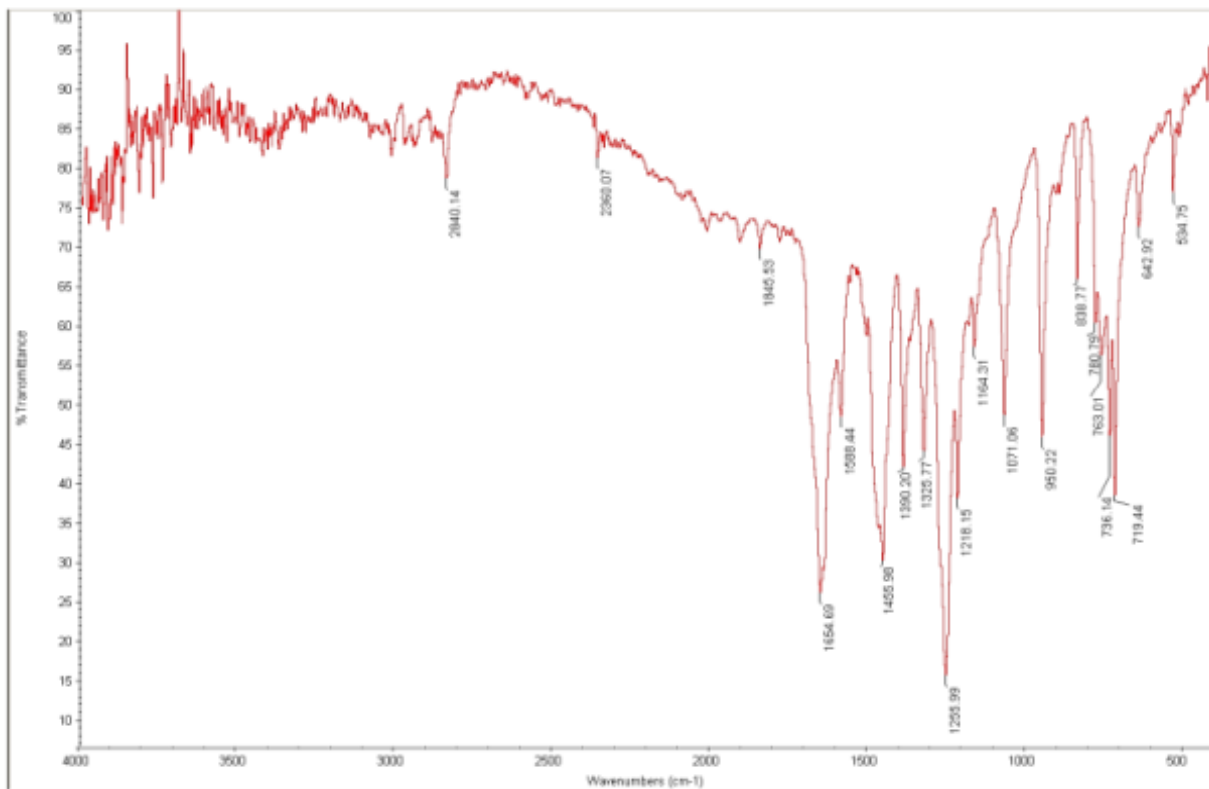
Εικόνα 59. Φάσμα IR της υποκατεστημένης σαλικυλαδεϊδης 5-F-salOH.



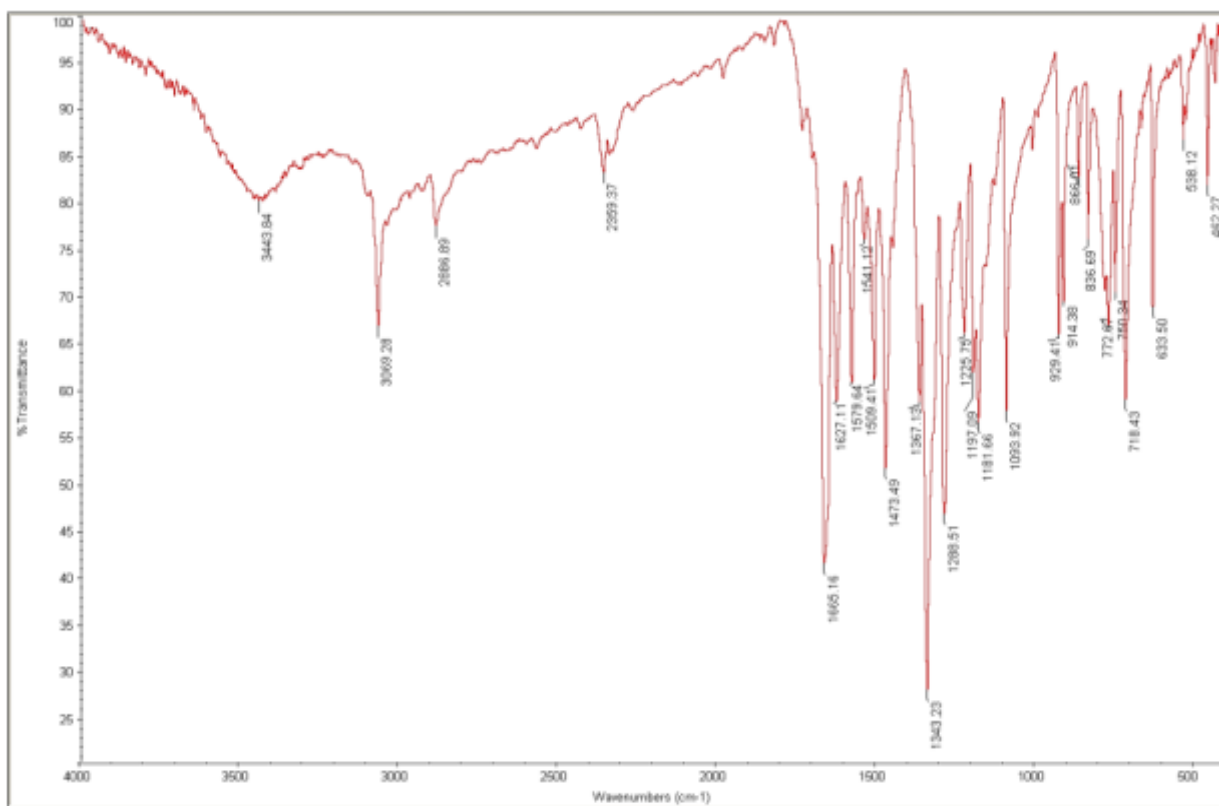
Εικόνα 60. Φάσμα IR της υποκατεστημένης σαλικυλαδεΐδης 3,5-diBr-salοH.



Εικόνα 61. Φάσμα IR της υποκατεστημένης σαλικυλαδεΐδης 3,5-diCl-salοH.

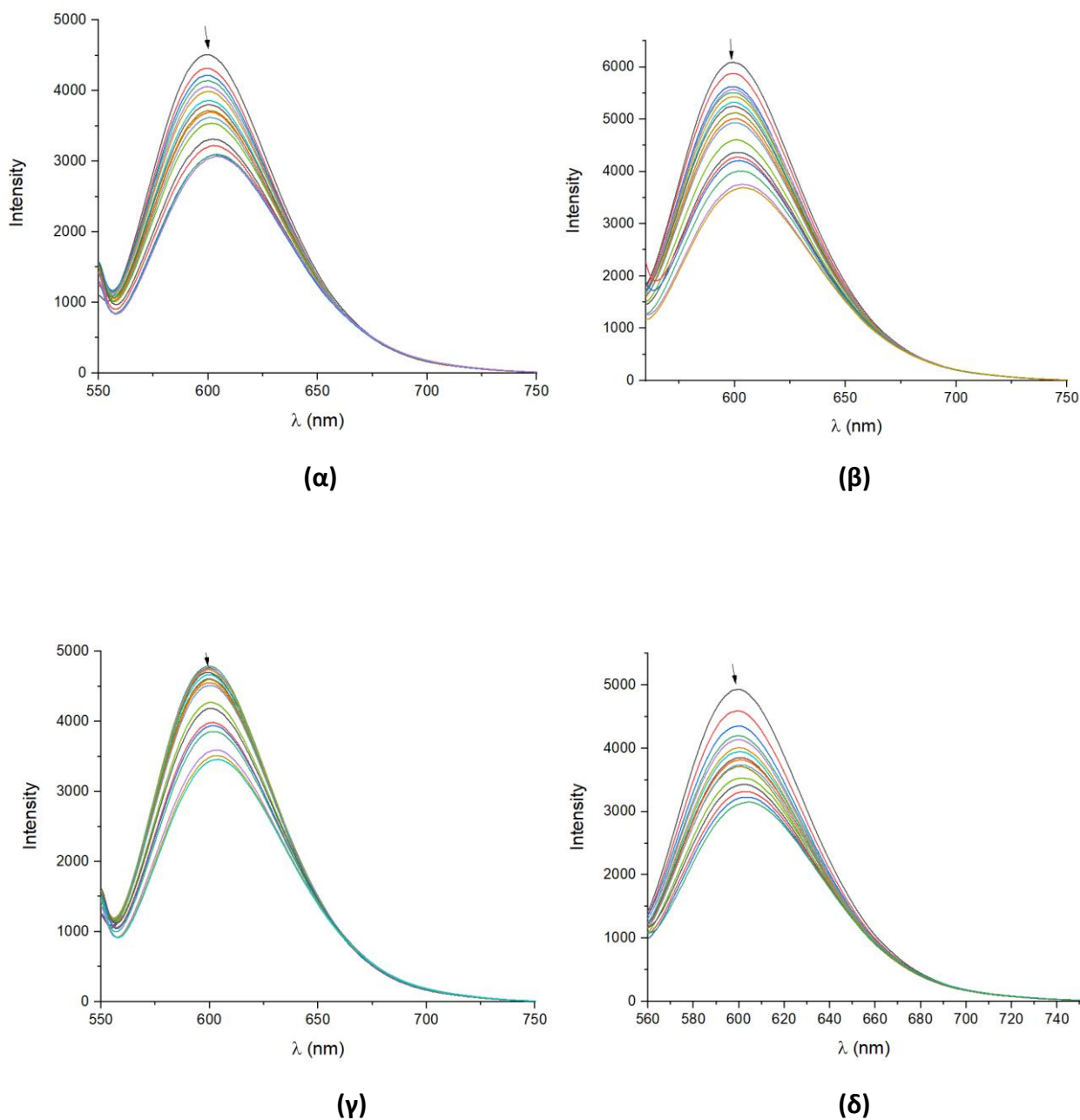


**Εικόνα 62.** Φάσμα IR της υποκατεστημένης σαλικυλαδεΐδης 5-Me-salOH.

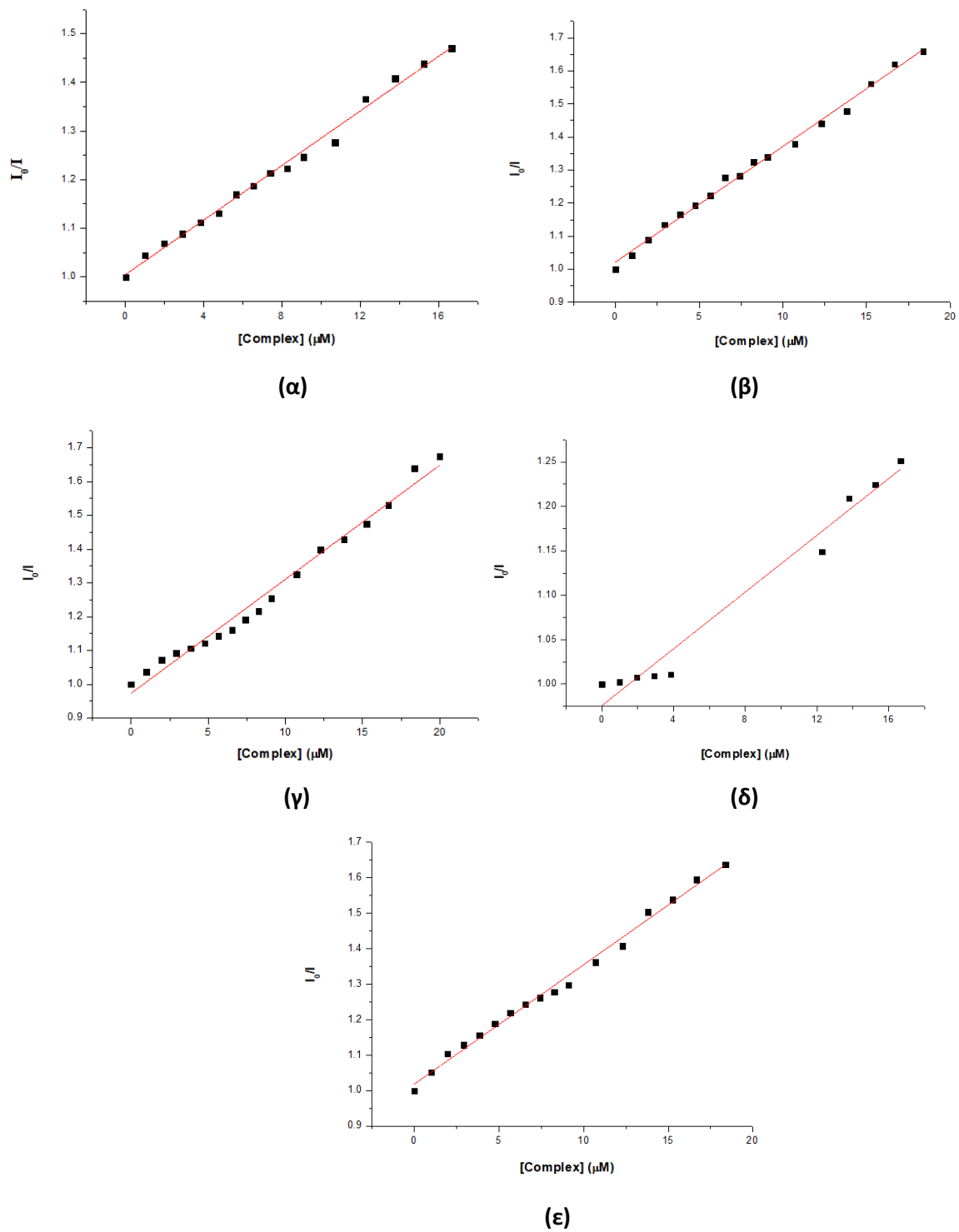


**Εικόνα 63.** Φάσμα IR της υποκατεστημένης σαλικυλαδεΐδης 5-NO<sub>2</sub>-salOH.

## Μελέτη ανταγωνιστικής δράσης με το EB

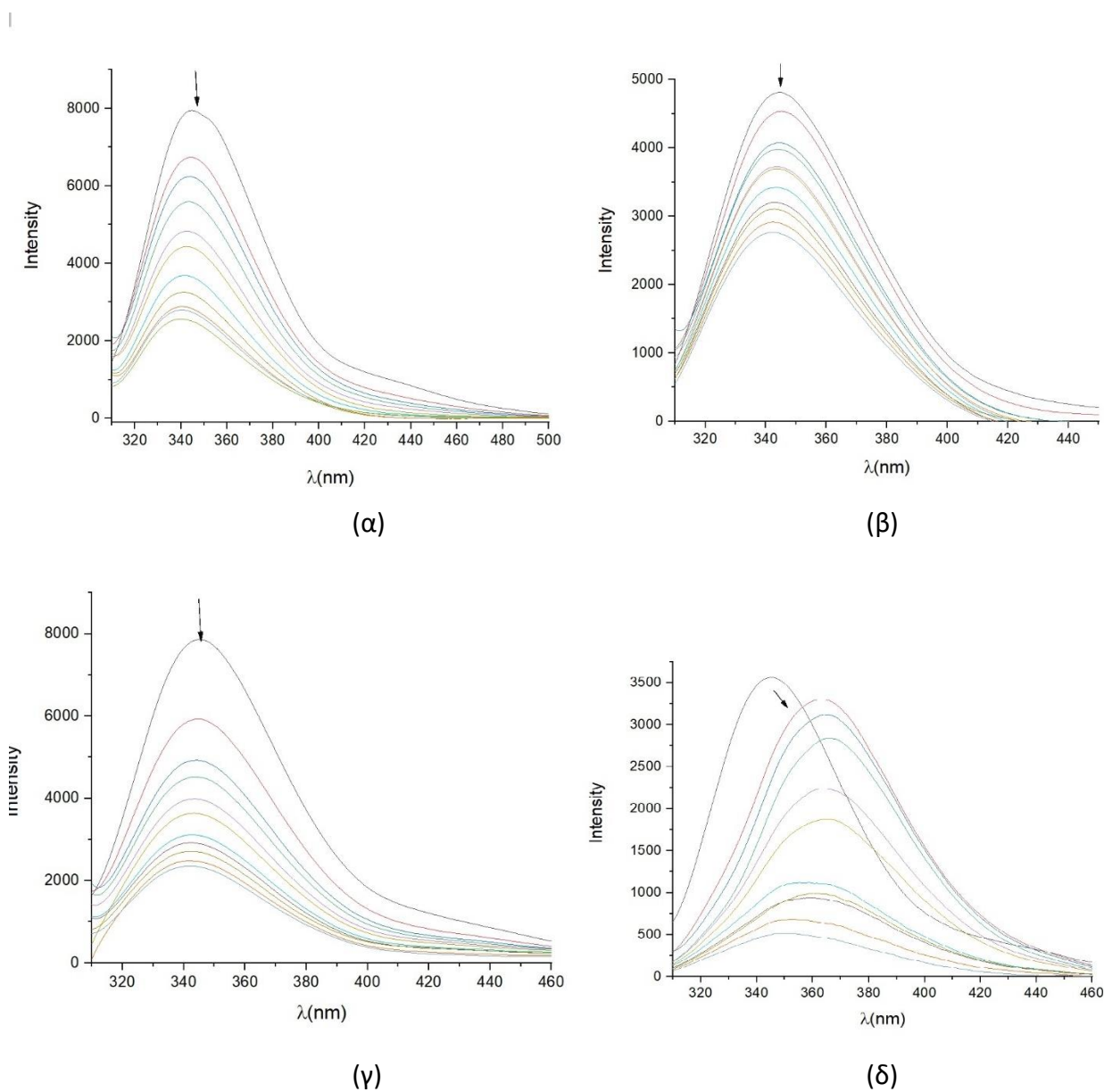


**Εικόνα 64.** Φάσματα εκπομπής φθορισμού ( $\lambda_{\text{διέγ}} = 540 \text{ nm}$ ) του DNA-EB κατά την προσθήκη των συμπλόκων (α) [Co(5-NO<sub>2</sub>-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) **(1)**, (β) [Co(5-F-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) **(3)**, (γ) [Co(3,5-diCl-salo)(bipy)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) **(5)** και (δ) [Co(5-F-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) **(7)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



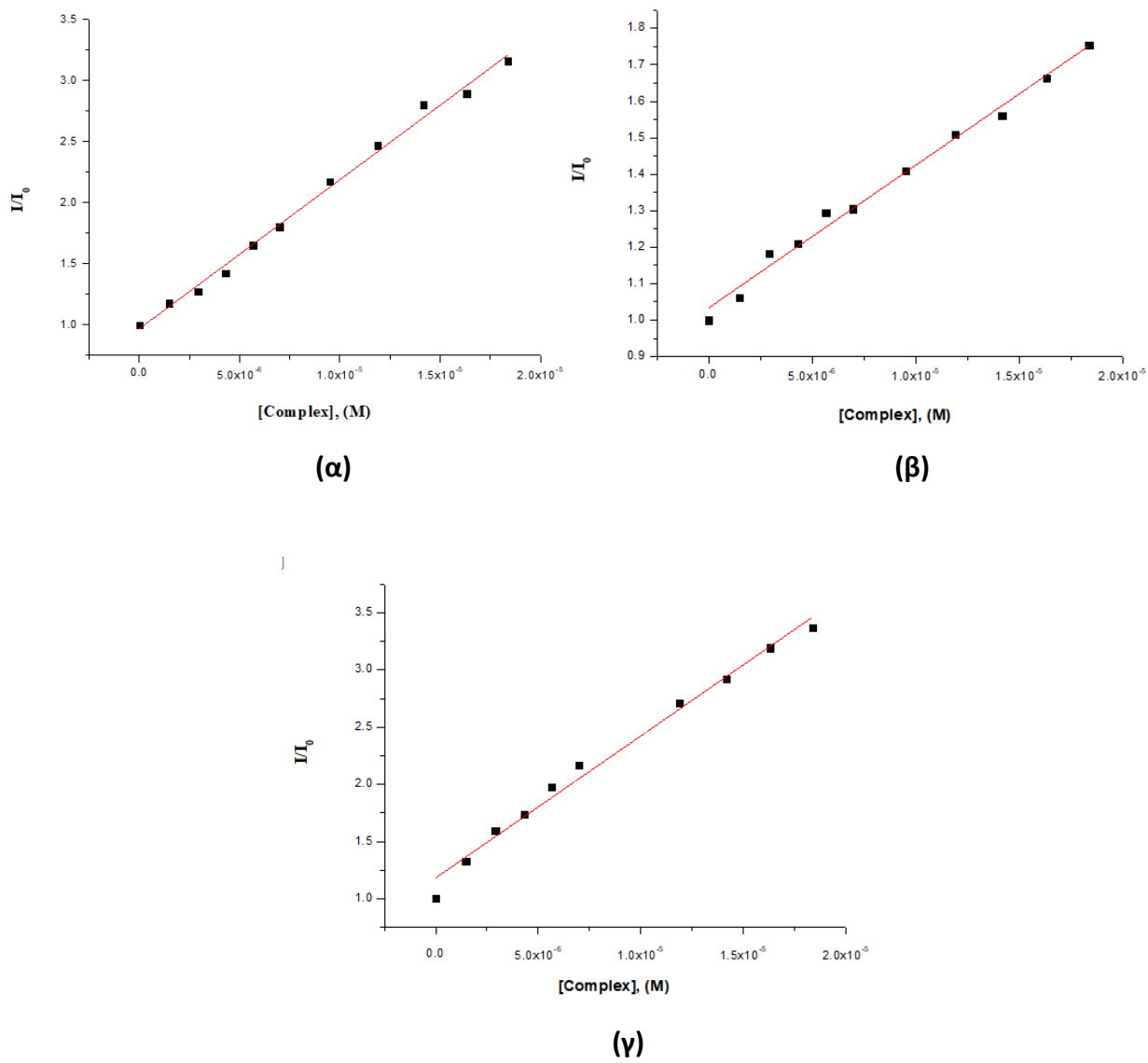
**Εικόνα 65.** Διαγράμματα Stern-Volmer της ελάττωσης φθορισμού του συστήματος EB-DNA για τα σύμπλοκα (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-sal})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**1**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-sal})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**2**), (γ)  $[\text{Co}(5\text{-F-sal})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**3**), (δ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-sal})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**5**) και (ε)  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-sal})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**).

## Μελέτη αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με την BSA

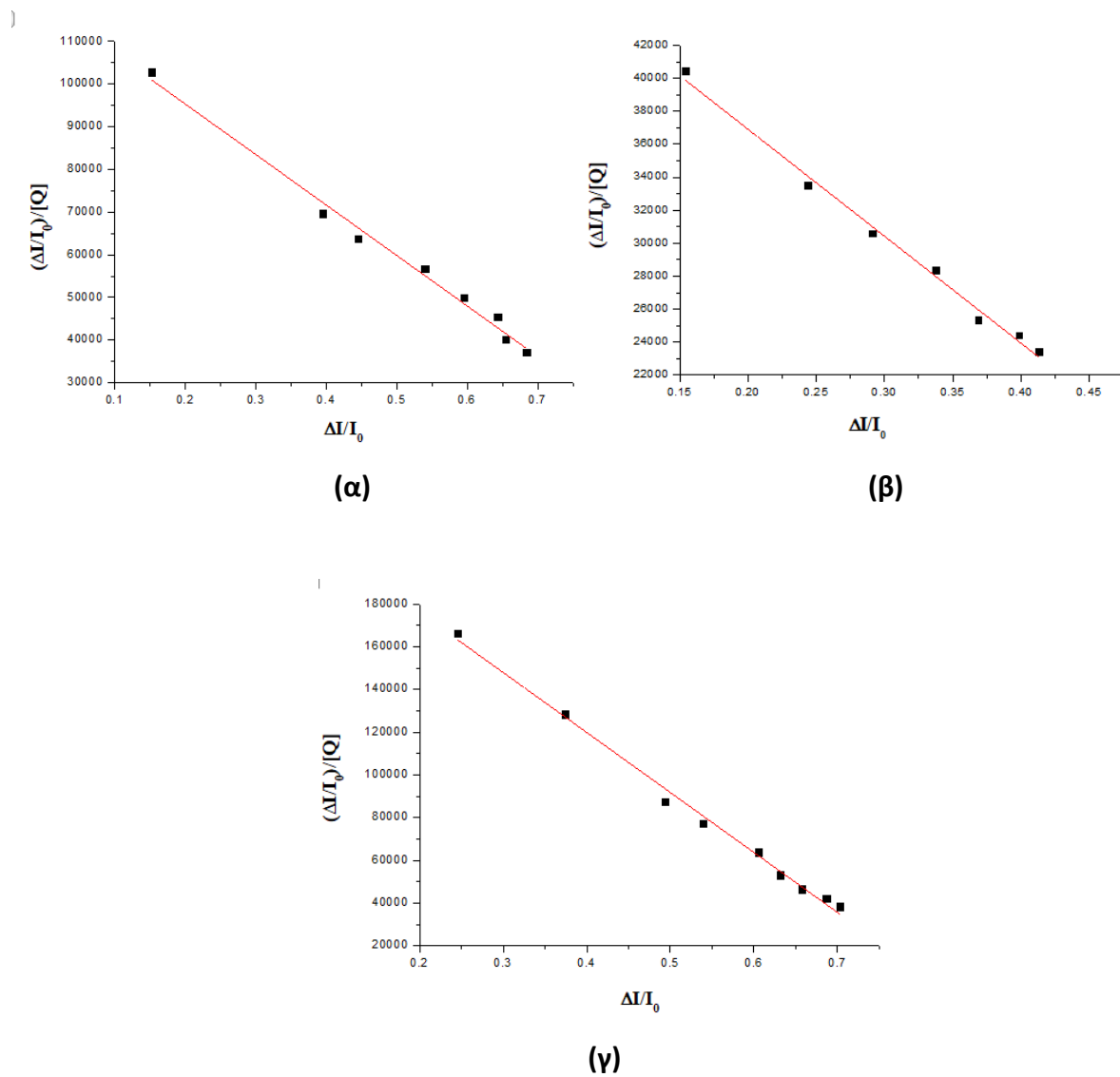


**Εικόνα 66.** Φάσμα φθορισμού εκπομπής της BSA ( $\lambda_{\text{διεγ}} = 295 \text{ nm}$ ) παρουσία των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  **(1)**, (β)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  **(3)**, (γ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  **(5)** και (δ)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  **(7)**. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές κατά την προσθήκη των συμπλόκων.



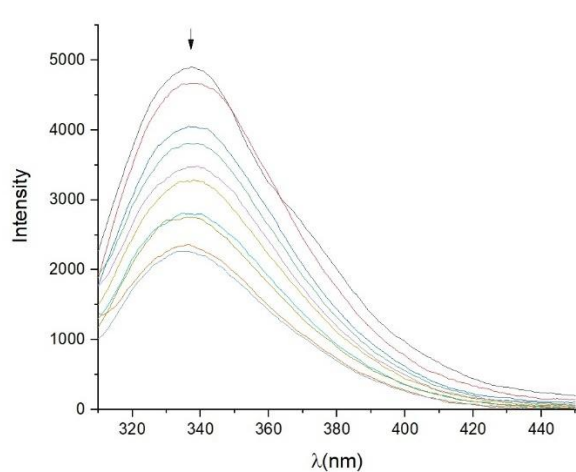


**Εικόνα 67.** Διαγράμματα Stern-Volmer των συμπλόκων (α)  $[Co(5-NO_2-salo)(bipy)_2](PF_6)$  (**1**), (β)  $[Co(5-F-salo)(bipy)_2](PF_6)$  (**3**) και (γ)  $[Co(3,5-diCl-salo)(bipy)_2](PF_6)$  (**5**) για την BSA.

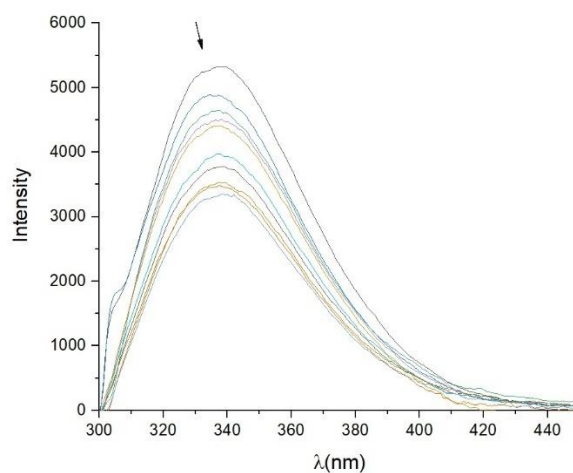


**Εικόνα 68.** Διαγράμματα Scatchard των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**1**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**3**) και (γ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**5**) για την BSA.

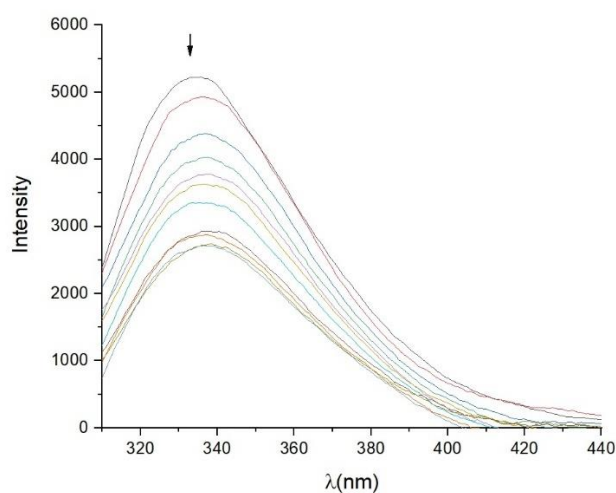
## Μελέτη αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με την HSA



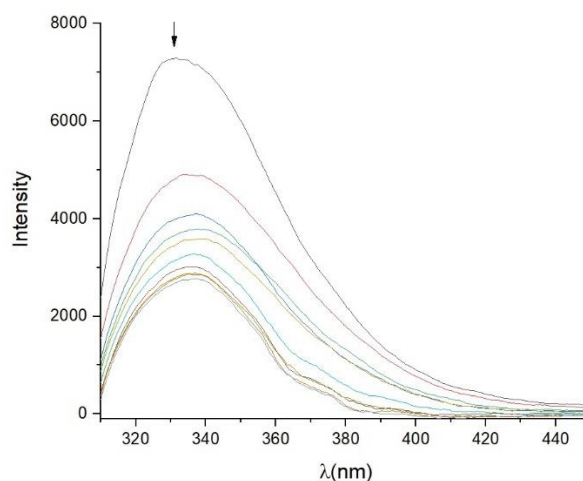
(α)



(β)

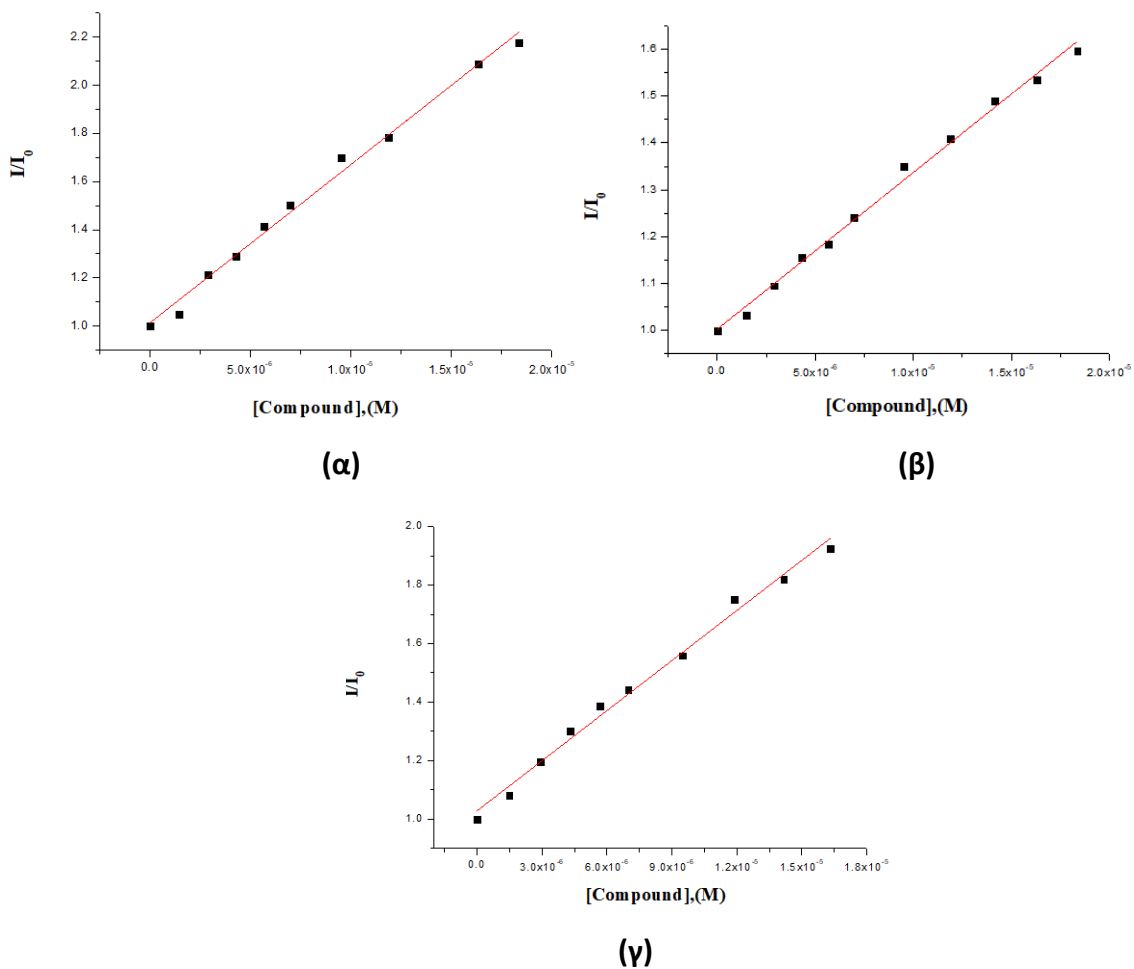


(γ)

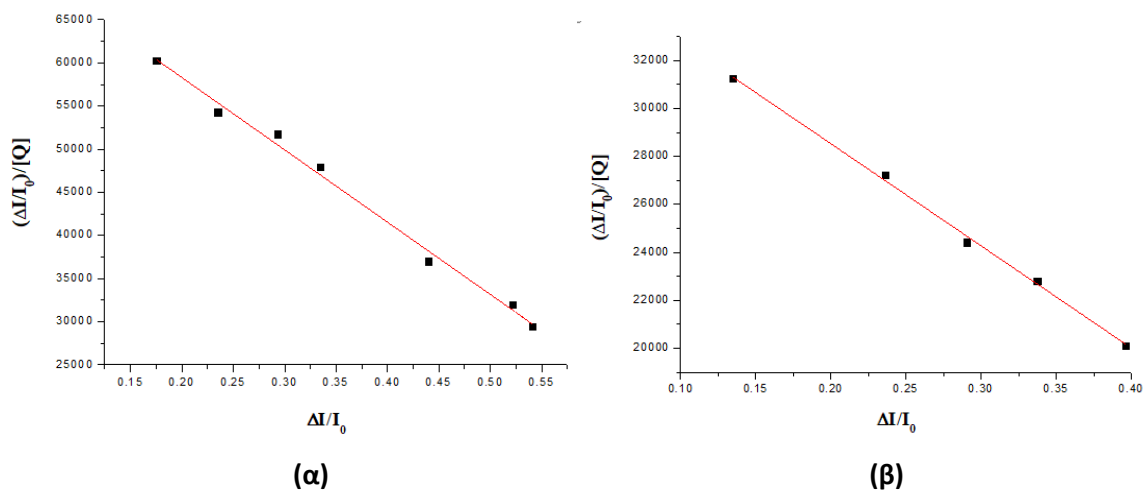


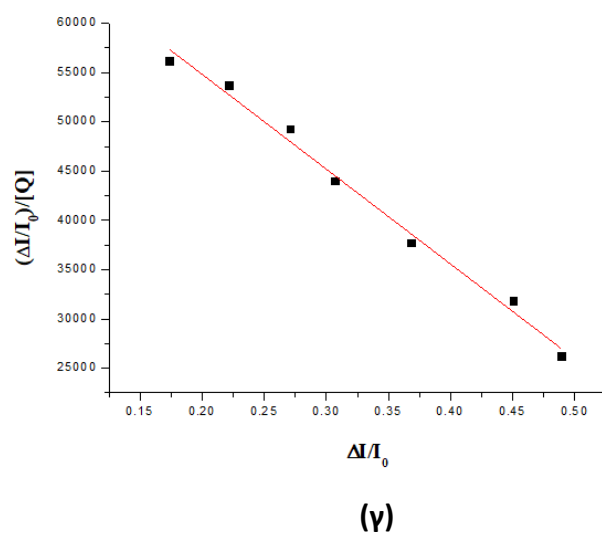
(δ)

**Εικόνα 69.** Φάσμα φθορισμού εκπομπής της HSA ( $\lambda_{\text{διεγ}} = 295 \text{ nm}$ ) παρουσία των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**1**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**3**), (γ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**5**) και (δ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diBr-salo})(\text{phen})_2](\text{PF}_6)$  (**8**). Το βέλος υποδεικνύει τη μεταβολή της έντασης εκπομπής φθορισμού.



**Εικόνα 70.** Διαγράμματα Stern-Volmer των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**1**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-F-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**3**) και (γ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**5**) για την HSA.





**Εικόνα 71.** Διαγράμματα Scatchard των συμπλόκων (α)  $[\text{Co}(5\text{-NO}_2\text{-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**1**), (β)  $[\text{Co}(5\text{-F-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**3**) και (γ)  $[\text{Co}(3,5\text{-diCl-salO})(\text{bipy})_2](\text{PF}_6)$  (**5**) για την HSA.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση, ο χαρακτηρισμός της δομής και η μελέτη της βιολογικής δράσης συμπλόκων ενώσεων του Co(II) με υποκατεστημένες σαλικυλαλδεΐδες (5-NO<sub>2</sub>-salOH, 3,5-diCl-salOH, 5-Me-salOH, 3,5-diBr-salOH, 5-F-salOH και 5-Cl-salOH) παρουσία 2,2'-διπυριδίνης ή 1,10-φαινανθρολίνης. Οι ενώσεις αυτές χαρακτηρίστηκαν με φυσικοχημικές και φασματοσκοπικές τεχνικές, ενώ οι κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) και [Co(3,5-diCl-salo)<sub>2</sub>(bipy)].0.5(3,5-diCl-salOH) επιλύθηκαν με περίθλαση ακτίνων-Χ. Η αλληλεπίδραση των συμπλοκων ενώσεων με το CT DNA μελετήθηκε με φασματοσκοπία UV-vis και ιξωδομετρία και η ισχύς της σύνδεσης των ενώσεων με το DNA υπολογίστηκε μέσω του προσδιορισμού της σταθεράς σύνδεσης K<sub>b</sub>. Πραγματοποιήθηκε η μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των ενώσεων με το αιθίδιο βρωμίδιο και προσδιορίστηκε η ικανότητα των ενώσεων να το αντικαθιστούν στο σύμπλοκό τους με το DNA. Ο πιθανότερος τρόπος σύνδεσης των συμπλόκων **1-8** με το DNA είναι μέσω παρεμβολής. Επίσης, μελετήθηκε η ικανότητα σύνδεσης των συμπλόκων **1-8** με τη βοοειδή και την ανθρώπινη αλβουμίνη ορού με φασματοσκοπία φθορισμού και υπολογίστηκαν οι σταθερές σύνδεσης των ενώσεων μαζί τους. Τέλος, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των συμπλόκων μέσω της μείωσης της ενεργότητας των σταθερών ελεύθερων ριζών DPPH και ABTS και του ανταγωνισμού για τη δέσμευση ριζών υδροξυλίου.

## SUMMARY

In the present MSc Thesis, nine mononuclear cobalt (II) complexes with substituted salicylaldehydes (5-NO<sub>2</sub>-salOH, 3,5-diCl-salOH, 5-Me-salOH, 3,5-diBr-salOH, 5-F-salOH και 5-Cl-salOH) in the presence of a nitrogen-donor heterocyclic ligand 2,2'-bipyridine (bipy) or 1,10-phenanthroline (phen) have been synthesized and characterized with physicochemical techniques and various spectroscopies. The crystal structures of complexes [Co(5-Me-salo)(phen)<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>) and [Co(3,5-diCl-salo)<sub>2</sub>(bipy)].0.5(3,5-diCl-salOH) have been determined by X-ray crystallography. The ability of complexes **1-8** to bind to CT DNA has been studied by UV-vis spectroscopy, viscosity measurements and competitive studies with ethidium bromide (EB). The most possible mode of DNA interaction is *via* intercalation. The affinity of the complexes for bovine and human serum albumins was investigated by fluorescence emission spectroscopy and the corresponding binding constants were determined. The evaluation of the antioxidant activity of the complexes was focused on their ability to scavenge 1,1-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) free radicals and to reduce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.