



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ Cu(II) , ΤΟΥ Zn(II) ΚΑΙ ΤΟΥ Fe(III) ΜΕ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ - ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ
ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΞΕΡΡΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

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

ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ Cu(II), ΤΟΥ Zn(II) ΚΑΙ ΤΟΥ Fe(III) ΜΕ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ - ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΞΕΡΡΑΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ ΔΙ-ΙΔΡΥΜΑΤΙΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.) «ΑΝΟΡΓΑΝΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»

του κ. Ξέρρα Παναγιώτη_____

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Γεώργιος Ψωμάς

Θέμα: «ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ Cu(II), ΤΟΥ Zn(II) ΚΑΙ ΤΟΥ Fe(III) ΜΕ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ - ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από την Ε.Δ.Ε.: 4/19-12-2017

- 1 Σωτήριος Χατζηκακού: Καθηγητής
- 2 Γεώργιος Ψωμάς: Αναπληρωτής Καθηγητής
- 3 Θεόδωρος Λαζαρίδης: Επίκουρος Καθηγητής

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας στις:
3/7/2020_____

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

Ο/Η Γραμματέας

Περιεχόμενα

| | |
|---|----|
| Πρόλογος | 1 |
| Θεωρητικό μέρος | 2 |
| 1) Βιολογική Δράση του χαλκού | 3 |
| 1.1) Χαλκός ως ιχνοστοιχείο..... | 3 |
| 1.2) Απορρόφηση χαλκού..... | 3 |
| 1.3) Μεταφορά και απέκκριση..... | 4 |
| 1.4) Βιολογικός ρόλος του χαλκού..... | 4 |
| 1.5) Τύποι ενεργών κέντρων χαλκού..... | 5 |
| 1.6) Αντιμικροβιακός ρόλος του χαλκού..... | 13 |
| 1.7) Βιολογική δράση σύμπλοκων ενώσεων του χαλκού..... | 15 |
| 2) Βιολογική Δράση του ψευδαργύρου | 20 |
| 2.1) Ψευδάργυρος ως ιχνοστοιχείο..... | 20 |
| 2.2) Απορρόφηση του ψευδαργύρου..... | 21 |
| 2.3) Μεταφορά και απέκκριση..... | 21 |
| 2.4) Βιολογικός ρόλος του ψευδαργύρου..... | 23 |
| 2.5) Αντιμικροβιακός ρόλος του ψευδαργύρου..... | 28 |
| 2.6) Βιολογική δράση σύμπλοκων ενώσεων του ψευδαργύρου..... | 29 |
| 3) Βιολογική Δράση του σιδήρου | 34 |
| 3.1) Σίδηρος ως ιχνοστοιχείο..... | 34 |
| 3.2) Απορρόφηση του σιδήρου..... | 34 |
| 3.3) Μεταφορά και απέκκριση..... | 36 |
| 3.4) Βιολογικός ρόλος του σιδήρου..... | 39 |
| 3.5) Βιολογική δράση σύμπλοκων ενώσεων του σιδήρου..... | 43 |
| 4) Κινολόνες | 47 |
| 4.1) Γενικά για τις κινολόνες..... | 47 |
| 4.2) Βιολογική δράση των κινολονών..... | 54 |
| 4.3) Σύμπλοκα χαλκού με κινολόνες..... | 56 |
| 4.4) Σύμπλοκα ψευδαργύρου με κινολόνες..... | 59 |
| 4.5) Σύμπλοκα σιδήρου με κινολόνες..... | 60 |
| 5) Οφλοξασίνη (Ofloxacin) | 62 |
| 5.1) Φαρμακευτική δράση της Οφλοξασίνης..... | 62 |
| 5.2) Σύμπλοκα μετάλλων με Ofloxacin..... | 63 |
| 6) Λομεφλοξασίνη (Lomefloxacin) | 67 |
| 6.1) Φαρμακευτική δράση της Λομεφλοξασίνης..... | 67 |
| 6.2) Σύμπλοκα μετάλλων με Lomefloxacin..... | 68 |
| 7) Ενοξασίνη (Enoxacin) | 70 |
| 7.1) Φαρμακευτική δράση της Ενοξασίνης..... | 70 |
| 7.2) Σύμπλοκα μετάλλων με Enoxacin..... | 71 |
| Πειραματικό μέρος | 74 |

| | |
|--|-----|
| 8) Εισαγωγή | 75 |
| 8.1) Σκοπός..... | 75 |
| 8.2) Όργανα και αντιδραστήρια..... | 75 |
| 8.3) Σύνθεση των ενώσεων..... | 76 |
| 9) Μελέτη των φασματοσκοπικών ιδιοτήτων των συμπλόκων ενώσεων | 80 |
| 9.1) Μελέτη με φασματοσκοπία υπερύθρου..... | 80 |
| 9.2) Μελέτη με φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis)..... | 87 |
| 9.3) Μαγνητικές μετρήσεις των συμπλόκων ενώσεων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος..... | 90 |
| 9.4) Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων ενώσεων 1-8..... | 90 |
| 10) Μελέτης της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με αλβουμίμες ορού αίματος | 93 |
| 10.1) Αλληλεπίδραση των συμπλόκων με τη BSA..... | 94 |
| 10.2) Αλληλεπίδραση των συμπλόκων με τη HSA..... | 100 |
| 11) Μελέτης της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με DNA | 106 |
| 11.1) Αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με DNA με φασματοσκοπία UV-Vis..... | 106 |
| 11.2) Μελέτη της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με ιξωδομετρία..... | 112 |
| 11.3) Μελέτη της αλληλεπίδρασης με κυκλική βολταμμετρία..... | 113 |
| 11.4) Μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των συμπλόκων ενώσεων με το EB..... | 115 |
| 12) Συμπεράσματα | 121 |
| Βιβλιογραφία | 123 |

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η σύνθεση και η μελέτη της δομής και ορισμένων βιολογικών ιδιοτήτων συμπλόκων ενώσεων του δισθενούς χαλκού με το αντιμικροβιακό φάρμακο *ofloxacin*, του δισθενούς ψευδαργύρου με το αντιμικροβιακό φάρμακο *lomefloxacin* καθώς επίσης και του τρισθενούς σιδήρου με το αντιμικροβιακό φάρμακο *enoxacin* απουσία ή παρουσία δοτών ατόμων αζώτου ως ligands όπως η 1,10-φαινανθρολίνη, η 2,2'-διπυριδίνη και η 2,2'-διπυριδυλαμίνη.

Οι σύμπλοκες ενώσεις που παρασκευάστηκαν χαρακτηρίστηκαν δομικά με φυσικοχημικές και φασματοσκοπικές αναλύσεις. Στη συνέχεια, μελετήθηκε ο τρόπος και η ισχύς της αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με το calf-thymusDNA με φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού, με ιξωδομετρία και με κυκλική βολταμμετρία. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μελέτη της ανταγωνιστικής δράσης των ενώσεων με το αιθίδιοβρωμίδιο με σκοπό την επιβεβαίωση της ικανότητας των συμπλόκων να το αντικαθιστούν στο EB-DNA. Τέλος, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση των συμπλόκων ενώσεων με την ανθρώπινη και τη βοοειδή αλβουμίνη ορού αίματος.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον αναπληρωτή καθηγητή Γ.Ψωμά για την πλήρη υποστήριξη, τη σωστή καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της πειραματικής εργασίας αλλά και κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον καθηγητή Σ.Χατζηκακού, από το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων καθώς και τον επίκουρο καθηγητή Θ.Λαζαρίδη για την ηθική στήριξη.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια διδάκτορα Φ. Δίμηζα, καθώς και την υποψήφια διδάκτορα Χ. Κακουλίδου για τη βοήθεια και τη συνεργασία τους καθώς και όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Ανόργανης Χημείας του Τμήματος Χημείας του ΑΠΘ για την άψογη συνεργασία και τη συνεχή στήριξή τους.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

1 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ

1.1 ΧΑΛΚΟΣ ΩΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΟ

Ο χαλκός είναι ένα από τα σημαντικότερα ιχνοστοιχεία του ανθρώπινου οργανισμού και απαντάται στις ενώσεις του με δύο αριθμούς οξειδωσης (+1 και +2). Ως μέταλλο δεν είναι ιδιαίτερα δραστικό για τον λόγο αυτό δεν σχηματίζει με ευκολία ενώσεις με άλλα στοιχεία. Γενικά είναι από τα ιχνοστοιχεία που βρίσκονται σε όλα τα όργανα και τους ιστούς του ανθρώπινου σώματος και τις περισσότερες φορές βρίσκεται συνδεδεμένος με πρωτεΐνες ή άλλες οργανικές ενώσεις και όχι ως ελεύθερο ιόν. Στον ανθρώπινο οργανισμό ο χαλκός αποθηκεύεται στην σερουροπλασμίνη, η οποία απελευθερώνεται από το ήπαρ σε περίπτωση ανάγκης. Ο χαλκός βρίσκεται στο αίμα ως συστατικό ερυθρών αιμοσφαιρίων κατά το σχηματισμό της αιμοσφαιρίνης για την ενεργοποίηση του σιδήρου καθώς και σε ορισμένα ένζυμα, συμβάλλοντας στην καλή λειτουργία του μυϊκού, νευρικού και σκελετικού συστήματος. (1)

Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις χαλκού βρίσκονται στο ήπαρ, στην καρδιά, στον εγκέφαλο, στο στομάχι και σε διάφορα τμήματα του εντέρου. Όλα τα υγρά του σώματος περιέχουν συγκροτήματα χαλκού με τις πιο υψηλές συγκεντρώσεις να εντοπίζονται στη χολή, η οποία παρέχει τη σημαντικότερη διαδρομή απέκκρισης για το χαλκό, και σε μικρότερο βαθμό στα παγκρεατικά ένζυμα. Σημαντικές ποσότητες χαλκού μπορούν να βρεθούν στον ιδρώτα σε αντίθεση με τα ούρα που περιέχουν πολύ χαμηλές ποσότητες. (2)

Στον (πίνακα1) παρατηρούμε τις τυπικές τιμές του χαλκού στα διάφορα όργανα του ανθρώπινου σώματος, τόσο για ένα ενήλικα όσο και για ένα παιδί.

Πίνακας 1. Περιεκτικότητα σε χαλκό (τυπικές τιμές σε mg/g υγρών σώματος) των διαφόρων οργάνων του σώματος.

| Όργανο | Ενήλικας | Παιδί |
|---------------|-----------------|--------------|
| Ήπαρ | 5,1 | 19,0 |
| Καρδιά | 3,0 | 2,6 |
| Νεφροί | 2,0 | 3,1 |
| Εγκέφαλος | 6,3 | 3,7 |

1.2 ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ

Ο χαλκός απορροφάται σε όλο το μήκος του λεπτού εντέρου. Το 30-50 % του χαλκού που προσλαμβάνεται απορροφάται στη δισθενή μορφή του Cu(II) παρά στη μονοσθενή Cu(I). Ο χαλκός που απορροφάται μεταφέρεται διαμέσου της πυλαίας κυκλοφορίας στο ήπαρ, το οποίο και αποτελεί το κεντρικό όργανο της ομοιοστάσης του χαλκού και παράλληλα ρυθμίζει τόσο την

αποθήκευση όσο και την απέκκρισή του.(3)

Διάφορα αμινοξέα όπως, η ιστιδίνη, καθώς επίσης και διάφορα οργανικά οξέα που λαμβάνονται από τα τρόφιμα είναι κάποιες από τις ουσίες που μπορούν να διευκολύνουν την απορρόφηση του χαλκού. Αντίθετα, ο ψευδάργυρος, το ασβέστιο, ο φώσφορος και ο σίδηρος φαίνεται ότι μειώνουν την απορρόφηση του χαλκού στον ανθρώπινο οργανισμό, σχηματίζοντας βιολογικές ενώσεις που αναστέλλουν ή παρεμποδίζουν την ομοίωση του χαλκού. Η βιταμίνη C μπορεί να αλληλεπιδράσει με το χαλκό, μειώνοντας την απορρόφηση του εξαιτίας της αναγωγής του χαλκού από τη δισθενή λιγότερο απορροφήσιμη μονοθενή κατάσταση. (3)

1.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΑΠΠΕΚΡΙΣΗ

Ο χαλκός μεταφέρεται από το έντερο στο ήπαρ δεσμευμένος χαλαρά κυρίως στην αλβουμίνη και συγκεκριμένα στο αμινοτελικό άκρο της, το οποίο και έχει υψηλή συγγένεια προς το χαλκό Cu(II). Ο χαλκός επίσης μεταφέρεται προσδεμένος σε μια ειδική πρωτεΐνη, την τρανσκουπρεΐνη (Tc), και σε μικρότερες ποσότητες μεταφέρεται προσδεμένος σε αμινοξέα, όπως η ιστιδίνη και η κυστεΐνη. (4)

Όσον αφορά τα κύτταρα, περισσότερη από τη μισή ποσότητα του συσσωρευμένου χαλκού βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και ένα τέταρτο στον πυρήνα. Πιο συγκεκριμένα, ο χαλκός προσδέεται στη μεταλλοθειονίνη, από όπου μεταφέρεται με αργό ρυθμό στα ένζυμα που περιέχουν χαλκό, όπως η σερουλοπλασμίνη η οποία απελευθερώνεται από το ήπαρ στο αίμα και μεταφέρει το χαλκό στους ιστούς. (4)

Η μεγαλύτερη ποσότητα χαλκού που απορροφάται εκκρίνεται από το ήπαρ στη χολή και απεκκρίνεται με τα κόπρανα αλλά και στα ούρα όπου μπορεί να γίνει και η αντίληψη με σκοπό την διάγνωση παθολογικών καταστάσεων (λοιμώξεις, κίρρωση του ήπατος, νόσος Wilson). (4)

1.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΧΑΛΚΟΥ.

Ο ρόλος του χαλκού στα ένζυμα στα οποία συναντάται είναι πολυδιάστατος. Η παρουσία του μετάλλου σε ορισμένες περιπτώσεις έχει σχέση με την αποθήκευσή του, κυρίως σε πρωτεΐνες που σχετίζονται με μεταφορά του χαλκού, ενώ σε άλλες περιπτώσεις συμμετέχει στη μεταφορά ηλεκτρονίων ή έχει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του δραστικού κέντρου ενός ενζύμου. Ο βιολογικός ή καταλυτικός ρόλος του χαλκού προκύπτει από το γεγονός ότι το συγκεκριμένο στοιχείο βρίσκεται σε διάφορες οξειδωτικές καταστάσεις, οι οποίες εναλλάσσονται μεταξύ. Σε βιολογικά συστήματα ο χαλκός συμμετέχει στον καταλυτικό κύκλο αλλάζοντας την οξειδωτική του κατάσταση από Cu(I) και Cu(II) και αντίστροφα, ανάλογα με τον αριθμό ιόντων χαλκού και τα δυναμικά οξειδοαναγωγής που καθορίζουν τη ροή των ηλεκτρονίων. (5)

Βέβαια εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι τα ιόντα χαλκού είναι ιδιαίτερα δραστικά και μπορεί να οδηγήσουν στο σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) που μπορούν να καταστρέψουν τις κυτταρικές μεμβράνες, τις πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Με σκοπό να τροφοδοτηθούν οι πρωτεΐνες και τα ένζυμα με τις απαραίτητες ποσότητες χαλκού, χωρίς όμως να υπάρχει κίνδυνος καταστροφής εξαιτίας των δραστικών ιόντων του, τα κύτταρα ανέπτυξαν μηχανισμούς μεταφοράς και ομοιόστασης του μετάλλου, διατηρώντας τη συγκέντρωση του χαλκού μέσα σε ορισμένα επιτρεπτά όρια. Την ομοιόσταση του χαλκού αναλαμβάνουν ορισμένες πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης, μεταφορείς χαλκού, που περιέχουν ενδομεμβρανικές θέσεις δέσμευσής του. (6)

1.5 ΤΥΠΟΙ ΕΝΕΡΓΩΝ ΚΕΝΤΡΩΝ ΧΑΛΚΟΥ

Οι βιολογικές ενώσεις, πρωτεΐνες και ένζυμα, στις οποίες συναντάμε το χαλκό διαχωρίζονται σε κατηγορίες ανάλογα με τα μεταλλικά τους κέντρα. Τα μεταλλικά κέντρα των πρωτεϊνών του χαλκού διακρίνονται σε τρεις τύπους: Τύπος I, Τύπος II και Τύπος III, Στον (πίνακα 2) παρατηρούμε τις κυριότερες χαλκοπρωτεΐνες και τους τύπους των μεταλλικών κέντρων που τις χαρακτηρίζουν. (5)

Πίνακας 2. *Μεταλλικά κέντρα χαλκοπρωτεϊνών.*

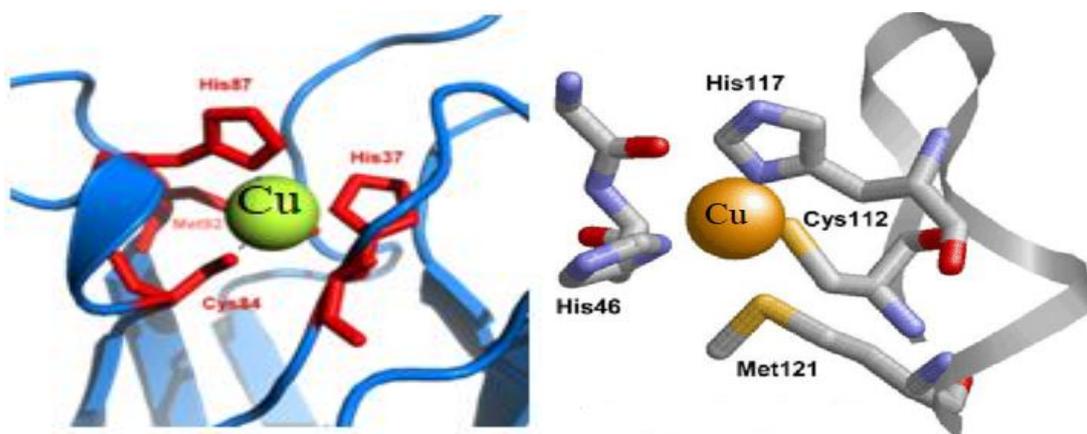
| Μεταλλικά κέντρα Τύπου I (Μπλε πρωτεΐνες του χαλκού) |
|--|
| α) Μικρές μπλε πρωτεΐνες (πλαστοκυανίνες, αζουρίνη, χρυσοκυανίνη, φυτοκυανίνες, ρουστικυανίνες) |
| β) Μπλε οξειδάσες (οξειδάση των ασκορβικών, σερουλουπασμίνη, λακκάση) |
| γ) Ρεδουκτάση των νιτρωδών |
| Μεταλλικά κέντρα Τύπου II |
| α) Σουπεροξειδική δισμουτάση Cu-Zn, |
| β) Διοξυγενάσες |
| γ) Μονοξυγενάσες (υδροξυλάση της ντοπαμίνης, μονοξυγενάση του μεθάνιου, υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης) |
| δ) Ρεδουκτάση των νιτρωδών |
| ε) Μη-μπλε οξειδάσες (οξειδάση των αμινών, οξειδάση των διαμινών, οξειδάση της γαλακτόζης, οξειδάση της λυσίνης) |
| Μεταλλικά κέντρα Τύπου III |
| α) Οξειδάση της κατεχόλης |
| β) Αιμοκυανίνες |
| γ) Τυροσινάση |
| Μικτά μεταλλικά κέντρα |
| α) Τύπου I + τύπου II: (Ρεδουκτάση των νιτρωδών) |
| β) Τύπου I + τριπυρινικά: (Μπλέοξειδάσες, οξειδάση των ασκορβικών, σερουπασμίνη, λακκάση) |
| γ) Κέντρα Cu + κέντρα Fe: (οξειδάση του κυτοχρώματος c, ρεδουκτάση του N ₂ O). |

▪ ΧΑΛΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΥΠΟΥ-I:

Στην κατηγορία αυτή των πρωτεϊνών, η παρουσία του χαλκού είναι υπεύθυνη για το κυανό χρώμα τόσο της κυανής οξειδάσης όσο και των κυανών πρωτεϊνών μεταφοράς ηλεκτρονίων. Βασικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών αυτών είναι η εμφάνιση μιας έντονης ταινίας απορρόφησης γύρω στα 600nm, με συντελεστή απόσβεσης πολύ μεγαλύτερο σε σχέση με τα συνηθισμένα σύμπλοκα του Cu(II), καθώς επίσης ταινίες απορρόφησης στα 450 και 750 nm που αποδίδονται στο κέντρο του χαλκού. Επίσης εμφανίζονται υπέρλεπτες σταθερές σύζευξης στα φάσματα EPR των πρωτεϊνών αυτών. (6)

A) Μπλε πρωτεΐνες του χαλκού:

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι πλαστοκυανίνες και οι αζουρίνες. Οι πρώτες έχουν βρεθεί στους χλωροπλάστες των φυτών καθώς λειτουργούν ως μεταφορείς ηλεκτρονίων κατά την φωτοσύνθεση και την κυτταρική αναπνοή. Η σύνθεση της πλαστοκυανίνης ξεκινά στο κυτταρόπλασμα, με την προσθήκη ενός πολυπεπτιδίου και ακολουθεί η μεταφορά της στους χλωροπλάστες, όπου σχηματίζεται η αποπλαστοκυανίνη που στη συνέχεια δεσμεύει το χαλκό. Η δομή της πλαστοκυανίνης μοιάζει να είναι κυλινδρική με το μεταλλικό ιόν τοποθετημένο στο εσωτερικό του μορίου. Η γεωμετρία του μεταλλικού κέντρου είναι παραμορφωμένη τετραεδρική, μία ενδιάμεση γεωμετρία σε σχέση με την τετραεδρική γεωμετρία που προτιμά ο Cu(I) και την επίπεδη τετραγωνική του Cu(II). Η επιφάνεια της πρωτεΐνης αποτελείται από δύο ενεργά τμήματα που λειτουργούν ως θέσεις αναγνώρισης και δέσμευσης ενώσεων που συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Παρόμοιος είναι ο ρόλος και η δομή της αζουρίνης. (7)



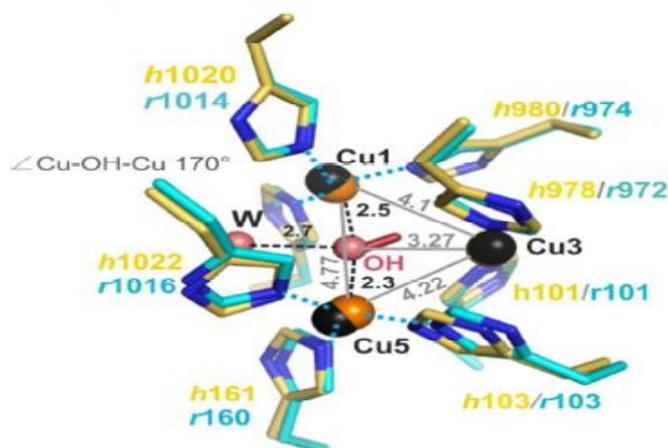
Σχήμα 1: Μεταλλικά κέντρα της πλαστοκυανίνης (αριστερά) και της αζουρίνης (δεξιά).

B) Μπλέοξειδάσες

Μια άλλη σημαντική ομάδα χαλκοπρωτεϊνών μεταλλικού κέντρου τύπου I είναι και οι

μπλε οξειδάσες, στις οποίες ανήκουν οι σερουλοπλασμίνη και η λακκάση. Η πρώτη βρίσκεται στο πλάσμα των σπονδυλωτών και είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά και την ομοιόσταση του χαλκού ενώ ταυτόχρονα δρα ως οξειδάση για ορισμένα υποστρώματα που οξειδώνουν τον Fe(II). Η καταλυτική δράση της σερουλοπλασμίνης είναι ιδιαίτερα σημαντική αλλά και μοναδική στον ανθρώπινο ορό αφού καταλύει ταχύτατα την οξείδωση του Fe(II) της φερριτίνης σε Fe(III). (5)

Σχετικά με τη δομή της πρωτεΐνης φαίνεται ότι στην ανθρώπινη σερουπλασμίνη υπάρχουν δύο κέντρα χαλκού, το ένα αποτελείται από ένα μεταλλικό κέντρο τύπου I και τύπου II ενώ το άλλο περιέχει τύπου II και τύπου III. Πιστεύεται ότι τα κέντρα τύπου I της σερουλοπλασμίνης και αζουρίνης είναι παρόμοια λόγω ομοιοτήτων στη θέση της κυστεΐνης, ιστιδίνης και μεθειονίνης. (5) Πρόσφατη έρευνα σε σερουλοπλασμίνη από αρουραίους έδειξε ότι η θέση δέσμευσης του χαλκού φαίνεται ότι δεν είναι τόσο εκλεκτική ως προς το συγκεκριμένο μέταλλο αφού υπάρχει δυνατότητα δέσμευσης και άλλων μετάλλων όπως Fe, Co και Ni, ενώ επίσης υπάρχει και μία περίπτωση μίας τρίτης θέσης δέσμευσης του μετάλλου στο εσωτερικό της πρωτεΐνης με ίσως καλύτερες προοπτικές σε σχέση με τις άλλες δύο που βρίσκονται στην επιφάνειά της. (8)



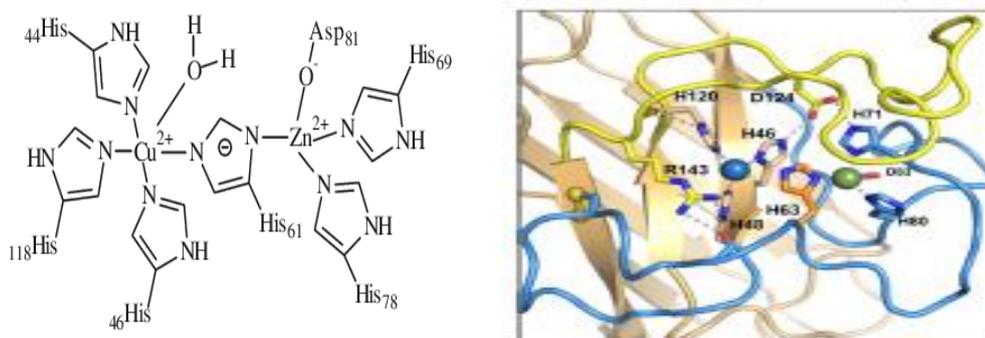
Σχήμα 2: Μεταλλικό κέντρο της σερουπλασμίνης αρουραίου *rCr* και σύγκριση με την ανθρώπινη *hCr*.

▪ ΧΑΛΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΥΠΟΥ-II

Στη δεύτερη κατηγορία πρωτεϊνών του χαλκού παρατηρείται το μεταλλικό κέντρο τύπου II όπου εμφανίζεται γεωμετρία παρόμοια με αυτή των συμπλόκων του Cu(II) τετραγωνικής συμμετρίας. Το χρώμα των πρωτεϊνών αυτών δεν είναι τόσο κυανό όσο των μπλε πρωτεϊνών του χαλκού και δεν εμφανίζονται ενεργές στη φασματοσκοπία EPR. (5)

A) Σουπεροξειδική δισμουτάση Cu-Zn(Cu-Zn SOD)

Η σουπεροξειδική δισμουτάση είναι ένα ένζυμο που έχει ρόλο να προστατεύει το DNA από τις ρίζες (O_2^-) και τα προϊόντα τους ενώ συγχρόνως δεν επιτρέπει τη μεγάλη συγκέντρωση ελεύθερων ιόντων χαλκού, καθώς τα ιόντα χαλκού Cu(I) και Cu(II) συναρμολογούνται πολύ ισχυρά με τις ιστιδίνες της σουπεροξειδικής δισμουτάσης. Το ένζυμο αυτό θεωρείται πολύ καλός θεραπευτικός παράγοντας έναντι ασθενειών που προκαλούνται από την παρουσία δραστικών ριζών του οξυγόνου, όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, η ισχαιμία, νευροεκφυλιστικές διαταραχές και η γήρανση. (9) Αυτές οι πρωτεΐνες καταλύουν τη διάσπαση των ελεύθερων ριζών ανιόντων σουπεροξειδίου (O_2^-) σε μοριακό οξυγόνο και υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η διάσπαση αυτή συνοδεύεται από την οξειδοαναγωγή των μεταλλικών ιόντων που υπάρχουν στις δραστικές θέσεις των διαφόρων ειδών SOD. Ανάλογα με τα μεταλλικά ιόντα που συναρμολογούνται στο ένζυμο ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες. Cu,Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD και Ni-SOD.(10)

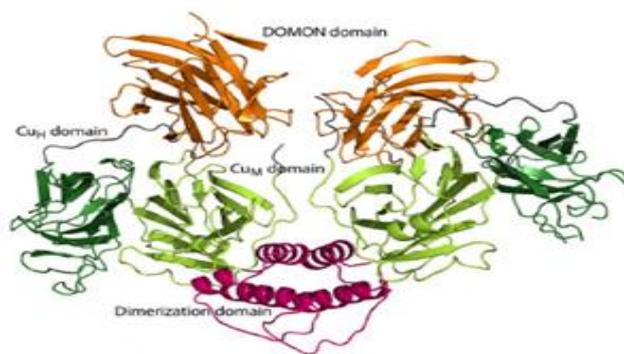


Σχήμα 3: Μεταλλικό κέντρο της Cu,Zn-SOD

Η σουπεροξειδική δισμουτάση που απομονώθηκε από ευκαρυωτικούς οργανισμούς περιέχει χαλκό και ψευδάργυρο όπως φαίνεται στο σχήμα 3. Ο χαλκός είναι συναρμολογμένος με τέσσερις ιμιδαζολικά ligands και ένα H_2O σε παραμορφωμένη γεωμετρία και είναι το μέταλλο, στο οποίο οφείλεται η καταλυτική δράση του ενζύμου. Ο ψευδάργυρος από την άλλη βρίσκεται σε τετραεδρική γεωμετρία με τρία ιμιδαζολικά ligands και ένα δότη οξυγόνου, ενώ ο ρόλος του είναι κυρίως δομικός αφού συμβάλει στο σχηματισμό και τη σταθεροποίηση του ενεργού κέντρου και αυξάνει έμμεσα τη δραστηριότητα του χαλκού. (11)

B) Η υδροξυλάση της ντοπαμίνης

Η ντοπαμίνη είναι μία οργανική ουσία που ανήκει στις κατεχολαμίνες, παράγεται σε διάφορα σημεία του εγκεφάλου και λειτουργεί ως νευροδιαβιβαστής. Διάφορες ασθένειες όπως η νόσος του Πάρκινσον, η σχιζοφρένεια και το σύνδρομο ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας, οφείλονται στην εκφύλιση των νευρώνων που εκκρίνουν την ντοπαμίνη. Η υδροξυλάση της ντοπαμίνης είναι ένα ένζυμο το οποίο καταλύει την μετατροπή της ντοπαμίνης σε νορεπινεφρίνη, και αποτελείται από τέσσερις τομείς, όπως φαίνεται στο σχήμα 4.

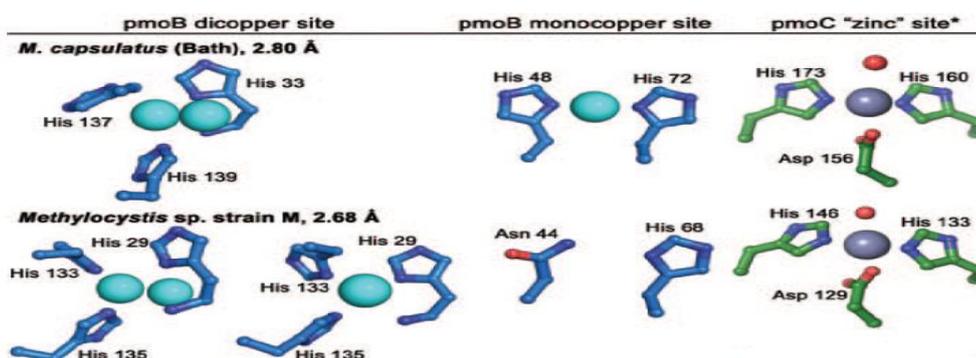


Σχήμα 4: Προτεινόμενη δομή της ανθρώπινης υδροξυλάσης της ντοπαμίνης

Οι δύο από τις τέσσερις τομείς Cu_M και Cu_H περιέχουν ένα άτομο Cu που συναρμόζεται με τρεις ιστιδίνες στον Cu_H τομέα και δύο ιστιδίνες και μία μεθειονίνη στο Cu_M τομέα. Ο χαλκός που περιέχεται στον Cu_M τομέα φαίνεται να έχει σχέση με τη δέσμευση μοριακού οξυγόνου με σκοπό την υδροξυλίωση του υποστρώματος, ενώ ο χαλκός στον Cu_H τομέα σχετίζεται με τη μεταφορά ηλεκτρονίων. (12)

Γ) Η μονοξυγενάση του μεθανίου

Η μονοξυγενάση του μεθανίου είναι ένα ένζυμο, το οποίο υπάρχει σε ορισμένα βακτήρια και καταλύει τη μετατροπή του μεθανίου με μεθανόλη. Η έρευνα για την πλήρη κατανόηση του τρόπου λειτουργίας του συγκεκριμένου ενζύμου έχει μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη νέων καταλυτών, φιλικών προς το περιβάλλον, για την άμεση μετατροπή του μεθανίου σε μεθανόλη. Η δομή του ενζύμου παρουσιάζει διαφοροποίηση, ανάλογα με το μικροοργανισμό από τον οποίο προέρχεται, τόσο ως προς τις υπομονάδες από τις οποίες αποτελείται όσο και ως προς τα μεταλλικά κέντρα. Κρυσταλλογραφικές μελέτες που προέκυψαν από αναλύσεις σε δύο διαφορετικούς μικροοργανισμούς *Methylococcus capsulatus* και *Methylocystis sp. strain M* έδειξαν τα αποτελέσματα που φαίνονται στο σχήμα 5.



Σχήμα 5: Προτεινόμενη δομή του μεταλλικού κέντρου της ανθρώπινης υδροξυλάσης της ντοπαμίνης

Όπως φαίνεται και στο σχήμα 5 σε μία από τις τρεις υπομονάδες του ενζύμου, την *pmoB* όπως αναφέρεται, παρατηρούνται μονοπυρηνικά και διπυρηνικά μεταλλικά κέντρα του χαλκού καθώς και ένα ακόμη μεταλλικό κέντρο ψευδαργύρου. Ωστόσο η παρουσία των μετάλλων και ο

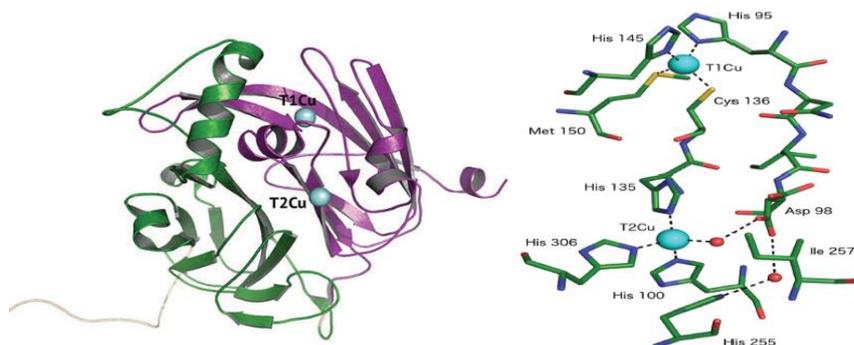
τρόπος συναρμογής τους δεν έχει επιβεβαιωθεί πλήρως και βρίσκεται υπό μελέτη. (13)

Δ) Η υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης

Η υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης είναι ένα ένζυμο που περιέχει χαλκό και καταλύει τη μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη. Στα θηλαστικά η αντίδραση αυτή ρυθμίζει την ομοιόσταση της φαινυλαλανίνης όταν οι συγκεντρώσεις αυτής αυξάνονται, από την παρουσία πρωτεϊνών που προέρχονται από τη διατροφή και μέσα από μία σειρά αντιδράσεων οδηγεί στη μετατροπή της σε προϊόντα που τροφοδοτούν τον κύκλο του κιτρικού οξέος, όπως το φουμαρικό οξύ και το ακετοξικό οξύ. Το ένζυμο αυτό συσσωρεύεται στο ήπαρ όπου η απομάκρυνση της περίσσειας φαινυλαλανίνης αποτρέπει τη νευροτοξική επίδραση και την εμφάνιση φαινυλοκετονουρίας. (14) Ωστόσο ο χαλκός δεν φαίνεται να έχει κάποιο ρόλο στην καταλυτική δράση του ενζύμου αφού αυτή διατηρήθηκε απουσία του μετάλλου (15) (16), αντίθετα σημαντικός είναι ο ρόλος του σιδήρου.

▪ ΧΑΛΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΥΠΟΥ I ΚΑΙ II

Στην κατηγορία αυτή το πιο χαρακτηριστικό ένζυμο είναι η ρεδουκτάση των νιτροδών. Συναντάται στα φυτά, στα φύκια και στους μύκητες, ως ένα κεντρικό σημείο του μεταβολισμού του αζώτου. Ο καταλυτικός ρόλος του ενζύμου σχετίζεται με τη μετατροπή των νιτρικών προς άζωτο μέσα από μία σειρά αντιδράσεων. Το ένζυμο αποτελείται από δύο μεταλλικά κέντρα χαλκού T1Cu και T2Cu που ξεχωρίζουν από το χρώμα τους, το ένα είναι μπλε και το άλλο πράσινο, αντίστοιχα. Μάλιστα έχουν ανακαλυφθεί και ορισμένες μορφές του ενζύμου με τρία μεταλλικά κέντρα χαλκού, με ένα επιπλέον κέντρο T1Cu. (17)



Σχήμα 6: Προτεινόμενη δομή της ρεδουκτάσης των νιτροδών.

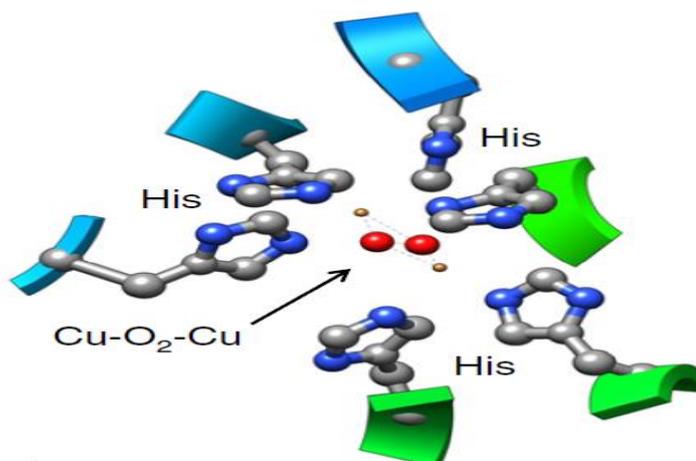
Όσον αφορά τη δομή του συγκεκριμένου ενζύμου στο κέντρο χαλκού T1Cu, ο χαλκός είναι συναρμοσμένος με μία κυστεΐνη, μια μεθειονίνη και με δύο ιστοιδίνες ενώ υπάρχει και μία γέφυρα κυστεΐνης-μεθειονίνης που ενώνει τα δύο κέντρα χαλκού. Επίσης υπάρχει μία ακόμη γέφυρα που ενώνει τα δύο μεταλλικά κέντρα, ξεκινά από την ιστοιδίνη-95 που είναι συνδεδεμένη στο κέντρο τύπου I και τελειώνει στο ασπαραγινικό οξύ-98 και έχει το ρόλο αισθητήρα

επιτρέποντας την ενδομοριακή μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ των δύο κέντρων. Τέλος στο κέντρο T2Cu, που είναι και το κέντρο που οφείλεται ο καταλυτικός ρόλος του ενζύμου, ο χαλκός συναρμολύεται και με τρεις ακόμη ιστιδίνες. (17)

▪ ΧΑΛΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΥΠΟΥ III

Στις χαλκοπρωτεΐνες τύπου III συναντάται ένα μεταλλικό κέντρο, το οποίο περιέχει δύο άτομα Cu(II) και είναι διαμαγνητικό εξαιτίας της αντισιδηρομαγνητικής τους αλληλεπίδρασης. Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες σχετίζονται με τις αντιδράσεις οξειδαναγωγής του οξυγόνου, αφού έχουν το πλεονέκτημα να μεταφέρουν δύο ηλεκτρόνια χωρίς τον παράλληλο σχηματισμό δραστικών υπεροξειδίων.(5)

Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων πρωτεϊνών είναι οι αιμοκυανίνες που μεταφέρουν το οξυγόνο στο αίμα, ωστόσο ο συγκεκριμένος τύπος ενεργού κέντρου έχει βρεθεί και σε άλλες πρωτεΐνες όπως η οξειδάση της κατεχόλης και η τυροσινάση.



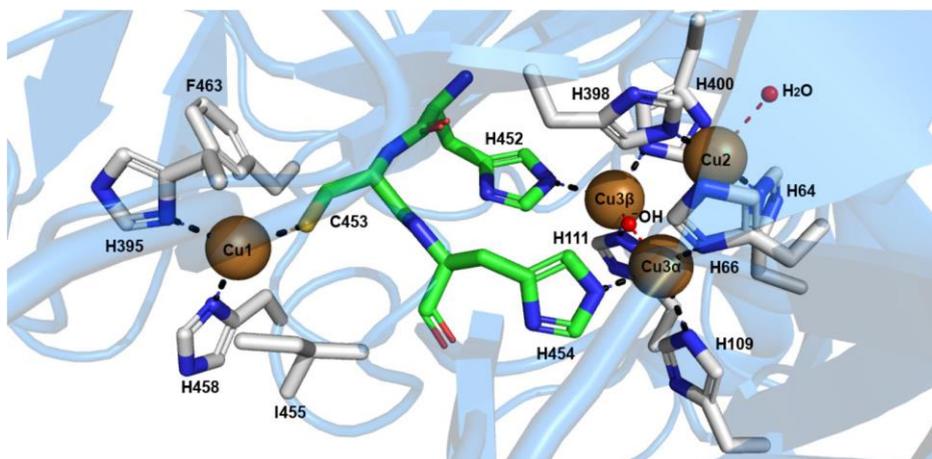
Σχήμα 7: Προτεινόμενη δομή του μεταλλικού κέντρου της αιμοκυανίνης.

Όπως φαίνεται και στο σχήμα 7 στο μεταλλικό κέντρο της αιμοκυανίνης συνυπάρχουν δύο μεταλλικά ιόντα Cu(I), τα οποία βρίσκονται σε κοντινή απόσταση μεταξύ τους και έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν αντιστρεπτά το οξυγόνο. Το κάθε άτομο χαλκού του μεταλλικού κέντρου ενώνεται με τρεις ιστιδίνες, και το σθένος του χαλκού μεταβάλλεται από +1 και +2 και αντίστροφα προκειμένου το ένζυμο να διεκπεραιώσει τον καταλυτικό του ρόλο. Η αιμοκυανίνη είναι εξωκυτταρική πρωτεΐνη, η οποία σταθεροποιείται με αλληλεπίδραση με ιόντα ασβεστίου. (18)

▪ ΧΑΛΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΥΠΟΥ-I,II,III

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα πρωτεϊνών στις οποίες συνυπάρχουν και τα τρία είδη

ενεργών κέντρων χαλκού είναι η λακκάση. Το ένζυμο αυτό έχει βρεθεί στα φυτά και σχετίζεται με την αποσύνθεση της λιγνίνης. Η λακκάση παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον αφού μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοκαταλύτης για την αποικοδόμηση πολλών ενώσεων, όπως λύματα βιομηχανιών και νοσοκομείων. Το μεταλλικό της κέντρο, όπως φαίνεται και στο σχήμα 8 που ακολουθεί αποτελείται από τέσσερα άτομα χαλκού, το άτομο Cu1 που σχηματίζει ένα παραμαγνητικό μεταλλικό κέντρο τύπου I, το άτομο χαλκού Cu2 με ένα κέντρο τύπου II και το ζεύγος ατόμων Cu3α και Cu3β που αποτελούν το διαμαγνητικό κέντρο τύπου III.



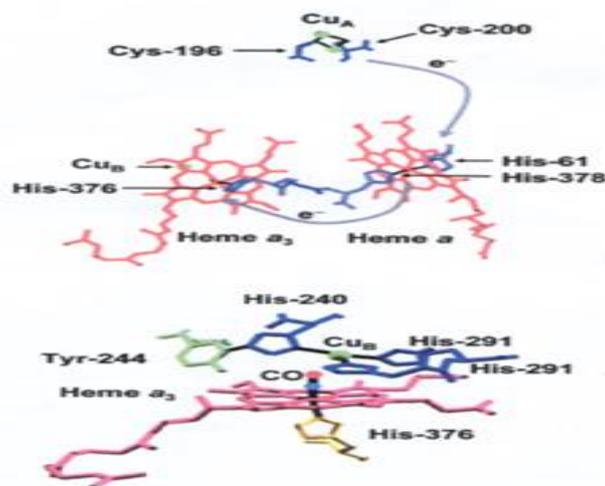
Σχήμα 8: Προτεινόμενη δομή του μεταλλικού κέντρου της λακκάσης.

Ο χαλκός Cu1 έχει το υψηλότερο δυναμικό οξειδοαναγωγής και είναι η θέση οξείδωσης του υποστρώματος. Αυτό το ιόν έχει μια τριγωνική διαμόρφωση με δύο ιστιδίνες και μία κυστεΐνη σε ισημερινές θέσεις και ένα αξονικό ligand το οποίο μεταβάλλεται ανάλογα με το μικροοργανισμό από τον οποίο έχει απομονωθεί το ένζυμο. Το ένα άτομο χαλκού τύπου II και τα δύο άτομα χαλκού τύπου III σχηματίζουν ένα cluster, όπου το μοριακό οξυγόνο ανάγεται και απελευθερώνεται νερό, ενώ η δομή ολοκληρώνεται από πλευρικές ομάδες ιστιδίνης και ένα υδροξύλιο, το οποίο διατηρεί τη σύνδεση μεταξύ των δύο ατόμων χαλκού Cu3α και Cu3β. (19).

▪ ΧΑΛΚΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΜΕ ΜΕΙΚΤΑ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΚΕΝΤΡΑ:

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί και η κατηγορία ενζύμων στα οποία τα μεταλλικά κέντρα του χαλκού αλληλεπιδρούν, όπως η οξειδάση του κυτοχρώματος c. Το ένζυμο αυτό συναρμόζεται με μοριακό οξυγόνο, το οποίο χρησιμοποιείται στην οξείδωση του κυτοχρώματος c. Η δομή του ενζύμου είναι χαρακτηριστική, αποτελείται από δύο υπομονάδες με δύο άτομα Cu σε απομακρυσμένες θέσεις. Το ένα άτομο χαλκού της υπομονάδας A συμμετέχει στη μεταφορά ηλεκτρονίων ενώ το άλλο άτομο στην υπομονάδα B αλληλεπιδρά με την αίμη ενός κυτοχρώματος c, η οποία έχει ένα δεσμευμένο άτομο σιδήρου στο πορφυρινικό

της κέντρο. (20)



Σχήμα 9: Κέντρα οξειδοαναγωγής της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (απεικόνιση της μεταφορά ηλεκτρονίων).

1.6 ANTIMΙΚΡΟΒΙΑΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ

Ο χαλκός ήταν ένα από τα πρώτα μέταλλα τα οποία ο άνθρωπος χρησιμοποίησε για την κατασκευή εργαλείων, σκευών ακόμη και όπλων που εξυπηρετούσαν τις καθημερινές του ανάγκες. Αυτό έγινε γιατί το συγκεκριμένο μέταλλο δε χρειάζεται ιδιαίτερη μεταλλουργική διαδικασία για την παρασκευή του σε καθαρή μορφή. Εμφανίζεται κυρίως στο φλοιό της γης, με την μορφή θειούχων ορυκτών, όπως ο χαλκοπυρίτης CuFeS_2 , ο κοβελλίνης CuS , ο χαλκοσίνης Cu_2S κ.α., από τα οποία παραλαμβάνεται με πυρομεταλλουργία. (21)

Η χρήση του χαλκού στην ιατρική ήταν γνωστή από τα αρχαία χρόνια αφού στην αρχαία Αίγυπτο χρησιμοποιήθηκε για πρώτη καταγεγραμμένη φορά για την αποστείρωση τραυμάτων στο στήθος αλλά και του πόσιμου νερού. Στη συνέχεια, και άλλοι λαοί, όπως οι Έλληνες, οι Ρωμαίοι και οι Αζτέκοι, χρησιμοποίησαν το χαλκό ή ενώσεις του για τη θεραπεία ασθενειών, όπως ο πονοκέφαλος, τα εγκαύματα αλλά και διάφορες εντερικές λοιμώξεις. Κατά τη διάρκεια μάλιστα της εμφάνισης της πανδημίας της χολέρας στο Παρίσι το 1832, παρατηρήθηκε ότι οι εργαζόμενοι στο χαλκό έμειναν απρόσβλητοι από την ασθένεια. (22)

Κατά τον 19^ο έως και τις αρχές του 20^{ου} αιώνα ενώσεις του χαλκού χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία της χρόνιας αδενίτιδας, του εκζέματος, του κνησμού, της σύφιλης, της αναιμίας, του αυτοάνοσου συνδρόμου του λύκου αλλά και της φυματίωσης, μέχρι και την εμφάνιση των πρώτων αντιβιοτικών. Όμως με την πάροδο του χρόνου, αρκετοί παθογόνοι μικροοργανισμοί απέκτησαν ανθεκτικότητα σε ορισμένα αντιβιοτικά και για το λόγο αυτό αναζητούνται συνεχώς νέοι τρόποι αντιμετώπισης και θεραπείας. Ένας τρόπος για την αντιμετώπιση της εξάπλωσης ασθενειών σε χώρους όπως νοσοκομεία, κλινικές, εγκαταστάσεις

επεξεργασίας τροφίμων και εγκαταστάσεις αναπαραγωγής ζώων, είναι η εναλλακτική χρήση μεταλλικών επιφανειών χαλκού, για παράδειγμα σε λαβές, πόμολα και διάφορα σημεία άμεσης επαφής. (23)



Σχήμα 10: Χρήση του χαλκού σε διάφορα σημεία επαφής σε νοσοκομειακούς χώρους.

Ο βακτηριοστατικός ρόλος του χαλκού σε επιφάνειες επαφής, αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως *contact killing*, και έχει μελετηθεί η αντιμικροβιακή δράση του απέναντι σε διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς. Στον πίνακα 3 αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα παθογόνων μικροοργανισμών που έχουν μελετηθεί αλλά και ο χρόνος θανάτωσης σε κάθε περίπτωση. (23)

Πίνακας 3. Χρόνοι θανάτωσης παθογόνων μικροοργανισμών κατά την επαφή με χαλκό.

| Παθογόνος Μικροοργανισμός | Χρόνος Θανάτωσης |
|---------------------------------|------------------|
| <i>Salmonellaenterica</i> | 4 h |
| <i>Escherichiacoli</i> | 65 min |
| <i>Candidaalbicans</i> | 60 min |
| <i>Pseudomonasaeruginosa</i> | 180 min |
| <i>MRSA</i> | 180 min |
| <i>Saccharomycescerevisiae</i> | 30 s |
| <i>Influenza A virus (H1N1)</i> | 6 h |

1.7 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ

Αντικείμενο βιολογικών μελετών αποτελούν εδώ και πολλά χρόνια ο χαλκός και οι

ενώσεις του για την αντιρρευματική, αντιμικροβιακή και αντικαρκινική τους δράση. Στον ανθρώπινο οργανισμό ο χαλκός αλληλεπιδρά είτε με τη μορφή ελεύθερου ιόντος με τη σερουλοπλασμίνη και τη λευκωματίνη, είτε συναρμοσμένος με διάφορα ligands σχηματίζει σύμπλοκα που αλληλεπιδρούν με βιομόρια, κυρίως πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα. Γενικότερα έχουν παρασκευαστεί σύμπλοκα δισθενούς χαλκού με αμινικά ή πυριδινικά ligands, τα οποία μπορούν και δρουν ως εξειδικευμένες νουκλεάσες προκαλώντας κόψιμο σε συγκεκριμένες βάσεις του DNA. (24)

Εκτός από την αντιμικροβιακή δράση του ίδιου του μετάλλου, έχει αποδειχτεί ότι τα σύμπλοκα του χαλκού έχουν τη δική τους αντιμικροβιακή δράση, όπως για παράδειγμα αυτά με υδροξυ-νιτροκουμαρίνες, με πυριδινοκαρβοξυλικά ligands κ.ά. Γενικά, η βιολογική δράση των συμπλόκων του Cu οφείλεται ότι αυτά διευκολύνουν ή προάγουν τις διαδικασίες επιδιόρθωσης των ιστών όπου απαιτούνται ένζυμα εξαρτώμενα από το χαλκό. Στη συνέχεια αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα διάφορων κατηγοριών φαρμάκων για τα οποία έχει μελετηθεί ο τρόπος αλληλεπίδρασης τους παρουσία χαλκού. (24)

■ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΜΕ ΜΗ-ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΦΑΡΜΑΚΑ (ΜΣΑΦ)

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται, σύμπλοκες ενώσεις του χαλκού με μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ). Οι σύμπλοκες αυτές ενώσεις χαρακτηρίζονται από ενισχυμένη αντιφλεγμονώδη δράση, που οφείλεται στην προσομοίωση της δράσης τους με το ένζυμο της σουπεροξειδικής δισμουτάσης, αλλά ταυτόχρονα από μειωμένη τοξικότητα σε σχέση με το μη-συμπλοκοποιημένο φάρμακο. (25)

Στον πίνακα 4 αναφέρονται διάφορες περιπτώσεις συμπλόκων ενώσεων του χαλκού με ΜΣΑΦ, ενώ αμέσως μετά θα αναφερθεί πιο αναλυτικά ένα παράδειγμα από αυτά με σκοπό να φανεί ακόμη μία φορά η σημασία γύρω από την έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο.

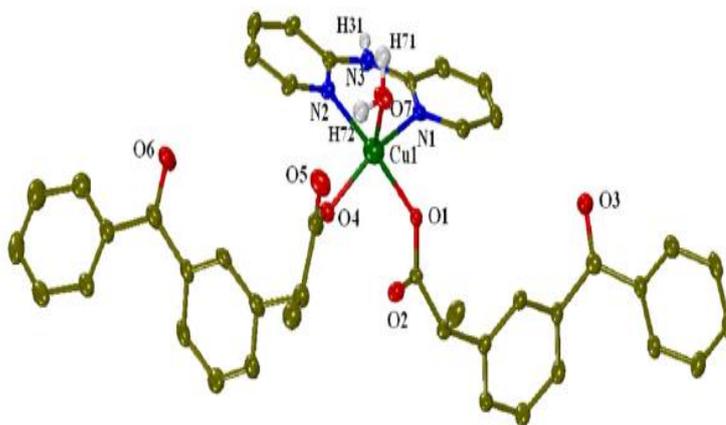
Πίνακας 4: Τύπος συμπλοκων του χαλκού με μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ).

| Τύπος συμπλόκου | Αναφορά |
|---|----------------|
| [Cu ₂ (Hdifl) ₄ (DMF) ₂] (Hdifl = diflunisal) | (26) |
| [Cu ₂ (fluf) ₄ (DMF) ₂] (Hfluf = flufenamic acid) | (27) |
| [Cu ₂ (indo) ₄ (DMF) ₂] (Hindo = indomethacin) | (28) |
| [Cu ₂ (dicl) ₄ (DMF) ₂] (Hdicl = diclofenac) | (29) |
| [Cu ₂ (tolf) ₄ (DMF) ₂] (Htolf = tolfenamic acid) | (30) |
| [Cu ₂ (oxa) ₄ (DMSO) ₂] (Hoxa = oxaprozin) | (31) |

| | |
|---|----------|
| [Cu ₂ (tolm) ₄ (DMSO) ₂] (Htolm = tolmetin) | (32) |
| [Cu ₂ (nap) ₄ (DMSO) ₂] (Hnap = naproxen) | (32) |
| [Cu ₂ (mef) ₄ (DMSO) ₂] (Hmef = mefenamic acid) | (33) |
| [Cu ₂ (nif) ₄ (DMSO) ₂] (Hnif = niflumic acid) | (34) |
| [Cu ₂ (indo) ₄ (DMA) ₂] (Hindo = indomethacin) | (36) |
| [Cu ₂ (diel) ₄ (MeOH) ₂] (Hdiel = diclofenac) | (35) |
| [Cu ₂ (nif) ₄ (H ₂ O) ₂] (Hnif = niflumic acid) | (34) |
| [Cu ₂ (indo) ₄ (THF) ₂] (Hindo = indomethacin) | (36) |
| [Cu ₂ (indo) ₄ (py) ₂] (Hindo = indomethacin) | (36) |
| [Cu ₂ (nap) ₄ (3pic) ₂] (Hnap = naproxen) | (37) |
| [Cu(diel-O) ₂ (H ₂ O) ₂] (Hdiel = diclofenac) | (38) |
| [Cu(nap-O) ₂ (H ₂ O) ₃] (Hnap = naproxen) | (39) |
| [Cu(mef-O) ₂ (3pic) ₂] (Hmef = mefenamic acid) | (40) |
| [Cu(nap-O) ₂ (3pym) ₂] (Hnap = naproxen) | (41) |
| [Cu(nif-O) ₂ (3pym) ₂] (Hnif = niflumic acid) | (42) |
| [Cu(diel-O) ₂ (py) ₂] (Hdiel = diclofenac) | (43) |
| [Cu(Hdifl-O) ₂ (py) ₂] (Hdifl = diflunisal) | (26) |
| [Cu(diel-O) ₂ (vimH) ₂] (Hdiel = diclofenac) | (35) |
| [Cu(diel-O) ₂ (imH) ₂] (Hdiel = diclofenac) | (35) |
| [Cu(nif-O) ₂ (en) ₂] (Hnif = niflumic acid) | (44) |
| [Cu(nif-O) ₂ (pn) ₂] (Hnif = niflumic acid) | (44) |
| [Cu(nif-O) ₂ (4pic) ₂] (Hnif = niflumic acid) | (44) |
| [Cu(tolf-O) ₂ (py) ₂ (MeOH) ₂] (Htolf = tolfenamic acid) | (45) |
| [Cu(mef-O) ₂ (py) ₂ (MeOH) ₂] (Hmef = mefenamic acid) | (46) |
| [Cu(nap-O) ₂ (py) ₂ (H ₂ O) ₂] (Hnap = naproxen) | (47) |
| [Cu(nap-O) ₂ (4pic) ₂ (H ₂ O)] (Hnap = naproxen) | (39) |
| [Cu(tolf-O,O') ₂ (bipy/bipyam/phen)] (Htolf = tolfenamic acid) | (45)(48) |
| [Cu(fluf-O,O') ₂ (phen)] (Hfluf = flufenamic acid) | (48) |
| [Cu(nap-O,O') ₂ (bipy/phen)] (Hnap = naproxen) | (43) |
| [Cu(indo-O,O') ₂ (bipy/phen)] (Hindo = indomethacin) | (49) |
| [Cu(mef-O,O') ₂ (bipy/bipyam/phen)] (Hmef = mefenamic acid) | (46)(48) |
| [Cu(diel-O,O') ₂ (temed)] (Hdiel = diclofenac) | (50) |
| [Cu(tolf-O,O')(tolf-O)(phen)(MeOH)] (Htolf = tolfenamic acid) | (45) |
| [Cu(fluf-O,O')(bipyam)Cl] (Hfluf = flufenamic acid) | (27) |

Ένα παράδειγμα τέτοια ένωσης είναι το σύμπλοκο [Cu(keto)₂(bipyam)(H₂O)]. Η κετοπροφαίνη (ketoprofen), είναι ένα ΜΣΑΦ, το οποίο χρησιμοποιείται ως αναλγητικό και αντιπυρετικό στη θεραπεία ασθενειών όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η μυελίτιδα και ο μυοσκελετικός πόνος, χωρίς να εμφανίζει παρενέργειες ή τοξικότητα στον οργανισμό. (52) Η δράση της παρατηρείται μέσω της αναστολής της δράσης της κυκλοξυγενάσης, η οποία προκαλεί την αναστολή της μετατροπής του αραχιδονικού οξέος προς προσταγλαδίνες και θρομβοξάνη A₂, ενώσεις υπεύθυνες για την δημιουργία της φλεγμονής. (53)

Η γεωμετρία του μεταλλικού κέντρου περιλαμβάνει ένα άτομο χαλκού το οποίο ενώνεται με δύο ligands ketoprofen που συναρμόζονται μονοδραστικά μέσω ενός καρβοξυλικού οξυγόνου και με ένα ligand αζωτο-δότη, της 2,2'-διπυριδυλαμίνης (bipyam), που συναρμόζεται διδραστικά μέσω δύο ατόμων αζώτου. Η σφαίρα συναρμογής ολοκληρώνεται με τη συναρμογή ενός οξυγόνου από ένα H₂O. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 11, ο χαλκός εμφανίζει αριθμό συναρμογής πέντε και η γεωμετρία χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική, με τα δύο άτομα οξυγόνου της κετοπροφαίνης (ketoprofen) και τα δύο άτομα αζώτου της 2,2'-διπυριδυλαμίνης (bipyam) να καταλαμβάνουν τη βάση της πυραμίδας και το άτομο οξυγόνου του νερού την κορυφή της. (51)



Σχήμα 11: Κρυσταλλική δομή για το σύμπλοκο [Cu(keto)₂(bipyam)(H₂O)].

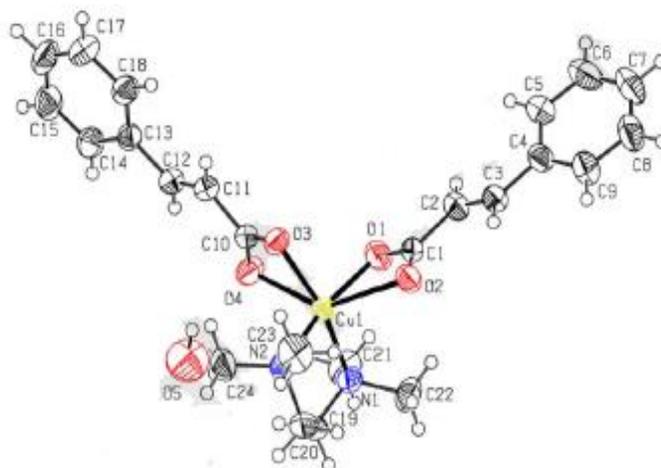
Όσον αφορά τη βιολογική δράση της ένωσης, βρέθηκε ότι μπορεί να λειτουργήσει ως ανιχνευτής ελεύθερων ριζών που θα μπορούσαν να δημιουργήσουν φλεγμονή ή ακόμα και καρκινογένεση. Μάλιστα η σύμπλοκη ένωση που σχηματίστηκε βρέθηκε πιο δραστική σε σχέση με το ελεύθερο ketoprofen. Επίσης παρατηρήθηκε πως η ένωση παρουσίασε ισχυρή σύνδεση με την ανθρώπινη αλβουμίνη αλλά και την αλβουμίνη των βοοειδών, που είναι μεταφορείς φαρμάκων, ενώ τέλος ερευνήθηκε και η αλληλεπίδραση με το DNA, η οποία είναι πιθανότατα

μέσω παρεμβολής. (51)

▪ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ ΧΑΛΚΟΥ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Άλλες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην πιθανή χημειο θεραπευτική δράση σύμπλοκων ενώσεων του χαλκού. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί το σύμπλοκο $[Cu(tmeda)(cinnamate)_2]$ ($tmeda = N,N,N',N'$ -tetramethylethylenediamine). Το κινναμικό οξύ (cinnamic acid), είναι μία ουσία που περιέχεται σε φρούτα, σε κόκκους καφέ, στο μπρόκολο, στα κρασιά, κ.α. και η βιολογική του δράση είναι ιδιαίτερα σημαντική αφού δεσμεύει τη λιγνίνη και την ημικυτταρίνη στα κυτταρικά τοιχώματα. Λειτουργεί ως ανιχνευτής ελεύθερων ριζών, είναι αντιοξειδωτικό και έχει αντιδιαβητική, ηπατο-προστατευτική, αντιφλεγμονώδη, αντιμικροβιακή αλλά και χημειο-προστατευτική δράση απέναντι σε καρκινογόνους και μεταλλαξιογόνους παράγοντες. (54)

Το σύμπλοκο που σχηματίστηκε (σχήμα 12) είναι ουδέτερο και μονοπυρηνικό. Τα δύο αποπρωτονιωμένα κινναμικά ligands συναρμόζονται διδραστικά με το κεντρικό μέταλλο. Το άτομο του χαλκού, που εμφανίζει αριθμό συναρμογής έξι, ενώνεται και με ένα διδραστικό ligand $tmeda$, έχοντας παραμορφωμένη οκταεδρική διαμόρφωση. (55)



Σχήμα 12: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(tmeda)(cinnamate)_2] \cdot 0.7H_2O$

Η αντιμικροβιακή μελέτη έναντι των *Bacillus spizizenii*, *Enterobacteraerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, και *Staphylococcus aureus* έδειξε ότι η ένωση εμφανίζει αυξημένη αντιμικροβιακή δράση. Πιο συγκεκριμένα έναντι των *Bacillus spizizenii* και *Staphylococcus aureus* η δράση της ένωσης χαρακτηρίστηκε εξαιρετική ακόμα και σε πολύ μικρές ποσότητες της τάξης των 10-25 $\mu\text{g/mL}$.(55)

Μια άλλη ιδιαίτερη σημαντική περίπτωση ανάπτυξης και μελέτης σύμπλοκης ένωσης του χαλκού με αντικαρκινική δράση, που αξίζει να αναφερθεί είναι κάποια χηλικά σύμπλοκα

που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως *Casiopainas*[®] Αυτή η ομάδα ενώσεων έχει ένα τύπο της μορφής $[\text{Cu}(\text{N}-\text{N})(\alpha\text{-L-amino-acidato})](\text{NO}_3)$ και $[\text{Cu}(\text{N}-\text{N})(\text{O}-\text{O})](\text{NO}_3)$. Η ένωση που χρησιμοποιείται ως άζωτο-δότης (N-N) είναι η 1,10-φαινανθρολίνη (phen) ή η 2,2'-διπυριδίνη (bipy), ενώ η ένωση που χρησιμοποιείται ως Ο-δότης είναι το ακετυλοακετονικό ιόν (acac) ή το σαλικυλαλδεϋδικό ιόν (salal). (56) Βρέθηκε πειραματικά ότι κάποιες ενώσεις της ομάδας αυτής εμφανίζουν υψηλότερη αντικαρκινική δράση *in vitro* από τη σισπλατίνη για τη θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών στον άνθρωπο, αλλά και της λευχαιμίας σε ποντίκια, αλλά και σε ορισμένες μορφές του καρκίνου της μήτρας ακόμη και σε χαμηλότερες δόσεις σε σχέση με άλλα φάρμακα που έχουν χρησιμοποιηθεί. Αν και ο μηχανισμός δράσης των ενώσεων αυτών δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητός, υπάρχει μια εκλεκτικότητα στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την απόπτωση. Οι ενώσεις αυτές αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προκαλούν δοσο-εξαρτώμενο κυτταρικό θάνατο μέσω της απόπτωσης μέσω μηχανισμών που εξαρτώνται από το ένζυμο της κασπάσης. Επιπλέον μελέτες που έγιναν για τη σχέση δομής-δραστικότητας έδειξαν κατά πόσο επηρεάζεται η τοξικότητα και η δραστηριότητα ανάλογα με τη φύση των ligands και έδωσαν τη δυνατότητα να επιλεγούν οι πιο υποσχόμενες ενώσεις και να φθάσουν μάλιστα μέχρι και το στάδιο των κλινικών μελετών, όπως η περίπτωση της *Casiopaina* III-ia που βρίσκεται την κλινική φάση I στο Μεξικό. (57)

Παραδείγματα σύμπλοκων ενώσεων του χαλκού με αντικαρκινική δράση φαίνονται στον πίνακα 5.

Πίνακας 5: Τύπος συμπλοκών του χαλκού με αντικαρκινική δράση και αναφορές.

| Τύπος συμπλόκου | Αναφορά |
|--|---------|
| $[\text{Cu}(\text{aprc})\text{Cl}_2]$ (aprc = carboxamidrazone) | (58) |
| $[\text{Cu}(\text{I-hip})(\text{phen})_2]^+(\text{I-hip})^-\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (I-hipH = o-iodohippuric acid) | (59) |
| $[\text{Cu}(\text{dien})(\text{Br})(2\text{a-2tzn})]\text{Br}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (dienm = diethylenetriamine) | (60) |
| $[\text{Cu}(\text{pr-norf})(\text{phen})\text{Cl}]$ (Hnorf = norfloxacin) | (61) |
| $[\text{Cu}(\text{sf})(\text{phen})\text{Cl}]$, $[\text{Cu}(\text{sf})(\text{bipy})\text{Cl}]$ (Hsf = sparfloxacin) | (62) |

2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

2.1 ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΣ ΩΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΟ

Ο ψευδάργυρος σε αντίθεση με τα στοιχεία μετάπτωσης δεν χρησιμοποιεί τα 3d ηλεκτρόνια του για την ανάπτυξη χημικών δεσμών παρουσιάζοντας ως μοναδικό αριθμό οξείδωσης το +2. Είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τη φυσιολογική κυτταρική λειτουργία και το μεταβολισμό καθώς συμμετέχει σε όλες τις φάσεις του μεταβολισμού, στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, στη δομική διατήρηση της χρωματίνης και των μεμβρανών, στην ανοσία και προστασία από ελεύθερες ρίζες. (5)

Ο ψευδάργυρος είναι ένα από τα κυριότερα ιχνοστοιχεία που υπάρχουν στο ανθρώπινο σώμα. Πιο συγκεκριμένα, με ποσοστό 2g ανά 70kg σωματικού βάρους είναι το δεύτερο σε αφθονία ιχνοστοιχείο μετά το σίδηρο στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι κυριότερες πηγές ψευδαργύρου στην διατροφή του ανθρώπου είναι τα οστρακοειδή, η μαγιά μύρας, το συκώτι, τα αυγά, το γάλα, το ψάρι κ.α. (5)

Πίνακας 6: Περιεκτικότητες του ψευδαργύρου στους ανθρώπινους ιστούς.

| Ιστός | Μέση συγκέντρωση Zn(σε µg/g) | Ολική ποσότητα Zn(σε g) (%) |
|-----------------|------------------------------|-----------------------------|
| Σκελετικοί μύες | 51 | 1.53(57.0) |
| Οστά | 100 | 0.77(29.0) |
| Δέρμα | 32 | 0.16(6.0) |
| Συκώτι | 58 | 0.13(5.0) |
| Εγκέφαλος | 11 | 0.04(1.5) |
| Νεφρά | 55 | 0.02(0.7) |
| Καρδιά | 23 | 0.01(0.4) |
| Μαλλιά | 150 | <0.01(0.1) |
| Πλάσμααίματος | 1 | <0.01(0.1) |

Η ανεπάρκεια του συγκεκριμένου στοιχείου έχει ως συνέπεια αναστολή της ανάπτυξης, ορισμένες δερματίτιδες, ανωμαλία στην σύνθεση του DNA και του RNA, ψυχικές διαταραχές, διαβήτη, στειρότητα κ.ά. Από την άλλη μεριά, υπερεπάρκεια σε ψευδάργυρο έχει ως αποτέλεσμα διάφορες ανωμαλίες καθώς παρατηρείται παρεμπόδιση στο μεταβολισμό του σιδήρου και του χαλκού. Ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη και λειτουργία του νευρικού συστήματος συμπεριλαμβανομένου και του εγκεφάλου. Υπερβολική αύξηση της συγκέντρωσης του ψευδαργύρου στα εγκεφαλικά κύτταρα προκαλεί νευροτοξικότητα. Στην

ελάττωση της συγκέντρωσης του ψευδαργύρου προσανατολίζονται οι επιστήμονες για να βρουν λύση στην καταπολέμηση της νόσου του Alzheimer. (63)

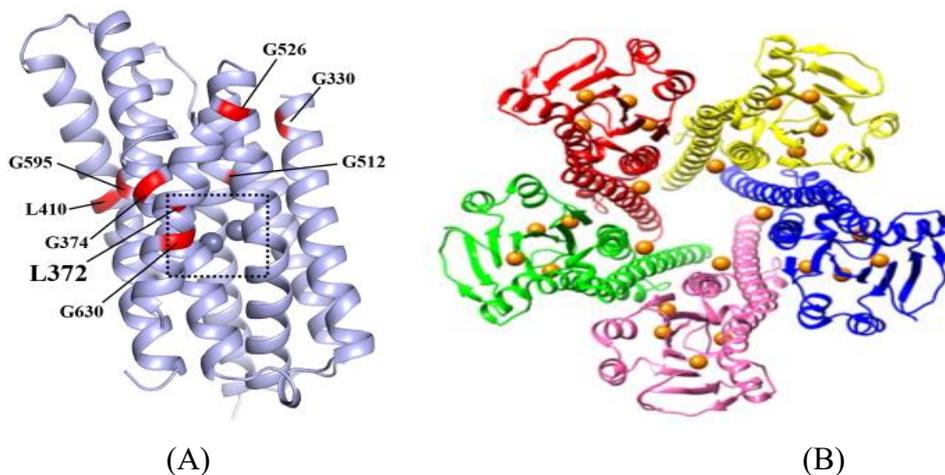
2.2 ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

Η απορρόφηση του ψευδαργύρου φαίνεται να πραγματοποιείται σε όλο το μήκος της εντερικής οδού συμπεριλαμβανομένου και του παχέος εντέρου, ωστόσο η βιοδιαθεσιμότητα του μετάλλου στη συγκεκριμένη περιοχή είναι δύσκολο να προσδιοριστεί αφού ταυτόχρονα αποτελεί και θέση απέκκρισης. Ο ρυθμός απορρόφησης του ψευδαργύρου εξαρτάται από διάφορους παράγοντες που έχουν να κάνουν κυρίως με τη διατροφή. Συγκεκριμένα, φαίνεται να απορροφάται ευκολότερα όταν εντοπίζεται σε υδατικά διαλύματα παρά όταν περιέχεται σε στερεές τροφές, ενώ επίσης απορροφάται ευκολότερα από ομάδες πληθυσμού των, οποίων η διατροφή είναι χαμηλή σε ψευδάργυρο και δυσκολότερα σε εκείνες που η διατροφή τους είναι υψηλής περιεκτικότητας στο συγκεκριμένο μέταλλο. Η παρατήρηση αυτή εμφανίζει την εξάρτησης απορρόφησης του ψευδαργύρου από τη συγκέντρωση και ειδικά όταν αυτή αυξάνεται μέσω της διατροφής μπορεί να φθάσει έως 60-70%. (64)

Ο ψευδάργυρος που λαμβάνεται από τα τρόφιμα, μετά την πέψη εντοπίζεται με τη μορφή ελεύθερων ιόντων. Τα ελεύθερα ιόντα ψευδαργύρου ενώνονται στη συνέχεια με ενδογενώς εκκρινόμενους υποκαταστάτες και μεταφέρονται στο έντερο. Το 70% του ψευδαργύρου που υπάρχει ελεύθερο στον ανθρώπινο οργανισμό ενώνεται με την αλβουμίνη και για το λόγο αυτό οποιαδήποτε αιτία μεταβολής της συγκέντρωσης της αλβουμίνης του ορού, μπορεί να επηρεάζει επακόλουθα τη συγκέντρωση του ψευδαργύρου, αν και ο ψευδάργυρος του ορού του αίματος καταλαμβάνει πολύ μικρό ποσοστό της συνολικής ποσότητας του στον οργανισμό αφού το μέταλλο μεταφέρεται συνεχώς στους διάφορους ιστούς ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού. (65)

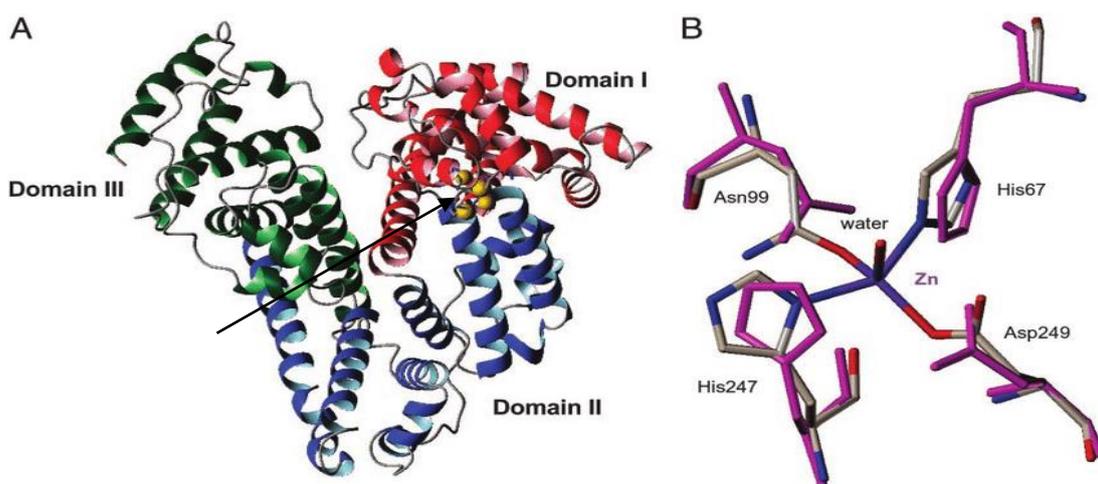
2.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΑΠΠΕΚΡΙΣΗ

Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχουν δύο είδη μεταφορέων ψευδαργύρου: οι πρωτεΐνες ZnT και οι πρωτεΐνες Zip . Οι πρωτεΐνες Zip προωθούν την απορρόφηση του ψευδαργύρου και τη μεταφορά του στο κυτταρόπλασμα. Οι πρωτεΐνες ZnT προωθούν την εκροή του ψευδαργύρου ή και την ενσωμάτωση του ψευδαργύρου σε κυστίδια. (66)



Σχήμα 13: Δομές των πρωτεϊνών (A) Zip4 και (B) ZnT.

Η αλβουμίνη είναι ο κύριος μεταφορέας ψευδαργύρου στο πλάσμα. Ο ψευδάργυρος μπορεί επίσης να σχηματίσει σύμπλοκα με κυστεΐνη ή ιστιδίνη. Στο πλάσμα του αίματος είναι συνδεδεμένος με την αλβουμίνη, στενά συνδεδεμένος με την α₂-μακροσφαιρίνη και με αμινοξέα. Τα επίπεδα του ψευδαργύρου στο πλάσμα έχουν αποδειχθεί να διαμορφώνονται από διαφορετικές ορμόνες: η αυξητική ορμόνη (GH) αυξάνει το επίπεδο του ψευδαργύρου στο πλάσμα, ενώ η προλακτίνη τη μειώνει. Επίσης οι συγκεντρώσεις ψευδαργύρου στο αίμα μειώνονται από την εμφάνιση άγχους αλλά και κατά τη διάρκεια λοιμώξεων και φλεγμονών κυρίως λόγω της ανακατανομής του μετάλλου στο ήπαρ, αλλά και σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου. Από την άλλη πλευρά, διάφοροι λόγοι που οδηγούν σε αιμόλυση των κυττάρων του αίματος μπορούν να οδηγήσουν σε εξαιρετικά υψηλά επίπεδα ψευδαργύρου, επειδή η συγκέντρωση του ενδοκυτταρικού ψευδαργύρου είναι σημαντικά μεγαλύτερη. (64)



Σχήμα 14: Θέση δέσμευσης του Zn στην HSA.

Η κύρια οδός απέκκρισης για τον ψευδάργυρο στον άνθρωπο είναι η γαστρεντερική έκκριση, η οποία υπολογίζεται 2,5-5,5mg/ημέρα. Αυτό συμβαίνει μέσω απόπτωσης των επιθηλιακών κυττάρων που επενδύουν στην εντερική βλεννογόνο ή μέσω των σιελογόνων αδένων, του παγκρέατος, και της χολής. Πραγματοποιείται επίσης νεφρική απέκκριση ψευδαργύρου, η οποία όμως θεωρείται αμελητέα. Η απώλεια ψευδαργύρου από τον οργανισμό αποδίδεται επίσης στην απομάκρυνση των επιθηλιακών κυττάρων στον ιδρώτα, στο σπέρμα, στα μαλλιά και κατά τον εμμηνορροϊκό κύκλο. (65).

2.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

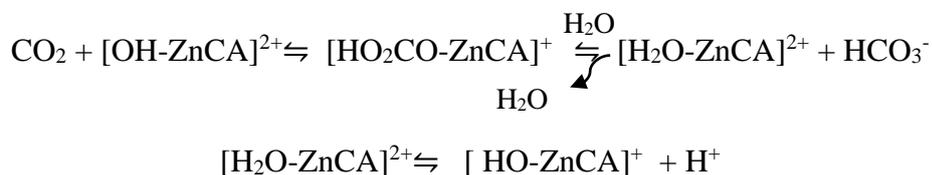
Ο βιολογικός ρόλος του ψευδαργύρου είναι ιδιαίτερα σημαντικός αφού σχετίζεται με τη δραστικότητα περισσότερων από 200 ενζύμων. Ο ρόλος του ψευδαργύρου στα διάφορα μεταλλοένζυμα διαφοροποιείται και μπορεί να είναι δομικός όταν απαιτείται η παρουσία του για τη διατήρηση της δομικής σταθερότητας της πρωτεΐνης και κατ' επέκταση για την καταλυτική δράση του ενζύμου. Καταλυτικός είναι ο ρόλος του μετάλλου όταν σχετίζεται άμεσα με τη δραστική ικανότητα του ενζύμου, ρυθμιστικός όταν υπάρχει στο ένζυμο μόνο για να ρυθμίζει χωρίς όμως να είναι απαραίτητος για τη δραστικότητα του ενζύμου ενώ τέλος όταν ο ρόλος του είναι άγνωστος χαρακτηρίζεται ως μη-καταλυτικός. (5)

▪ **ΚΑΡΒΟΝΙΚΗ ΑΝΥΔΡΑΣΗ**

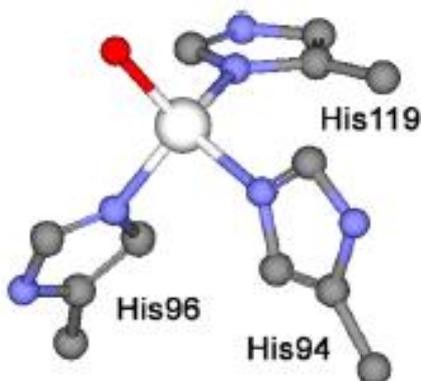
Μια ιδιαίτερα σημαντική κατηγορία ενζύμων του ψευδαργύρου που πρέπει να αναφερθεί είναι οι καρβονικές ανυδράσες. Τα ένζυμα αυτά καταλύουν την αμφίδρομη αντίδραση υδρόλυσης του διοξειδίου του άνθρακα, ($\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$), η οποία γίνεται πολύ αργά χωρίς την παρουσία του ενζύμου. Τα ένζυμα αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στην ισορροπία οξέος-βάσης στους οργανισμούς και συμμετέχουν σε μια μεγάλη ποικιλία φυσιολογικών διεργασιών, όπως στη φωτοσύνθεση για την αποτελεσματική απορρόφηση του CO_2 , στην αναπνοή για τη γρήγορη απόθεση CO_2 , στην (απο-)ασβεστοποίηση για το σχηματισμό και τη διάσπαση ασβεστούχων σκελετών και τέλος στον έλεγχο του pH. (5)

Ένας τρόπος για να διαχωρίσουμε τις καρβονικές ανυδράσες είναι να τις τοποθετήσουμε σε κατηγορίες ανάλογα με τις βασικές δομικές τους ομοιότητες: έτσι διαχωρίζονται στις κατηγορίες α, β και γ. Σε κάθε κατηγορία περιέχεται ένα καταλυτικό ιόν ψευδαργύρου, το οποίο συναρμόζεται με τρία μόρια ιστιδίνης στις κατηγορίες α και γ και ένα μόριο ιστιδίνης και δύο μόρια κυστεΐνης στην κατηγορία β. Ο μηχανισμός δράσης όλων των ενζύμων των κατηγοριών που αναφέραμε είναι παρόμοιος και έχει χαρακτηριστεί ως μηχανισμός ping-pong, αφού ξεκινά με την πυρηνόφιλη προσβολή στο άτομο του C του CO_2 , από ένα ιόν υδροξειδίου που είναι συναρμολογημένο με ψευδάργυρο με στόχο τη δημιουργία ενός συμπλόκου όξινου ανθρακικού

ψευδαργύρου, το οποίο στη συνέχεια αποσυνδέεται επιτρέποντας τη συναρμογή ενός νέου μορίου νερού. Το συναρμοσμένο μόριο νερού αποπρωτονιώνεται ταχύτατα και αναγεννιέται το καταλυτικό υδροξείδιο του ψευδαργύρου, σύμφωνα με την αντίδραση: (67)



Η καρβονική ανυδράση που έχει μελετηθεί ιδιαίτερα στον ανθρώπινο οργανισμό είναι η καρβονική ανυδράση II (CA II). Το μεταλλικό κέντρο του ενζύμου αποτελείται από ένα δισθενή ψευδάργυρο που είναι συναρμοσμένος με τρεις ιστιδίνες, και ένα ευκίνητο μόριο νερού. Η γεωμετρία γύρω από το μέταλλο είναι παραμορφωμένη τετραεδρική με το μόριο του νερού να συναρμόζεται και με άλλα μόρια νερού σταθεροποιώντας την δομή του ενζύμου και ενισχύοντας την καταλυτική του δράση. Ο ψευδάργυρος έχει τη δυνατότητα να απομακρύνεται από το μεταλλικό κέντρο, παρουσία ενώσεων όπως η 2,2'-διπυριδίνη (bipy) και η 1,10-φαινανθρολίνη (phen). Ωστόσο εάν ο ψευδάργυρος απομακρυνθεί από το μεταλλικό κέντρο του ενζύμου, παύει να υφίσταται πλέον η καταλυτική του δράση και το ένζυμο απενεργοποιείται. (67)

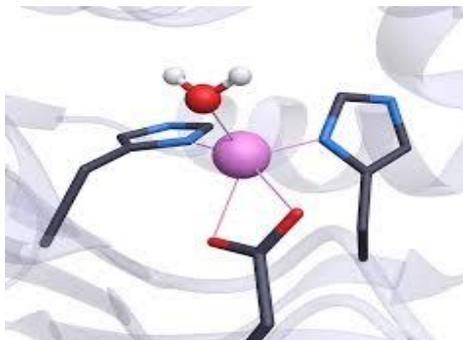


Σχήμα 15: Το μεταλλικό κέντρο της καρβονικής ανυδράσης II.

▪ ΚΑΡΒΟΞΥΠΕΠΤΙΔΑΣΕΣ

Μια άλλη σημαντική ομάδα ενζύμων είναι οι καρβοξυπεπτιδάσες που απελευθερώνονται από ανενεργές πρόδρομες ενώσεις που βρίσκονται στο πάγκρεας των ζώων. Η καρβοξυπεπτιδάση A είναι το ένζυμο της κατηγορίας αυτής που έχει μελετηθεί περισσότερο και ο βιολογικός της ρόλος είναι η διάσπαση του πεπτιδικού δεσμού του C-τελικού άκρου πρωτεϊνών, πολυπεπτιδίων και N-άκυλο-αμινοξέων σε περιπτώσεις που η πλευρική αλυσίδα του άκρου είναι διακλαδισμένη αλειφατική με L-διαμόρφωση ή αρωματική. (5)

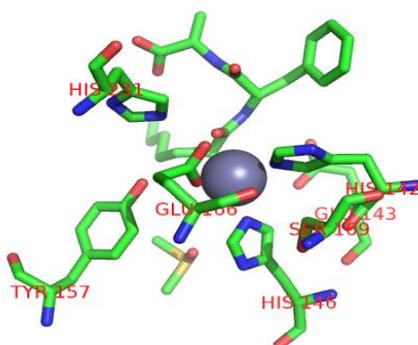
Το ενεργό κέντρο του ενζύμου αποτελείται από ένα άτομο ψευδαργύρου, που εμφανίζει αριθμό συναρμογής πέντε και συναρμόζεται με δύο μονοδραστικές ιστιδίνες και με μία διδραστική γλουταμίνη, ενώ την τελευταία θέση καταλαμβάνει ένα H₂O. (5)



Σχήμα 16: Το μεταλλικό κέντρο της καρβοξυπεπτιδάσης A.

▪ ΘΕΡΜΟΛΥΣΙΝΗ

Η θερμολυσίνη είναι μια θερμοσταθερή ενδοπεπτιδάση του ψευδαργύρου που δεσμεύει ασβέστιο και καταλύει την υδρόλυση πεπτιδικών δεσμών που περιέχουν υδρόφοβα αμινοξέα όπως η λευκίνη η ισολευκίνη η βαλίνη και η φαινυλαλανίνη. Το περιβάλλον που παρατηρείται γύρω από το μεταλλικό κέντρο είναι παρόμοιο με εκείνο της καρβοξυπεπτιδάσης. (5)



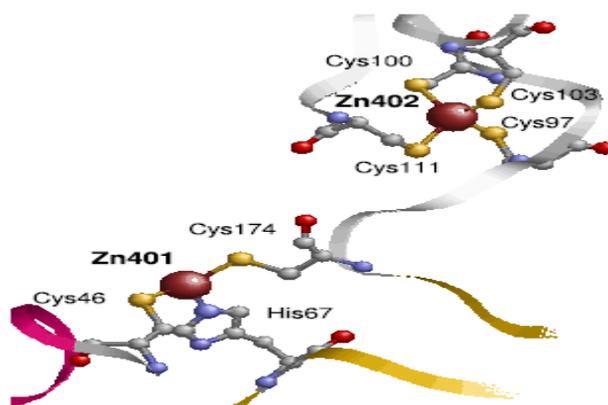
Σχήμα 17: Το μεταλλικό κέντρο της θερμολυσίνης.

Στο μεταλλικό ενεργό κέντρο της θερμολυσίνης ο ψευδάργυρος βρίσκεται συναρμοσμένος με δύο ιστιδίνες, ένα γλουταμινικό οξύ και ένα νερό σε τετραεδρική διάταξη. Ο ρόλος του ψευδαργύρου στο συγκεκριμένο ένζυμο είναι καταλυτικός ενώ επίσης υπάρχουν και τέσσερα ιόντα ασβεστίου που είναι υπεύθυνα για τη δομική σταθερότητα του ενζύμου. (68)

▪ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ

Ο βιολογικός ρόλος της ομάδας αυτής των ενζύμων του ψευδαργύρου σχετίζεται με την αντιστρεπτή οξείδωση των πρωτοταγών αλκοολών προς αλδεΐδες ή των δευτεροταγών αλκοολών προς κετόνες και εξαρτάται από την παρουσία του νικοτιναμίδο-αδενοδινουκλεοτιδίου NAD(H). Η δομή των μεταλλοενζύμων αυτών περιλαμβάνει δύο υπομονάδες

που η καθεμία περιέχει δύο άτομα ψευδαργύρου και ένα μόριο NAD(H). Από τα δύο άτομα ψευδαργύρου, το ένα έχει καταλυτικό ρόλο ενώ το άλλο δομικό, ενώ υπάρχουν και δομικές διαφορές στο περιβάλλον του κάθε άτομου. Το άτομο του ψευδαργύρου που συμμετέχει στην καταλυτική δράση του ενζύμου συναρμόζεται με δύο κυστεΐνες, μία ιστιδίνη και ένα νερό και η γεωμετρία του χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη τετραεδρική. Από την άλλη, το άτομο του ψευδαργύρου που σχετίζεται με την μη-καταλυτική δράση, συναρμόζεται με τέσσερις κυστεΐνες. (69)



Σχήμα 18: Τα δύο μεταλλικά κέντρα ψευδαργύρου της αλκοολικής αφυδρογονάσης.

▪ A-ΑΜΥΛΑΣΗ

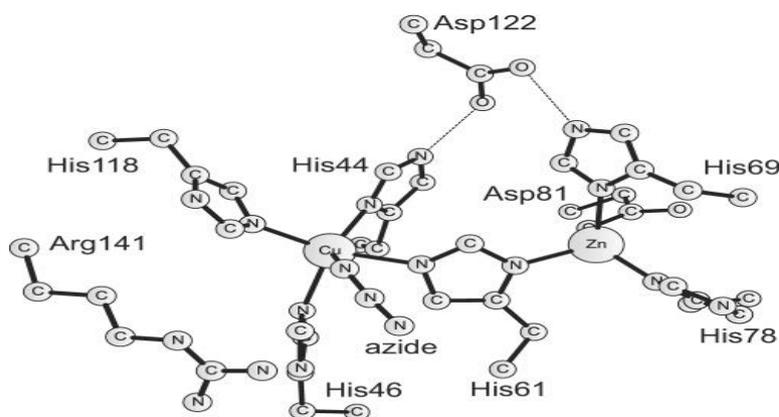
Η α-αμυλάση είναι ένα ένζυμο που καταλύει την υδρόλυση των πολυσακχαριτών, όπως για παράδειγμα το άμυλο και το γλυκογόνο, προς γλυκόζη και μαλτόζη. Χρησιμοποιείται ευρέως για διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές, όπως τη σακχαροποίηση, τη ζύμωση, την παρασκευή αιθανόλης ως καυσίμου καθώς και στην κλινική και αναλυτική χημεία. Το ένζυμο περιέχει επίσης και ιόντα ασβεστίου τα οποία έχουν καταλυτικό ρόλο σε αντίθεση με τον ψευδάργυρο που έχει δομικό ρόλο. (70)

▪ ΣΟΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ Cu-Zn(Cu-Zn SOD)

Το ένζυμο το οποίο καταλύει την διάσπαση του σουπεροξειδικού ιόντος, και είναι αρκετά διαδεδομένο στην φύση είναι η σουπεροξειδική δισμουτάση χαλκού – ψευδαργύρου. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως υπάρχουν διάφορες μορφές του συγκεκριμένου ενζύμου και τα μεταλλικά κέντρα διαφοροποιούνται ανάλογα με το μικροοργανισμό, από τον οποίο προέρχεται. Η σουπεροξειδική δισμουτάση που απομονώθηκε από ευκαρυωτικούς οργανισμούς περιέχει χαλκό και ψευδάργυρο. (5)

Στο μεταλλικό κέντρο που βρίσκεται ο ψευδάργυρος, εμφανίζεται τετραεδρική γεωμετρία, στην οποία το μέταλλο συναρμόζεται με τρεις ιμιδαζολικούς υποκαταστάτες, τρεις ιστιδίνες και ένα ασπαραγινικό οξύ που αποτελεί δότη οξυγόνου. Το ιόν του ψευδαργύρου έχει

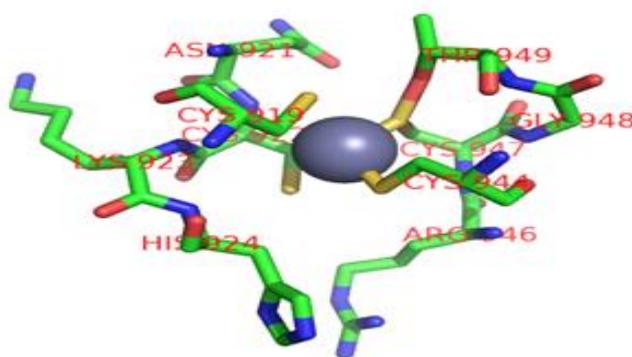
δομικό ρόλο και συμμετέχει στη διατήρηση της σταθερότητας του ενεργού κέντρου του ενζύμου, επηρεάζοντας παράλληλα τη δραστικότητα του χαλκού. (71)



Σχήμα 19: Τα δύο μεταλλικά κέντρα χαλκού και ψευδαργύρου της σουπεροξειδικής δισμουτάσης.

▪ DNA και RNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΕΣ

Δύο από τα πιο χαρακτηριστικά και αντιπροσωπευτικά ένζυμα που περιέχουν ψευδάργυρο είναι οι πολυμεράσες του DNA και του RNA, τουλάχιστον δύο άτομα του μετάλλου περιέχονται ανά μόριο ενζύμου. Ο βιολογικός ρόλος του μετάλλου σχετίζεται με την καταλυτική δράση του ενζύμου, διευκολύνοντας την αποπρωτονίωση του 3'-ακρού της αλυσίδας για την επερχόμενη πυρηνόφιλη προσβολή από την α-φωσφορική ομάδα του εισερχόμενου νουκλεοτιδίου. (5) Η παρουσία του ψευδαργύρου στο ενεργό κέντρο του ενζύμου είναι καθοριστικής σημασίας αφού όταν αυτός απουσιάζει ή για κάποιο λόγο εμποδίζεται η συναρμογή του, το ένζυμο διατηρεί τη δομή του αλλά πλέον είναι καταλυτικά ανενεργό. (72)



Σχήμα 20: Το μεταλλικό κέντρο της DNA-πολυμεράσης.

▪ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ Zn-fingers

Μία ομάδα πρωτεϊνών που χαρακτηρίζονται για την ποικιλία των δομών αλλά και τη σταθερότητά τους είναι γνωστές ως “δάκτυλοι ψευδαργύρου” ή zinc-fingers. Είναι σχετικά μικρά μοτίβα πρωτεϊνών που περιέχουν ψευδάργυρο και εμφανίζουν πολλαπλές προεξοχές που ομοιάζουν σαν «δάκτυλα» και επιτρέπουν τις πολλές παράλληλες επαφές με τα μόρια στόχους.

Η ικανότητα δέσμευσης τους εξαρτάται από την αλληλουχία των αμινοξέων που απαντάται στην περιοχή των δακτύλων, καθώς και από τον αριθμό τους. Υπάρχουν αρκετές ομάδες τέτοιων πρωτεϊνών που ποικίλλουν τόσο στην εξειδίκευση ως προς τον υποδοχέα, όσο και ως προς την αλληλουχία των αμινοξέων και τη δομή. Για παράδειγμα, πρωτεΐνες που περιέχουν τέτοιες δομές δακτύλων ψευδαργύρου ειδικεύονται στη μεταγραφή και μετάφραση γονιδίων, στη διακίνηση του mRNA, στην οργάνωση των κυτταροσκελετών, στην αναδίπλωση πρωτεϊνών αλλά και στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης. Το πλεονέκτημα των πρωτεϊνών αυτών είναι πως διατηρούν σταθερή τη δομή τους ακόμα και μετά τη δέσμευση στο υπόστρωμα. (73)

2.5 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

Τα ιόντα δισθενούς ψευδαργύρου εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση έναντι διαφόρων στελεχών βακτηρίων αλλά και μυκήτων. Παράδειγμα τέτοιας ένωσης αποτελεί το οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO) που είναι μία ένωση του ψευδαργύρου που εμφανίζει αντιμικροβιακή δράση αφού οδηγεί στο σχηματισμό ιόντων ψευδαργύρου Zn(II). Έχουν προταθεί τρεις διαφορετικοί μηχανισμοί δράσης για τη συγκεκριμένη ένωση και περιλαμβάνουν την παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS), την αποσταθεροποίηση των μικροβιακών μεμβρανών κατά την άμεση επαφή με το ZnO αλλά και τις εγγενείς αντιμικροβιακές ιδιότητες των ιόντων ψευδαργύρου κατά την υδρόλυση του ZnO. (74)

Πληροφορίες που έχουν προέλθει από υδατοδιαλυτά άλατα του ψευδαργύρου, που οδήγησαν στην παραγωγή ιόντων Zn(II), έδειξαν ότι η αντιμικροβιακή δράση των ιόντων αυτών εξαρτάται τόσο από τη συγκέντρωσή τους, όσο και από τη διάρκεια επαφής τους με το μόριο-στόχο. Για παράδειγμα, ο χλωριούχος ψευδάργυρος δρα με δόσο-εξαρτώμενο τρόπο έναντι της *Escherichia coli*, όπως και ο οξικός ψευδάργυρος έναντι του *Staphylococcus aureus*. Στις δύο αυτές περιπτώσεις ο αντιμικροβιακός ρόλος των ιόντων ψευδαργύρου επιτελείται μέσω του κυτταρικού θανάτου είτε από άμεση αλληλεπίδραση με τις κυτταρικές μεμβράνες και την καταστροφή της κυτταρικής δομής, είτε από την απενεργοποίηση των ενζύμων που εμπλέκονται με την κυτταρική αναπνοή. (74)

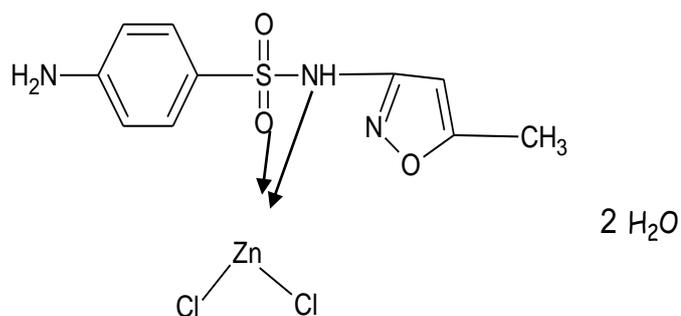
Η αντιμικροβιακή δράση ορισμένων δερματολογικών σκευασμάτων, όπως φαρμακευτικές αλοιφές βασίζεται στην παρουσία ιόντων ψευδαργύρου. Επίσης πολλές αλοιφές περιέχουν οξείδιο του ψευδαργύρου που δρα στην επιφάνεια του δέρματος σύμφωνα με τον τρόπο που αναπτύχθηκε προηγουμένως. Ένα παράδειγμα τέτοιας δραστικής ουσίας είναι η βακιτρακίνη (bacitracin) που χρησιμοποιείται για την πρόληψη μικρών λοιμώξεων του δέρματος που προκαλούνται από μικρές περικοπές, γρατζουνιές ή εγκαύματα. Η βακιτρακίνη δρα σταματώντας την ανάπτυξη ορισμένων βακτηρίων. (75)

Εκτός όμως από τις αλοιφές υπάρχουν και ορθικά υπόθετα οξειδίου του ψευδαργύρου που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του κνησμού, του ερεθισμού αλλά και γενικά της ορθικής δυσφορίας που προκαλείται από αιμορροΐδες ή εντερικές παθήσεις. Επίσης ενδιαφέρον παρουσιάζει η θεραπεία της διάρροιας που παρατηρείται σε παιδιά από ενώσεις του ψευδαργύρου. Έχει παρατηρηθεί ότι παιδιά με διατροφή χαμηλής περιεκτικότητας σε ψευδάργυρο ή υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ουσίες που παρεμποδίζουν την πρόσληψη του μετάλλου, εμφάνισαν συμπτώματα οξείας διάρροιας αλλά και ορισμένες αναπνευστικές παθήσεις. Η θεραπεία των περιπτώσεων αυτών είναι ιδιαίτερα απαιτητική αφού στην πλειοψηφία τους αφορούσαν παιδιά κάτω των πέντε ετών σε χώρες του τρίτου κόσμου. Η θεραπεία με τη χρήση του ψευδαργύρου είναι ιδανική αφού παρατηρήθηκε συνέπεια στην ίαση ακόμα και σε οξεία διάρροια, μειώνοντας τόσο τη σοβαρότητα της πάθησης όσο και την πιθανότητα παρατεταμένου επεισοδίου. Τα αποτελέσματα των ερευνών έδειξαν μείωση στην θνησιμότητα, ενώ η σχετικά χαμηλή τιμή των σκευασμάτων που τα καθιστά εύκολα στην πρόσβαση, οδήγησαν τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας να προτείνει την άμεση θεραπεία της οξείας διάρροιας, σε παιδιά κάτω των πέντε ετών με σκευάσματα ψευδαργύρου σε όλες τις υποανάπτυκτες περιοχές, όταν υποδεικνύεται από τη συμπτωματολογία. (76)

2.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

Όπως ο χαλκός έτσι και ο ψευδάργυρος είναι από τα σημαντικότερα βιολογικά ιχνοστοιχεία και για το λόγο αυτό έχουν παρασκευασθεί πάρα πολλές ενώσεις τους με φάρμακα διαφόρων κατηγοριών. Σε πολλές περιπτώσεις μία συγκεκριμένη χημική ουσία που παρουσιάζει φαρμακευτική δράση ή μπορεί εν δυνάμει να αποτελέσει μία νέα φαρμακευτική ένωση δοκιμάζεται σε συνδυασμό με διάφορα μέταλλα όπως στα παρακάτω παραδείγματα.

Η σουλφαμεθοξαζόλη ανήκει στα σουλφοναμίδια που είναι μια κατηγορία χημικών ενώσεων που περιέχουν την ομάδα $-SO_2N$, και περιλαμβάνουν διάφορες ομάδες φαρμάκων με αντιβακτηριακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες. Η σουλφαμεθοξαζόλη (sulfamethoxazole) αναστέλλει τη σύνθεση από το βακτήριο του διυδροφυλλικού οξέος διότι ανταγωνίζεται το παρα-αμινοβενζοϊκό οξύ, προκαλώντας βακτηριόσταση. Στο σχήμα 21 φαίνεται ο τρόπος συναρμογής του ligand με το κεντρικό μέταλλο-ión μέσω του αζώτου του σουλφοναμιδίου και του οξυγόνου του σουλφονυλίου σε μία οκταεδρική διάταξη σε συνδυασμό και με δύο ιμιδαζόλια. (77)



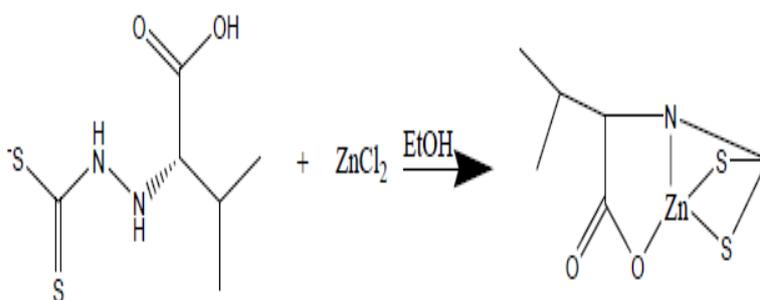
Σχήμα 21: Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(SMX)Cl_2] \cdot 2H_2O$

Οι βιολογικές μελέτες που ακολούθησαν εξέτασαν την αντιβακτηριακή δράση έναντι των *E.coli* και *S.aureus* και την αντιμυκητιακή δράση έναντι των *A.flavus* και *A.fumigatus*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η σύμπλοκη ένωση του Zn εμφανίζει καλύτερη αντιβακτηριακή δράση έναντι στην *E.coli*, σε σχέση με το ελεύθερο ligand, χαμηλότερη όμως δράση τόσο έναντι του *S.aureus*, όσο και έναντι των δύο μυκήτων που μελετήθηκαν. (77)

▪ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΤΥΡΟΥ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η θεραπεία αρκετών μορφών καρκίνου αντιμετωπίζεται εδώ και αρκετά χρόνια με τα ευρέως χρησιμοποιούμενα φάρμακα της σισπλατίνης (cisplatin), της καρβοπλατίνης (carboplatin) αλλά και της οξαλιπλατίνης (oxaliplatin). Ωστόσο συχνά η χρήση τους παρεμποδίζεται από διάφορες παρενέργειες όπως για παράδειγμα η νευροτοξικότητα, η ναυτία, η αναιμία, η μυελοτοξικότητα αλλά και η ανάπτυξη κυτταρικής ανθεκτικότητας απέναντι στα συγκεκριμένα αντικαρκινικά φάρμακα. (78)

Για το λόγο αυτό γίνονται συνεχώς προσπάθειες ανεύρεσης νέων ενώσεων, με διάφορα βιολογικά ligands με στόχο την ανάπτυξη της αντικαρκινικής δράσης έναντι όσο των δυνατών περισσότερων καρκινικών στόχων με την ταυτόχρονη όμως ελάττωση της τοξικότητας και τη συνεπακόλουθη εμφάνιση παρενεργειών. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η σύμπλοκη ένωση του δισθενούς ψευδαργύρου με ένα διθειοκαρβαμιδικό άλας της βαλίνης, $[Zn(II)(ValDtc)]$ που φαίνεται στο σχήμα 22. (78)



Σχήμα 22: Προτεινόμενη δομή του συμπλόκου $[Zn(II)(ValDtc)]$.

Η βιολογική δραστηριότητα της ένωσης ελέγχθηκε τόσο έναντι σε καρκινικά κύτταρα όσο και έναντι ενός βακτηρίου που προκαλεί φυματίωση. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι ο ρυθμός ανάπτυξης του *Mycobacterium tuberculosis* μειώθηκε παρουσία της σύμπλοκης ένωσης, αφού ανέστειλε τη δημιουργία του κυτταρικού τοιχώματος. Όσον αφορά την αντικαρκινική δράση της ένωσης βρέθηκε πως προκάλεσε μορφολογικές αλλαγές στα καρκινικά κύτταρα που σχετίζονται με τον καρκίνο του στήθους, αφού εμφάνισαν χαμηλότερη τιμή της μέσης ανασταλτικής συγκέντρωσης ($IC_{50} = 210,27 \mu\text{g/mL}$) από τη σισπλατίνη (cisplatin) ($IC_{50} = 470 \mu\text{g/mL}$). (78)

▪ **ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΜΕ ΜΗ-ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΦΑΡΜΑΚΑ (ΜΣΑΦ)**

Όπως και στην περίπτωση του χαλκού έτσι και στον ψευδάργυρο έχει μελετηθεί ιδιαίτερα η συμπλοκοποίηση του μετάλλου με μη-στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ). Ανάλογα με το είδος του ligand με το οποίο συναρμόζεται το μέταλλο, για παράδειγμα εάν είναι δότης οξυγόνου ή αζώτου, τα σύμπλοκα του ψευδαργύρου κατατάσσονται σε κατηγορίες. Ενδεικτικά αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα στους πίνακες 7 και 8.

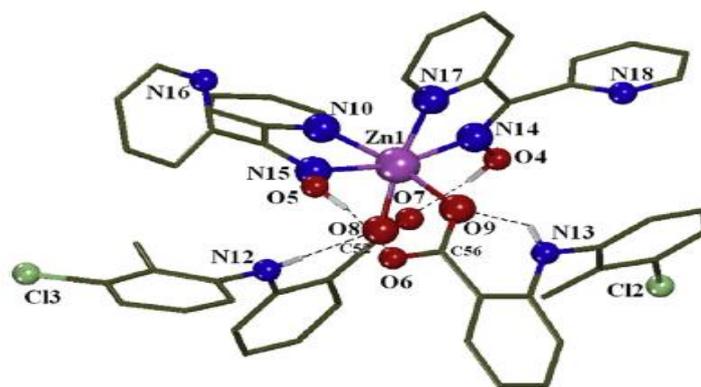
Πίνακας 7: Σύμπλοκες ενώσεις του ψευδαργύρου με ΜΣΑΦ και ligand δότες οξυγόνου.

| Τύπος Συμπλόκου | Αναφορά |
|--|---------|
| $[\text{Zn}(\text{dicl-O})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (Hdicl = diclofenac) | (79) |
| $[\text{Zn}(\text{nap-O})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (Hnap = naproxen) | (39) |
| $[\text{Zn}(\text{ibu-O})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (Hibu = ibuprofen) | (80) |
| $[\text{Zn}(\text{nif-O})_2(\text{MeOH})_4]$ (Hnif = niflumic acid) | (81) |
| $[\text{Zn}(\text{asp-O,O}')_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (as = aspirinate) | (82) |
| $[\text{Zn}(\text{nap-O,O}')(\text{nap-O})(\text{MeOH})_2]$ (Hnap = naproxen) | (83) |
| $[\text{Zn}_3(\mu\text{-tolf-O,O}')_6(\text{MeOH})_2]$ (Htolf = tolfenamic acid) | (84) |
| $[\text{Zn}_3(\mu\text{-fluf-O,O}')_6(\text{DMSO})_2]$ (Hfluf = flufenamic acid) | (85) |
| $[\text{Zn}(\text{ibu-O})_2(2\text{ampy})_2]$ (Hibu = ibuprofen) | (86) |
| $[\text{Zn}(\text{dicl-O})_2(2\text{ampy})_2]$ (Hdicl = diclofenac) | (79) |
| $[\text{Zn}_2(\mu\text{-ibu-O,O}')_4(2\text{-methylampy})_2]$ (Hibu = ibuprofen) | (86) |
| $[\text{Zn}_2(\text{indo-O,O}')_2(1\text{-indo-O,O}')_2(1\text{-indo-O,O',O}')_2(3\text{pic})_2]$ (Hindo = indomethacin) | (87) |
| $[\text{Zn}_3(\mu\text{-fluf-O,O}')_6(\text{py})_2]$ (Hfluf = flufenamic acid) | (85) |

Πίνακας 8: Σύμπλοκες ενώσεις του ψευδαργύρου με ΜΣΑΦ και ligand δότες αζώτου.

| Τύπος Συμπλόκου | Αναφορά |
|--|---------|
| [Zn(oxa-O) ₂ (phen)] (Hoxa = oxaprozin) | (88) |
| [Zn(fluf-O) ₂ (temed-N,N')] | (85) |
| [Zn(nif-O) ₂ (temed-N,N')] | (89) |
| [Zn(oxa-O)(oxa-O,O')(bipyam)] (Hoxa = oxaprozin) | (88) |
| [Zn(nif-O)(nif-O,O')(bipyam)] (Hnif = niflumic acid) | (81) |
| [Zn(oxa-O) ₂ (H ₂ O)(bipy)] (Hoxa = oxaprozin) | (88) |
| [Zn(fluf-O,O') ₂ (neoc)Cl] | (85) |
| [Zn(nif-O,O')(bipy)Cl] | (81) |
| [Zn(tol-O,O')(phen)Cl] | (84) |
| [Zn(tol-O,O') ₂ (phen)] | (84) |
| [Zn(tol-O,O') ₂ (bipy)] | (84) |
| [Zn(mef-O,O') ₂ (bipy)] | (90) |
| [Zn(Hdifl-O,O') ₂ (bipy)] | (91) |
| [Zn(Hdifl-O,O') ₂ (bipyam)] | (91) |
| [Zn(fluf-O,O') ₂ (bipyam)] | (92) |
| [Zn(mef-O)(mef-O,O')(phen)(H ₂ O)] | (90) |
| [Zn(mef-O) ₂ (Hpko) ₂] | (90) |
| [Zn(Hdifl-O) ₂ (Hpko) ₂] | (91) |
| [Zn(tol-O) ₂ (Hpko) ₂] | (93) |
| [Zn(fluf-O)(phen) ₂ (H ₂ O)] | (92) |
| [Zn(fluf-O) ₂ (cyclam)] | (85) |
| [Zn(nif-O) ₂ (cyclam)] | (89) |

Αμέσως μετά θα αναλυθεί ένα από τα προηγούμενα παραδείγματα, η σύμπλοκη ένωση του ψευδαργύρου με το τολφαιναμικό οξύ (tolfenamic acid) [Zn(tol)₂(Hpko)₂]. Το τολφαιναμικό οξύ έχει παρόμοιες ιδιότητες με το μεφαιναμικό οξύ (mefenamic acid) και με το φλουφαιναμικό οξύ (flufenamic acid) και χρησιμοποιείται σε διάφορα αναλγητικά, αντιφλεγμονώδη, αντιπυρετικά και αντιρευματικά φάρμακα αλλά επίσης και σε κτηνιατρικά φάρμακα. Το μεταλλικό κέντρο του συμπλόκου αποτελείται από ένα άτομο ψευδαργύρου που ενώνεται με δύο μονοδραστικά τολφαιναμικά ligands και με δύο διδραστικά ligands 2-διπυριδυλοκετονοξίμης(Hpko), εμφανίζοντας αριθμό συναρμογής έξι και παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία.(84)



Σχήμα 23: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Zn(tolf)_2(Hrko)_2]$.

Η βιολογική μελέτη της σύμπλοκης ένωσης που παρασκευάστηκε έδειξε ισχυρή αλληλεπίδραση με την ανθρώπινη και βοοειδή αλβουμίνη του ορού του αίματος, που επιτρέπει τη σύνδεση, τη μεταφορά και την απελευθέρωση της ένωσης όταν έρθει σε επαφή με το μόριο στόχο. Επιπλέον η σύμπλοκη ένωση εμφάνισε μέτρια δραστηριότητα ως προς τη δέσμευση των ελεύθερων ριζών υδροξυλίου και υπεροξειδίου, ενώ επίσης παρουσίασε μια σημαντική αναστολή στην δράση της λιποξυγενάσης από σόγια που οξυγονώνει τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Τέλος, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση με το calf-thymus-DNA, με την παρεμβολή να θεωρείται ο πιθανότερος τρόπος. (84)

3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ

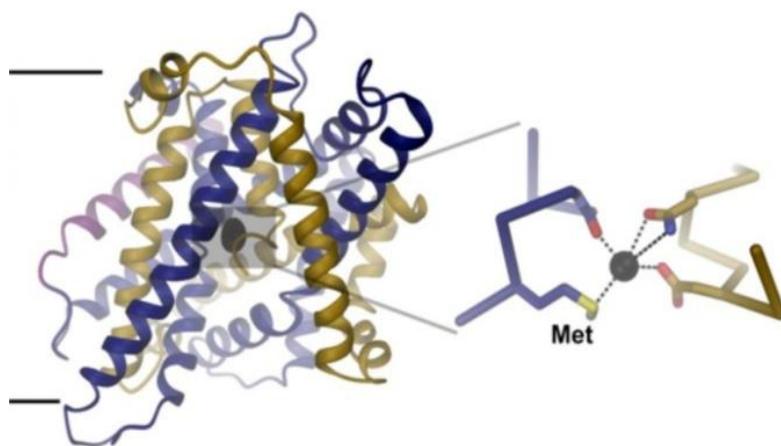
3.1 ΣΙΔΗΡΟΣ ΩΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΟ

Ο σίδηρος βρίσκεται σε σχετικά μεγάλο εύρος αριθμών οξειδωσης, αν και οι αριθμοί οξειδωσης +2 και +3 είναι οι πιο συνηθισμένοι του. Ο σίδηρος παίζει σημαντικό ρόλο στη βιοχημεία, σχηματίζοντας σύμπλοκα με το μοριακό οξυγόνο (O₂) στην αιμογλοβίνη και στη μυογλοβίνη, δύο συνηθισμένες μεταφορικές πρωτεΐνες οξυγόνου, που το μεταφέρουν στα σπονδυλωτά. Ο σίδηρος είναι ακόμη το μέταλλο που βρίσκεται στο ενεργό κέντρο πολλών σημαντικών οξειδοαναγωγικών ενζύμων που ασχολούνται με την κυτταρική αναπνοή και την οξειδοαναγωγή πολλών βιοχημικών ενώσεων σε φυτά και ζώα. (94)

Η συνολική ποσότητα του σιδήρου είναι περίπου 3,8g στους άνδρες και 2,3g στις γυναίκες. Τα 2/3 περίπου της ποσότητας αυτής δηλαδή περίπου 2-2,5g περιέχονται στην αιμοσφαιρίνη για τη μεταφορά του οξυγόνου του αίματος. Στις πρωτεΐνες που χρησιμοποιούν το σίδηρο για να εξυπηρετήσουν τις διάφορες κυτταρικές λειτουργίες περιέχονται περίπου 400mg. Τέτοιες λειτουργίες μπορεί να είναι η αποθήκευση οξυγόνου (μυοσφαιρίνη) ή οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις για την παραγωγή ενέργειας (κυτοχρώματα). Μία πολύ μικρή ποσότητα του σιδήρου βρίσκεται και στο πλάσμα του αίματος και είναι στενά συνδεδεμένη με τη τρανσφερρίνη. Η μέση απαιτούμενη ημερήσια ποσότητα είναι 10mg για ενήλικες, 15mg για θηλάζουσες και 30mg για έγκυες γυναίκες. (94)

3.2 ΑΠΟΡΟΦΗΣΗ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ

Το ποσοστό του σιδήρου που απορροφάται από τις τροφές που καταναλώνονται είναι χαμηλό και κυμαίνεται από 5% έως 35%, ανάλογα βέβαια από τις περιπτώσεις αλλά και από την μορφή με την οποία απαντάται. Η απορρόφηση του σιδήρου γίνεται από τις δύο μορφές του στις τροφές, τον οργανικό (ευρισκόμενο στην αίμη) και τον ανόργανο σίδηρο. Η απορρόφηση του ανόργανου σιδήρου στον εντερικό σωλήνα γίνεται κυρίως στην ανηγμένη μορφή Fe(II) στο δωδεκαδάκτυλο. Στην εισαγωγή και μεταφορά του σιδήρου στα εντερικά κύτταρα συμμετέχουν διάφορες πρωτεΐνες σημαντικότερη από τις οποίες είναι ο μεταφορέας διθενών μεταλλικών ιόντων, DMT1 (divalent metal-ion transporter). (95)



Σχήμα 24: Θέση δέσμευσης του Feστην DMT1.

Δεδομένου ότι ο σίδηρος απαιτείται για πολλές και διαφορετικές κυτταρικές λειτουργίες, στόχος του οργανισμού είναι η διατήρηση μιας σταθερής ισορροπίας μεταξύ πρόσληψης, μεταφοράς, αποθήκευσης και χρήσης για τη διατήρηση της ομοιόστασης του σιδήρου. Καθώς το σώμα στερείται ενός καθορισμένου μηχανισμού για την ενεργή απέκκριση του σιδήρου, η διατήρηση της ισορροπίας στη διαθέσιμη ποσότητα του μετάλλου ρυθμίζεται κυρίως στο σημείο απορρόφησης.

Υπάρχει ένας μηχανισμός ανατροφοδότησης του μετάλλου που ενισχύει την απορρόφησή του σε άτομα με έλλειψη σιδήρου. Αντίθετα, τα άτομα που εμφανίζουν ιδιαίτερα αυξημένες ποσότητες σιδήρου αναστέλλουν την απορρόφηση του μέσω της εψιδίνης, μια πολυπεπτιδικής ορμόνης που παράγεται στο ήπαρ και φαίνεται ότι είναι ο κύριος ρυθμιστής της ομοιόστασης του σιδήρου και παρουσιάζει δυνατότητες χρήσης ως δείκτη αναιμίας, σιδηροπενίας και φλεγμονής, αλλά και θεραπευτικού στόχου. Η απορρόφηση του σιδήρου ελέγχεται από φερροπορτίνη, η οποία συναντάται στο έντερο και στον σπλήνα και αυξάνει ή ελαττώνει τη μεταφορά του σιδήρου στο πλάσμα. (96)

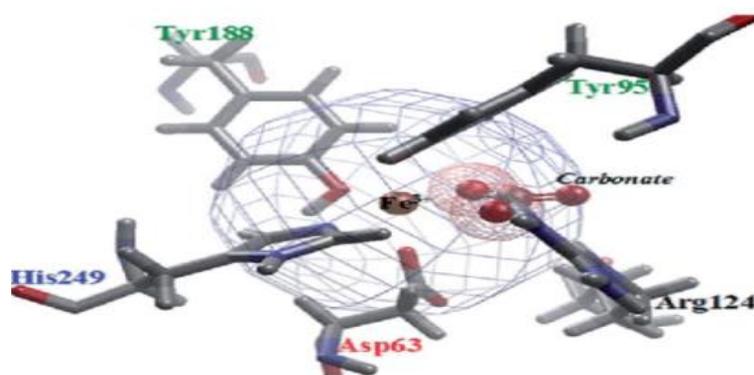
Η οξειδωτική κατάσταση με την οποία εισέρχεται ο σίδηρος στο δωδεκαδάκτυλο έχει ιδιαίτερη σημασία και επηρεάζει σημαντικά την απορρόφησή του. Σε φυσιολογικό pH, ο δισθενής σίδηρος οξειδώνεται ταχύτατα στην αδιάλυτη τρισθενή μορφή του. Το γαστρικό οξύ μειώνει το pH στην περιοχή ανάγοντας τον τρισθενή σίδηρο σε δισθενή, αντίδραση η οποία καταλύεται από τις ρεδοκτάσες του σιδήρου, επιτρέποντας έτσι στην συνέχεια τη μεταφορά του δισθενή σιδήρου μέσω της μεμβράνης των εντερικών κυττάρων, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό την πρόσληψή του. Για το λόγο αυτό, όταν εξαιτίας ορισμένων ασθενειών ή χορήγησης κάποιου φαρμάκου παρατηρείται αναστολή της παραγωγής του γαστρικού οξέος, ακολουθεί ταυτόχρονη αναστολή στην απορρόφηση του σιδήρου. (96)

3.3 ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ

Ο δισθενής σίδηρος που απορροφήθηκε και βρίσκεται πλέον στο εσωτερικό των εντερικών κυττάρων, εξέρχεται εκ νέου από τη μεμβράνη και επανέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω της φερροπορτίνης. Η εκροή του δισθενούς σιδήρου περιλαμβάνει εκτός από τη φερροπορτίνη και μία άλλη μεμβρανική πρωτεΐνη,τηνοξειδάση της ηφαιστίνης, που αλληλεπιδρά με την φερροπορτίνη και με τη σερουπλασμίνη του πλάσματος. (96)

Ο σίδηρος που εξέρχεται, δεσμεύεται από την τρασφερρίνη, η οποία διατηρεί το μέταλλο στην τρισθενή αδρανή οξειδωτική κατάσταση και το μεταφέρει σε όσους ιστούς απαιτείται. Η ποσότητα του σιδήρου που περιέχεται στην τρασφερρίνη είναι λιγότερο από το 0,1% της συνολικής ποσότητας του σιδήρου στο σώμα, αλλά είναι δυναμική και μεταβάλλεται τουλάχιστον δέκα φορές την ημέρα για τη διατήρηση της ισορροπία της ποσότητας του σιδήρου στο αίμα. Πηγή σιδήρου βέβαια για την τρασφερρίνη αποτελεί σε μεγαλύτερο βαθμό ο σίδηρος που ανακυκλώνεται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια και σε μικρότερο βαθμό αυτός που λαμβάνεται από τη διατροφή. Τα γερασμένα ερυθροκύτταρα αποδομούνται από μακροφάγα τα οποία μεταβολίζουν την αιμοσφαρίνη και την αίμη και απελευθερώνουν σίδηρο στην κυκλοφορία του αίματος, με παρόμοιο τρόπο όπως τα εντερικά κύτταρα. (96)

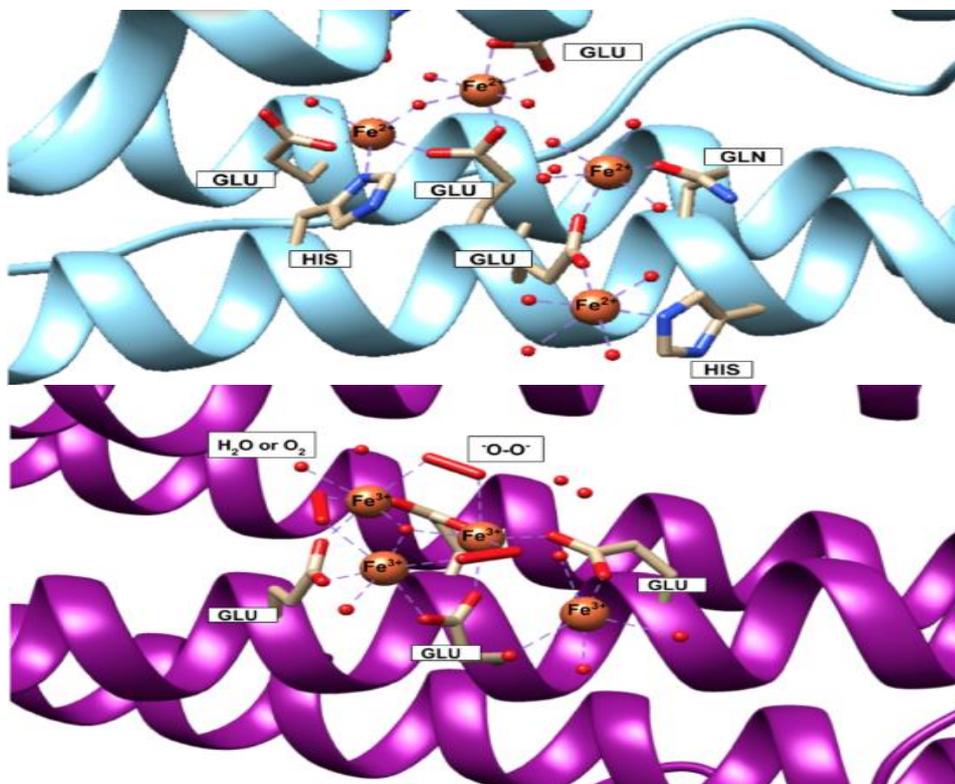
Οι δύο βασικές πρωτεΐνες του μεταβολισμού του σιδήρου είναι η τρασφερρίνη και η φερριτίνη. Η τρασφερρίνη είναι η κύρια πρωτεΐνη μεταφοράς σιδήρου στον άνθρωπο, αποτελείται από μία απλή πολυπεπτιδική αλυσίδα, συντίθεται στο ήπαρ και καθορίζει τη διαθεσιμότητα του μετάλλου στα βιολογικά υγρά. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη περιέχει δύο ιόντα τρισθενούς σιδήρου και αλληλεπιδρά με κατάλληλους μεμβρανικούς υποδοχείς, οι οποίοι τη μεταφέρουν στο εσωτερικό του κυττάρου σχηματίζοντας κυστίδια. Μέσα στα κυστίδια αυτά, η τρασφερρίνη απελευθερώνει τα ιόντα του μετάλλου που στη συνέχεια διαχέονται μέσα στα κύτταρα για να συμμετέχουν στις κατάλληλες βιοχημικές διεργασίες, ενώ οι υποδοχείς επιστρέφουν στην επιφάνεια του κυττάρου έτοιμοι να συμμετέχουν σε νέες διαδικασίες μεταφοράς. (97)



Σχήμα 25: Το μεταλλικό κέντρο της τρασφερρίνης.

Η αποθήκευση του σιδήρου γίνεται στην φερριτίνη, η οποία έχει την ικανότητα να δεσμεύει και να αποδεσμεύει το σίδηρο. Κατά τη δέσμευση του σιδήρου, λαμβάνει χώρα καταλυτική οξείδωση του Fe(II) προς Fe(III) από την αποφερριτίνη, ενώ κατά την αποδέσμευση γίνεται αναγωγή του Fe(III) προς Fe(II) από τις φλαβίνες. Οι φερριτίνες είναι σύμπλοκα σφαιρικών πρωτεϊνών, που συνήθως αποτελούνται από 24 πρωτεϊνικές υπομονάδες, σχηματίζοντας ένα κοίλο περίπου σφαιρικό τρισδιάστατο σχήμα. Είναι οι κύριες ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες αποθήκευσης σιδήρου και στους προκαρυωτικούς αλλά και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, διατηρώντας τα ιόντα του μετάλλου σε διαλυτή και μη τοξική μορφή. Κάθε φερριτίνη μπορεί να περιέχει έως και 4500 άτομα σιδήρου ή ιόντα και ανάλογα από τον οργανισμό, από τον οποίο προέρχεται, διαφέρει ως προς τη δομή της, την αλληλουχία των αμινοξέων αλλά και το μοριακό μέγεθος. (98)

Δύο τύποι φερριτίνης έχουν ταυτοποιηθεί σε ανθρώπινους ιστούς, η μία μορφή χαρακτηρίζεται ως βαριάς αλυσίδας (H-chain) και η άλλη ως ελαφριάς αλυσίδας (L-chain). Οι φερριτίνες βαριάς αλυσίδας καταλύουν την οξείδωση του σιδήρου Fe(II) και σχετίζονται με την ταχεία πρόσληψη σιδήρου εξυπηρετώντας ταυτόχρονα και προστατευτικό ρόλο στους ιστούς που απαντώνται, όπως η καρδιά και ο εγκέφαλος αλλά και στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Ενώ οι φερριτίνες ελαφριάς αλυσίδας προάγουν την αποθήκευση του σιδήρου Fe(III), παρατηρείται πιο αργή πρόσληψη σιδήρου και βρίσκονται κυρίως στο σπλήνα, στο ήπαρ ή στο πλάσμα, ωστόσο διατηρούν τη δομή τους κατά τη χημική ή θερμική αποσταθεροποίηση, μετουσίωση. (98)



Σχήμα 26: Το μεταλλικό κέντρο της φερριτίνης H-chain (αριστερά) και L-chain (δεξιά).

Γενικά η ποσότητα του σιδήρου που απεκκρίνεται από τον ανθρώπινο οργανισμό είναι μικρή και εξαρτάται από παράγοντες όπως η διατροφή αλλά και το φύλο. Η απέκκριση του σιδήρου παρατηρείται κυρίως μέσω της πεπτιδικής οδού με την απολέπιση των κυττάρων του εντερικού βλεννογόνου. Μια μικρή ποσότητα απεκκρίνεται επίσης από τον ιδρώτα, τα ούρα και τις τρίχες του κεφαλιού. Η κατάσταση διαφοροποιείται στις γυναίκες όπου η απέκκριση σιδήρου είναι μεγαλύτερη κυρίως λόγω της εμμήνου ρύσεως αλλά και της εγκυμοσύνης, καταστάσεις που σχετίζονται με αιμορραγία. Για το λόγο αυτό συστήνεται πολλές φορές η λήψη συμπληρωμάτων σιδήρου. (96)

Η έλλειψη σιδήρου είναι μία από τις πιο σημαντικές αιτίες αναιμίας. Η αναιμία χαρακτηρίζεται από χαμηλή ποσότητα ερυθρών αιμοσφαιρίων στο αίμα ή χαμηλή περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης στα κύτταρα του αίματος, ο σίδηρος είναι ένα πολύ σημαντικό συστατικό του μορίου της αιμοσφαιρίνης. Υπάρχουν δύο κατηγορίες αναιμίας, η οξεία αναιμία που εμφανίζεται για μικρό χρονικό διάστημα και η χρόνια αναιμία. Στη χρόνια αναιμία, τα συμπτώματα εμφανίζονται αργά και σταδιακά, ενώ στην οξεία αναιμία, οι ενοχλήσεις είναι εντονότερες και πιο επικίνδυνες. Οι αιτίες για τις οποίες μπορεί ο οργανισμός να οδηγηθεί στην ασθένεια αυτή είναι πολλές και πολλές φορές η εμφάνιση αναιμίας σχετίζεται με περισσότερους από έναν παράγοντες. Ένας από τους πιο κοινούς παράγοντες είναι η έλλειψη σιδήρου και αναπτύσσεται σε ασθενείς με χρόνια ή συστηματική ασθένεια ή φλεγμονή. Η σιδηροπενική αναιμία είναι η πιο συχνή αναιμία σε όλον τον κόσμο και προσβάλλει 500 εκατομμύρια άτομα στον πλανήτη. Υπολογίζεται ότι περίπου 40% των γυναικών και 30% των παιδιών παρουσιάζουν, έστω μία φορά στη ζωή τους, αναιμία από έλλειψη σιδήρου. Τα αίτια της σιδηροπενίας χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει την ανεπαρκή πρόσληψη, μειωμένη απορρόφηση στο έντερο (π.χ. νόσος Crohn, εκτεταμένη εντερεκτομή), ή αυξημένες ανάγκες σε σίδηρο (κύηση, αθλητές). Η δεύτερη και πιο σημαντική ομάδα περιλαμβάνει τις νόσους και καταστάσεις που οδηγούν στην απώλεια αίματος όπως, εμμηνορραγίες και μητρορραγίες, πεπτικό έλκος (στομάχου ή δωδεκαδακτύλου), καρκίνος του πεπτικού σωλήνα (κυρίως παχέος εντέρου και στομάχου), ελκώδης κολίτιδα, διαφραγματοκήλη, αγγειοδυσπλασίες και άλλοι καλοήθεις νόσοι του πεπτικού συστήματος (πολύποδες παχέος εντέρου), αιμορροΐδες. (96)

Σπανίως σε σιδηροπενία οδηγούν και ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως (με μαζική αιματουρία), η αιμολυτική αναιμία από μηχανικά αίτια (μεταλλική βαλβίδα) και η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία. Η διάγνωση της σιδηροπενικής αναιμίας είναι απλή. Στηρίζεται στο ιστορικό και τα χαρακτηριστικά ευρήματα της γενικής αίματος (μείωση αιμοσφαιρίνης-αιματοκρίτη, μειωμένος μέσος όγκος ερυθρών –MCV- , μειωμένη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στα ερυθρά – MCH) σε συνδυασμό με χαμηλές τιμές του σιδήρου και της φερριτίνης του ορού.

Εξ ίσου απλή είναι και η θεραπεία της σιδηροπενικής αναιμίας: χορήγηση κάποιου σκευάσματος σιδήρου από το στόμα ή (επί ενδείξεων) ενδοφλεβίως. Εν τούτοις, συχνά οι ασθενείς και οι θεράποντες ιατροί τους αντιμετωπίζουν διαγνωστικά ή θεραπευτικά προβλήματα. Κατά κανόνα αυτά είναι πολύ απλά και η αντιμετώπισή τους είναι εύκολη όταν τηρούνται μερικοί βασικοί κανόνες. Αυτούς καλό είναι να γνωρίζει όχι μόνον ο ιατρός αλλά και ο ίδιος ο ασθενής, ώστε η συνεργασία τους να οδηγήσει στην αποτελεσματικότερη θεραπεία της σιδηροπενίας. (96)

3.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ

Ο σίδηρος είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο τόσο στον ανθρώπινο οργανισμό όσο και σε πολλά βακτήρια, ζώα και φυτά. Η σπουδαιότητα της παρουσίας του μετάλλου στους οργανισμούς προκύπτει από το γεγονός ότι έχει τη δυνατότητα να λειτουργεί τόσο ως δέκτης όσο και ως δότης ηλεκτρονίων και με τον τρόπο αυτό να συμμετέχει σε πολλές και σημαντικές βιοχημικές αντιδράσεις. Από την άλλη μεριά βέβαια, όπως και τα υπόλοιπα ιόντα μετάλλων που εμφανίζουν την ικανότητα να αλλάζουν τις οξειδωτικές τους καταστάσεις, μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό τοξικών ριζών όταν βρεθεί σε ελεύθερη μορφή μέσα στους διάφορους οργανισμούς που συναντάται.(5)

Η βιολογική δράση του σιδήρου στα βιολογικά συστήματα παρουσιάζεται με διάφορους τρόπους. Συμμετέχει σε αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής των ενζυμικών υποστρωμάτων, είναι απαραίτητο στοιχείο σε μεταλλοπρωτεΐνες που έχουν τη δυνατότητα να δρουν ως μεταφορείς ή πηγές οξυγόνου ενώ τέλος συναντάται και σε μεταλλοπρωτεΐνες αποθήκευσης σιδήρου.(5)

▪ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ

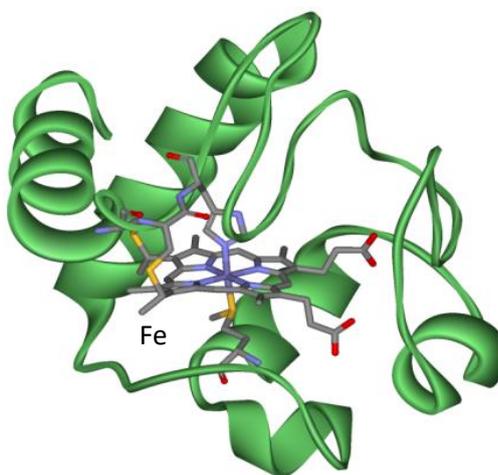
Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης που πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια είναι μια διαδικασία, η οποία έχει στόχο τη μεταφορά ηλεκτρονίων προς το οξυγόνο μέσω ειδικών μεμβρανικών δεκτών ηλεκτρονίων. Η μεταφορά αυτή των ηλεκτρονίων πραγματοποιείται λόγω διαφοράς δυναμικού στις δύο πλευρές τις μιτοχονδριακής μεμβράνης, λόγω διαφορετικής συγκέντρωσης H^+ . Η διαφορετική συγκέντρωση H^+ στις δύο πλευρές καταλύεται από ορισμένα σύμπλοκα σιδήρου, όπως η οξειδάση του κυτόχρωματος C, σύμπλοκο IV. (99)

Γενικά στα κυτοχρώματα, όπου το μεταλλικό κέντρο είναι δισθενής ή τρισθενής σίδηρος, παρατηρείται οκταεδρική γεωμετρία γύρω από το κεντρικό μέταλλο ενώ δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ligands. Η παρουσία του σιδήρου στα κυτοχρώματα όπου το μεταλλικό κέντρο αποτελείται από ένα σύστημα αίμης σχετίζεται πιθανότατα με τη μεταφορά ηλεκτρονίων αφού τα μήκη των δεσμών μεταξύ μετάλλου-ligand βρίσκονται σε μία ενδιάμεση τιμή των δεσμών του δισθενούς και τρισθενούς σιδήρου, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα της

αλλαγής της οξειδωτικής κατάστασης και της ταχείας ηλεκτρονιακής μεταφοράς μεταξύ των κυτοχρωμάτων αλλά και των πρωτεϊνών σιδήρου–θείου. (99)

▪ **ΚΥΤΟΧΡΩΜΑΤΑ ΤΥΠΟΥ - C**

Στην κατηγορία των κυτοχρωμάτων ανήκει και το κυτόχρωμα τύπου c που είναι ένα πολύ σταθερό ένζυμο, το οποίο έχει το πλεονέκτημα να διατηρεί τη δομή του ακόμα όταν αλλάζει η θερμοκρασία και το pH του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται. Η δομή του ενζύμου περιλαμβάνει ένα άτομο Fe που βρίσκεται συναρμοσμένο στην αίμη, η οποία στη συνέχεια με τη σειρά της συναρμόζεται με την πρωτεΐνη μέσω μίας θειοαιθερικής γέφυρας. (5)

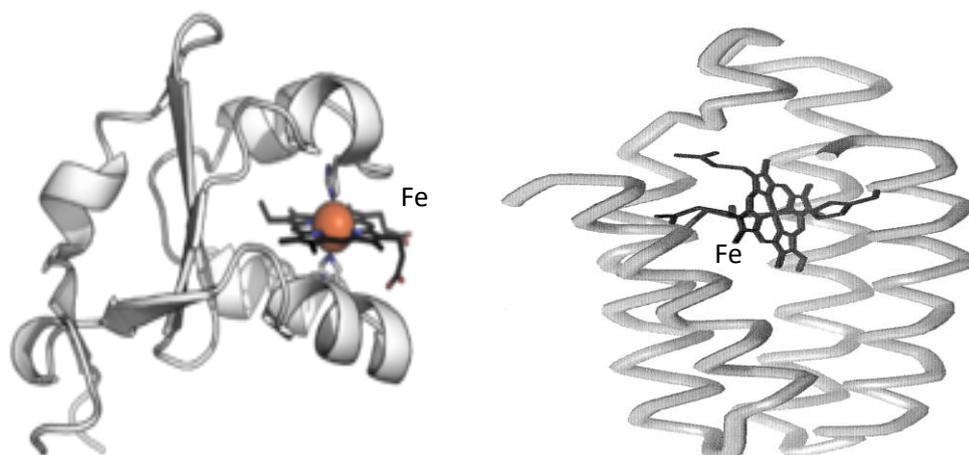


Σχήμα 27: Δομή του κυτοχρώματος c, συναρμογή της πρωτεΐνης με τον πορφυρινικό δακτύλιο.

Είναι ένα μέλος της αλυσίδας του αναπνευστικού συστήματος του μιτοχονδρίου και μεταφέρει ηλεκτρόνια από το κυτόχρωμα c₁ στο σύμπλοκο της κυτοχρωμικής οξειδάσης. Ενδιαφέρον έχει ο τρόπος με τον οποίο το ηλεκτρόνιο μεταφέρεται μέσα από την επιφάνεια του ενζύμου προς την αίμη και αμέσως μετά απομακρύνεται, χωρίς να παρατηρείται κάποια δομική αλλαγή. (5)

▪ **ΚΥΤΟΧΡΩΜΑΤΑ ΤΥΠΟΥ - b**

Τα κυτοχρώματα τύπου b περιέχουν πρωτοαίμη, η οποία δεν είναι συναρμοσμένη ομοιοπολικά με την πρωτεΐνη μέσω των υποκατασταστών της αίμης. Τα περισσότερα κυτοχρώματα της κατηγορίας αυτής έχουν βρεθεί στους χλωροπλάστες και συμμετέχουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων κατά τη φωτοσύνθεση. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των ενζύμων αυτών είναι ότι υπάρχει μία ισορροπία μεταξύ δομών υψηλού και χαμηλού spin, ανάλογα με τις μεταβολές του pH. Εξαιτίας της ισορροπίας αυτής είναι δυνατή η αλλαγή στο μήκος του δεσμού μετάλλου-ligand και μάλιστα με μεγάλη ταχύτητα διευκολύνοντας έτσι τη μεταφορά ηλεκτρονίων. (5)

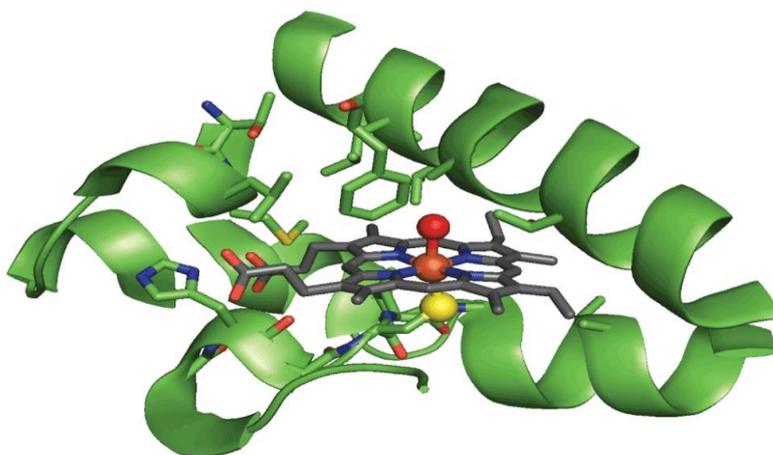


Σχήμα 28: Δομή του κυτοχρώματος b_5 (αριστερά), και του κυτοχρώματος b_{562} (δεξιά).

Από την ανάλυση της δομής των κυτοχρωμάτων b_5 , b_{562} με την χρήση ακτινών-X προέκυψε ότι τα αξονικά ligands είναι η ιστιδίνη και η μεθειονίνη στο b_{562} και δύο ιστιδίνες στο b_5 . (100) (101)

▪ **ΚΤΟΧΡΩΜΑ ΤΥΠΟΥ P-450**

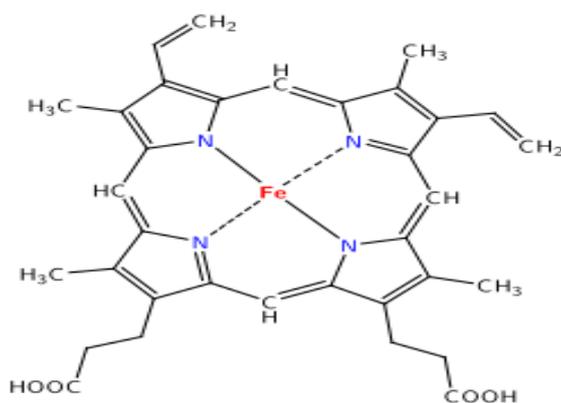
Το κυτόχρωμα P-450 έχει βρεθεί σε διάφορους οργανισμούς, σε φυτά, σε ζώα, σε βακτήρια αλλά και στον ανθρώπινο οργανισμό και συμμετέχει σε διάφορες διαδικασίες του μεταβολισμού. Έχει βρεθεί ότι στον άνθρωπο καταλύει την υδροξυλίωση των φαρμάκων, των ζιζανιοκτόνων, αλλά και άλλων οργανικών ενώσεων που εισέρχονται στον οργανισμό κυρίως μέσω της διατροφής. Η καταλυτική δράση του ενζύμου επιφέρει την αποτοξίνωση του οργανισμού επιτρέποντας τη διάλυση προηγουμένως αδιάλυτων ουσιών στο νερό και την απομάκρυνση από τον οργανισμό μέσα από τα ούρα, μην επιτρέποντας έτσι την τοξική τους αποθήκευση στα λίπη. Ο μηχανισμός δράσης του ενζύμου περιλαμβάνει την καταλυτική προσθήκη μοριακού οξυγόνου στο υπόστρωμα με αναγωγική διάσπαση του δεσμού O-O. (102)



Σχήμα 29: Δομή του κυτοχρώματος P-450.

▪ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΕΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΛΑΣΕΣ

Οι υπεροξειδάσες και οι καταλάσες είναι ένζυμα που εμφανίζουν αρκετές ομοιότητες στον τρόπο λειτουργίας τους αλλά επίσης και στην παρουσία του σιδήρου στην οξειδωτική κατάσταση IV κατά τον καταλυτικό κύκλο. Οι υπεροξειδάσες περιέχουν αίμη στο μόριό τους και καταλύουν οξειδώσεις που γίνονται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου, οι καταλάσες καταλύουν την αποπρωτονίωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Τόσο οι υπεροξειδάσες όσο και οι καταλάσες περιέχουν στο μόριό τους σιδηροπρωτοπορφυρίνη IX όπως φαίνεται στο σχήμα 30.

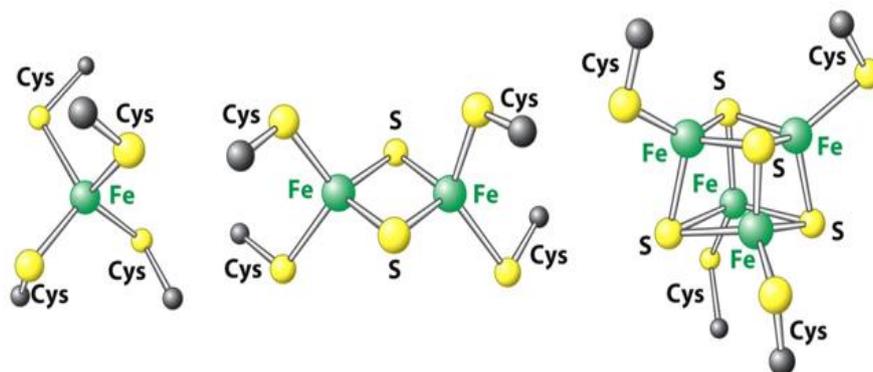


Σχήμα 30: Σιδηροπρωτοπορφυρίνη IX.

Και οι δύο κατηγορίες ενζύμων είναι πολύ διαδεδομένες και ο ρόλος τους είναι να προστατεύουν τους οργανισμούς από τη συσσώρευση επικινδύνων ποσοτήτων υπεροξειδίου του υδρογόνου. (5)

▪ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΣΙΔΗΡΟΥ-ΘΕΙΟΥ:

Μια μεγάλη κατηγορία ενζύμων που δεν περιέχουν ομάδες αίμης είναι οι μεταλλοπρωτεΐνες σιδήρου-θείου που συμμετέχουν σε πολλές βιοχημικές αντιδράσεις. Στις πρωτεΐνες αυτές υπάρχουν τριών ειδών μεταλλικά κέντρα.

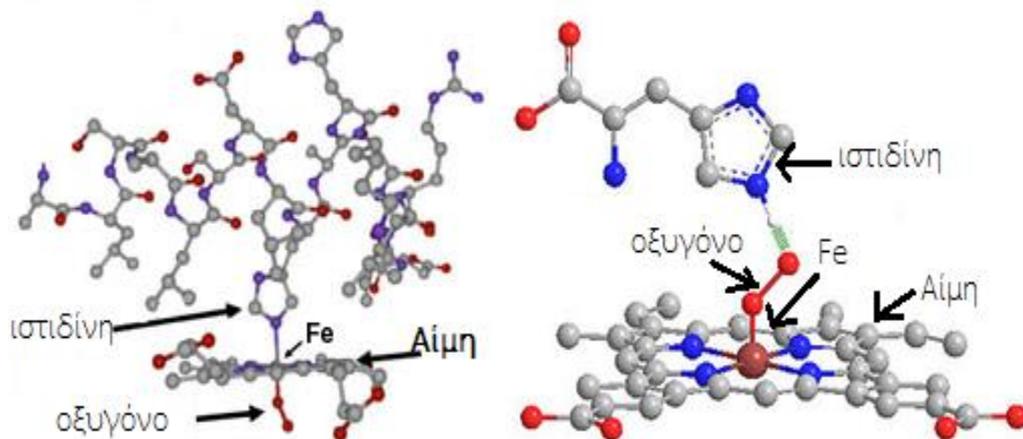


Σχήμα 31: Οι τρεις τύποι ενεργών κέντρων στις πρωτεΐνες σιδήρου-θείου.

Οι πρωτεΐνες σιδήρου-θείου περιλαμβάνουν τις ρουβριδοξίνες, φερρεδοξίνες και τα ένζυμα ακονιτάση και νιτρογενάση. Οι ρουβριδοξίνες και οι φερρεδοξίνες είναι μεταφορείς ηλεκτρονίων και ο τρόπος δράσης τους μοιάζει με τα κυτοχρώματα. Στις ρουβριδοξίνες, ο σίδηρος συναρμόζεται με τέσσερις κυστεΐνες και απαντώνται σε αναερόβια βακτήρια ενώ οι φερρεδοξίνες περιέχουν μεταλλικά κέντρα τύπου 2Fe-2S ή 4Fe-4S και απαντώνται στους χλωροπλάστες. Το ένζυμο ακονιτάση καταλύει την αποβολή ή την προσθήκη νερού στο δεύτερο βήμα του κύκλου του κιτρικού οξέος (κύκλος του Krebs), ενώ η νιτρογενάση παράγεται από ορισμένα βακτήρια, όπως τα κυανοβακτήρια, που είναι υπεύθυνα για την αναγωγή του αζώτου (N₂) σε αμμωνία (NH₃). (97)

▪ ΣΙΔΗΡΟΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Μία από τις πιο βασικές και σημαντικές βιολογικές διεργασίες είναι η αποθήκευση και η μεταφορά μοριακού οξυγόνου, από πρωτεΐνες του σιδήρου και του χαλκού που υπάρχουν στο αίμα των ζωντανών οργανισμών. Οι πιο σημαντικές από αυτές είναι οι αιμοπρωτεΐνες, στις οποίες ανήκουν η αιμοσφαιρίνη και η μυοσφαιρίνη. Οι πρωτεΐνες αυτές δεσμεύουν ένα μόριο οξυγόνου ανά άτομο σιδήρου Fe(II). Οι δομές αυτές των πρωτεϊνών περιέχουν ένα σύμπλοκο σιδήρου Fe(II)-πρωτοπορφυρίνης IX και απαντώνται στο αίμα (αιμοσφαιρίνη-Hb) και στους μύες (μυοσφαιρίνη-Mb). Η μυοσφαιρίνη είναι πιθανόν η πρωτεΐνη που σχετίζεται με τη μεταφορά του μοριακού οξυγόνου στις μεμβράνες. (103)



Σχήμα 32: Συναρμογή του οξυγόνου στην αιμοσφαιρίνη (αριστερά) και στην μυοσφαιρίνη (δεξιά).

3.5 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ

Από την αρχαιότητα ακόμα, ο άνθρωπος γνώριζε τον ιδιαίτερο ευεργετικό ρόλο του σιδήρου στην υγεία αλλά και στην καταπολέμηση των ασθενειών, αφού αναφορές για τη

θεραπευτική δράση των ενώσεων του σιδήρου υπάρχουν τόσο στην αρχαία Αίγυπτο, Ελλάδα και Ρώμη. Κατά τη διάρκεια του 17ου αιώνα, ο σίδηρος χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία της χλωρώσης (πράσινη ασθένεια), μια κατάσταση που συχνά οφείλεται στην έλλειψη σιδήρου. Ωστόσο, μόλις το 1932 αποδείχθηκε η σημασία του σιδήρου αφού βρέθηκε ότι χρειαζόταν ανόργανος σίδηρος για τη σύνθεση της αιμοσφαιρίνης, έτσι η έρευνα επικεντρώθηκε στο ρόλο του μετάλλου στο σχηματισμό της αιμοσφαιρίνης και στη μεταφορά οξυγόνου. Σήμερα, αν και η χαμηλή πρόσληψη σιδήρου ή η βιοδιαθεσιμότητα του είναι υπεύθυνες για τις περισσότερες περιπτώσεις αναιμίας στις βιομηχανικές χώρες, αντιπροσωπεύουν μόνο το ήμισυ περίπου της αναιμίας στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου μολυσματικές και φλεγμονώδεις ασθένειες (ειδικά η ελονοσία), η απώλεια αίματος από παρασιτικές λοιμώξεις και άλλες ανεπάρκειες θρεπτικών συστατικών (βιταμίνη A, ριβοφλαβίνη, φολικό οξύ και βιταμίνη B12) αποτελούν επίσης σημαντικούς παράγοντες. (104)

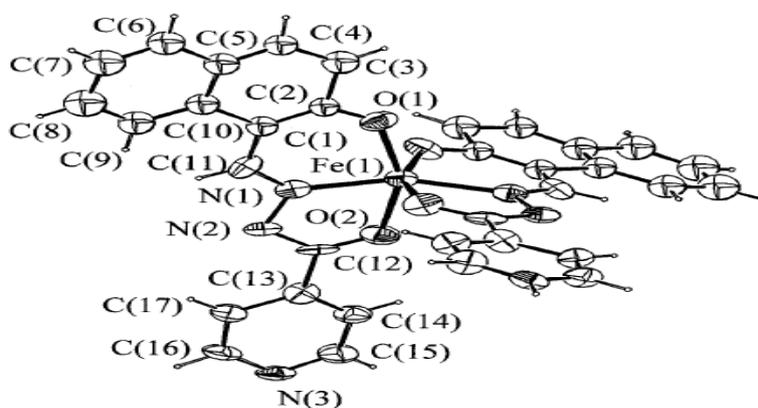
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο σίδηρος σχετίζεται σε πολύ μεγάλο βαθμό με την εμφάνιση αναιμίας, για το λόγο αυτό έχουν παρασκευαστεί αρκετά φάρμακα και συμπληρώματα διατροφής για την καταπολέμηση της συγκεκριμένης ασθένειας. Οι πιο αποτελεσματικές μέθοδοι για τη θεραπεία της αναιμίας που προκύπτει από ανεπάρκεια σιδήρου περιλαμβάνει τη χορήγηση από του στόματος, αλάτων του σιδήρου. Οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται με σκοπό να παρέχουν την απαραίτητη ποσότητα σιδήρου για τη σύνθεση της αιμοσφαιρίνης και για την αναπλήρωση των αποθεμάτων σιδήρου στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο σίδηρος χορηγείται επιφυλακτικά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης λόγω των αναμενόμενων απαιτήσεων του εμβρύου αλλά και των απωλειών που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια του τοκετού. (105)

Πίνακας 9: Δραστικές ενώσεις του σιδήρου που χρησιμοποιούνται για την θεραπεία της αναιμίας και αναφορές.

| Τύπος Ένωσης | Αναφορά |
|--|---------|
| FeSO ₄ | (106) |
| Fe(CO) ₅ | (107) |
| C ₆ H ₅ FeO ₇ (Ferric Citrate) | (108) |
| FeH ₂ O ₄ S (Iron-Dextran) | (109) |
| C ₁₂ H ₂₉ Fe ₅ Na ₂ O ₂₃ (Iron sucrose) | (110) |
| C ₂₄ H ₄₄ FeO ₂₅ (Ferric Carboxymaltose) | (111) |
| C ₁₂ H ₂₂ FeO ₁₄ (Ferrous gluconate) | (112) |
| C ₄ H ₂ FeO ₄ (Ferrous fumarate) | (113) |

| | |
|---|-------|
| $\text{Fe}_3\text{H}_2\text{O}_4$ (Ferumoxytol) | (114) |
| $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{FeO}_9$ (Ferric maltol) | (115) |
| $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{FeO}_{16}^{+3}$ (Ferric derisomaltose) | (116) |

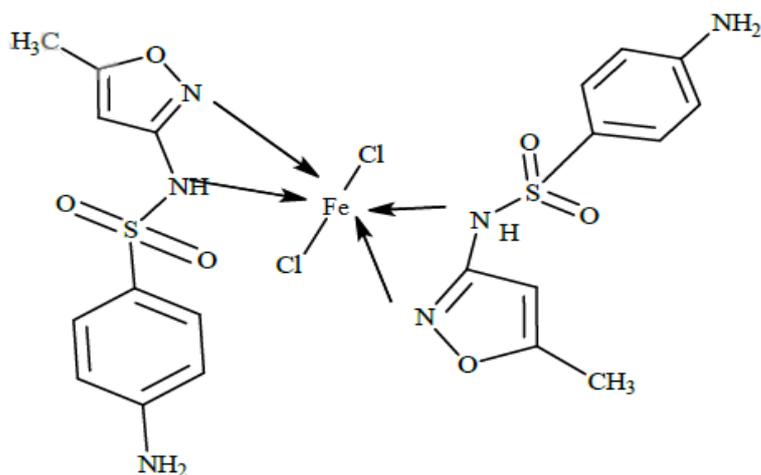
Όπως αναφέραμε προηγουμένως οι σύμπλοκες ενώσεις διαφόρων μετάλλων με φαρμακευτικές ουσίες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον και από τα μέταλλα αυτά δεν θα μπορούσε να λείπει ο σίδηρος, του οποίου ο ρόλος είναι τόσο σημαντικός και αλληλεπιδρά με πολλές βιολογικές ενώσεις. Η κατεύθυνση της έρευνας γύρω από τις ενώσεις αυτές σχετίζεται με καινούργια ή ήδη υπάρχοντα φάρμακα με αντιμικροβιακούς, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικούς αλλά και άλλους στόχους. Στην λογική αυτή αναφέρεται η περίπτωση του αντικαρκινικού συμπλόκου του τρισθενούς σιδήρου με την 2-υδροξυ-1-ναφθαλδεΐδη ισονικοτινοϋλδραζόνη (NIH) $[\text{Fe}(\text{NIH}-\text{H})_2](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (117)



Σχήμα 33: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[\text{Fe}(\text{NIH}-\text{H})_2](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Το μεταλλικό κέντρο του συμπλόκου αποτελείται από έναν τρισθενή σίδηρο που συναρμόζεται με δύο αποπρωτονιωμένα τριδραστικά ligands NIH σχηματίζοντας ένα παραμορφωμένο οκτάεδρο υψηλού spin. Η ηλεκτροχημική ανάλυση που ακολούθησε έδειξε πως η τρισθενής οξειδωτική κατάσταση υπερισχύει της δισθενούς, αφού στη δισθενή κατάσταση δεν διατηρείται ακέραιη η δομή της ένωσης. Μάλιστα αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχει μεταβολή στην οξειδωτική κατάσταση του σιδήρου, επομένως φάνηκε ότι η αντικαρκινική δράση του ligand δεν συντελείται μέσω της παραγωγής ελεύθερων ριζών. (117)

Ένα άλλο παράδειγμα αποτελεί η σύμπλοκη ένωση του σιδήρου με τη σουλφαμεθοξαζόλη που αναφέρθηκε προηγουμένως και για τον ψευδάργυρο. (77)



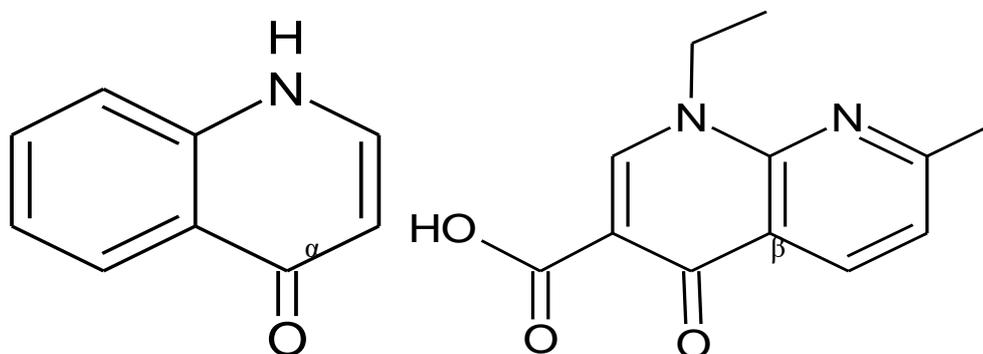
Σχήμα 34: Προτεινόμενη δομή συμπλόκου $[Fe(SMX)_2Cl] \cdot H_2O$

Η διαφορά που παρατηρείται στην περίπτωση του σιδήρου, όπως φαίνεται και στο σχήμα 34, είναι η δυνατότητα δέσμευσης δύο ligands της σουλφαμεθοξαζόλης. Η δέσμευση πραγματοποιείται μέσω του αζώτου του σουλφοναμιδίου και του αζώτου του ετεροκυκλικού δακτυλίου, ενώ τη σφαίρα συναρμογής του Fe συμπληρώνουν δύο ιόντα Cl^- παρέχοντας οκταεδρική γεωμετρία γύρω από το Fe. Η ένωση εμφανίζει αυξημένη αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δράση σε σχέση με το ελεύθερο ligand. (77)

4 ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

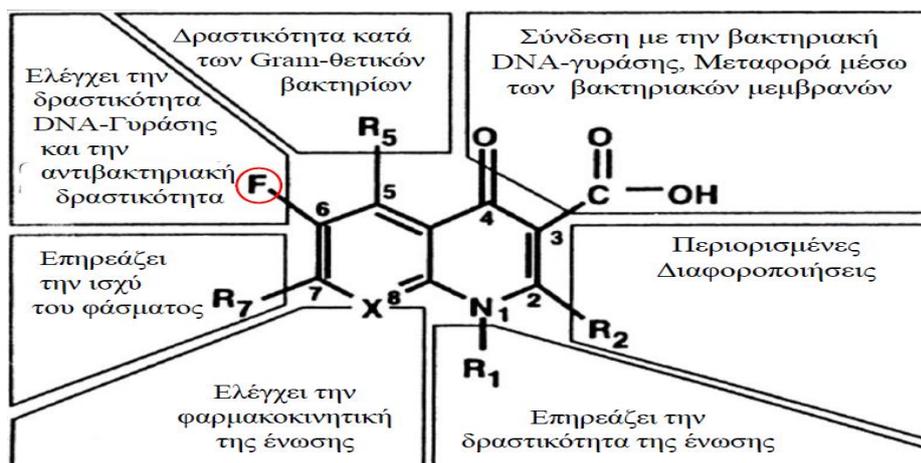
4.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

Οι κινολόνες ή αλλιώς κινολονοκαρβοξυλικά οξέα ή 4-κινολόνες είναι ενώσεις που φέρουν ένα 4-όξο-1,4-διυδροκινολινικό σκελετό(σχήμα 35α). Είναι μια ομάδα αντιβιοτικών, με την πρώτη κινολόνη που εμφανίστηκε και απομονώθηκε να είναι το ναλιδιξικό οξύ (nalidixicacid) το 1962, το οποίο χορηγήθηκε κυρίως στη θεραπεία λοιμώξεων του κατωτέρου ουροποιητικού συστήματος (σχήμα 35β). Η χρήση του ναλιδιξικού οξέος όμως περιορίστηκε γρήγορα ως συνέπεια της φτωχής φαρμακοκινητικής του και της ταχείας ανάπτυξης αντοχής των παθογόνων μικροβίων. Στη δεκαετία του 1970, νέες κινολόνες όπως το πιπεμιδικό οξύ (piperimidicacid), το οξολινικό οξύ (oxolonicacid), και ηκινόξακίνη (cinaxocin) εισήχθησαν στη θεραπευτική, με οριακές βελτιώσεις στη δράσησε σχέση με το ναλιδιξικό οξύ. (118)



Σχήμα35: α) 4-όξο-1 4-διυδροκινολονικός σκελετός και β) ναλιδιξικό οξύ.

Χημικοί έχουν συνθέσει χιλιάδες κινολονικά παράγωγα με τροποποιήσεις σε διαφορετικές θέσεις. Οι τροποποιήσεις ενσωματώθηκαν σε αυτές τις νέες ενώσεις και βελτίωσαν τα χαρακτηριστικά τους ως προς τη φαρμακοδυναμική και τη φαρμακοκινητική. Στη δεκαετία του 1980 και του 1990, με την εισαγωγή του φθορίου και των πιπεραζινικών παραγώγων εντός της βασικής μοριακής δομής, αναπτύχθηκαν και άλλες σημαντικές ενώσεις, όπως η νορφλοξασίνη(norfloxacin), η ενροφλοξασίνη(enrofloxacin), η σιπροφλιξασίνη(ciprofloxacin) και η οφλοξασίνη(ofloxacin), ως πιο δραστικέςκινολόνες. Οι κινολόνες αυτές, όπως και η πλειοψηφία των κινολονών, ανήκουν σε μια υποομάδα που ονομάζεται φθοροκινολόνες. (118)



Σχήμα 36: Γενικό σχήμα φθοροκινολονών και απεικόνιση των χαρακτηριστικών περιοχών του μορίου.

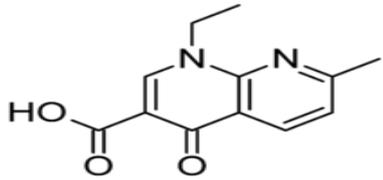
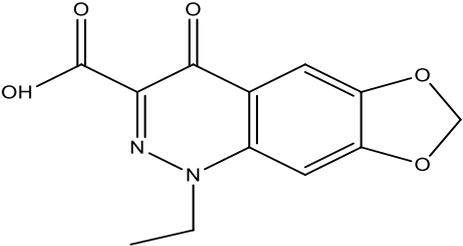
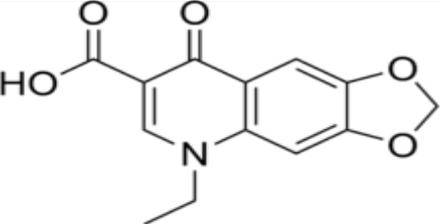
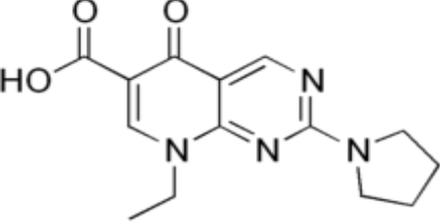
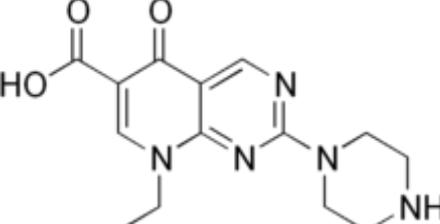
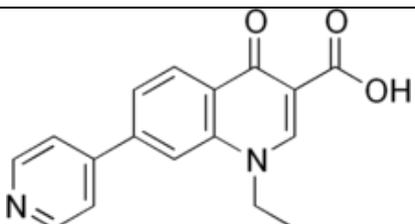
Πίνακας 10: Οι κυριότερες κινολόνες και το έτος ανάπτυξής τους

| Έτος | Φάρμακο | Αναπτύχθηκε από | Έτος | Φάρμακο | Αναπτύχθηκε από |
|------|-------------------------|--------------------------------|------|---------------|--------------------|
| 1962 | Nalidixicacid | Lappin | 1985 | Tosufloxacin | Toyama, Abbott |
| 1966 | Oxolinicacid | Warner-Lambert | 1987 | Sparfloxacin | Dainippon |
| 1967 | Piromidicacid | Dainippon | 1989 | Grepafloxacin | Warner-Lambert |
| 1970 | Cinoxacin | E. Lilly | 1991 | Danofloxacin | Pfizer |
| 1972 | Miloxacin, Rosoxacin | Sumitomo, Sterling | 1992 | Trovafloxacin | Pfizer |
| 1973 | Flumequine | Riker | 1994 | Levofloxacin | Daiichi |
| 1974 | Pipedimicacid | Dainippon | 1994 | Sarafloxacin | Abbott/Fort Dodge |
| 1978 | Norfloxacin | Kyorin | 1994 | Orbifloxacin | Dainippon/Schering |
| 1979 | Pefloxacin | RogerBallan (Rhone-Poulenc) | 1995 | Marbofloxacin | Vetoquinol/Pfizer |
| 1980 | Enoxacin | Dainippon | 1995 | Moxifloxacin | Bayer AG |
| 1981 | Fleroxacin | Kyorin | 1996 | Prulifloxacin | Nippon |
| 1982 | Ofloxacin | Daiichi | 1996 | Difloxacin | FortDodge |
| 1987 | Ciprofloxacin | Bayer AG | 2002 | Ibafloxacin | Intervet |
| 1987 | Enrofloxacin | Bayer AG | | | |

Οι κινολόνες κατατάσσονται σε γενιές με βάση την αντιβακτηριακή τους δράση, με τις κινολόνες της πρώτης γενιάς να είναι αποτελεσματικές κατά των Gram-αρνητικών βακτηρίων. Οι μεταγενέστερες γενιές κινολονών δρουν και κατά των Gram-θετικών βακτηρίων. Οι κινολόνες πρώτης γενιάς έχουν κακή κατανομή στους ιστούς του σώματος και περιορισμένη

δραστικότητα. Καταπολεμούν μόνο τα Gram-αρνητικά βακτήρια και χρησιμοποιούνται κυρίως για τη θεραπεία των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος. (119)

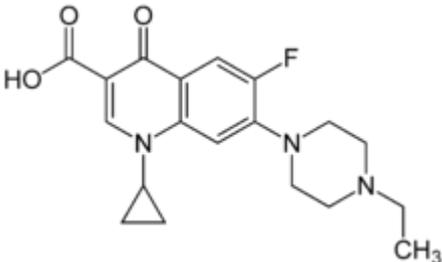
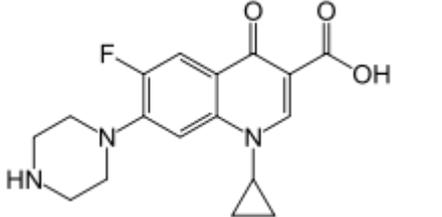
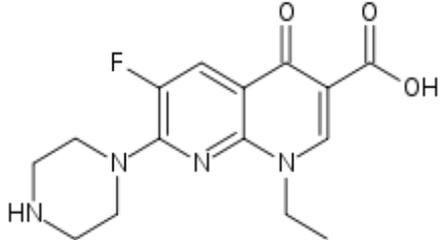
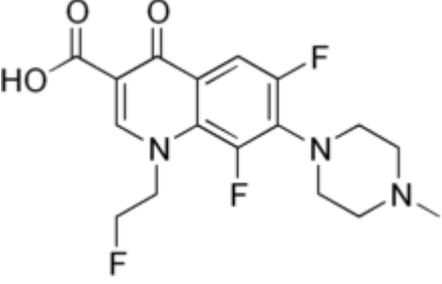
Πίνακας 11: Οι κινολόνες πρώτης γενιάς.

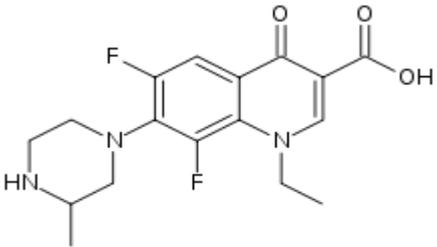
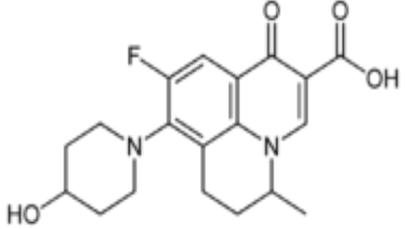
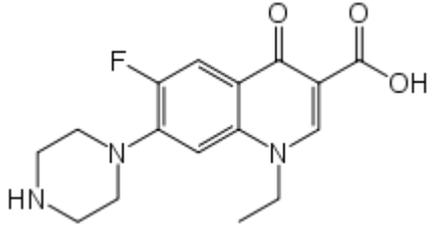
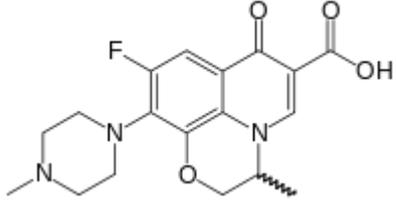
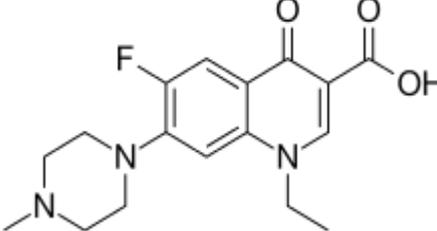
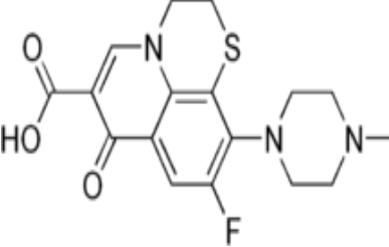
| <u>Εμπειρική Ονομασία</u> | <u>Όνομα κατά IUPAC</u> | <u>Συντακτικός τύπος</u> |
|---------------------------|--|--|
| nalidixicacid | 1-ethyl-7-methyl-4-oxo-[1,8]naphthyridine-3-carboxylic acid |  |
| cinoxacin | 1-ethyl-1,4-dihydro-4-oxo[1,3]dioxolo[4,5-g]cinnoline-3-carboxylic acid |  |
| oxolinicacid | 5-ethyl-8-oxo-5,8-dihydro[1,3]dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid |  |
| piromidicacid | 8-ethyl-5-oxo-2-pyrrolidin-1-yl-5,8-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid |  |
| pipemidicacid | 8-ethyl-5-oxo-2-piperazin-1-yl-5,8-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid |  |
| rosoxacin | 1-ethyl-4-oxo-7-pyridin-4-ylquinoline-3-carboxylic acid |  |

Οι κινολόνες δεύτερης γενιάς παρουσιάζουν σημαντική αντιβακτηριδιακή δράση. Έχουν αυξημένη δράση κατά Gram-αρνητικών βακτηρίων, όπως επίσης και κατά ορισμένων Gram-

θετικών βακτηρίων. Έχουν ευρύτερη κλινική χρήση σε σύγκριση με τις κινολόνες πρώτης γενιάς και χρησιμοποιούνται στη θεραπεία περίπλοκων λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, πνευμονοφυρίτιδας, σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, πνευμονίας και λοιμώξεων του δέρματος. (119)

Πίνακας 12: Οι κινολόνες δεύτερης γενιάς

| <u>Εμπειρική Ονομασία</u> | <u>Όνομα κατά IUPAC</u> | <u>Συντακτικός τύπος</u> |
|---------------------------|---|--|
| enrofloxacin | 1-cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolonecarboxylic acid |  |
| ciprofloxacin | 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-quinoline-3-carboxylic acid |  |
| enoxacin | 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid |  |
| fleroxacin | 6,8-difluoro-1-(2-fluoro-ethyl)-7-(4-methyl-piperazin-1-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid |  |

| | | |
|--------------|---|--|
| lomefloxacin | (RS)-1-ethyl-6,8-difluoro-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid |  |
| nadifloxacin | (RS)-9-fluoro-8-(4-hydroxypiperidin-1-yl)-5-methyl-1-oxo-6,7-dihydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoline-2-carboxylic acid |  |
| norfloxacin | 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-yl-1H-quinoline-3-carboxylic acid |  |
| ofloxacin | (RS)-7-fluoro-2-methyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)-10-oxo-4-oxa-1-azatricyclo [7.3.1.0 ^{5,13}]trideca-5(13),6,8,11-tetraene-11-carboxylic acid |  |
| pefloxacin | 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid |  |
| rufloxacin | 9-fluoro-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-[1,4]thiazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid |  |

Οι κινολόνες τρίτης γενιάς έχουν εκτεταμένη δράση έναντι Gram-θετικών βακτηρίων καθώς και μερικών άτυπων μορφών παθογόνων μικροοργανισμών. Χρησιμοποιούνται ευρέως στην οξεία ιγμορίτιδα και σε οξείες εξάρσεις της χρόνιας βρογχίτιδας. (119)

Πίνακας 13: Οι κινολόνες τρίτης γενιάς.

| <u>Εμπειρική Ονομασία</u> | <u>Όνομα κατά IUPAC</u> | <u>Συντακτικός τύπος</u> |
|---------------------------|---|--------------------------|
| balofloxacin | 1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-7-(3-methylaminopiperidin-1-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid | |
| grepafloxacin | (RS)-1-cyclopropyl-6-fluoro-5-methyl-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid | |
| levofloxacin | (S)-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-7H-pyrido[1,2,3-de]-1,4-benzoxazine-6-carboxylic acid | |
| pazufloxacin | (3R)-10-(1-aminocyclopropyl)-9-fluoro-3-methyl-7-oxo-1H,7H-[1,3]oxazino[5,4,3-ij]quinoline-carboxylic acid | |
| sparfloxacin | 5-amino-1-cyclopropyl-7-[(3R,5S)3,5-dimethylpiperazin-1-yl]-6,8-difluoro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid | |

| | | |
|--------------|--|--|
| temafloxacin | 1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-7-(3-methyl piperazin-1-yl)-4-oxo quinoline-3-carboxylic acid | |
| tosufloxacin | 7-(3-aminopyrrolidin-1-yl)-1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid | |

Οι κινολόνες τέταρτης γενιάς παρουσιάζουν σημαντική αντιμικροβιακή δράση κατά των αναερόβιων οργανισμών διατηρώντας παράλληλα τη δράση κατά των Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων των κινολονών τρίτης γενιάς. (119)

Πίνακας 14: Οι κινολόνες τέταρτης γενιάς.

| <u>Εμπειρική Ονομασία</u> | <u>Όνομα κατά IUPAC</u> | <u>Συντακτικός τύπος</u> |
|---------------------------|---|--------------------------|
| clinafloxacin | 7-(3-aminopyrrolidin-1-yl)-8-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid | |
| gatifloxacin | 1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-quinoline-3-carboxylic acid | |

| | | |
|---------------|--|--|
| gemifloxacin | 7-[(4Z)-3-(aminomethyl)-4-methoxyimino-pyrrolidin-1-yl]-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid | |
| moxifloxacin | 1-cyclopropyl-7-[(1S,6S)-2,8-diazabicyclo[4.3.0]non-8-yl]-6-fluoro-8-methoxy-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid | |
| sitafloxacin | 7-[(4S)-4-amino-6-azaspiro[2.4]heptan-6-yl]-8-chloro-6-fluoro-1-[(2S)-2-fluorocyclopropyl]-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid | |
| trovafloxacin | 7-(6-amino-3-azabicyclo[3.1.0]hex-3-yl)-1-(2,4-difluoro phenyl)-6-fluoro-4-oxo-[1,8] naphthyridine-3-carboxylic acid | |
| prulifloxacin | (RS)-6-fluoro-1-methyl-7-[4-(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl)methyl-1-piperazinyl]-4-oxo-4H-[1,3]thiazeto[3,2-a]quinoline-3-carboxylic acid | |

4.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΚΙΝΟΛΟΝΩΝ

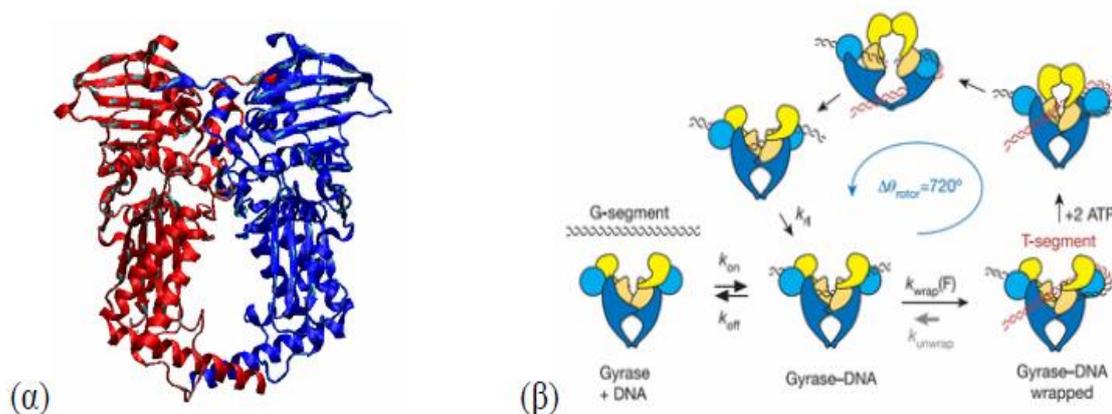
Εδώ και πολλά χρόνια οι κινολόνες αποτελούν αντικείμενα μελέτης ως αντιμικροβιακά φάρμακα έναντι παθογόνων μικροοργανισμών. Ο στόχος των ενώσεων αυτών είναι να αναστείλουν τη δράση σημαντικών ενζύμων όπως είναι οι γυράσες (τοποϊσομεράσες II) και να παρεμποδίσουν τελικά την αντιγραφή του DNA. Ο ρόλος των ενζύμων αυτών είναι ο έλεγχος

της υπερελίκωσης του DNA, δηλαδή τροποποιούν την τοπολογική κατάσταση του DNA χωρίς να επηρεάζουν όμως την ομοιοπολική δομή του. (120)

Μπορούμε να διακρίνουμε δύο κατηγορίες, τις τοποϊσομεράσες τύπου I, οι οποίες δημιουργούν παροδικά κοψίματα στον έναν κλώνο του DNA, και τις τοποϊσομεράσες τύπου II, οι οποίες δημιουργούν παροδικά κοψίματα στους δύο κλώνους του DNA με ταυτόχρονη υδρόλυση ενός μορίου ATP. Οι τοποϊσομεράσες τύπου I αλλιώς ονομάζονται ένζυμα κοπής-ραφής, ενώ οι προκαρυωτικές τοποϊσομεράσες τύπου II ονομάζονται επίσης και γυράσες. (120)

Οι γυράσες αποτελούνται από δύο υπομονάδες που καταλύουν την αρνητική στροφή του υπερελικωμένου DNA με ταυτόχρονο κόψιμο των δύο αλυσίδων του DNA και υδρόλυση ενός μορίου ATP σε ADP και Pi. Όπως φαίνεται στο σχήμα 37, η γυράση εισάγει αρνητικές υπερελικώσεις στο DNA περιτυλίγοντάς το, στη συνέχεια κόβει το δίκλωνο DNA, περνά την αλυσίδα του DNA μέσα από το άνοιγμα και επανασυνδέει τους δύο κλώνους. Με αυτόν τον τρόπο οι στροφές του υπερελικωμένου DNA ελαττώνονται κατά 2. (120)

Αποτυχία στο διαχωρισμό αυτών των κλώνων οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Πειράματα με αντικαρκινικά φάρμακα όπως το m-AMSA (= 4'-(9'-cridinylamino) methanesulfon-m-anisidide) έχουν δείξει ότι και αυτά παρεμποδίζουν την τοποϊσομεράση II. (121)



Σχήμα 37: (α) Η δομή του 42 kDa τμήματος της N-τελικής ATPάσης της DNA-γυράσης ομόλογο όλων των άλλων τοποϊσομερασών τύπου II. (β) Μηχανοχημικό μοντέλο δράσης της DNA-γυράσης.

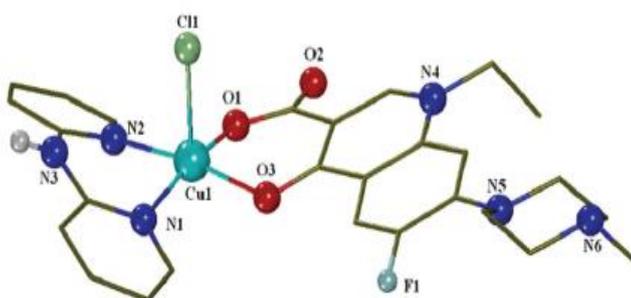
Είναι γνωστό ότι οι κινολόνες μπορούν να δεσμευτούν στο DNA και στο σύμπλοκο DNA-γυράση, όμως η δέσμευση με το σύμπλοκο DNA-γυράση συσχετίζεται και με την παρεμπόδιση. Οι κινολόνες σταματούν την επανένωση του γενομικού DNA που λαμβάνει χώρα στο τέλος του κύκλου ρήξης-επανασύνδεσης (cleavage-ligation cycle) της γυράσης. Η δομή του τομέα ρήξης-επανασύνδεσης (breakage-reunion) μιας βακτηριακής DNA-τοποϊσομεράσης τύπου II έχει επιλυθεί, χωρίς όμως υπόστρωμα και παρεμποδιστές. (122)

4.3 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΧΑΛΚΟΥ ΜΕ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ:

Στη συνέχεια θα αναφέρουμε ορισμένα παραδείγματα σύμπλοκων ενώσεων του χαλκού αλλά και των άλλων δύο μετάλλων με σκοπό να κατανοηθεί ο τρόπος δράσης με τις συγκεκριμένες φαρμακευτικές ουσίες αλλά και για να φανεί ο λόγος επιλογής των κινολονών στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία.

Οι κινολόνες συναρμόζονται με διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με το περιβάλλον που βρίσκονται. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος συναρμογής περιλαμβάνει ένα καρβοξυλικό οξύ και το κετονικό οξύ με το ligand σε κάποιες περιπτώσεις να μην αποπρωτονιώνεται αλλά να καταφέρνει ωστόσο να συναρμοστεί και να οδηγήσει στο σχηματισμό της σύμπλοκης ένωσης. (123) Σε κάποιες περιπτώσεις σε διπυρηνικά σύμπλοκα συναρμόζονται και τα δύο οξυγόνα της καρβοξυλικής ομάδας και σχηματίζουν μια γέφυρα με τα άτομα του μετάλλου, ενώ τέλος υπάρχουν και περιπτώσεις όπου η κινολόνη συναρμόζεται τριδραστικά μέσω και των τριών ατόμων οξυγόνου, του κετονικού αλλά και των δύο καρβοξυλικών οξέων. (124)

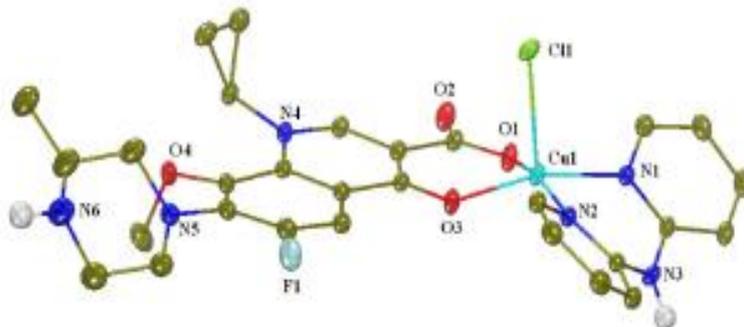
Στο μονο πυρηνικό σύμπλοκο $[Cu(pof)(bipyam)Cl]$, η αποπρωτονιωμένη πεφλοξασίνη (pof) συναρμόζεται διδραστικά μέσω ενός καρβοξυλικού και ενός κετονικού οξυγόνου και οδηγεί στο σχηματισμό ενός χηλικού εξαμελή δακτυλίου. Η σφαίρα συναρμογής του χαλκού συμπληρώνεται από τα δύο άτομα αζώτου της 2,2'-διπυριδυλαμίνης (bipyam) που συναρμόζεται διδραστικά στο χαλκό και το ιόν χλωρίου. Η γεωμετρία γύρω από τον χαλκό χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμίδα με τα άτομα οξυγόνου της κινολόνης και τα άτομα αζώτου της 2,2'-διπυριδυλαμίνης (bipyam) να καταλαμβάνουν τις κορυφές της βάσης της πυραμίδας και το άτομο του χαλκού να είναι μετατοπισμένο προς το άτομο του χλωρίου που βρίσκεται στην κορυφή της πυραμίδας. (125)



Σχήμα 38: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(pof)(bipyam)Cl]$.

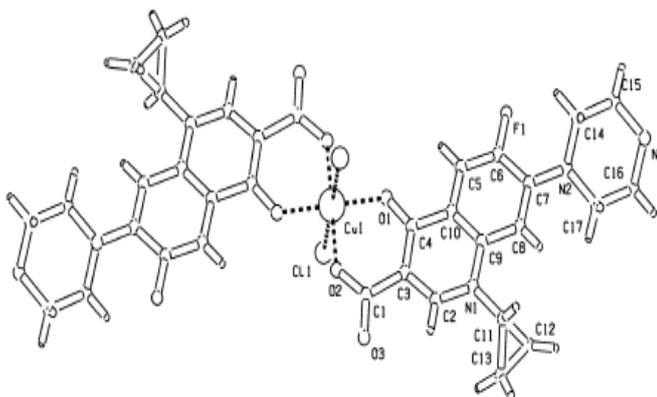
Στη μονοπυρηνική σύμπλοκη ένωση $[Cu(gati)(bipyam)Cl]$, ο δισθενής χαλκός βρίσκεται σε μία παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία. Η γατιφλοξασίνη (gatifloxacin) συναρμόζεται διδραστικά με το μεταλλικό ιόν με παρόμοιο τρόπο, όπως προηγουμένως αναφέρθηκε, μέσω ενός καρβοξυλικού και ενός κετονικού οξυγόνου, ενώ η σφαίρα συναρμογής ολοκληρώνεται με τα δύο άτομα αζώτου της 2,2'-διπυριδυλαμίνης (bipyam) και το ιόν χλωρίου.

Τις κορυφές την βάσης της πυραμίδας καταλαμβάνουν όπως και προηγουμένως τα δύο άτομα οξυγόνου της κινολόνης και τα δύο άτομα αζώτου της ένωσης που έχει τον ρόλο του αζωτοδότη, ενώ το άτομο του χαλκού μετατοπίζεται προς το άτομο του χλωρίου και την κορυφή της πυραμίδας. (126)



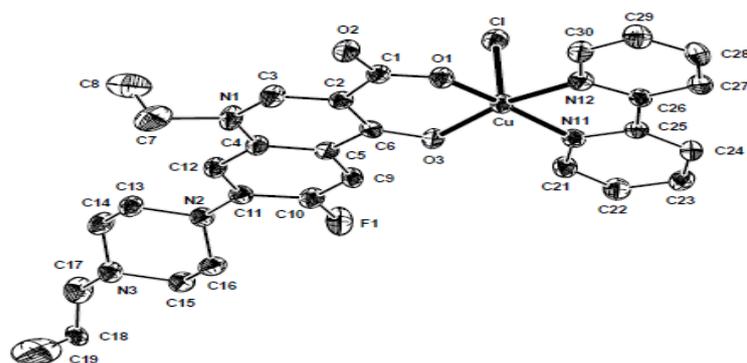
Σχήμα 39: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(gati)(bipyam)Cl]$.

Στο σύμπλοκο $[Cu(cfH)_2Cl_2]$ ο χαλκός βρίσκεται στο κέντρο συμμετρίας και συναρμόζεται με τέσσερα άτομα οξυγόνου δύο ουδέτερων ligands της σιπροφλαξίνης (ciprofloxacin). Τα δύο άτομα του χλωρίου κατέχουν τις αξονικές θέσεις ενός οκταέδρου συναρμολόμενα στο χαλκό σε μεγαλύτερες αποστάσεις. (127)



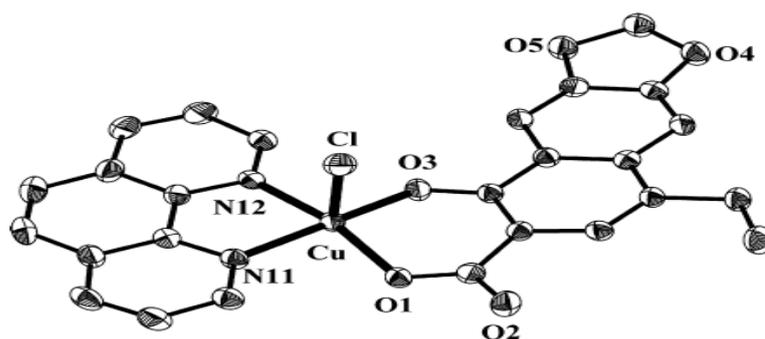
Σχήμα 40: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(cfH)_2Cl_2]$.

Στο σύμπλοκο $[Cu(pr-norf)(bipy)Cl]$, η αποπρωτονιωμένη νορφλοξαίνη (norfloxacin) συναρμόζεται στο δισθενή χαλκό μέσω του κετονικού και ενός καρβοξυλικού οξυγόνου. Ο αριθμός συναρμογής του χαλκού είναι πέντε και η γεωμετρία μπορεί να περιγραφεί ως παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμίδα, στην βάση της οποίας τοποθετούνται τα δύο οξυγόνα που προέρχονται από την κινολόνη και τα δύο άτομα αζώτου από τη 2,2'-διπυριδίνη (bipy), με το άτομο του χλωρίου να βρίσκεται στην κορυφή της πυραμίδας. (128)



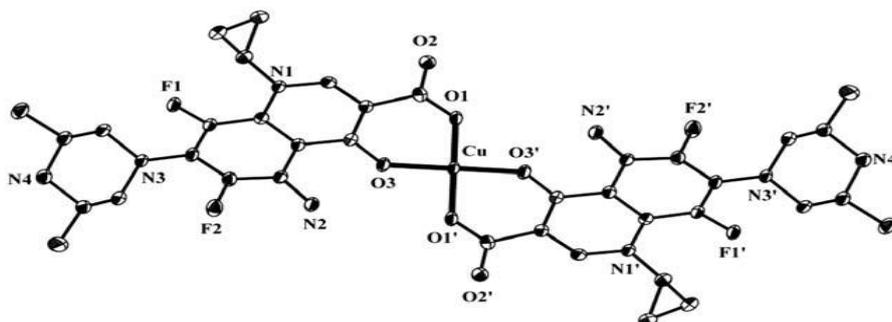
Σχήμα 41: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(pr-norf)(bipy)Cl]$.

Στη σύμπλοκη ένωση του χαλκού $[Cu(oxo)(phen)Cl]$, το αποπρωτονιωμένο οξολινικό οξύ (oxolinic acid) συναρμόζεται μέσω του κετονικού οξυγόνου και ενός καρβοξυλικού οξυγόνου. Ο αριθμός συναρμογής του μετάλλου είναι πέντε και η γεωμετρία του μορίου μπορεί να χαρακτηριστεί ως παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμίδα, με τα δύο άτομα Ο της κινολόνης και τα δύο άτομα Ν της 1,10-φαινανθρολίνης (phen) να καταλαμβάνουν της κορυφές της βάσης της πυραμίδας και το χλώριο να βρίσκεται στην κορυφή. (129)



Σχήμα 42: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(oxo)(phen)Cl]$.

Στη σύμπλοκη ένωση $[Cu(sf)_2]$, ο δισθενής χαλκός έχει αριθμό συναρμογής τέσσερα και μία τετραγωνική επίπεδη γεωμετρία. Η συναρμογή δύο ligands σπαρφλοξασίνης (sparfloxacin) γίνεται με παρόμοιο τρόπο όπως αναφέρθηκε και για τις προηγούμενες περιπτώσεις. (130)

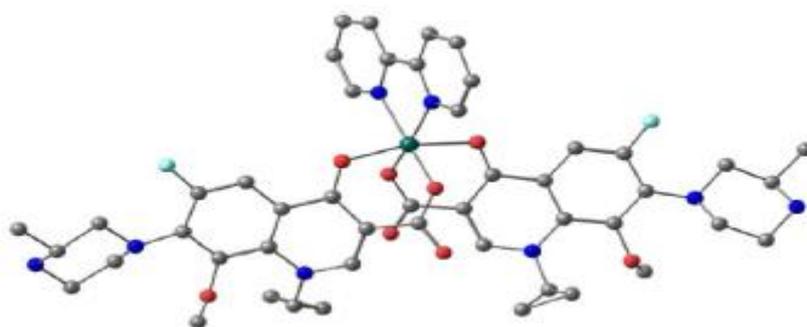


Σχήμα 43: Κρυσταλλική δομή του $[Cu(sf)_2]$.

4.4 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ ΜΕ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

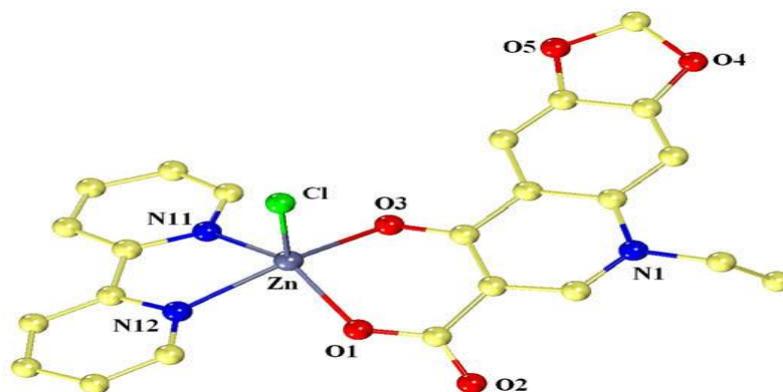
Αρκετές σύμπλοκες ενώσεις του Zn με κινολόνες έχουν χαρακτηριστεί δομικά και μελετηθεί σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Στα σύμπλοκα αυτά οι κινολόνες συναρμόζονται στο μέταλλο με διάφορους τρόπους.

Στη μονοπυρηνική σύμπλοκη ένωση $[Zn(gati)_2(bipy)]$, ο ψευδάργυρος έχει αριθμό συναρμογή έξι, και η γεωμετρία χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη οκταεδρική με τέσσερις από τις έξι κορυφές να καταλαμβάνονται από τα άτομα O της αποπρωτονιωμένης γατιφλοξασίνης (gatifloxacin) και δύο κορυφές από τα άτομο N της bipy. Το αποπρωτονιωμένο ligand συναρμόζεται διδραστικά μέσω δύο ατόμων ενός κετονικού και ενός καρβοξυλικού οξυγόνου. (131)



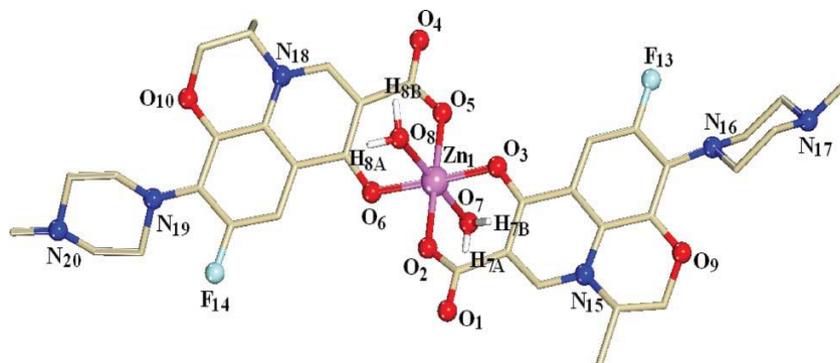
Σχήμα 44: Κρυσταλλική δομή του $[Zn(gati)_2(bipy)]$.

Στη σύμπλοκη ένωση $[Zn(oxo)(bipy)Cl]$, το αποπρωτονιωμένο οξολινικό ligand συναρμόζεται διδραστικά μέσω ενός κετονικού και ενός καρβοξυλικού οξυγόνου. Ο αριθμός συναρμογής του ψευδαργύρου μετάλλου είναι πέντε και η γεωμετρία χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμίδα. Όπως φαίνεται στο σχήμα 45, οι δύο από τις τέσσερις κορυφές της βάσης της πυραμίδας καταλαμβάνονται από τα δύο άτομα οξυγόνου της κινολόνης και οι άλλες δύο από τα άτομα αζώτου της 2,2'-διπυριδίνης (bipy). (132)



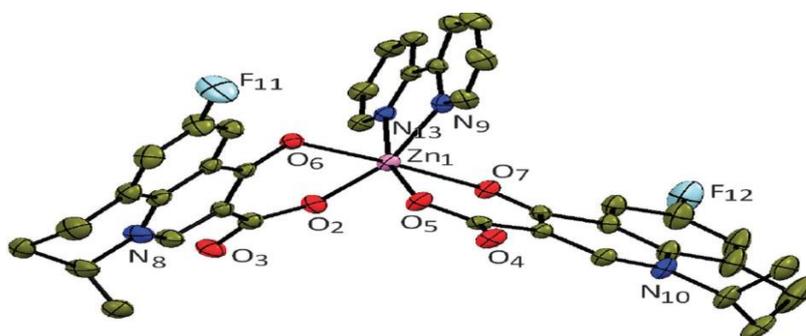
Σχήμα 45: Κρυσταλλική δομή του $[Zn(oxo)(bipy)Cl]$.

Στο μονοπυρηνικό σύμπλοκο του ψευδαργύρου $[Zn(levo)_2(H_2O)_2]$, τα δύο αποπρωτονιομένα κινολονικά (λεβοφλοξασίνη, levofloxacin) ligands συναρμόζονται διδραστικά μέσω ενός καρβοξυλικού και του κετονικού οξυγόνου ενώ η σφαίρα συναρμογής ολοκληρώνεται με δύο ligands νερού σε *trans* θέσεις. Ο αριθμός συναρμογής του ψευδαργύρου είναι έξι και η γεωμετρία χαρακτηρίζεται οκταεδρική. (133)



Σχήμα 46: Κρυσταλλική δομή του $[Zn(levo)_2(H_2O)_2]$.

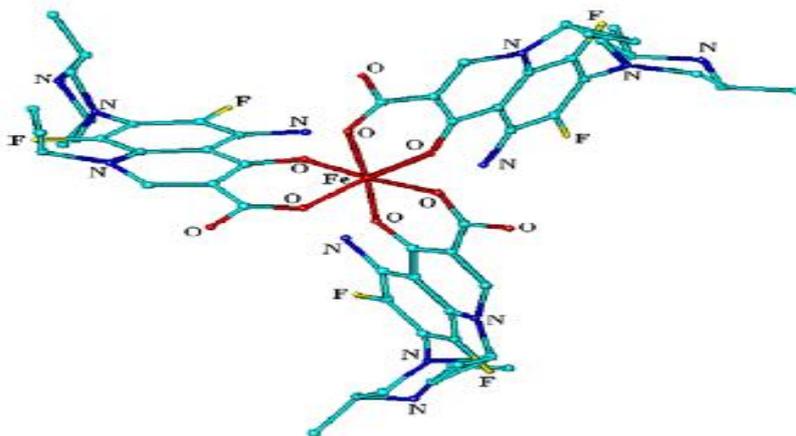
Στη σύμπλοκη ένωση $[Zn(flmq)_2(bipy)]$, η αποπρωτονιομένη φλουμεκίνη (flumequine) συναρμόζεται διδραστικά με τον κεντρικό ψευδάργυρο μέσω ενός καρβοξυλικού και του κετονικού οξυγόνου, ενώ η σφαίρα συναρμογής ολοκληρώνεται με τη συναρμογή της 2,2'-διπυριδίνης (bipy). Ο αριθμός συναρμογής του είναι έξι και η γεωμετρία χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη οκταεδρική. (134)



Σχήμα 47: Κρυσταλλική δομή του $[Zn(flmq)_2(bipy)]$.

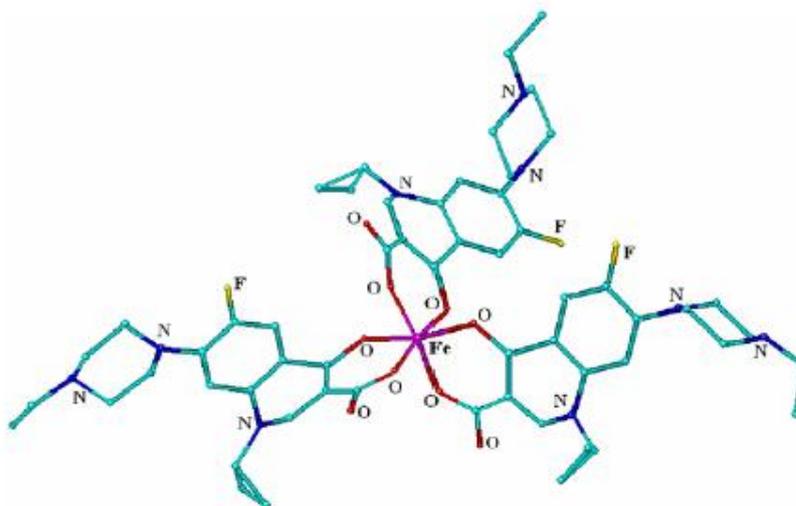
4.5 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΣΙΔΗΡΟΥ ΜΕ ΚΙΝΟΛΟΝΕΣ

Στη μονοπυρηνική σύμπλοκη ένωση $[Fe(sf)_3]$, ο σίδηρος εμφανίζει αριθμό συναρμογής έξι και η γεωμετρία του χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη οκταεδρική. Κάθε ligand σπارفλοξασίνης (sparfloxacin) συναρμόζεται με το κεντρικό μέταλλο με τον ίδιο τρόπο, δηλαδή μέσω ενός καρβοξυλικού και ενός κετονικού οξυγόνου. (135)



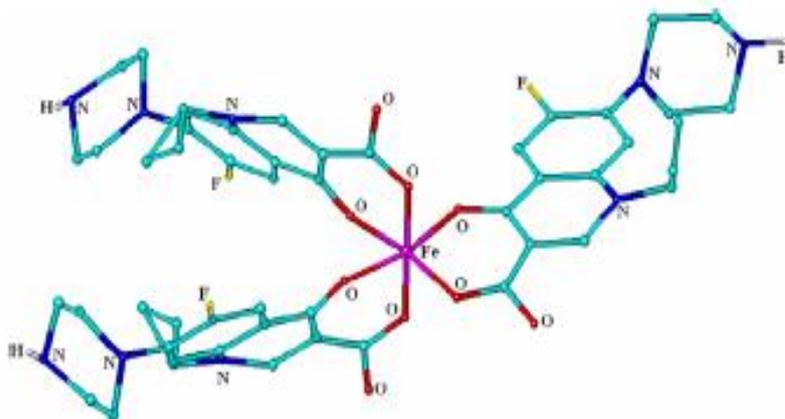
Σχήμα 48: Προτεινόμενη δομή του $[Fe(sf)_3]$

Η σύμπλοκη ένωση του σιδήρου με την ενροφλοξασίνη (enrofloxacin) $[Fe(ern)_3]$ παρουσιάζονται ομοιότητες με την $[Fe(sf)_3]$, αφού και πάλι ο αριθμός συναρμογής του σιδήρου είναι έξι και η γεωμετρία χαρακτηρίζεται ως παραμορφωμένη οκταεδρική. Η συναρμογή της κινολόνης γίνεται διδραστικά μέσω των δύο ατόμων οξυγόνου του καρβοξυλικού και κετονικού οξυγόνου. (136)



Σχήμα 49: Προτεινόμενη δομή του $[Fe(ern)_3]$

Ο ίδιος τρόπος συναρμογής παρατηρήθηκε και στη σύμπλοκη ένωση της σιπροφλοξασίνης (ciprofloxacin) $[Fe(cf)_3]$. Ο αριθμός συναρμογής του μετάλλου είναι έξι και η γεωμετρία είναι παραμορφωμένη οκταεδρική. Τα τρία ligandστης σιπροφλοξασίνης συναρμόζονται διδραστικά μέσω του καρβοξυλικού και του κετονικού οξυγόνου. (137)

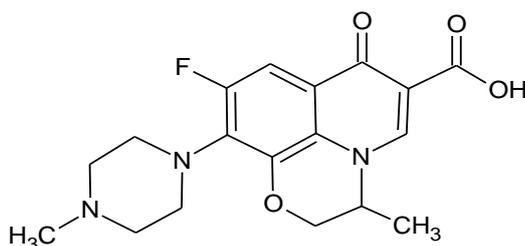


Σχήμα 50: Προτεινόμενη δομή του $[Fe(cf)_3]$.

5. ΟΦΛΟΞΑΣΙΝΗ (OFLOXACIN)

5.1. ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΦΛΟΞΑΣΙΝΗΣ

Η οφλοξασίνη (Hoflo) είναι μια φθοροκινολόνη 2^{ης} γενιάς που χρησιμοποιείται ως αντιβιοτικό καθώς εμφανίζει δράση τόσο κατά Gram-θετικών όσο και Gram-αρνητικών βακτηρίων. Η οφλοξασίνη είναι μία βακτηριοκτόνος ουσία η οποία, με τη δέσμευσή της με την DNA-γυράση των μικροβίων, αναστέλλει την αντιγραφή και μεταγραφή του DNA τους, και επομένως την αναπαραγωγή τους. Το φάρμακο αυτό χορηγείται ενδοφλέβια ή από το στόμα με σκοπό τη θεραπεία διαφόρων λοιμώξεων, όπως η πνευμονία, προστατίτιδα, πανώλη και σε ορισμένους τύπους διάρροιας. Επίσης, χρησιμοποιείται συνεργικά με άλλα φάρμακα για τη θεραπεία της φυματίωσης, βακτηριακών λοιμώξεων του οφθαλμού και του αυτιού. Εγκρίθηκε για ιατρική χρήση το 1985 και είναι επίσης διαθέσιμη ως γενόσημο φάρμακο. (138)



Σχήμα 51: Οφλοξασίνη, (ofloxacin), 9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid

Όσο αναφορά την φαρμακοκινητική της οφλοξασίνης, η βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου ανέρχεται στο 98%, μετά τη χορήγηση από το στόμα, φθάνοντας σε μέγιστες συγκεντρώσεις στο όρο του αίματος εντός μίας έως δύο ωρών. Από την αρχικά χορηγούμενη δόση του φαρμάκου, ένα ποσοστό που ανέρχεται από 65% έως και 80% εκκρίνεται αμετάβλητο

μέσω των νεφρών μέσα σε 48 ώρες, ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό της τάξης του 4-8% εκκρίνεται στα κόπρανα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της οφλοξασίνης κυμαίνεται από 4 έως 5 ώρες σε φυσιολογικούς ασθενείς και 6 με 7 ώρες σε ηλικιωμένους ασθενείς. *In vitro* μελέτες έδειξαν ότι το 32% του φαρμάκου στο πλάσμα είναι ενωμένο με πρωτεΐνες. Γενικά το φάρμακο διανέμεται ευρέως στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος, συγκεκριμένα έχει ανιχνευθεί στον τράχηλο, στον πνεύμονα, στις ωοθήκες, στον προστάτη, στο δέρμα και στα πτύελα. (138)

Ωστόσο, το συγκεκριμένο φάρμακο εμφανίζει ορισμένες δυσμενείς επιδράσεις και αντενδείξεις. Γενικά τα ανεπιθύμητα συμπτώματα που εμφανίζονται κατά τη χρήση των φθοροκινολονών είναι λίγα, μέτρια και αποδεδειγμένα λιγότερο σοβαρά σε σχέση με τα συμπτώματα που εμφανίζονται από ασθενείς που έλαβαν πενικιλίνη, κλινδαμυκίνη, σουλφοναμίδη ή βανκομυκίνη, όμως δεν είναι ασήμαντα. Τα πιο σημαντικά από αυτά είναι, η μυασθένεια gravis, με σοβαρά προβλήματα που εμφανίζονται στον Αχίλλειο τένοντα και μάλιστα μπορούν να οδηγήσουν ακόμα και σε αναπηρία. Μία άλλη ασθένεια που σχετίζεται με χρήση αντιβακτηριακών και συγκεκριμένα φθοροκινολονών, όπως η οφλοξασίνη, είναι μία μορφή διάρροιας που σχετίζεται με την ανάπτυξη ενός ιδιαίτερα παθογόνου στελέχους του *Clostridium difficile*. Επίσης, το συγκεκριμένο φάρμακο έχει συνδεθεί και με άλλες νευρικές διαταραχές, όπως αϋπνία, σπασμοί αλλά και ψύχωση. Όσον αφορά τη χρήση του φαρμάκου κατά την εγκυμοσύνη, αν και δεν έχει αποδειχθεί ότι έχει τερατογόνες επιδράσεις, θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο στην περίπτωση που το πιθανό όφελος δικαιολογεί τον πιθανό κίνδυνο για το έμβρυο. Υπερδοσολογία κατά τη χρήση του συγκεκριμένου φαρμάκου οδηγεί σε τοξικότητα του κεντρικού νευρικού συστήματος, καρδιαγγειακή τοξικότητα, ηπατική τοξικότητα αλλά και νεφρική ανεπάρκεια. Συχνές ανεπιθύμητες παρενέργειες που παρατηρούνται, κυρίως όταν το φάρμακο λαμβάνεται από το στόμα, περιλαμβάνουν διάρροια, εμετό, πονοκέφαλο και εξάνθημα. (138)

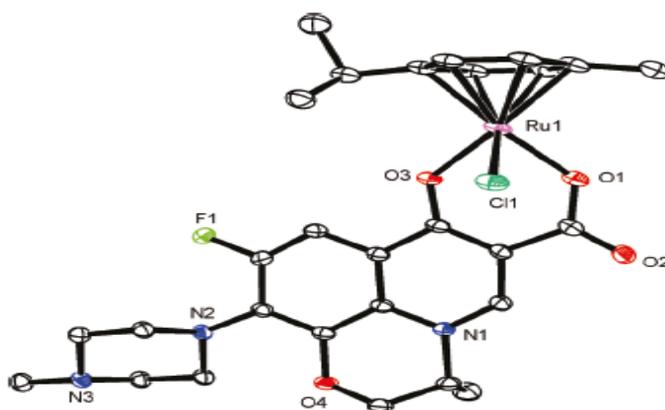
5.2 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕ OFLOXACIN

Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί μια μεγάλη ποικιλία συμπλόκων ενώσεων με κινολόνες. Ορισμένα παραδείγματα είναι η νορφλοξασίνη, η λομεφλοξασίνη, η φλουμεκίνη, η ενροφλοξασίνη, η γατιφλοξασίνη, η πεφλοξασίνη, το οξολινικό οξύ αλλά και πολλές άλλες. Οι σύμπλοκες αυτές ενώσεις τις περισσότερες φορές περιλαμβάνουν και διάφορους αζωτο-δότες όπως η 2,2'-διπυριδίνη (bipy), η 1,10-φαινανθρολίνη (phen) κ.α. σε συναρμογή με μέταλλα, όπως ο Zn(II), Zr(IV), La(III), Ce(III), Ce(IV), Th(IV), Ce(III), Ce(IV), Th(IV), Sn(II) και U(VI). (139)

Η έρευνα στο συγκεκριμένο τομέα έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και ο λόγος είναι ότι στις περισσότερες περιπτώσεις οι σύμπλοκες ενώσεις που κατασκευάστηκαν εμφάνισαν πολύ

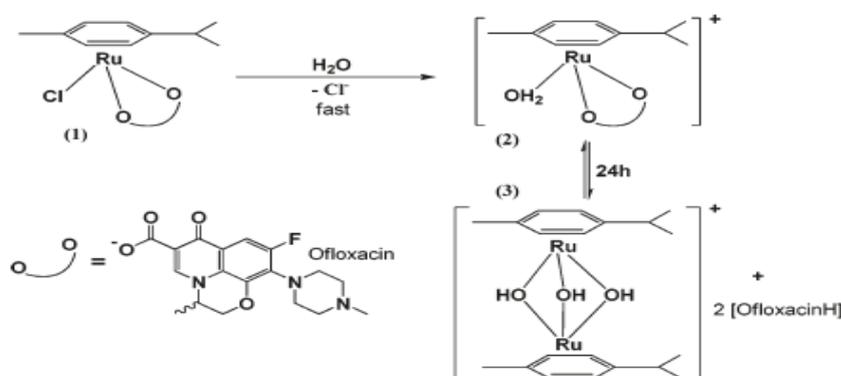
καλύτερη βιολογική δράση σε σχέση με την αρχική μορφή του φαρμάκου. Σημαντικό είναι μάλιστα να τονιστεί ότι τα σύμπλοκα που κατασκευάστηκαν με Th(IV), U(VI) και La(III) είχαν καλύτερη αντικαρκινική δράση για την θεραπεία του καρκίνου του μαστού σε σχέση με τη απλή μορφή της γεμιφλοξακίνης.

Στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί αρκετές σύμπλοκες ενώσεις της οφλοξασίνης με διάφορα μέταλλα, με στόχο να μελετηθεί η αλληλεπίδραση των ενώσεων αυτών, με παθογόνους μικροοργανισμούς. Ένα παράδειγμα είναι το σύμπλοκο $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}(\text{O},\text{O}\text{-oflo})]\cdot 2.8\text{H}_2\text{O}$. Επειδή είναι γνωστό ότι τόσο το ρουθίνιο όσο και η οφλοξασίνη αλληλεπιδρούν με το DNA, ήταν ενδιαφέρον να μελετηθεί πώς το σύμπλοκο θα αλληλεπιδράσει με το DNA. Το σύμπλοκο που προέκυψε φαίνεται να υιοθετεί ψευδο-οκταεδρική γεωμετρία, με το ρουθίνιο(II) να συναρμόζεται στο δακτύλιο του π-κυμενίου καθώς και με ένα ιόν χλωρίου και δύο άτομα οξυγόνου της κινολόνης όπως φαίνεται στο σχήμα 52. (140)



Σχήμα 52: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}(\text{O},\text{O}\text{-oflo})]\cdot 2.8\text{H}_2\text{O}$.

Σε αντίθεση με τα περισσότερα μεταλλικά σύμπλοκα που έχουν μελετηθεί τα οποία είναι ελάχιστα διαλυτά, το σύμπλοκο του ρουθινίου είναι υδατοδιαλυτό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σύμπλοκο να υδρολύεται, γεγονός που οδηγεί στο σχηματισμό ενός διμερούς όπως φαίνεται στο σχήμα 53. (140)



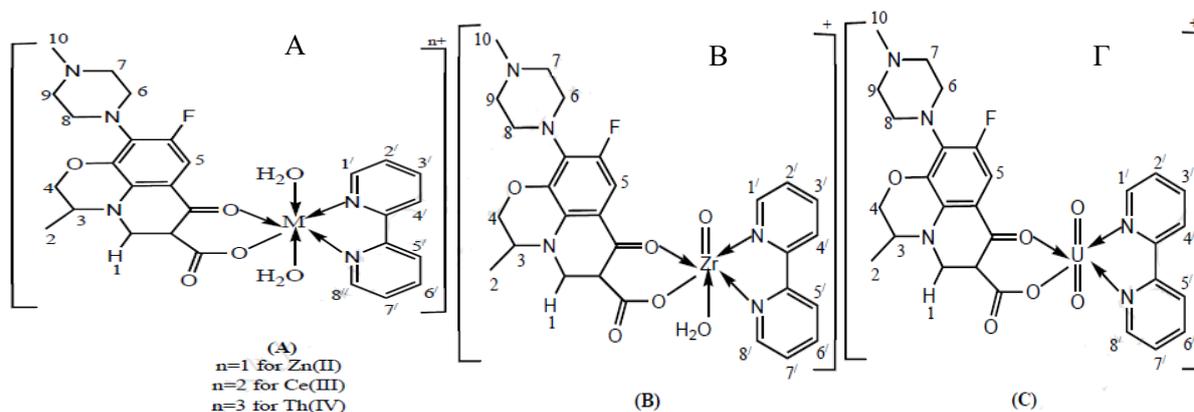
Σχήμα 53: Υδρόλυση του συμπλόκου $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{RuCl}(\text{O},\text{O}\text{-oflo})]\cdot 2.8\text{H}_2\text{O}$.

Παρατηρήθηκε ότι η αλληλεπίδραση του συμπλόκου με το DNA εμφανίζεται μόνο σε διαλύματα με χαμηλή ιοντική ισχύ, γεγονός το οποίο κάνει σαφές ότι η ηλεκτροστατική έλξη του συμπλόκου με το DNA σε ένα διάλυμα είναι σημαντική για τη δέσμευση, καθώς φαίνεται ότι το αρνητικά φορτισμένο DNA αλληλεπιδρά με τα θετικά φορτισμένα προϊόντα υδρόλυσης του συμπλόκου και το ρουθίνιο είναι αυτό που ενώνεται πιθανώς με το DNA. (140)

Σημαντικό είναι να αναφέρουμε ότι η σύμπλοκη ένωση που παρασκευάστηκε ανταγωνίζεται τη σισπλατίνη (cisplatin, cis-[PtCl₂(NH₃)₂]), για τη θέση δέσμευσης στο DNA αφού η σύμπλοκη ένωση δεν μπόρεσε να δεσμευτεί όταν προηγουμένως είχε αλληλεπιδράσει πρώτη η σισπλατίνη (cisplatin), αλλά ούτε και το ανάποδο. (140)

Τέλος η ένωση που παρασκευάστηκε εμφάνισε μέτρια αντιμικροβιακή δράση απέναντι σε παθογόνους μικροοργανισμούς όπως *Trypanosoma b. rhodesiense*, *Trypanosomacruzi*, και *Plasmodium falciparum*, σε σχέση με την ελεύθερη οφλοξασίνη που εμφανίζεται δραστική μόνο έναντι του τελευταίου. (140)

Επίσης έχουν παρασκευασθεί σύμπλοκες ενώσεις της οφλοξασίνης με ιόντα μετάλλων όπως Zn²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Ru³⁺, Pt²⁺ κ.ά. παρουσία αζωτοδότη. Η στοιχειακή ανάλυση των ενώσεων αυτών έδειξε ότι η στοιχειομετρία τους είναι 1:1:1, δηλαδή M:Hoflo:bipy. Επίσης οι μαγνητικές μετρήσεις έδειξαν ότι οι σύμπλοκες ενώσεις είναι διαμαγνητικές, εκτός από το σύμπλοκο του Ce(III) το οποίο είναι παραμαγνητικό. Η οφλοξασίνη συναρμόζεται με το μέταλλο χρησιμοποιώντας το καρβοξυλικό και το πυριδονικό άτομο οξυγόνου, ενώ η 2,2'-διπυριδίνη συναρμόζεται με τα δύο άτομα αζώτου. (141)



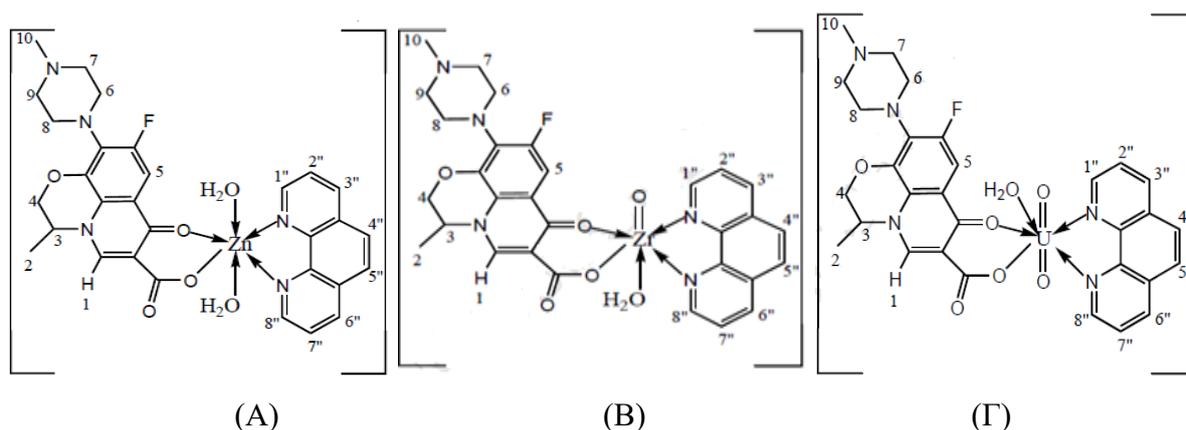
Σχήμα 54: Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων:

(A) [Zn(ofl)(bipy)(H₂O)₂], [Ce(ofl)(bipy)(H₂O)₂], [Th(ofl)(bipy)(H₂O)₂], (B) [ZrO(ofl)(bipy)(H₂O)] και (Γ) [UO₂(ofl)(bipy)].

Όσον αφορά την βιολογική δράση των ενώσεων αυτών, έχουν γίνει αντιμικροβιακές μελέτες απέναντι σε Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια και παρατηρήθηκε πολύ καλή έως εξαιρετική δράση των συμπλόκων ενώσεων. Επίσης, από τη μελέτη της δράσης των

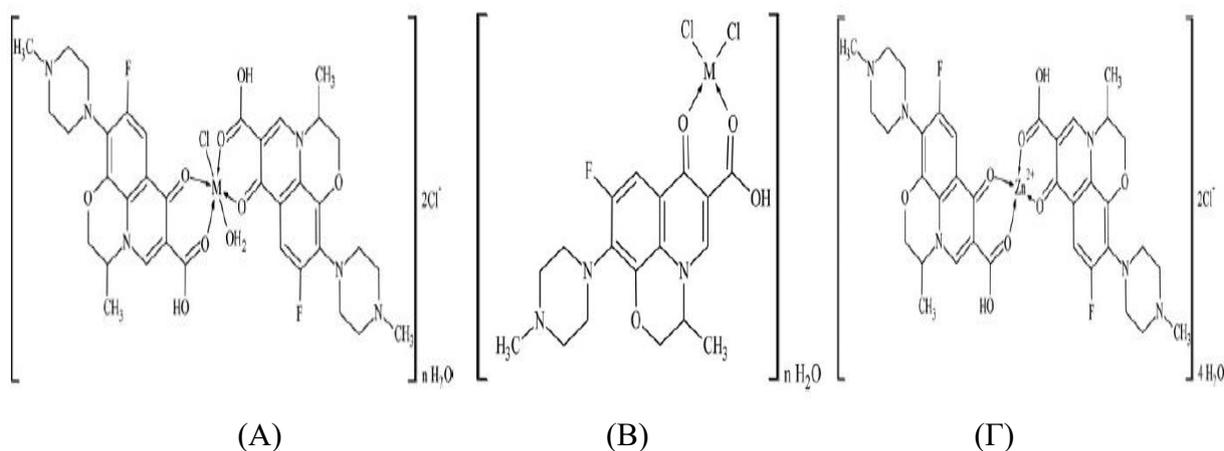
ενώσεων απέναντι σε διάφορους μύκητες όπως *Candida albicans*, *Aspergillus awamori* και *Alternaria*, βρέθηκε ότι μόνο τα σύμπλοκα του Zn(II) και του Th(IV) εμφάνισαν πολύ καλή δραστηριότητα, απέναντι στην ανάπτυξη της *Candida albicans* σχέση με το ελεύθερο φάρμακο της οφλοξασίνης. (141)

Με παρόμοιο τρόπο συναρμογής αναφέρεται η συγκεκριμένη κινολόνη και στις περιπτώσεις των παρακάτω συμπλόκων ενώσεων. $[Zn(ofl)(phen)(H_2O)_2]$, $[ZrO(ofl)(phen)(H_2O)]$ και $[UO_2(ofl)(phen)(H_2O)]$.(142)



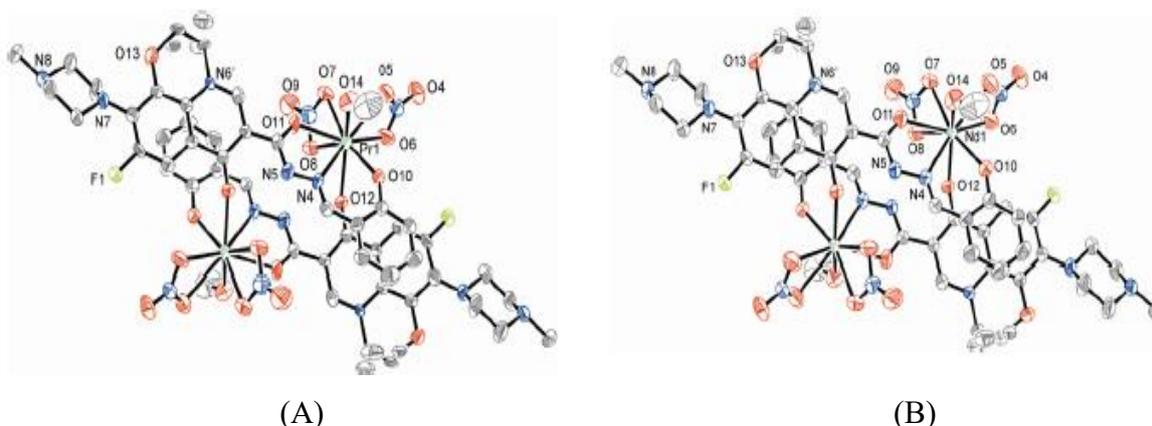
Σχήμα 55: Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων: (A) $[Zn(ofl)(phen)(H_2O)_2]$, (B) $[ZrO(ofl)(phen)(H_2O)]$ και (Γ) $[UO_2(ofl)(phen)(H_2O)]$.

Αντίστοιχες μελέτες έχουν γίνει και σε σύμπλοκες ενώσεις της οφλοξασίνης και χωρίς την παρουσία κάποιου αζωτο-δότη,όπωςστις ενώσεις $[Cu(ofl)Cl_2]$ $[Pt(ofl)Cl_2]$, $[Zn(ofl)_2]$, $[Ru(ofl)_2Cl(H_2O)]$, $[Fe(ofl)_2Cl]$. (143)



Σχήμα 56: Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων: (A) $[Ru(ofl)_2Cl(H_2O)]$, (B) $[Fe(ofl)_2Cl]$ και (Γ) $[Zn(ofl)_2]$.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν και δύο σύμπλοκες ενώσεις που παρασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας κάποια όχι τόσο συνηθισμένα στοιχεία όπως φαίνεται στα σύμπλοκα $[\text{Pr}(\text{L})(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})]$ και $[\text{Nd}(\text{L})(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})]$. (144)



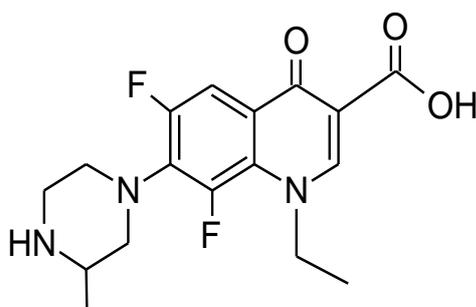
Σχήμα 57: Κρυσταλλικές δομές των συμπλόκων: (A) $[\text{Pr}(\text{L})(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})]_2$, (B) $[\text{Nd}(\text{L})(\text{NO}_3)_2(\text{CH}_3\text{OH})]_2$.

Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρούμε διπυρηνικά σύμπλοκα του πρασεοδυμίου (Pr) και του νεοδυμίου (Nd), που εμφανίζουν ένα αριθμό συναρμογής 9, συναρμόζονται με ένα παράγωγο υδραζίνης της οφλοξασίνης (L) το οποίο συναρμόζεται μέσω ενός φαινολικού ατόμου οξυγόνου μίας ομάδας C=N, και O=C–NH–της πλευρικής ομάδας της βενζοϋδραζίνης. (144)

6 ΛΟΜΕΦΛΟΞΑΣΙΝΗ (LOMEFLOXACIN)

6.1 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΟΜΕΦΛΟΞΑΣΙΝΗΣ

Η λομεφλοξασίνη (Hlome) είναι μια φθοροκινολόνη δεύτερης γενιάς που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων, όπως η βρογχίτιδα και ορισμένες λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, ενώ επίσης χρησιμοποιείται με σκοπό την πρόληψη ανάπτυξης λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος πριν από ορισμένες χειρουργικές επεμβάσεις. Ωστόσο το συγκεκριμένο φάρμακο εμφανίζει φωτοτοξικότητα καθώς και ορισμένες ανεπιθύμητες παρενέργειες στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Η συγκεκριμένη ένωση έχει ένα ιδιαίτερο δομικό χαρακτηριστικό, καθώς περιέχει δύο άτομα φθορίου στο μόριο της όπως φαίνεται στο σχήμα 58.

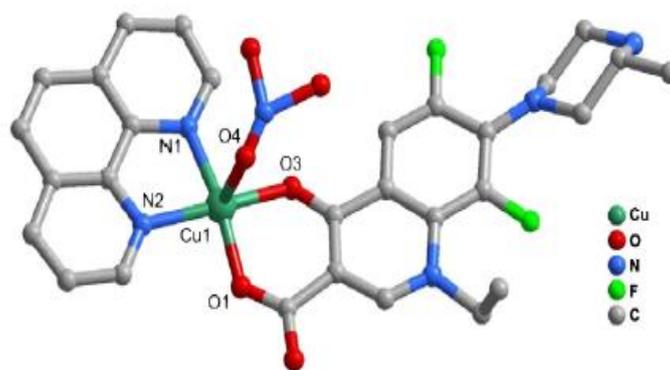


Σχήμα 58: Λομεφλοξασίνη (*lomefloxacin*): 1-ethyl-6,8-difluoro-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid.

Η ύπαρξη των δύο ατόμων φθορίου είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς το καθένα από αυτά σχετίζεται με ορισμένες ιδιότητες. Συγκεκριμένα το φθόριο που βρίσκεται ενωμένο στο άτομο του C-6 επιτρέπει στην ένωση να εμφανίζει δραστικότητα απέναντι σε ένα ευρύ φάσμα Gram-αρνητικών και Gram-θετικών βακτηρίων. Ενώ το άτομο του φθορίου που βρίσκεται στον C-8 σχετίζεται με την ενίσχυση της δράσης της ένωσης σε σχέση με τη συγγένεια που εμφανίζει με το ένζυμο στόχο, δηλαδή τη βακτηριακή DNA-γυράση. Όμως η ύπαρξη των αλογόνων (φθορίου ή χλωρίου) στις ενώσεις αυτές έχει και ορισμένες αρνητικές επιπτώσεις, καθώς τα βιολογικά σύμπλοκα που προκύπτουν εμφανίζουν φωτοτοξικότητα, τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα. (145)

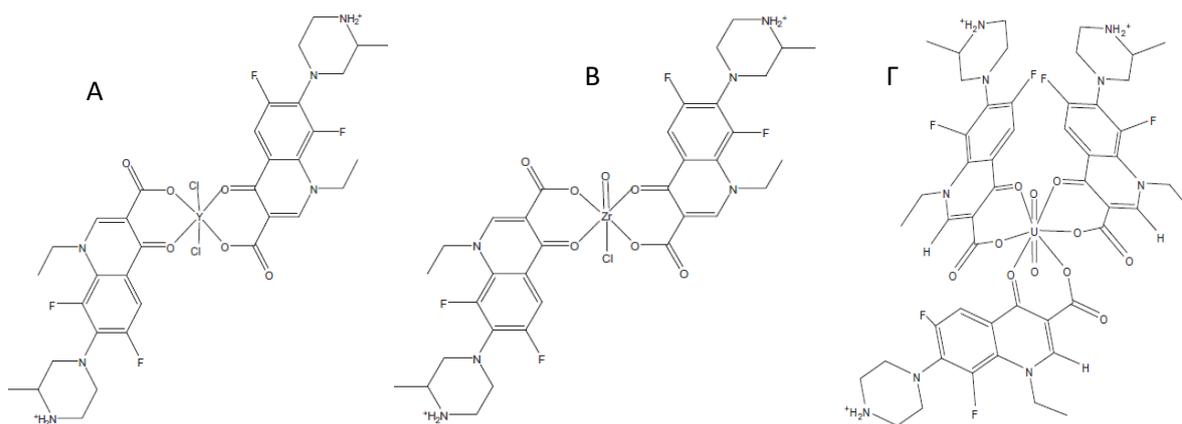
6.2 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕ LOMEFLOXACIN

Μία από τις σύμπλοκες ενώσεις που έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία είναι αυτή του χαλκού(II) με τη λομεφλοξασίνη παρουσία της 1,10-φαινανθρολίνης, η σύνθεση της οποίας οδήγησε στην παραλαβή κρυσταλλικής δομής με τύπο $[Cu(lome)(phen)(NO_3)]$ (σχήμα 59). Παρατηρήθηκε ο διδραστικός τρόπος συναρμογής του ligand μέσω του πυριδονικού οξυγόνου και του καρβοξυλικού οξυγόνου. Ο δισθενής χαλκός Cu(II) έχει αριθμό συναρμογής πέντε και γεωμετρία τετραγωνική πυραμιδική με τη βάση της πυραμίδας να αποτελείται από τα δύο άτομα οξυγόνου της λομεφλοξασίνης και τα δύο άτομα αζώτου της 1,10-φαινανθρολίνης ενώ στην κορυφή της πυραμίδας βρίσκεται ένα άτομο οξυγόνου από το νιτρικό ανιόν. Οι μελέτες που πραγματοποιήθηκαν έδωσαν τη διατήρηση της δομής της σε υδατικό διάλυμα. Στις βιολογικές μελέτες που ακολούθησαν παρατηρήθηκε ότι ο σχηματισμός του συμπλόκου δεν παρεμπόδισε τη βιολογική δράση της λομεφλοξασίνης. (146)



Σχήμα 59: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Cu(lome)(phen)(NO_3)]$

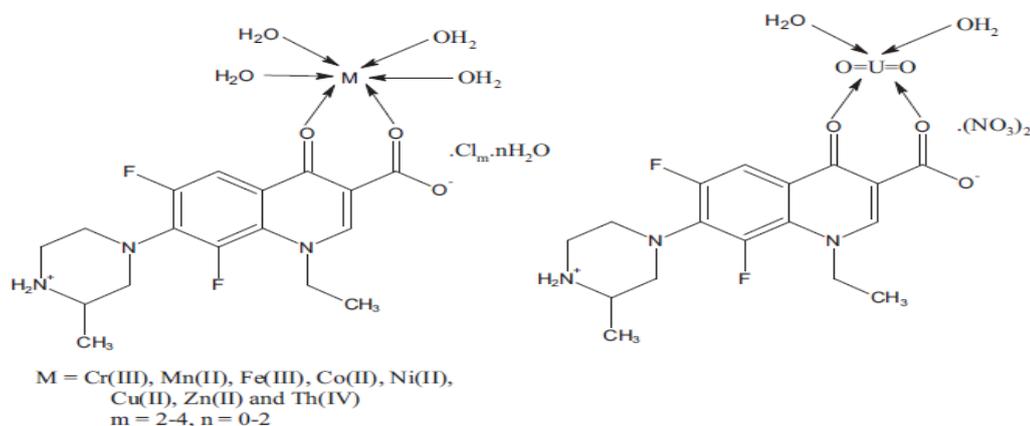
Επίσης έχουν συντεθεί και σύμπλοκα της λομεφλοξασίνης με άλλα μέταλλα όπως, το ύτριο(III), το ζirkόνιο Zr(IV) και το ουράνιο U(VI). Η αναλογία ligand και μετάλλου είναι 1:2 για τα πρώτα δύο μέταλλα και 1:3 για το ουράνιο. Ο τρόπος συναρμογής των φαρμάκων στο κεντρικό μέταλλο-ión δε διαφέρει σε σχέση με τα υπόλοιπα σύμπλοκα που παρατηρήσαμε προηγουμένως, ενώ η κατάσταση διαφοροποιείται στο σύμπλοκο του ουρανίου όπου το κεντρικό μέταλλο συναρμόζεται με τρία ligands του φαρμάκου. Να τονιστεί ότι το lomefloxacin είναι στην αμφιπρωτική μορφή του με το H να έχει μεταφερθεί από το καρβοξυλικό οξύ στο τελικά πιπεραζινικό άζωτο. Η βιολογική μελέτη των νέων αυτών ενώσεων έδειξε ότι εμφανίζουν καλύτερη δραστικότητα απέναντι σε Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια σε σχέση με την ελεύθερη λομεφλοξασίνη, αλλά ούτε η λομεφλοξασίνη ούτε τα σύμπλοκα που σχηματίστηκαν εμφάνισαν δραστικότητα απέναντι σε μύκητες. (147)



Σχήμα 60: Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων A: $[Y(Hlome)_2Cl_2]$ B: $[ZrO(Hlome)_2]Cl_2$, Γ: $[UO_2(Hlome)_3]Cl_2$.

Ο τρόπος συναρμογής της λομεφλοξασίνης παρατηρήθηκε ότι παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες και με άλλες σύμπλοκες ενώσεις της κινολόνης με διάφορα μέταλλα. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 61, η αποπρωτονιωμένη λομεφλοξασίνη συναρμόζεται διδραστικά με το κεντρικό

μεταλλικό ιόν της κάθε περίπτωσης μέσω ενός καρβοξυλικού και ενός κετονικού οξυγόνου, σε μία αναλογία 1 προς 1 σε όλες τις περιπτώσεις. Οι μαγνητικές μετρήσεις που έγιναν επιβεβαίωσαν την οκταεδρική γεωμετρία στα σύμπλοκα που μελετήθηκαν ενώ επίσης έδειξαν βελτιωμένη δράση απέναντι σε παθογόνου μικροοργανισμούς. (148)

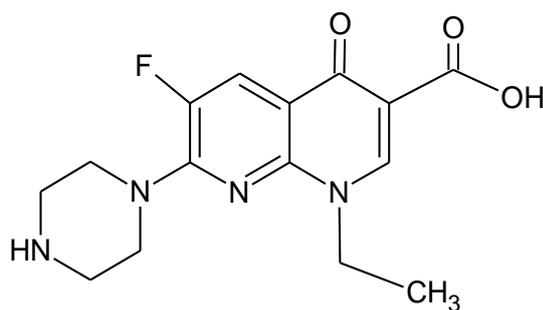


Σχήμα 61: Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων A: $[Y(Hlome)_2Cl_2]$ B: $[ZrO(Hlome)_2]Cl_2$,
Γ: $[UO_2(Hlome)_3]Cl_2$.

7. ΕΝΟΞΑΣΙΝΗ (ENOXACIN)

7.1 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΟΞΑΣΙΝΗΣ

Η ενοξασίνη(Heno) είναι μία φθοροκινολόνη δεύτερης γενιάς που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος αλλά και κατά της γονόρροιας. Όπως και οι υπόλοιπες κινολόνες της γενιάς της αναστέλλει τη δράση της βακτηριακής DNA-γυράσης και της τοποισομεράσης IV και είναι δραστική έναντι Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων. (149)



Σχήμα 62: Ενοξασίνη-(Enoxacin). 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid.

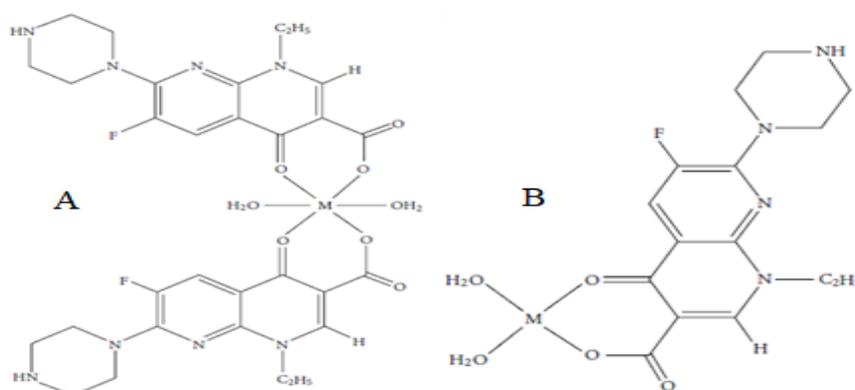
Το φάρμακο χορηγείται από το στόμα και απορροφάται ταχέως από τη γαστρεντερική οδό. Κατανέμεται ευρέως σε όλο το σώμα και στους διάφορους βιολογικούς ιστούς, όπου η συγκέντρωση του ξεπερνά ακόμα και τις συγκεντρώσεις στον ορό του αίματος. Ιδιαίτερα υψηλές

είναι οι συγκεντρώσεις του φαρμάκου στην ουροδόχο κύστη, γεγονός που είναι ιδιαίτερα σημαντικό για το θεραπευτικό του ρόλο. Ο χρόνος ημίσειας ζωής σε άτομα με φυσιολογική νεφρική λειτουργία, είναι περίπου 6 ώρες, ενώ περίπου το 60% μίας φυσιολογικής δόσης απεκκρίνεται στα ούρα ως μέσα σε 24 ώρες. (149)

Τα ανεπιθύμητα αποτελέσματα που προκαλούνται από τη χορήγηση του φαρμάκου περιλαμβάνουν επιληπτικές κρίσεις και αϋπνία ενώ δεν θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με επιληψία καθώς μπορεί να ευνοήσει την εμφάνιση επιληπτικών κρίσεων και σπασμών. Η ένωση αντενδείκνυται σε άτομα με ιστορικό υπερευαισθησίας σε κινολόνες καθώς μπορεί να προκαλέσει και εκφυλιστικές μεταβολές στις αρθρώσεις, ενώ στα παιδιά πρέπει να χορηγείται μόνο στην περίπτωση που τα αναμενόμενα οφέλη είναι μεγαλύτερα από τους κινδύνους. (149)

7.2 ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΜΕ ΕΝΟΧΑCΙΝ

Η ενοξασίνη είναι γενικά ευδιάλυτη σε όξινους ή βασικούς διαλύτες καθώς και στο ζεστό νερό ωστόσο τα μεταλλικά της σύμπλοκα είναι γενικά αδιάλυτα στο ζεστό νερό. Στα παρακάτω παραδείγματα δημιουργήθηκαν μεταλλικές σύμπλοκες ενώσεις οι οποίες βρέθηκαν ότι διαλύονται σε θερμή μεθανόλη, αιθανόλη και χλωροφόρμιο. Η αναλογία των ενώσεων είναι 1:1 για το σύμπλοκο του σιδήρου και 1:2 για τα σύμπλοκα των υπόλοιπων μετάλλων. (150)

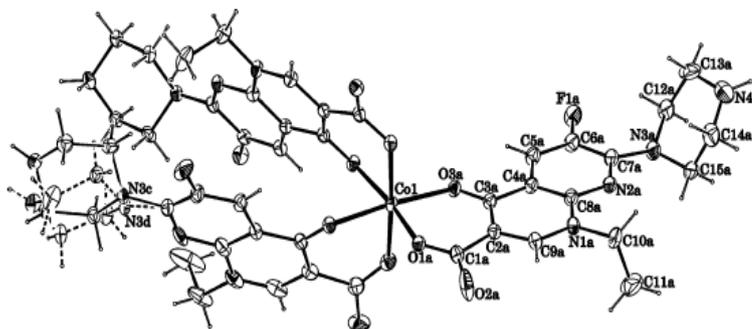


Σχήμα 63: Προτεινόμενες δομές των συμπλόκων A: $[M(eno)_2(H_2O)_2] \cdot 3H_2O$, $M = Mn, Ni, Cu$ και B: $[Fe(eno)(H_2O)_2]Cl \cdot 4H_2O$.

Οι μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για τις ενώσεις στο (σχήμα 63) έδειξαν ότι η ενοξασίνη συναρμόζεται διδραστικά με το μεταλλικό κέντρο μέσω ενός καρβοξυλικού και του πυριδονικού οξυγόνου. Επίσης προτάθηκε ότι οι σύμπλοκες ενώσεις του μαγγανίου, του νικελίου και του χαλκού, υιοθετούν οκταεδρική γεωμετρία, με αριθμό συναρμογής έξι, με δύο ligands ενοξασίνης να συναρμόζονται χηλικά με το μεταλλικό κέντρο και δύο ligands νερού να συμπληρώνουν την δομή. Διαφοροποίηση παρατηρείται στην περίπτωση του συμπλόκου του σιδήρου, με τη γεωμετρία να χαρακτηρίζεται τετραεδρική, με ένα ligand της ενοξασίνης και δύο

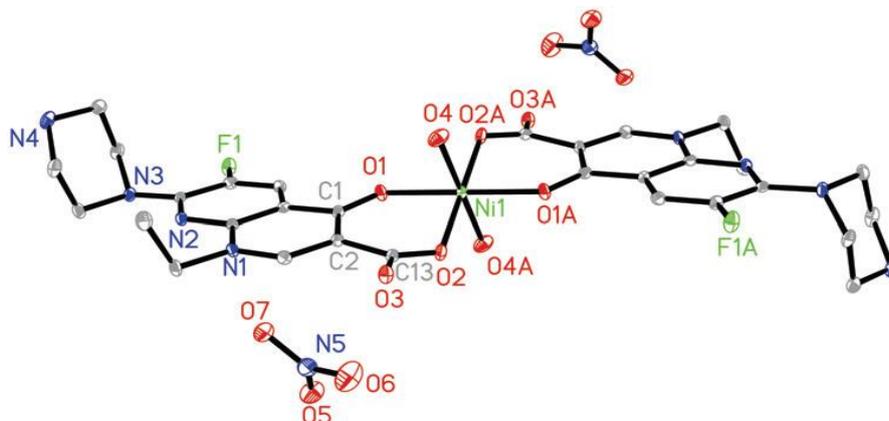
ligands νερού στη σφαίρα συναρμογής. Σχετικά με την βιολογική μελέτη των ενώσεων, γενικά βρέθηκε να εμφανίζουν καλύτερη δραστηριότητα απέναντι σε διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς. (150)

Μία άλληςύμπλοκη ένωση της ενοξασίνης είναι το $[Co(Heno)_2(eno)]Cl$. Στην περίπτωση αυτή συναντάται τόσο την ουδέτερη όσο και την ανιονική μορφή του ligand σε μία οκταεδρική γεωμετρία. Παρατηρούμε ότι τόσο η αποπρωτονιωμένη κινολόνη όσο και οι δύο ουδέτερες κινολόνες συναρμόζονται με το ιόν του κοβαλτίου μέσω ενός καρβοξυλικού και του κετονικού οξυγόνου. (151)

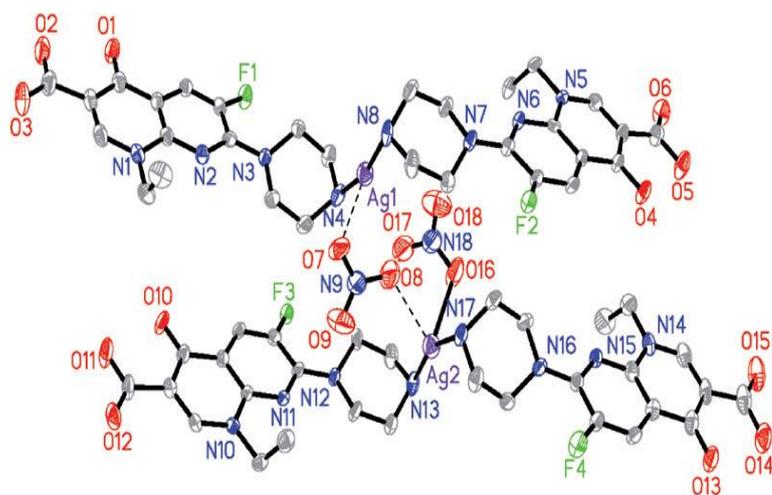


Σχήμα 64: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Co(Heno)_2(eno)]Cl$.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν και τα παρακάτω παραδείγματα $[Ni(Heno)_2(H_2O)_2](NO_3)_2$ και $[Ag_2(Heno)_4](NO_3)_2$. Στη σύμπλοκη ένωση του νικελίου παρατηρείται ένα μονοπυρηνικό σύμπλοκο με παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Οι ισημερινές θέσεις καταλαμβάνονται από τέσσερα άτομα οξυγόνου, δύο καρβοξυλικά και δύο κετονικά, που προέρχονται από την διδραστικά συναρμοσμένη κινολόνη με τη σφαίρα συναρμογής να ολοκληρώνεται με δύο ligands νερού στις κορυφές του οκτάεδρου. Η σύμπλοκη ένωση του αργύρου είναι ένα διπυρηνικόσύμπλοκο, όπου τα ligands της ενοξασίνης συναρμόζονται μονοδραστικά μέσω πιπεραζινικών ατόμων N, ενώ τα άτομα οξυγόνου δεν συναρμόζονται. (152).



Σχήμα 65: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Ni(Heno)_2(H_2O)_2](NO_3)_2$.



Σχήμα 66: Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου $[Ag_2(Heno)_4](NO_3)_2$.

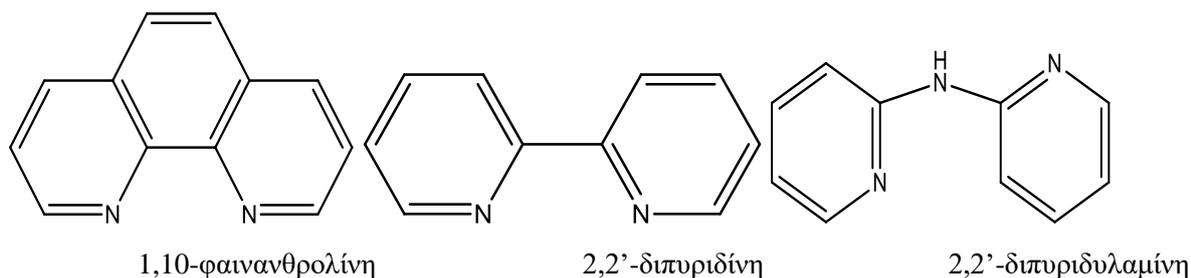
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

8. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

8.1) ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η σύνθεση συμπλόκων ενώσεων του χαλκού(II) με το αντιμικροβιακό φάρμακο ofloxacin, του σιδήρου(III) με το αντιμικροβιακό φάρμακο enoxacin και του ψευδαργύρου με το αντιμικροβιακό φάρμακο lomefloxacin απουσία ή παρουσία δοτών ατόμων αζώτου ως ligands, όπως η 1,10-φαινανθρολίνη (phen), η 2,2'-διπυριδίνη (bipy) και η 2,2'-διπυριδυλαμίνη (bipyam) (σχήμα 67), ο χαρακτηρισμός της δομής τους, η μελέτη της αλληλεπίδρασής τους με calf-thymus DNA καθώς και με αλβουμίνες ορού αίματος.



Σχήμα 67: Συντακτικοί τύποι της 1,10-φαινανθρολίνης, 2,2'-διπυριδίνης και 2,2'-διπυριδυλαμίνης.

8.2) ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλοι οι διαλύτες αγοράστηκαν από τη Chemlab ενώ τα αντιδραστήρια CT DNA, BSA, HSA, EB, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , phen, bipy, bipyam, NaCl και KOH αγοράστηκαν από τη Sigma-Aldrich.

Το διάλυμα DNA παρασκευάστηκε διαλύοντας calf-thymus DNA (CTDNA) 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) υπό συνεχή ανάδευση για τρεις ημέρες και διατηρείται στους 4°C. Ο λόγος της απορρόφησης του διαλύματος DNA στα 260 nm προς την αντίστοιχη στα 280 nm (A_{260}/A_{280}) ήταν μεταξύ 1.85-1.88, γεγονός που υποδεικνύει ότι το DNA είναι επαρκώς καθαρό από πρωτεϊνικές προσμίξεις. Η συγκέντρωση του διαλύματος προσδιορίστηκε από την απορρόφηση στα 260 nm στο φάσμα UV ύστερα από αραιώση 1:20 και, με βάση τον τύπο Beer-Lambert, $A = \epsilon \cdot c \cdot d$, υπολογίστηκε η συγκέντρωση του διαλύματος, γνωρίζοντας ότι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης (ϵ) στα 260 nm είναι $6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Οι μετρήσεις μοριακής αγωγιμότητας πραγματοποιήθηκαν σε αγωγιμόμετρο Crison Basic 30. Τα φάσματα IR ($400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$) των ενώσεων λήφθηκαν με μορφή δισκίων KBr σε φασματόμετρο Nicolet FT-IR 6700. Για τη λήψη των φασμάτων UV-vis των ενώσεων σε διαλύματα DMSO, σε διάφορες συγκεντρώσεις χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο διπλής

δέσμης φωτός Hitachi U-2001. Τα φάσματα φθορισμού λήφθηκαν με τη μορφή διαλυμάτων στο φθορισμόμετρο Hitachi F-7000. Για τη μελέτη της ιξωδομετρίας χρησιμοποιήθηκε περιστροφικό ιξωδόμετρο ALPHAL της Fungilab εξοπλισμένο με 18 mL LCP spindle στα 100 rpm. Οι μαγνητικές μετρήσεις σε θερμοκρασία περιβάλλοντος έγιναν με την μέθοδο Faraday σε μαγνητοζυγό Johnson Matletley Chemicals Limited Magnetic Susceptibility Balance και ως πρότυπη ουσία χρησιμοποιήθηκε το σύμπλοκο $\text{Hg}[\text{Co}(\text{SCN})_4]$.

Η μελέτη των συμπλόκων με κυκλική βολταμετρία έγινε σε συσκευή Autolab Electrochemical analyzer του οίκου Ecochemie. Τα πειράματα κυκλικής βολταμετρίας έγιναν σε ηλεκτρολυτική κυψέλη τριών ηλεκτροδίων των 30 mL. Το ηλεκτρόδιο εργασίας ήταν έλασμα λευκοχρύσου και το αντισταθμιστικό ηλεκτρόδιο σύρμα Pt. Ως ηλεκτρόδιο αναφοράς χρησιμοποιήθηκε ένα ηλεκτρόδιο Ag/AgCl κορεσμένο με KCl . Τα κυκλικά βολταμογραφήματα λήφθηκαν σε 0,4 mM διαλύματα $\text{DMSO}/\text{buffer}$ (1:2) με ταχύτητα σάρωσης $v = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ όπου το buffer ήταν ο φέροντας ηλεκτρολύτης. Η επιλογή του DMSO ως διαλύτης έγινε διότι όλα τα σύμπλοκα έχουν πολύ καλή διαλυτότητα σε αυτό. Η καθαρότητα του ελέγχθηκε με τη λήψη του κυκλικού βολτομογραφήματος ενός διαλύματος που περιείχε μόνο το φέροντα ηλεκτρολύτη σε συγκέντρωση 0,1 M. Το οξυγόνο απομακρύνθηκε από τα διαλύματα με διοχέτευση καθαρού αζώτου. Η απαέρωση των διαλυμάτων ήταν απαραίτητη διότι το οξυγόνο μπορεί να δώσει ηλεκτροδιακές δράσεις που συνεπάγονται την αλλοίωση των μορφών και των καμπυλών έντασης-τάσης. Όλες οι ηλεκτροχημικές μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου.

8.3) ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

1) Σύνθεση του συμπλόκου: $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (1)

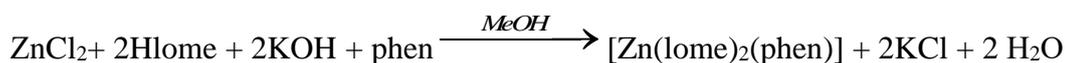
Το παραπάνω σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου πραγματοποιήθηκε αρχικά αποπρωτονίωση της κινολόνης από μια ισχυρή βάση, κάτι που επιτεύχθηκε με ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) lomefloxacin (0,2 mmol, 77,5 mg) με KOH (0,2 mL, 1 M) για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, προστέθηκε υπό συνεχή ανάδευση το διάλυμα σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) ZnCl_2 (0,1 mmol, 13,6 mg), οπότε και παραλήφθηκε με διήθηση καστανέρυθρο ίζημα μετά από 10 μέρες και ξήρανση στον αέρα. Μάζα προϊόντος: 65 mg. Απόδοση: 75%

2) Σύνθεση του συμπλόκου: $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{phen})]$ (2)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) lomefloxacin (0,2 mmol, 77,5 mg) προστέθηκε KOH (0,2 mL, 1M) και το διάλυμα αναδεύτηκε για 30 λεπτά. Στη συνέχεια το διάλυμα προστέθηκε συγχρόνως με μεθανολικό διάλυμα (10 mL) phen (0,1 mmol, 18 mg) σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) ZnCl₂ (0,1 mmol, 13,6 mg) και ακολούθησε ανάδευση. Μάζα προϊόντος: 71 mg. Απόδοση: 70%.

3) Σύνθεση του συμπλόκου: [Zn(lome)₂(bipy)] (3)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου έγινε ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) lomefloxacin (0,2 mmol, 77,5 mg) με KOH (0,2 mL, 1 M). Μετά από 30 λεπτά, προστέθηκε συγχρόνως με μεθανολικό διάλυμα (10 mL) bipy (0,1 mmol, 15.6 mg) σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) ZnCl₂ (0,1 mmol, 13,6 mg). Μάζα προϊόντος: 76 mg. Απόδοση: 77%.

4) Σύνθεση του συμπλόκου: [Zn(lome)₂(bipyam)] (4)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου έγινε ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) lomefloxacin (0,2 mmol, 77.5 mg) με KOH (0,2 mL, 1M). Μετά από 30 λεπτά προστέθηκε σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) ZnCl₂ (0,1 mmol, 13,6 mg), ταυτόχρονα με μεθανολικό διάλυμα (10 mL) bipyam (0,1 mmol, 17 mg). Μάζα προϊόντος: 72 mg. Απόδοση: 72%

5) Σύνθεση του συμπλόκου: [Cu(oflo)(bipy)Cl] (5)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου έγινε ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) ofloxacin (0,2 mmol, 72.3 mg) με KOH (0,2 mL, 1M). Μετά από μία ώρα προστέθηκε σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) CuCl₂·2H₂O (0,2 mmol, 34 mg), ταυτόχρονα με μεθανολικό διάλυμα (10 mL) bipy (0,2 mmol, 30,2 mg). Μάζα προϊόντος: 45 mg. Απόδοση: 73 %.

6) Σύνθεση του συμπλόκου: [Cu(oflo)(bipyam)Cl] (6)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου έγινε ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) ofloxacin (0,2 mmol, 72,3 mg) με KOH (0,2 mL, 1M). Μετά από μία ώρα προστέθηκε σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) CuCl₂·2H₂O (0,2 mmol, 34 mg), ταυτόχρονα με μεθανολικό διάλυμα (10 mL) bipyam (0,2 mmol, 34,2 mg). Μάζα προϊόντος: 48 mg. Απόδοση: 77 %.

7) Σύνθεση του συμπλόκου: [Cu(oflo)(phen)Cl] (7)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου έγινε ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) ofloxacin (0,2 mmol, 72,3 mg) με KOH (0,2 mL, 1 M). Μετά από μία ώρα προστέθηκε σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) CuCl₂·2H₂O (0,2 mmol, 34 mg), ταυτόχρονα με μεθανολικό διάλυμα (10 mL) phen (0,2 mmol, 36 mg). Μάζα προϊόντος: 45 mg. Απόδοση: 71 %.

8) Σύνθεση του συμπλόκου: [Fe(eno)₃] (8)

Το σύμπλοκο παρασκευάστηκε σύμφωνα με την αντίδραση:



Για την παρασκευή του συμπλόκου έγινε ανάδευση μεθανολικού διαλύματος (10 mL) enoxacin (0,3 mmol, 96 mg) με KOH (0,3 mL, 1 M). Μετά από μία ώρα προστέθηκε σε μεθανολικό διάλυμα (10 mL) FeCl₃·6H₂O (0,1 mmol, 27 mg). Μάζα προϊόντος: 68 mg. Απόδοση: 68 %.

Οι διαλυτότητες των συμπλόκων ενώσεων που παρασκευάστηκαν φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 15.

Πίνακας 15: Διαλυτότητες συμπλόκων ενώσεων I-8

| Ένωση | MeOH | EtOH | CH ₃ CN | DMSO | DMF | H ₂ O | CHCl ₃ | CH ₂ Cl ₂ | Ακετόνη |
|--|------|------|--------------------|------|-----|------------------|-------------------|---------------------------------|---------|
| [Zn(lome) ₂ (H ₂ O) ₂] (1) | Δ | ΜΔ | Α | ΔΠ | ΔΠ | ΜΔ | Α | Α | Α |
| [Zn(lome) ₂ (phen)] (2) | Δ | Δ | Α | ΔΠ | ΔΠ | Δ | ΔΠ | Α | Α |
| [Zn(lome) ₂ (bipy)] (3) | Δ | Δ | Α | Δ | ΔΠ | ΜΔ | ΜΔ | ΔΠ | Α |
| [Zn(lome) ₂ (bipyam)] (4) | Δ | Δ | Α | Δ | Δ | Δ | ΜΔ | ΜΔ | Α |
| [Cu(oflo)(bipy)Cl] (5) | Δ | ΜΔ | Α | Δ | ΔΠ | ΜΔ | ΔΠ | ΜΔ | Α |
| [Cu(oflo)(bipyam)Cl] (6) | Δ | Δ | Α | Δ | ΔΠ | ΜΔ | ΔΠ | ΔΠ | Α |
| [Cu(oflo)(phen)Cl] (7) | Δ | ΜΔ | Α | Δ | ΔΠ | ΜΔ | ΜΔ | ΔΠ | Α |
| [Fe(eno) ₃] (8) | Δ | Δ | Α | Δ | ΔΠ | ΜΔ | ΜΔ | ΔΠ | Α |

Δ: διαλυτό, ΜΔ: μερικώς διαλυτό, Α: αδιάλυτο, ΔΠ: διαλυτό με παραμονή

Παρατηρούμε ότι:

- Όλες οι σύμπλοκες ενώσεις που παρασκευάστηκαν είναι διαλυτές ή διαλύονται με παραμονή σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), σε MeOH και σε EtOH.
- Η σύμπλοκη ένωση **1**, η οποία δεν περιέχει κάποιο αζωτο-δότη εμφανίζει περιορισμένη διαλυτότητα.
- Όλες οι σύμπλοκες ενώσεις είναι αδιάλυτες σε CH₃CN και σε ακετόνη.

Στον πίνακα 16 δίνονται τα μοριακά βάρη (Mr), οι θεωρητικά αναμενόμενες τιμές στοιχειακής ανάλυσης και οι μετρήσεις μοριακής αγωγιμότητας διαλυμάτων των συμπλόκων ενώσεων σε διάλυμα DMSO (10⁻³ M). Οι τιμές της μοριακής αγωγιμότητας των συμπλόκων σε διάλυμα DMSO είναι μεταξύ 6-10 μS/cm και υποδηλώνουν ότι οι ενώσεις δε δίστανται σε διάλυμα DMSO διατηρώντας τη δομή τους.

Πίνακας 16: Μοριακό βάρος (Mr) και μοριακή αγωγιμότητα διαλυμάτων των συμπλόκων ενώσεων που παρασκευάστηκαν σε διάλυμα DMSO 10⁻³ M.

| Ένωση | Mr | Λ _M (μS/cm) |
|---|----------|------------------------|
| [Zn(lome) ₂ (H ₂ O) ₂](1) | 839,02 | 8 |
| [Zn(lome) ₂ (phen)](2) | 1018,83 | 6 |
| [Zn(lome) ₂ (bipy)](3) | 995,2 | 10 |
| [Zn(lome) ₂ (bipyam)](4) | 1010,2 | 7 |
| [Cu(oflo)(bipy)Cl](5) | 615,503 | 6 |
| [Cu(oflo)(bipyam)Cl](6) | 630,516 | 8 |
| [Cu(oflo)(phen)Cl](7) | 639,526 | 7 |
| [Fe(eno) ₃](8) | 1013,805 | 9 |

9) ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ

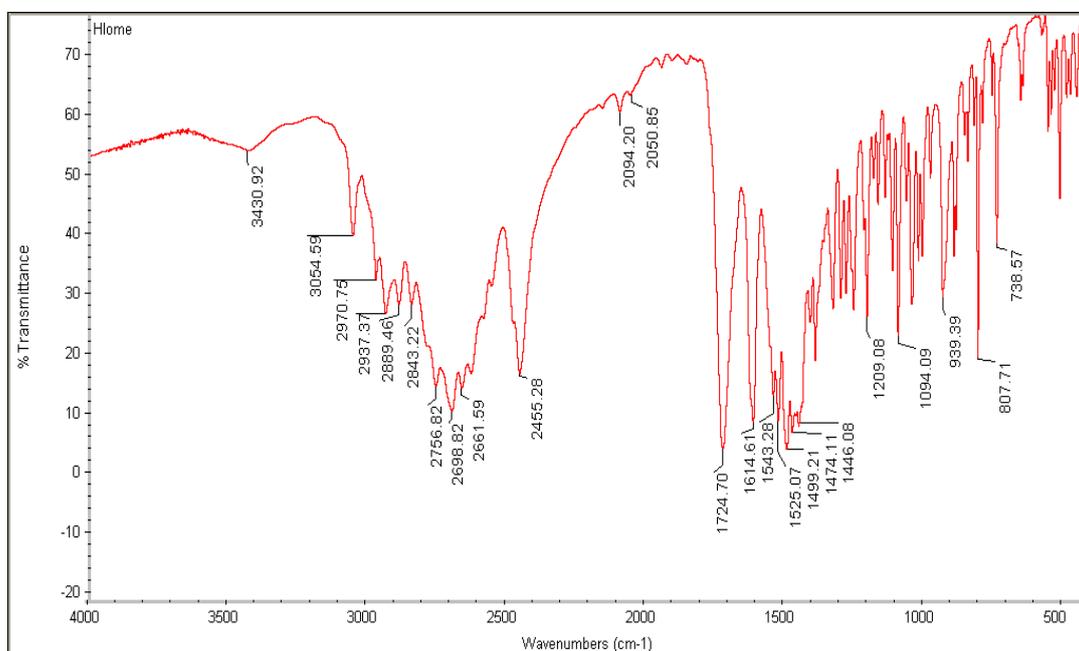
ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

9.1) ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ

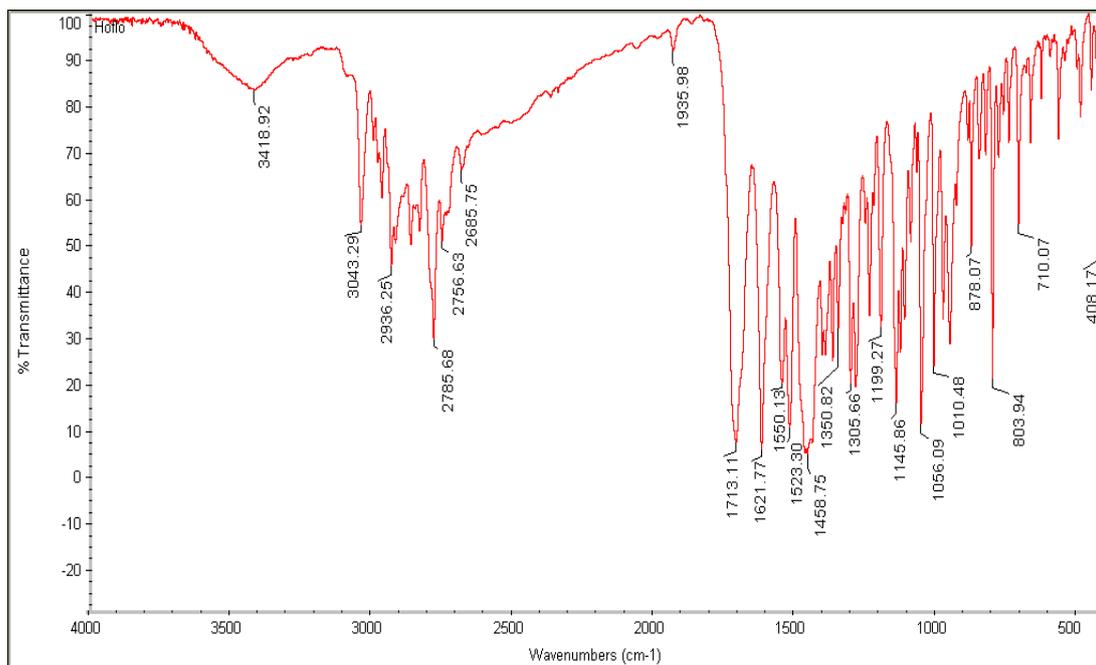
Η μελέτη των ενώσεων με φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) στηρίζεται στην αλληλεπίδραση της ύλης με το υπέρυθρο φως. Η αλληλεπίδραση αυτή προκαλεί αλλαγές στη διπολική ροπή του μορίου που μελετάται δημιουργώντας δονήσεις. Οι δονήσεις αυτές που εμφανίζονται σε ένα φάσμα υπερύθρου μπορούν να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την ταυτότητα των χημικών ειδών που υπάρχουν στο δείγμα. Συνήθως μετράται η απορρόφηση του φωτός από το δείγμα σε σχέση με τη συχνότητα η οποία εκφράζεται από το νόμο των Beer-Lambert.

Στα φάσματα IR ενώσεων των κινολονών ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι κορυφές που αποδίδονται στη δόνηση τάσης της καρβοξυλικής ομάδας του ligand, οι οποίες αποτελούν ένδειξη του τρόπου συναρμογής. Στα σχήματα 68-78 παρουσιάζονται τα φάσματα IR των τριών κινολονών, καθώς και των συμπλόκων τους.

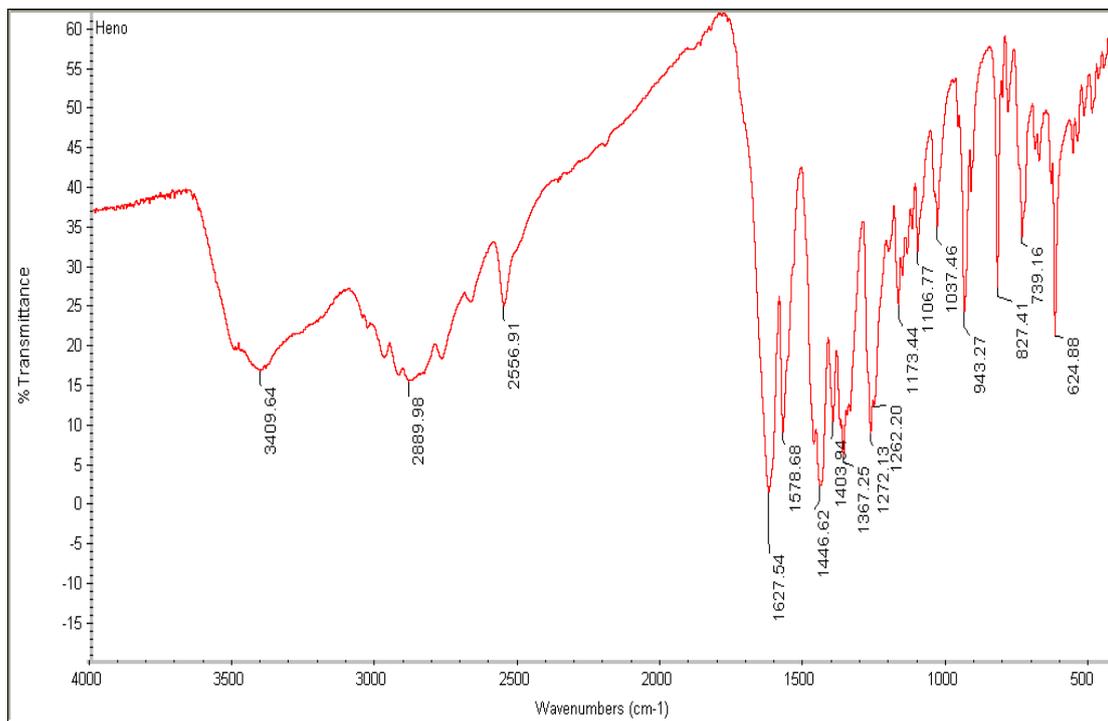
Στα φάσματα IR των ελεύθερων κινολονών (σχήματα 68-70), εντοπίζονται οι δονήσεις τάσης $\nu(\text{O-H})$, $\nu(\text{C=O})_{\text{carboxylic}}$ και $\nu(\text{C-O})_{\text{carboxylic}}$ της καρβοξυλικής ομάδας καθώς και η $\nu(\text{C=O})_{\text{πυρ}}$ του πυριδονικού καρβονυλίου (πίνακας 17).



Σχήμα 68: Φάσμα IR του Hlome.



Σχήμα 69: Φάσμα IR του Hoflo.



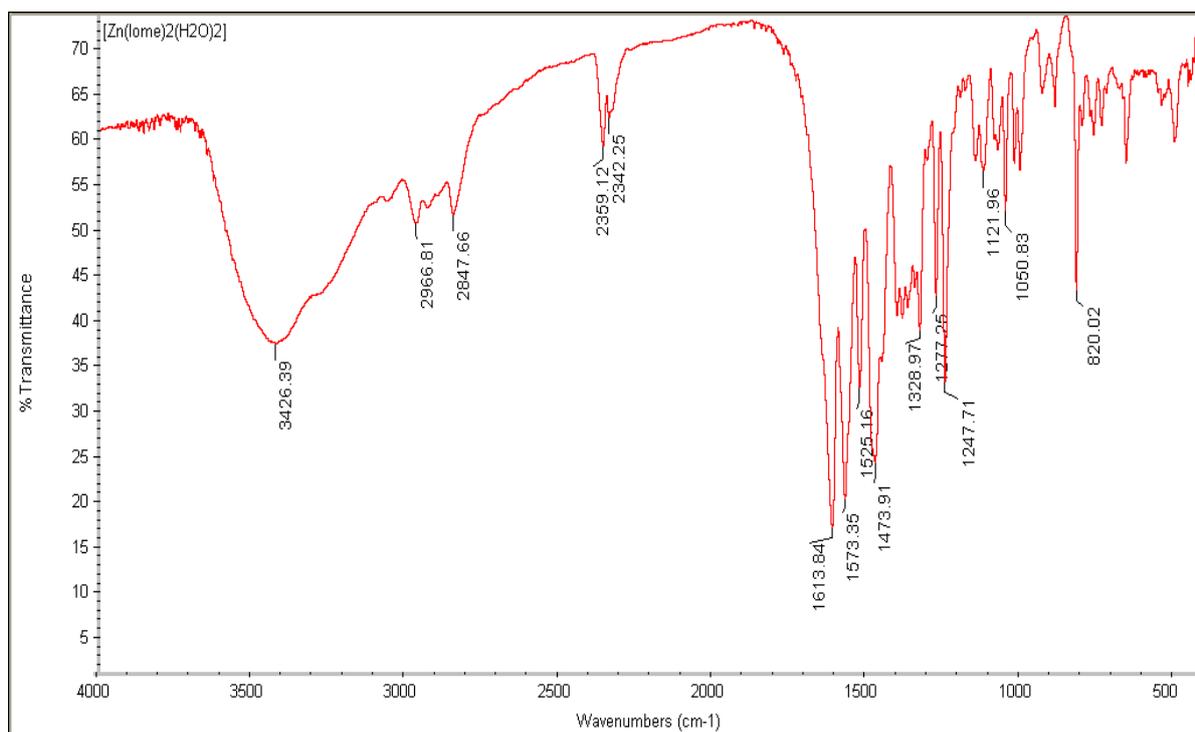
Σχήμα 70: Φάσμα IR του Heno.

Πίνακας 17: Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσης (cm^{-1}) των ελεύθερων κινολονών.

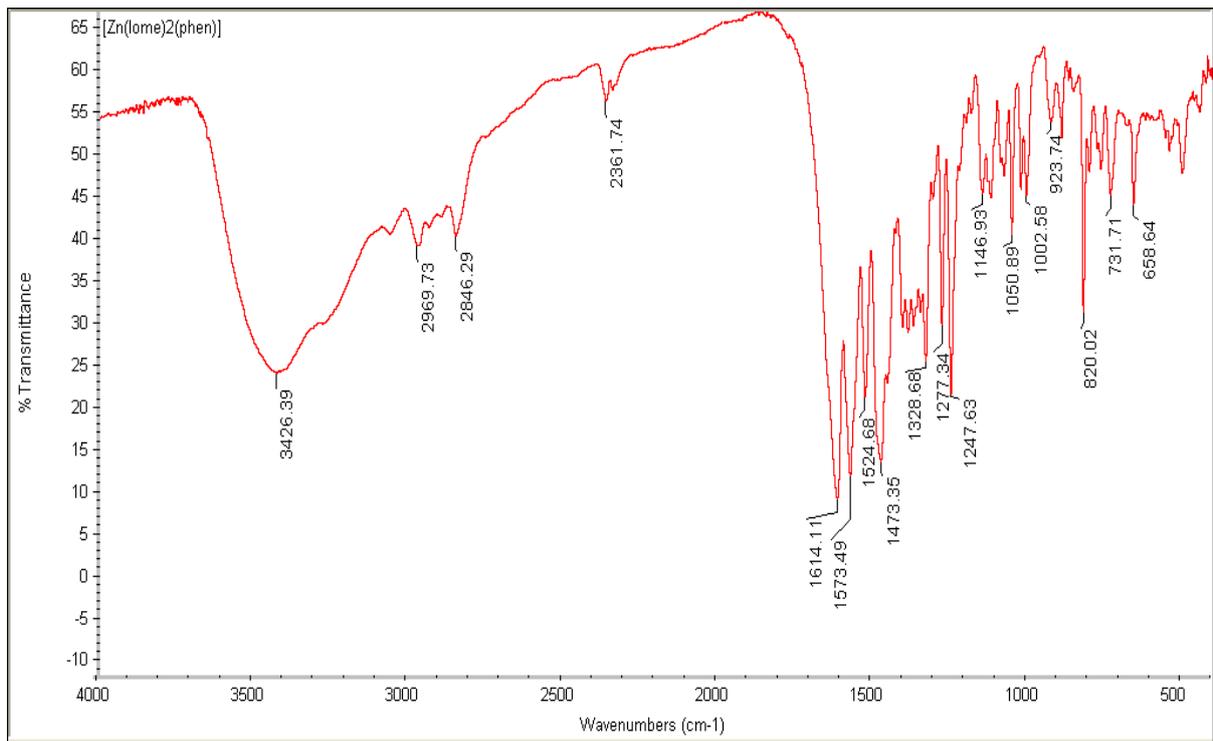
| Κινολόνη | $\nu(O-H)$ | $\nu(C=O)$ carboxylic | $\nu(C-O)$ carboxylic | $\nu(C=O)_{pyr}$ |
|--------------|------------|-----------------------|-----------------------|------------------|
| lomefloxacin | 3431 | 1725 | 1255 | 1615 |
| ofloxacin | 3440 | 1713 | 1289 | 1622 |
| enoxacin | 3409 | ** | 1272 | 1627 |

** Στον *epoxacin*, η $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{carboxylic}}$ δεν εντοπίζεται καθώς το *epoxacin* βρίσκεται στην αμφιπρωτική μορφή του (ως *zwitterion*).

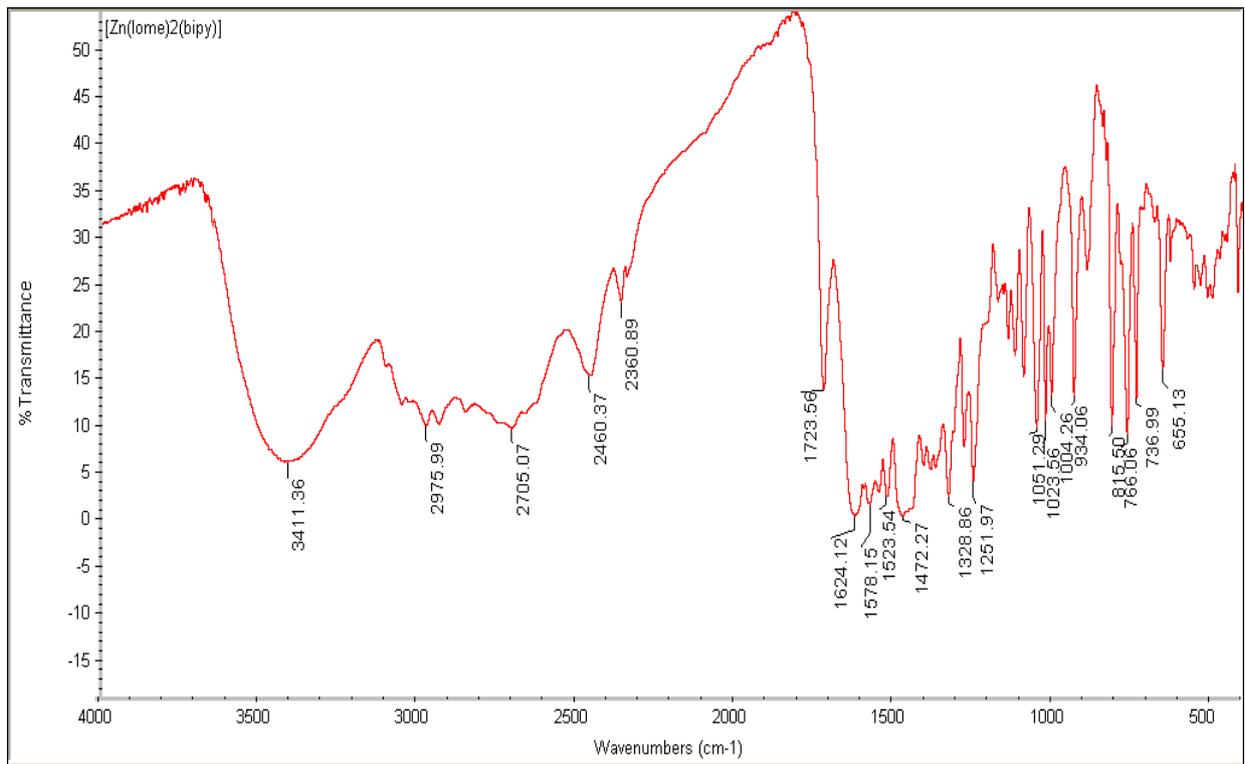
Στα φάσματα υπερέθρου των συμπλόκων (σχήματα 71-78), εμφανίζονται αλλαγές σε σχέση με το φάσμα της ελεύθερης κινολόνης, οι οποίες είναι ενδεικτικές της τρόπου συναρμογής της. Πιο συγκεκριμένα, η δόνηση τάσης $\nu(\text{O}-\text{H})$ δεν εμφανίζεται στα φάσματα των συμπλόκων, γεγονός που υποδεικνύει την αποπρωτονίωση της κινολόνης.



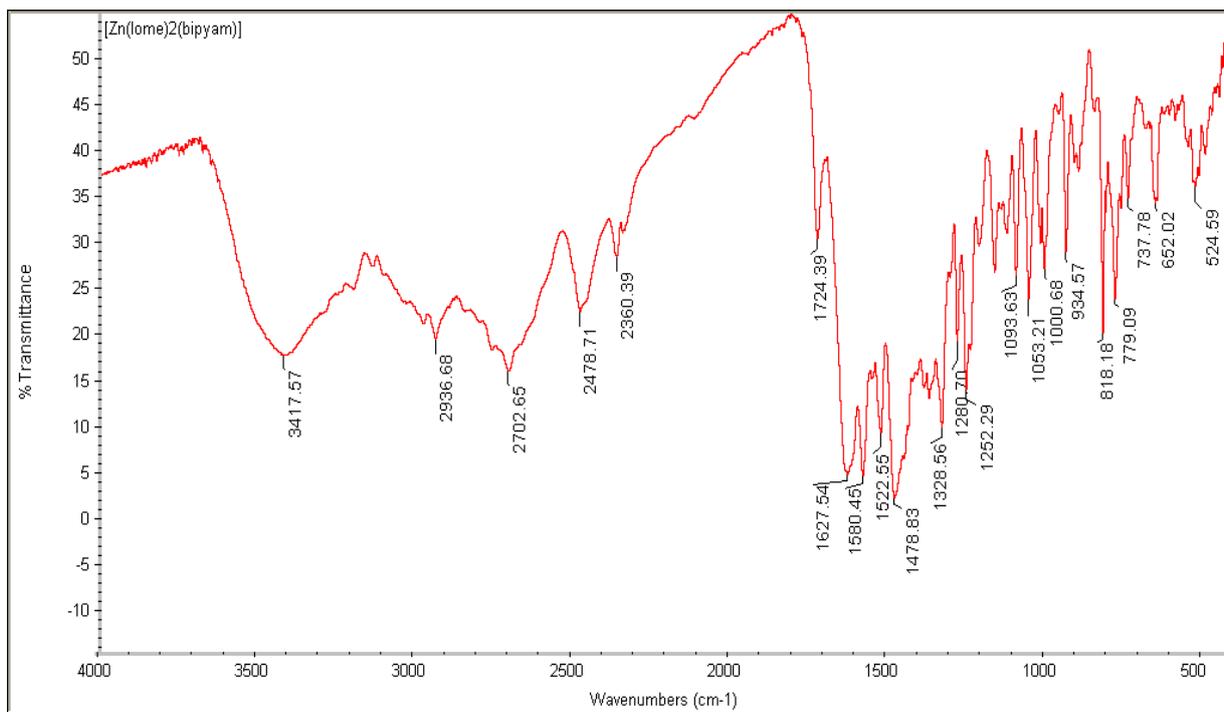
Σχήμα 71: Φάσμα IR του $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$.



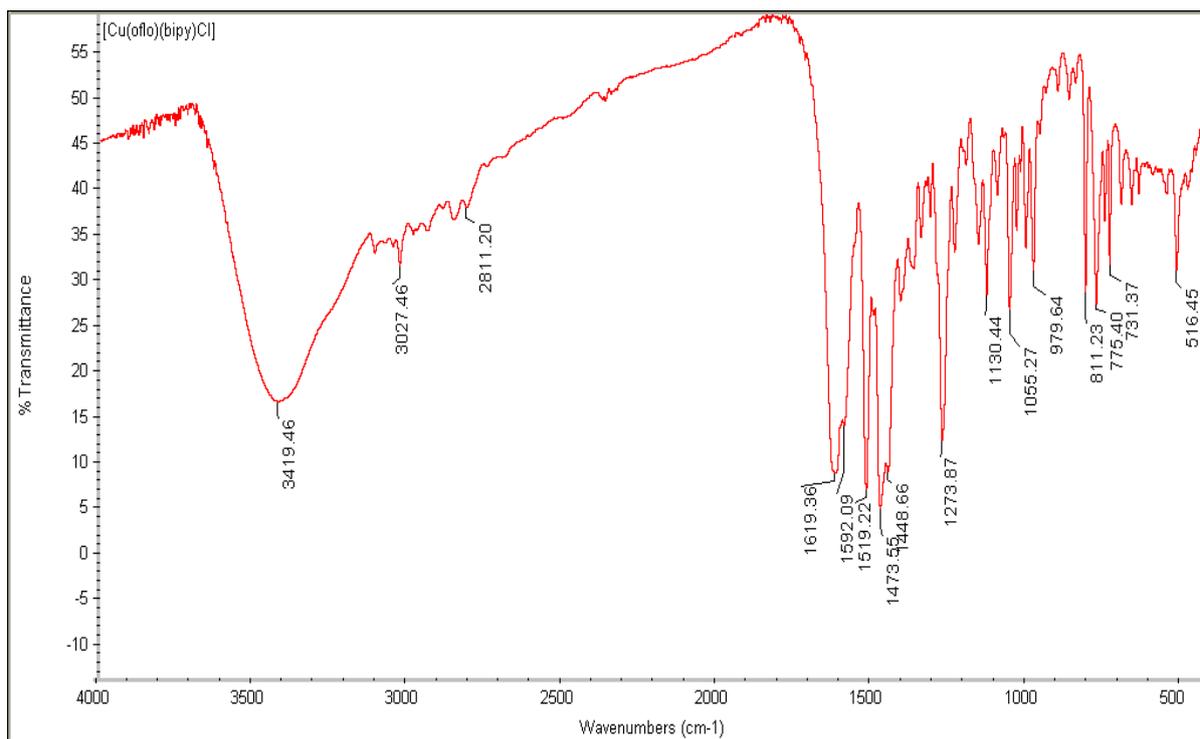
Σχήμα 72: Φάσμα IR του $[Zn(lome)_2(phen)]$.



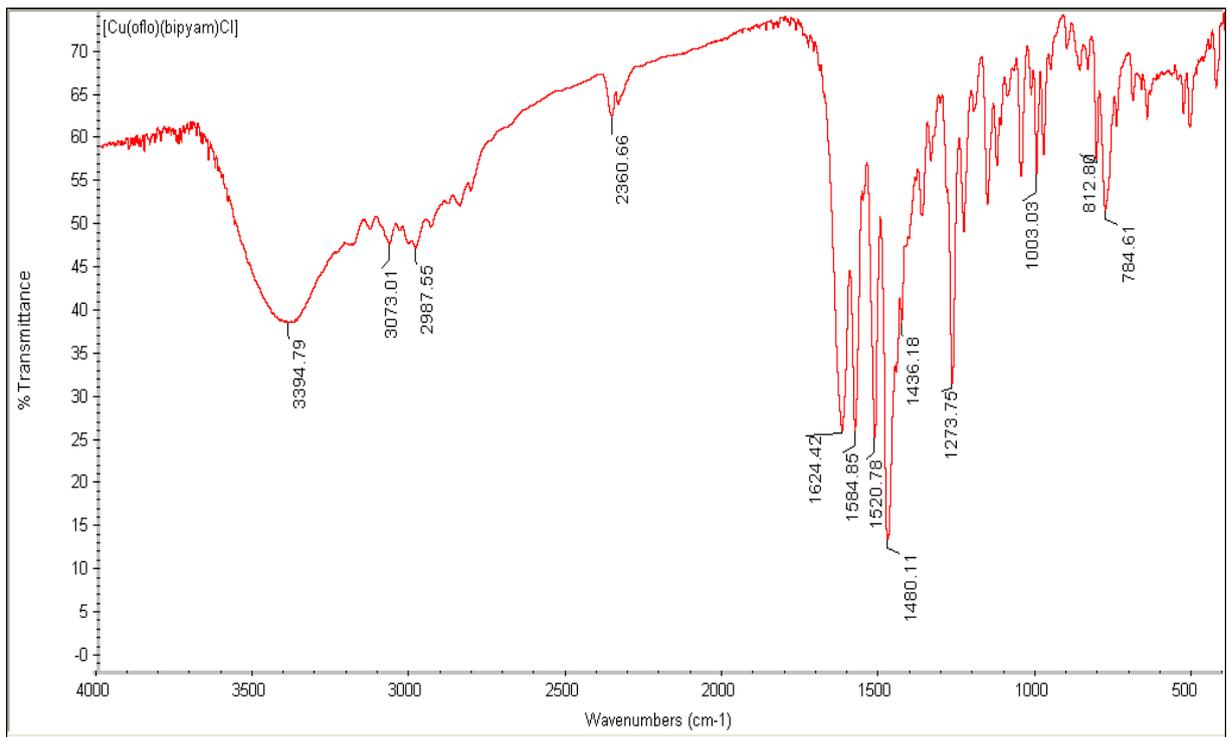
Σχήμα 73: Φάσμα IR του $[Zn(lome)_2(bipy)]$.



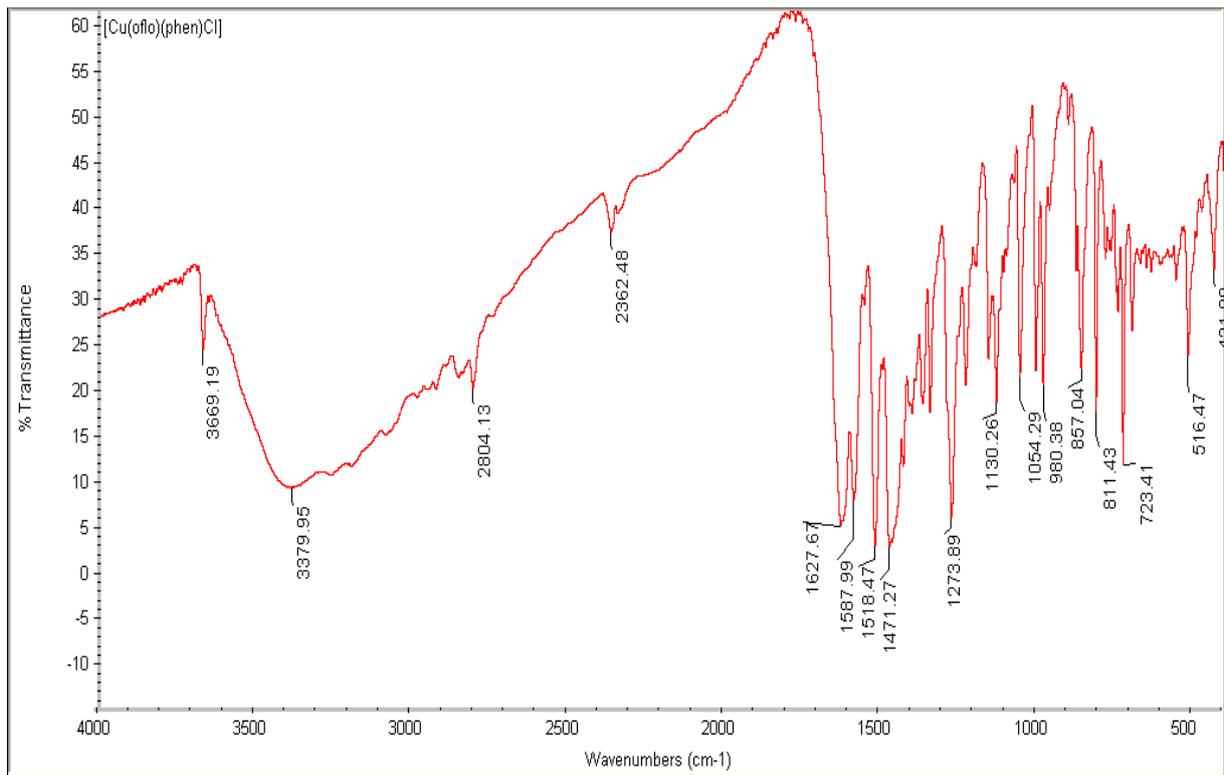
Σχήμα 74: Φάσμα IR του [Zn(lome)₂(bipyam)].



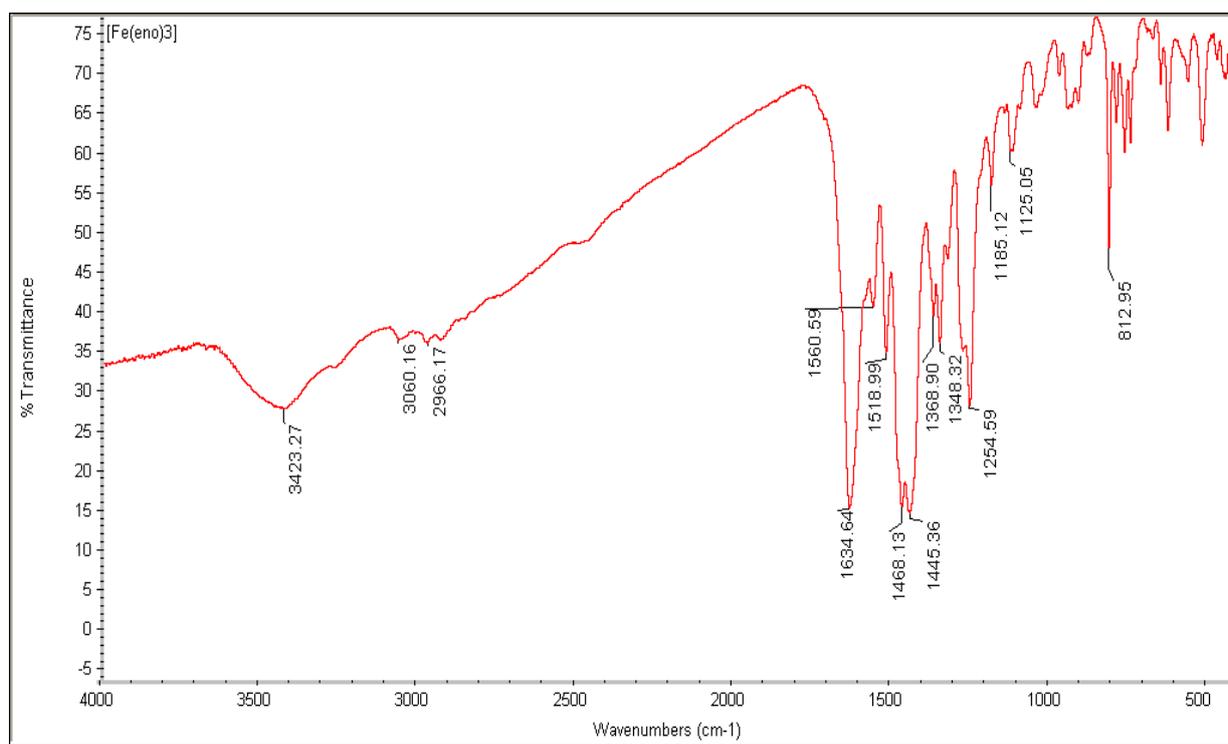
Σχήμα 75: Φάσμα IR του [Cu(oflo)(bipy)Cl].



Σχήμα 76: Φάσμα IR του $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$.



Σχήμα 77: Φάσμα IR του $[Cu(oflo)(phen)Cl]$.



Σχήμα 78: Φάσμα IR του $[Fe(eno)_3]$.

Πίνακας 18: Χαρακτηριστικές δονήσεις τάσης (cm^{-1}) των συμπλόκων 1-8.

| ΣΥΜΠΛΟΚΑ | $\nu(C=O)_p$ | $\nu_{asym}(CO_2)$ | $\nu_{sym}(CO_2)$ | $\Delta\nu(CO_2)$ | $\rho_r(C-H)_{pyr}$ |
|----------------------------|--------------|--------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$ (1) | 1614 | 1573 | 1386 | 187 | - |
| $[Zn(lome)_2(phen)]$ (2) | 1614 | 1573 | 1386 | 187 | 732 |
| $[Zn(lome)_2(bipy)]$ (3) | 1627 | 1584 | 1386 | 198 | 766 |
| $[Zn(lome)_2(bipyam)]$ (4) | 1627 | 1580 | 1369 | 211 | 779 |
| $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$ (5) | 1619 | 1592 | 1365 | 227 | 775 |
| $[Cu(ofl)(bipyam)Cl]$ (6) | 1624 | 1584 | 1369 | 215 | 784 |
| $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ (7) | 1627 | 1588 | 1364 | 224 | 723 |
| $[Fe(eno)_3]$ (8) | 1634 | 1561 | 1369 | 192 | --- |

Οι δονήσεις $\nu(C=O)_{carboxylic}$ και $\nu(C-O)_{carboxylic}$ της κινολόνης έχουν αντικατασταθεί από δύο νέες χαρακτηριστικές κορυφές. Η πρώτη από αυτές να βρίσκεται στα $1561-1592\text{ cm}^{-1}$ και αποδίδεται στην αντισυμμετρική δόνηση τάσης της καρβοξυλικής ομάδας, $\nu_{asym}(CO_2)$, και η δεύτερη στην περιοχή $1364-1386\text{ cm}^{-1}$ και αποδίδεται στη συμμετρική δόνηση τάσης της καρβοξυλικής ομάδας, $\nu_{sym}(CO_2)$.

Μια παράμετρος που βοηθά στη διευκρίνιση του τρόπου συναρμογής των καρβοξυλικών ομάδων σε κάθε σύμπλοκο είναι η διαφορά μεταξύ της αντισυμμετρικής και της συμμετρικής δόνησης τάσης της καρβοξυλικής ομάδας, $\Delta\nu(CO_2) = [\nu_{asym}(CO_2) - \nu_{sym}(CO_2)]$. Στα σύμπλοκα βρέθηκε ότι η τιμή $\Delta\nu(CO_2)$ βρίσκεται στην περιοχή $187-227\text{ cm}^{-1}$, γεγονός που υποδεικνύει

μονοδραστικό τρόπο συναρμογής της καρβοξυλικής ομάδας της κινολόνης. Επιπρόσθετα, η δόνηση τάσης $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{υορ}}$ στα σύμπλοκα εντοπίζεται στην περιοχή $1614\text{-}1634\text{ cm}^{-1}$ και είναι μετατοπισμένη ως προς την αντίστοιχη κινολόνη, υποδεικνύοντας έτσι τη συναρμογή και μέσω του πυριδονικού οξυγόνου. Συμπερασματικά προκύπτει ότι η αποπρωτονιωμένη κινολόνη συναρμόζεται διδραστικά στο μέταλλο μέσω του πυριδονικού οξυγόνου και ενός καρβοξυλικού οξυγόνου.

Επιπλέον, στα σύμπλοκα **2-7** με N-δότες προσδιορίστηκαν οι ταινίες που αποδίδονται σε δονήσεις παραμόρφωσης εκτός επιπέδου του δεσμού C-H, $\rho(\text{C-H})$, των N-δοτών αποδεικνύοντας έτσι την ύπαρξή τους στα σύμπλοκα.

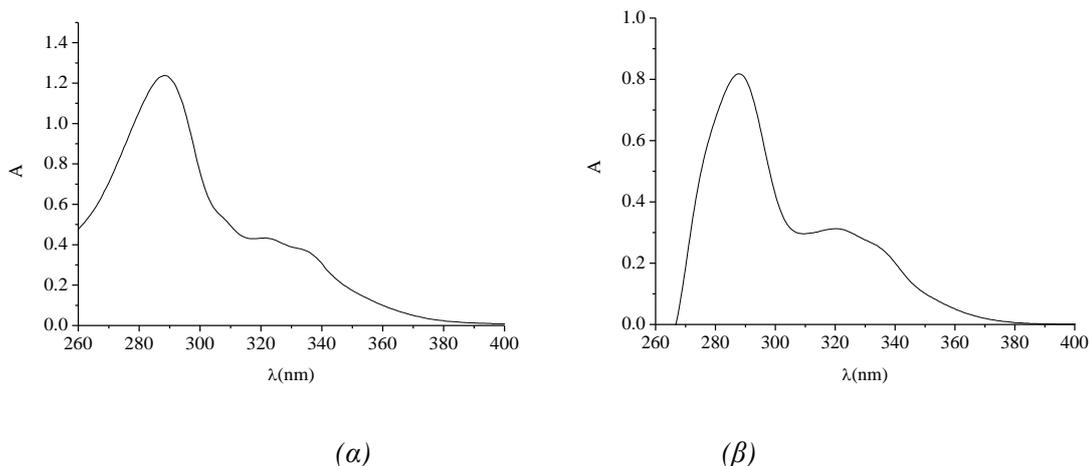
9.2) ΜΕΛΕΤΗ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ (UV-vis)

Οι απορροφήσεις ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή του υπεριώδους (UltraViolet, UV) και ορατού (Visible, vis) τμήματος του φάσματος είναι αποτέλεσμα των ενεργειακών μεταβολών στην ηλεκτρονική δομή των μορίων. Σε αυτό το είδος φασματοσκοπίας, τα εξωτερικά ηλεκτρόνια είναι εκείνα, που με την ανύψωση ή πτώση (μετάπτωση) από τη μία τροχιά σε μία άλλη, προκαλούν απορρόφηση ενέργειας σε διακεκριμένες, κβαντωμένες, ποσότητες. Οι αλλαγές της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας του μορίου μιας χημικής ένωσης προκαλούν μεταβολές της διπολικής ροπής του, και αυτή η μεταβολή είναι υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση του χημικού μορίου και της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Η περιοχή υπεριώδους είναι μεταξύ 10 και 380 nm και η περιοχή ορατού μεταξύ 380 και 780 nm . Στις περιοχές αυτές προκαλούνται διεγέρσεις των ηλεκτρονίων των εξωτερικών τροχιακών, χωρίς να δημιουργούνται αλλαγές στις εσωτερικές στιβάδες. Υπάρχουν 3 είδη μεταπτώσεων:

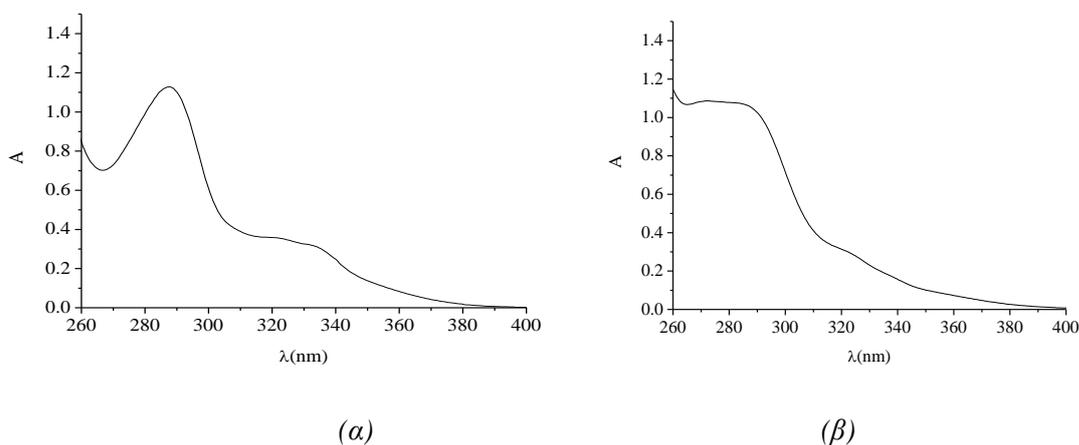
- Οι μεταπτώσεις d-d που γίνονται στις ενώσεις συναρμογής των μεταβατικών στοιχείων και βρίσκονται συνήθως στην ορατή περιοχή του φάσματος.
- Οι μεταπτώσεις μεταφοράς φορτίου (CT). Σ' αυτή την περίπτωση το ηλεκτρονιακό νέφος ενός ατόμου μεταφέρεται σε κενό τροχιακό ενός άλλου ατόμου. Διακρίνεται σε $\text{M}\rightarrow\text{L}$ και $\text{L}\rightarrow\text{M}$.
- Οι intraligand (IL) μεταπτώσεις, δηλαδή μεταξύ ατόμων του ίδιου ligand, που εμφανίζεται κυρίως στην υπεριώδη περιοχή.

Για να διευκρινιστεί η δομή των συμπλόκων σε διάλυμα αλλά και σε στερεή κατάσταση λήφθηκαν τα φάσματα υπεριώδους-ορατού των συμπλόκων σε διάλυμα DMSO. Παρακάτω παρουσιάζονται τα φάσματα που λήφθηκαν σε διάλυμα DMSO στα σχήματα 79-83.

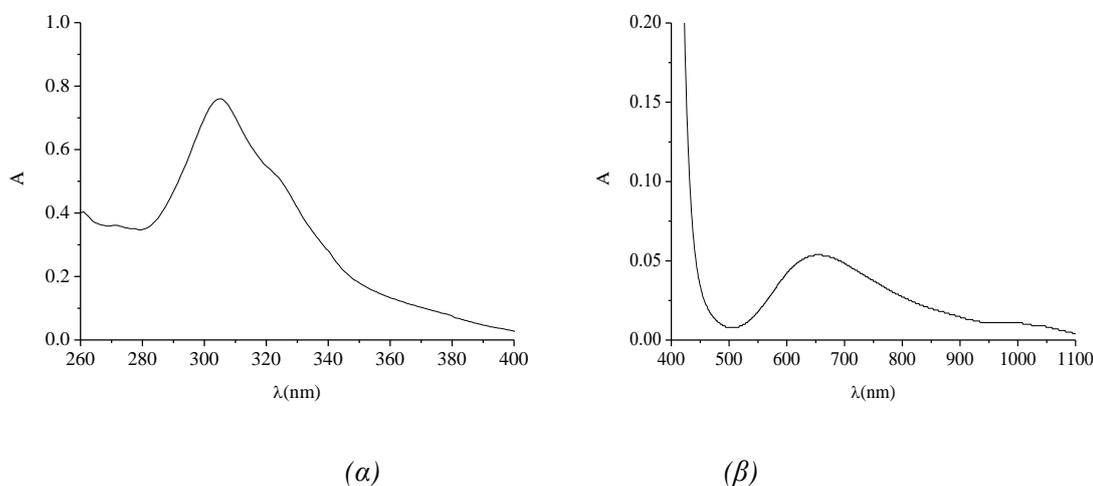
Στον πίνακα 19 δίνεται το μήκος κύματος των ταινιών καθώς και οι συντελεστές μοριακής απόσβεσης (ϵ) όπως υπολογίζονται με την επίλυση της εξίσωσης των Beer-Lambert.



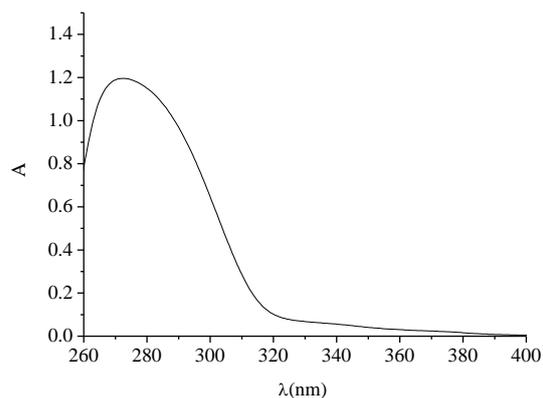
Σχήμα 79: Φάσμα UV του συμπλόκου (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$ σε διάλυμα DMSO $10^{-5} M$.



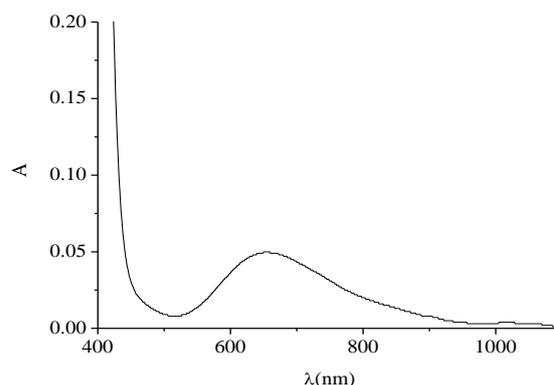
Σχήμα 80: Φάσμα UV του συμπλόκου (α) $[Zn(lome)_2(bipy)]$ ($10^{-5} M$) (β) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$ ($5 \times 10^{-6} M$) σε διάλυμα DMSO.



Σχήμα 81: Φάσμα UV του συμπλόκου $[Cu(olfo)(bipyam)Cl]$ σε διάλυμα DMSO (α) $2 \times 10^{-5} M$ και (β) $10^{-3} M$.

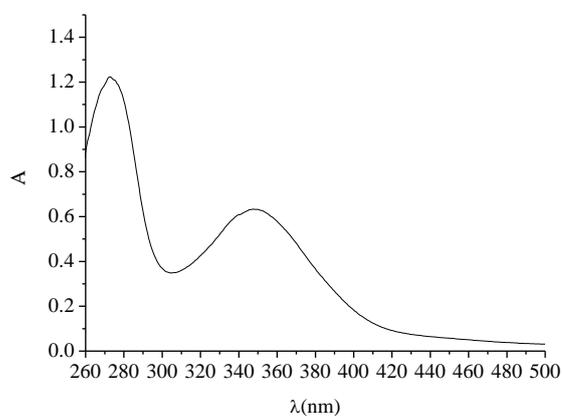


(α)

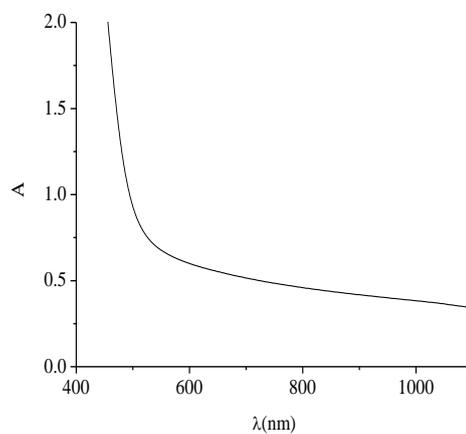


(β)

Σχήμα 82: Φάσμα UV του συμπλόκου $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ σε διάλυμα DMSO (α) $5 \times 10^{-6} M$ και (β) $10^{-3} M$.



(α)



(β)

Σχήμα 83: Φάσμα UV του συμπλόκου $[Fe(eno)_3]$ σε διάλυμα DMSO (α) $10^{-5} M$ και (β) $10^{-3} M$.

Πίνακας 19: Μήκος κύματος (λ , nm) των μεγίστων των ταινιών των ηλεκτρονικών φασμάτων σε διάλυμα DMSO των συμπλόκων που μελετούνται. Σε παρένθεση δίνονται οι αντίστοιχοι συντελεστές μοριακής απόσβεσης (ϵ , $M^{-1} \cdot cm^{-1}$).

| Σύμπλοκο | Ταινία II | Ταινία I | Ταινία III | Ταινία IV |
|----------------------------|-------------|------------|------------|-----------|
| $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$ (1) | 288 (12700) | 321 (4300) | - | 420 (340) |
| $[Zn(lome)_2(phen)]$ (2) | 291 (7900) | 322 (3400) | - | - |
| $[Zn(lome)_2(bipy)]$ (3) | 288 (12800) | 317 (3600) | - | - |
| $[Zn(lome)_2(bipyam)]$ (4) | 284 (14600) | 320 (6300) | - | 420 (390) |
| $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$ (5) | 281 (15500) | 323 (1600) | 660 (50) | 416 (440) |
| $[Cu(ofl)(bipyam)Cl]$ (6) | 305 (19000) | 323 (2700) | 660 (55) | 425 (370) |
| $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ (7) | 275 (21200) | 320 (2200) | 660 (50) | 429(240) |
| $[Fe(eno)_3]$ (8) | 273 (12300) | 347 (6300) | 740 (490) | - |

Όπως φαίνεται από τον (πίνακα 20), τα σύμπλοκα εμφανίζουν παρόμοιες ταινίες σε διάλυμα DMSO, μπορούμε, λοιπόν, να συμπεράνουμε ότι διατηρούν τη δομή τους σε διάλυμα.

Σχετικά με τις ηλεκτρονικές μεταπτώσεις, στην υπεριώδη περιοχή παρατηρούνται δύο ταινίες απορρόφησης (ταινίες I και II) στα 273-305 nm ($\epsilon = 7900-21200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) και στα 317-347 nm ($\epsilon = 1600-6300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) οι οποίες αποδίδονται σε IL μεταπτώσεις που παρατηρούνται σε σύμπλοκα κινολονών, όπως αυτές που μελετήθηκαν.

Επίσης, στα σύμπλοκα **5-7** παρατηρείται στην περιοχή του ορατού μια ταινία (ταινία III) στα 660 nm ($\epsilon = 50-55 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) η οποία αποδίδεται στις d-d μεταπτώσεις. Επίσης στα περισσότερα σύμπλοκα παρατηρείται μια ακόμη ταινία (ταινία IV), στα 416-429 nm ($\epsilon = 240-440 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) η οποία οφείλεται σε CT μεταπτώσεις.

9.3) ΜΑΓΝΗΤΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Οι μαγνητικές μετρήσεις των συμπλόκων ενώσεων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο Faraday. Οι τιμές των διαμαγνητικών διορθώσεων (χ_d) καθώς και οι τιμές της δρώσας μαγνητικής ροπής μ_{eff} παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα 20.

Πίνακας 20 : Μαγνητικές μετρήσεις των συμπλόκων ενώσεων **5-8**.

| ΣΥΜΠΛΟΚΟ | Mr | χ_d ($\times 10^{-6}$) | μ_{eff} (BM) |
|----------------------------------|---------|-------------------------------|-------------------------|
| [Cu(olfo)(bipy)Cl] (5) | 615,503 | 301,00 | 1,99 |
| [Cu(olf)(bipyam)Cl] (6) | 630,516 | 256,84 | 1,76 |
| [Cu(olfo)(phen)Cl] (7) | 639,526 | 308,11 | 1,81 |

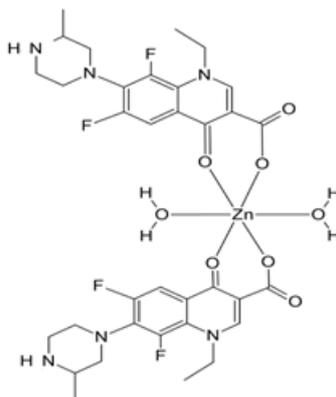
Οι τιμές της δρώσας μαγνητικής ροπής (μ_{eff}) των συμπλόκων **5-7** βρίσκονται στην περιοχή 1,76-1,99 BM, και είναι υψηλότερες από την θεωρητικά αναμενόμενη τιμή ($\mu_{\text{eff}} = 1,73$ BM) για μονοπυρηνικά σύμπλοκα του Cu(II) με d^9 ηλεκτρονική διαμόρφωση. Οι τιμές της μ_{eff} που υπολογίστηκαν είναι χαρακτηριστικές για μονοπυρηνικά σύμπλοκα του Cu(II).

9.4) ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΕΣ ΔΟΜΕΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ 1-8:

Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα που προέκυψαν από τα φάσματα IR, τα φάσματα UV και τις μαγνητικές μετρήσεις σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προτείνεται η δομή των συμπλόκων ενώσεων **1 έως 8** για τις οποίες δεν κατέστη δυνατό να ληφθούν κρύσταλλοι κατάλληλοι για την επίλυση της δομής με κρυσταλλογραφία ακτίνων-X.

➤ $[Zn(lome)_2(H_2O)_2](1)$

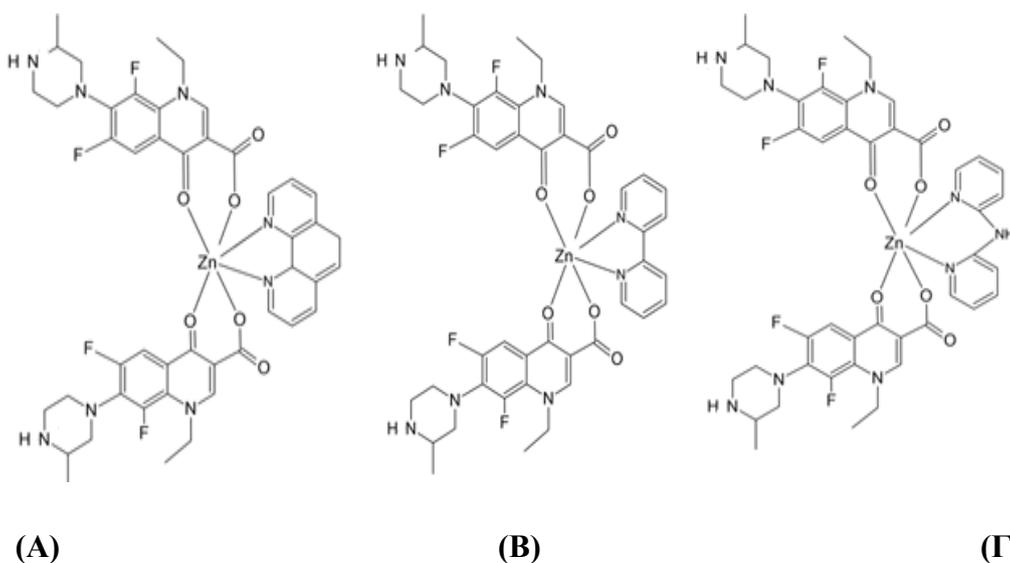
Πιο συγκεκριμένα για την ένωση **1**, προτείνεται η δομή που φαίνεται στο παρακάτω σχήμα σύμφωνα με την οποία το μεταλλικό κέντρο αποτελείται από δύο ligands αποπροτωνιωμένης λομεφλοξασίνης (lomefloxacin), τα οποία συναρμόζονται με τον ψευδάργυρο μέσω ενός καρβοξυλικού και ενός πυριδονικού οξυγόνου και η σφαίρα συναρμογής συμπληρώνεται με δύο ligands νερού.



Σχήμα 84: Προτεινόμενη δομή της ένωσης **1**.

➤ $[Zn(lome)_2(phen)](2)$, $[Zn(lome)_2(bipy)](3)$, $[Zn(lome)_2(bipyam)](4)$

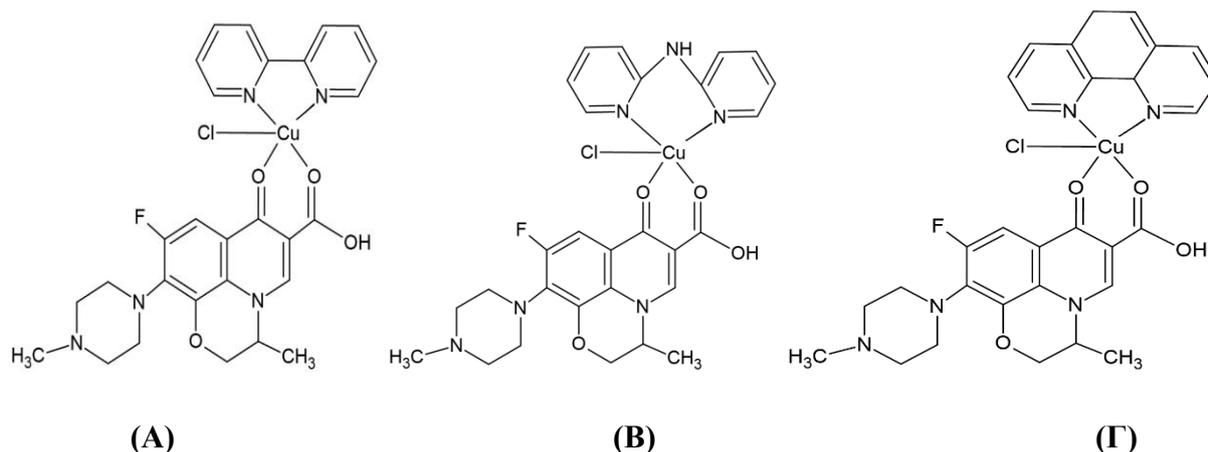
Ο τρόπος συναρμογής της λομεφλοξασίνης (lomefloxacin) θεωρείται παρόμοιος στις ενώσεις **2-4** με τα δύο ligands να συναρμόζονται διδραστικά μέσω ενός καρβοξυλικού και του πυριδονικού οξυγόνου, ενώ ο αζωτοδότης (N-δότης) συναρμόζεται διδραστικά με τον ψευδάργυρο μέσω δύο ατόμων αζώτου.



Σχήμα 85: Προτεινόμενη δομή της ένωσης (α) **2**, (β) **3** και (γ) **4**.

➤ $[Cu(oflo)(bipy)Cl](5)$, $[Cu(ofl)(bipyam)Cl](6)$, $[Cu(oflo)(phen)Cl](7)$

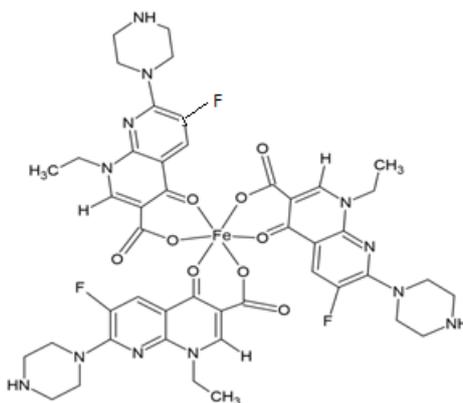
Οι δομές που προτείνονται για τις ενώσεις **5-7**, ακολουθούν παρόμοιο τρόπο όπως έχει αναφερθεί και στη βιβλιογραφία και περιλαμβάνουν ένα ligand αποπροτωνιομένης οφλοξασίνης (ofloxacin), η οποία συναρμόζεται με διδραστικό τρόπο μέσω ενός καρβοξυλικού και του πυριδονικού οξυγόνου. Επιπλέον σε κάθε περίπτωση συναρμόζεται και ένας αζωτοδότης (N-δότη) μέσω δύο ατόμων αζώτου με το χαλκό με την σφαίρα συναρμογής να συμπληρώνεται από ένα ligand χλωρίου.



Σχήμα 86: Προτεινόμενη δομή της ένωσης (α) **5**, (β) **6** και (γ) **7**.

➤ **[Fe(eno)₃] (8)**

Η προτεινόμενη δομή της ένωσης **8** περιλαμβάνει τρία ligands αποπροτωνιομένης ενοξασίνης (enoxacin), που ενώνονται με το σίδηρο διδραστικά και μέσω ενός καρβοξυλικού και του πυριδονικού οξυγόνου.



Σχήμα 87: Προτεινόμενη δομή της ένωσης **8**.

10) ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΑΛΒΟΥΜΙΝΕΣ ΟΡΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Η αλβουμίνη είναι μια πρωτεΐνη του αίματος και η πιο σημαντική και άφθονη στο κυκλοφορικό σύστημα του οργανισμού. Συντίθεται στο συκώτι και εξέρχεται ως μία μη-γλυκοσυλιωμένη πρωτεΐνη. Σχετίζεται με τη μεταφορά μη-εστεροποιημένων λιπαρών οξέων καθώς και διαφόρων μεταβολιτών, φαρμάκων και οργανικών ουσιών σε όλο το σώμα. Η μελέτη της αλληλεπίδρασής της με τα φάρμακα είναι πολύ σημαντική. Η δέσμευση των φαρμάκων στην αλβουμίνη μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια ή σε αύξηση των βιολογικών ιδιοτήτων ή/και να βοηθήσει σε μεταφορά του πρωταρχικού φαρμάκου. Στην παρούσα πτυχιακή, η αλληλεπίδραση αυτή έχει μελετηθεί σε δύο είδη αλβουμίνης, την ανθρώπινη αλβουμίνη του ορού, γνωστή και ως HSA (Human Serum Albumin), και τη βοοειδή αλβουμίνη του ορού, γνωστή και ως BSA (Bovine Serum Albumin). Η δομική τους διαφορά έγκειται στο γεγονός ότι η BSA έχει δύο τρυπτοφάνες στις θέσεις 134 και 212 (Trp-134 και Trp-212), ενώ η HSA έχει μία τρυπτοφάνη στη θέση 214 (Trp-214). Οι BSA και HSA μπορούν να δεσμεύσουν αντιστρεπτά ένα μεγάλο αριθμό ενδογενών και εξωγενών ενώσεων. Τα διαλύματα των δύο αλβουμινών παρουσιάζουν μία έντονη ταινία εκπομπής φθορισμού, με λ_{\max} στα 343 nm, όταν διεγείρονται στα 295 nm. Οι αλλαγές στα φάσματα εκπομπής των BSA και HSA που παρατηρούνται κατά την προσθήκη ενώσεων που δεσμεύονται σ' αυτές οφείλονται σε αλλαγή της πρωτεϊνικής διαμόρφωσης, σε ένωση των υπομονάδων, σε σύνδεση των υποστρωμάτων ή/και σε μετουσίωση. Συνεπώς, η ελάττωση της έντασης φθορισμού της τρυπτοφάνης της BSA και της HSA στα 343 nm είναι αποτέλεσμα σύνδεσης της αλβουμίνης με τις ενώσεις που προστίθενται σε αυξανόμενη συγκέντρωση. Τα φάσματα φθορισμού των αλβουμινών μετρήθηκαν από τα 300 ως τα 500 nm με $\lambda_{\text{διεγ}} = 295$ nm.

Τα διαγράμματα Stern-Volmer και Scatchard χρησιμοποιούνται με σκοπό να μελετηθεί η αλληλεπίδραση των ενώσεων με τις αλβουμίνες. Η εξίσωση Stern-Volmer είναι η ακόλουθη:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q t_0 [Q] = 1 + K_{SV} [Q]$$

όπου I_0 = η αρχική ένταση φθορισμού της αλβουμίνης, I = η ένταση φθορισμού της αλβουμίνης μετά την προσθήκη της ένωσης, k_q = η σταθερά απόσβεσης, K_{SV} = η σταθερά Stern-Volmer, t_0 = ο μέσος χρόνος φθορισμού των αλβουμινών και $[Q]$ = η συγκέντρωση της ένωσης. Δεδομένου ότι για τις αλβουμίνες $t_0 = 10^{-8}$ s, η σταθερά Stern-Volmer μπορεί να υπολογιστεί από την κλίση του διαγράμματος I_0 / I προς $[Q]$, και στη συνέχεια μπορεί να υπολογιστεί η σταθερά απόσβεσης k_q , ($M^{-1} s^{-1}$).

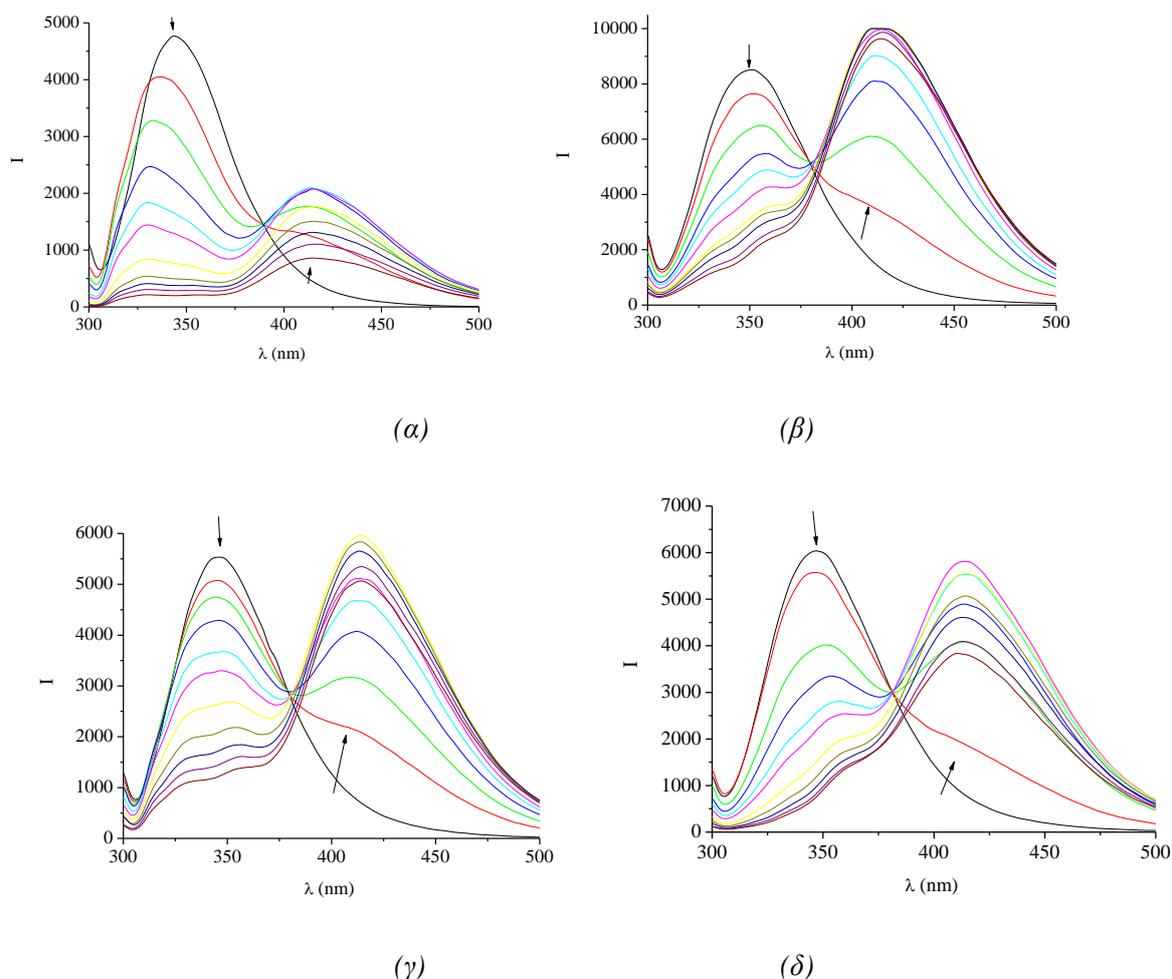
Η εξίσωση Scatchard είναι :

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

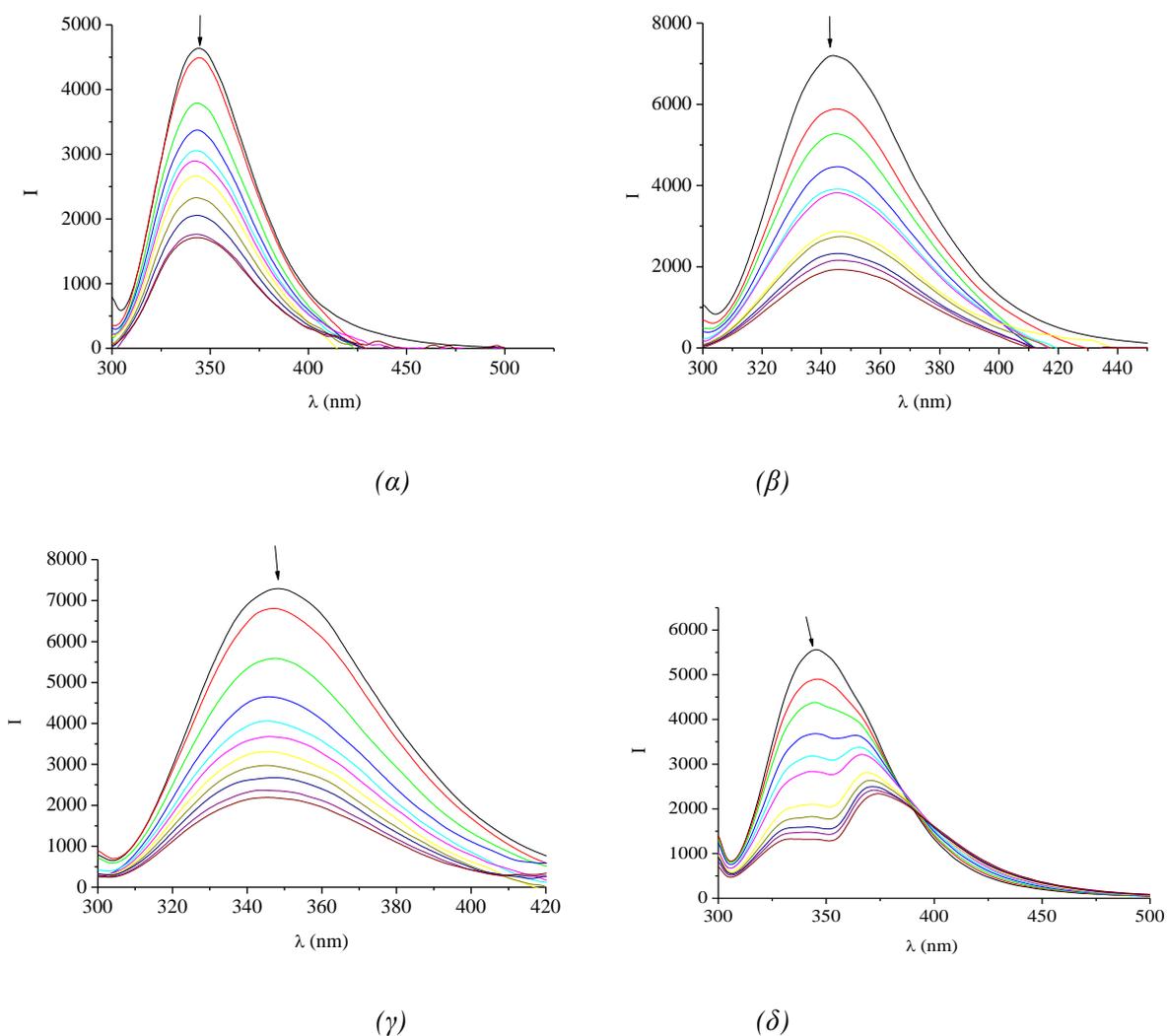
όπου K = είναι η σταθερά σύνδεσης της αλβουμίνης με την ένωση, η οποία μπορεί να υπολογιστεί από την κλίση της ευθείας στο διάγραμμα $(\Delta I/I_0)/[Q]$ προς $(\Delta I/I_0)$ και n = ο αριθμός θέσεων σύνδεσης κάθε αλβουμίνης που υπολογίζεται από την τεταγμένη επί την αρχή προς την κλίση στο ίδιο διάγραμμα.

10.1) ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΤΗ BSA

Κατά την προσθήκη των διαλυμάτων των συμπλόκων ενώσεων **1-8** σε διάλυμα BSA, εμφανίζεται ελάττωση της έντασης εκπομπής στα $\lambda_{\max} = 342$ nm στα φάσματα φθορισμού της BSA. Η σημαντική ελάττωση του φθορισμού της BSA είναι ένδειξη δέσμευσης των ενώσεων σ' αυτή.

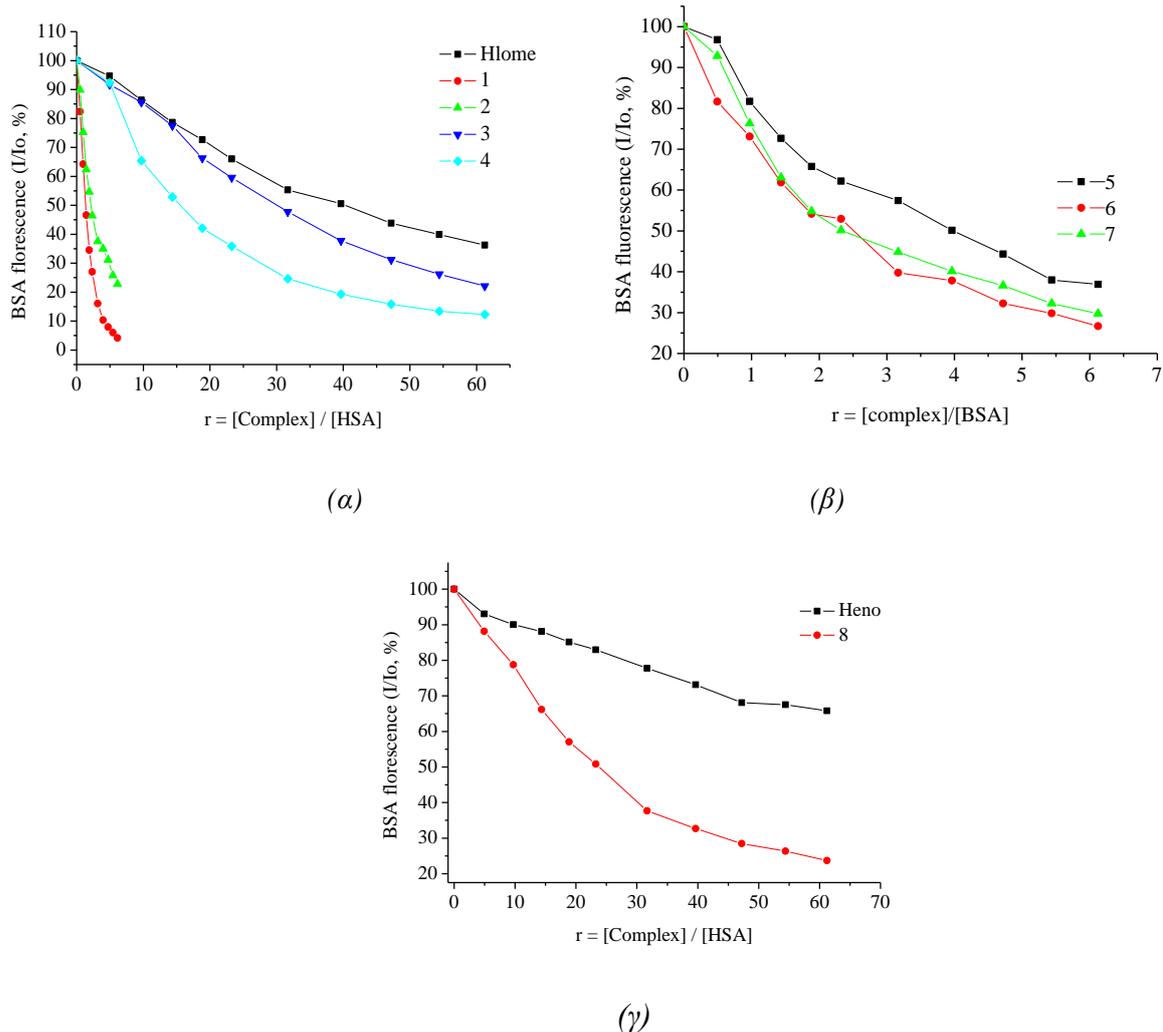


Σχήμα 88: Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{διεγ}} = 295$ nm) με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (α) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (β) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{phen})]$, (γ) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{bipy})]$ και (δ) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{bipyam})]$. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του συμπλόκου.



Σχήμα 89: Φάσματα εκπομπής φθορισμού της BSA ($\lambda_{\text{διεγ}} = 295\text{nm}$) με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (α) $[\text{Cu}(\text{oflo})(\text{bipy})\text{Cl}]$, (β) $[\text{Cu}(\text{oflo})(\text{bipyam})\text{Cl}]$, (γ) $[\text{Cu}(\text{oflo})(\text{phen})\text{Cl}]$ και (δ) $[\text{Fe}(\text{eno})_3]$. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του συμπλόκου.

Στο σχήμα 90 παρατηρούμε τη μείωση του φθορισμού που προκύπτει εξαιτίας της παρουσίας των συμπλόκων ενώσεων. Στα σύμπλοκα του ψευδαργύρου με τη λομεφλοξασίνη φαίνεται το σύμπλοκο **1** να επάγει το μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης. Στην περίπτωση των ενώσεων του χαλκού με την ofloxacin παρατηρούμε πως το σύμπλοκο **6** είναι εκείνο που επιφέρει το μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης. Τέλος, το σύμπλοκο **8** προκαλεί μεγαλύτερη ελάτωση της έντασης φθορισμού σε σχέση με την ελεύθερη ενοξασίνη.



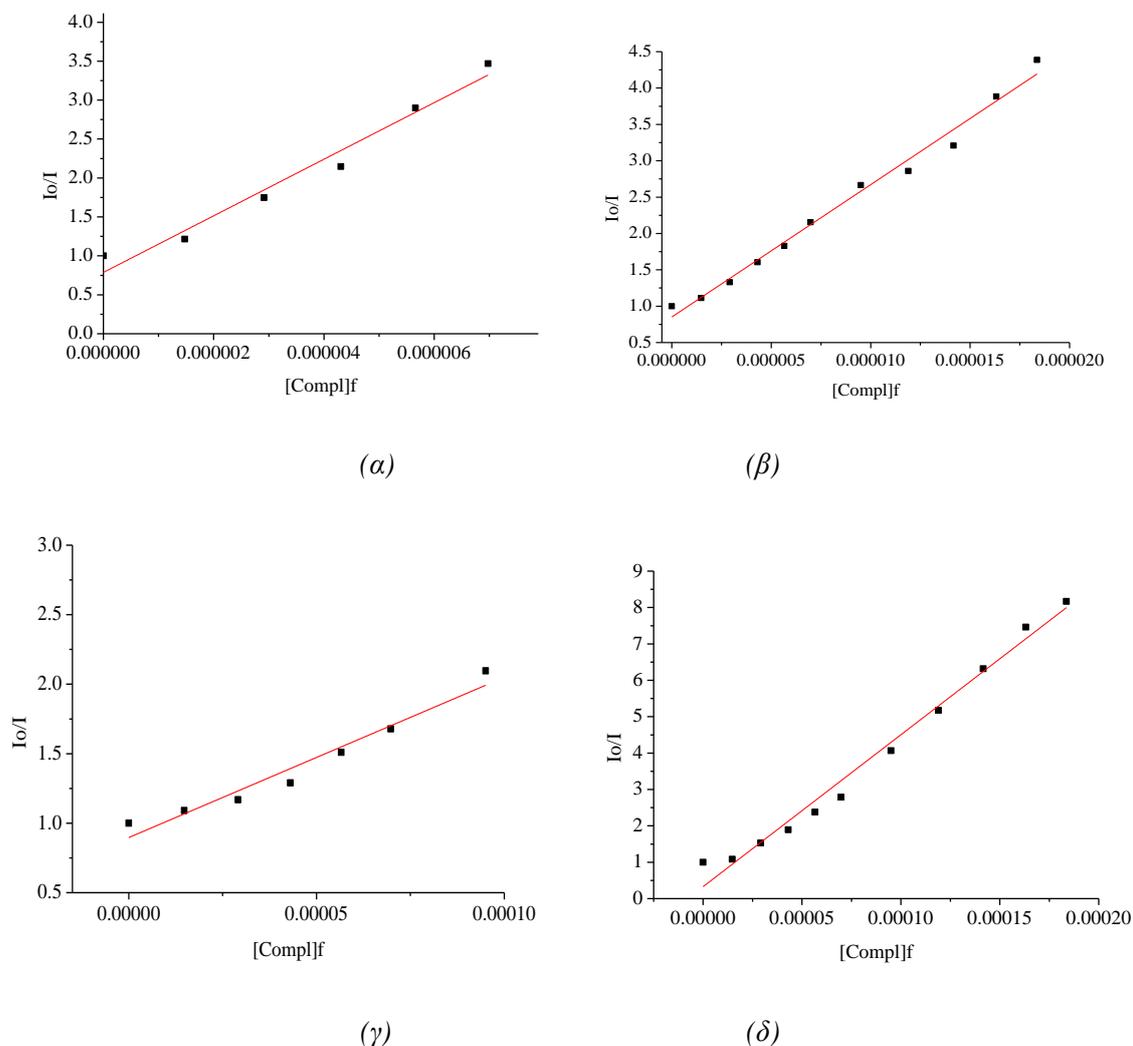
Σχήμα 90: Διάγραμμα του % σχετικού φθορισμού της BSA στα $\lambda_{max} = 342 \text{ nm}$ σε συνάρτηση με το λόγο $r = [\text{σύμπλοκο}]/[\text{BSA}]$ για (α) την κινολόνη lomefloxacin (Hlome) και τα σύμπλοκα 1-4, (β) τα σύμπλοκα 5-7, και (γ) την κινολόνη enoxacin (Heno) και το σύμπλοκο 8.

Πίνακας 21: Σταθερά σύνδεσης των συμπλόκων στη BSA και οι παράμετροι (K_{sv} , k_q , K , n).

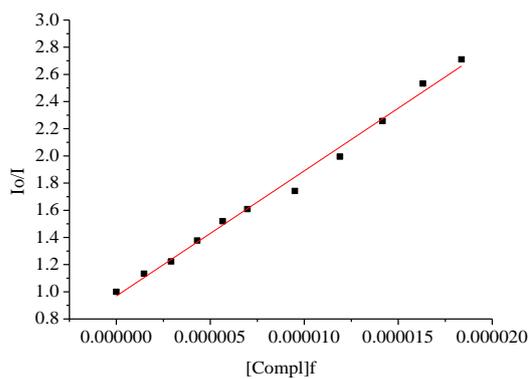
| Σύμπλοκο | $K_{sv} (\text{M}^{-1})$ | $k_q (\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})$ | $K (\text{M}^{-1})$ | n |
|--|-------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|------|
| Lomefloxacin | $9.8(\pm 0.3) \times 10^3$ | $9.8(\pm 0.3) \times 10^{11}$ | $3.38(\pm 0.25) \times 10^3$ | 1.7 |
| $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ | $3.63(\pm 0.3) \times 10^5$ | $3.63(\pm 0.3) \times 10^{13}$ | $2.05(\pm 0.18) \times 10^5$ | 1.24 |
| $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{phen})]$ | $1.82(\pm 0.06) \times 10^5$ | $1.82(\pm 0.06) \times 10^{13}$ | $1.22(\pm 0.08) \times 10^5$ | 1.1 |
| $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{bipy})]$ | $1.15(\pm 0.1) \times 10^4$ | $1.15(\pm 0.1) \times 10^{12}$ | $2.99(\pm 0.28) \times 10^3$ | 2.35 |
| $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{bipam})]$ | $4.17(\pm 0.17) \times 10^4$ | $4.17(\pm 0.17) \times 10^{12}$ | $9.59(\pm 0.93) \times 10^3$ | 1.6 |
| Ofloxacin | $1.07(\pm 0.05) \times 10^5$ | $1.07(\pm 0.05) \times 10^{13}$ | 5.88×10^4 | 1.28 |
| $[\text{Cu}(\text{oflo})(\text{bipy})\text{Cl}]$ | $9.21(\pm 0.27) \times 10^4$ | $9.21(\pm 0.27) \times 10^{12}$ | $8.38(\pm 0.65) \times 10^4$ | 1.03 |
| $[\text{Cu}(\text{oflo})(\text{bipyam})\text{Cl}]$ | $1.48(\pm 0.027) \times 10^5$ | $1.48(\pm 0.027) \times 10^{13}$ | $1.47(\pm 0.05) \times 10^5$ | 1 |
| $[\text{Cu}(\text{oflo})(\text{phen})\text{Cl}]$ | $1.29(\pm 0.036) \times 10^5$ | $1.29(\pm 0.036) \times 10^{13}$ | $1.48(\pm 0.50) \times 10^5$ | 0.95 |
| Enoxacin | $2.8(\pm 0.07) \times 10^3$ | $2.8(\pm 0.07) \times 10^{11}$ | $3.63(\pm 0.3) \times 10^3$ | 0.87 |
| $[\text{Fe}(\text{eno})_3]$ | $1.85(\pm 0.05) \times 10^4$ | $1.85(\pm 0.05) \times 10^{12}$ | $7.54(\pm 0.69) \times 10^3$ | 1.4 |

Όπως φαίνεται στον πίνακα 21, τη μεγαλύτερη τιμή σταθεράς απόσβεσης (k_q) άρα και τη μεγαλύτερη ικανότητα απόσβεσης φθορισμού εμφανίζει το σύμπλοκο $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$ (**1**) με $k_q = 3.63(\pm 0.3) \times 10^{13} M^{-1}s^{-1}$ και η μεγαλύτερη σταθερά σύνδεσης με την BSA επιδεικνύεται πάλι από το σύμπλοκο **1** με $K = 2.05(\pm 0.18) \times 10^5 M^{-1}$.

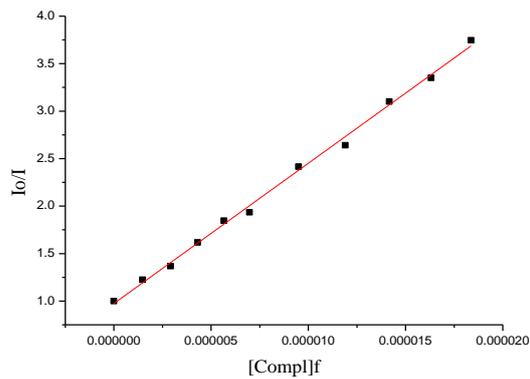
Στην συνέχεια ακολουθούν τα διαγράμματα Stern-Volmer και Scatchard για τα σύμπλοκα



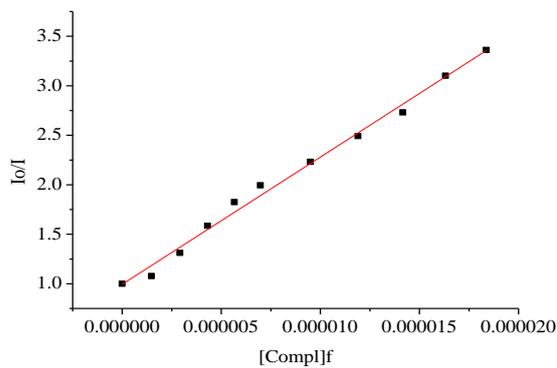
Σχήμα 91: Διαγράμματα Stern-Volmer για το σύμπλοκο (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$, (δ) $[Zn(lome)_2(bipam)]$.



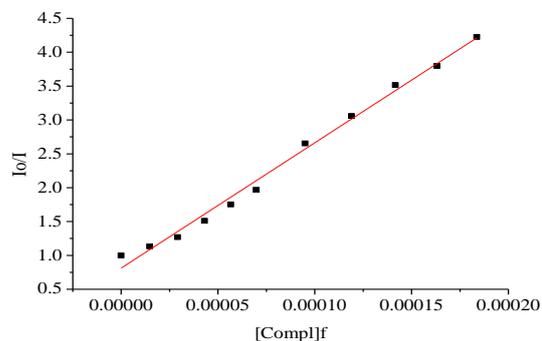
(α)



(β)

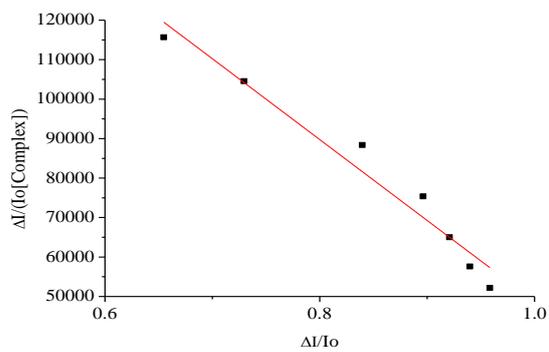


(γ)

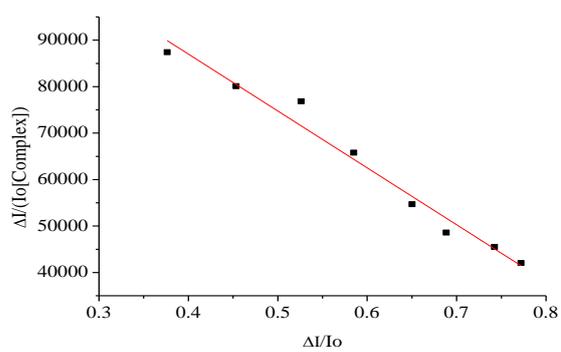


(δ)

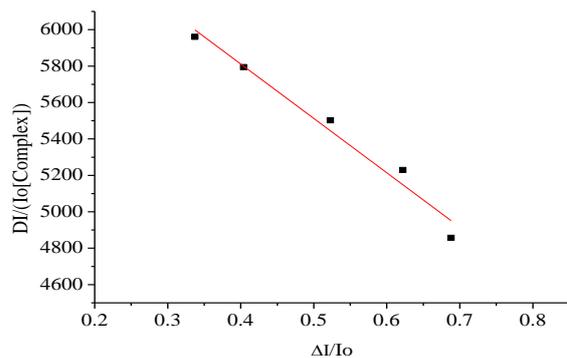
Σχήμα 92: Διαγράμματα Stern-Volmer για το σύμπλοκο (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ και (δ) $[Fe(eno)_3]$.



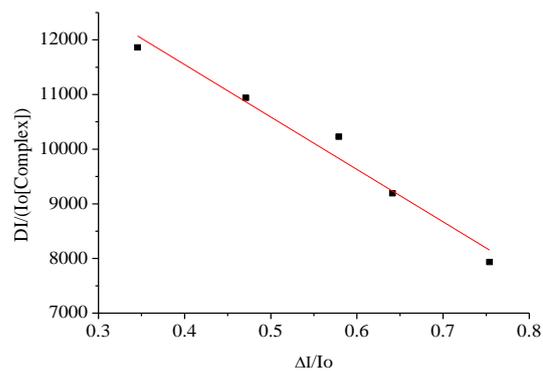
(α)



(β)

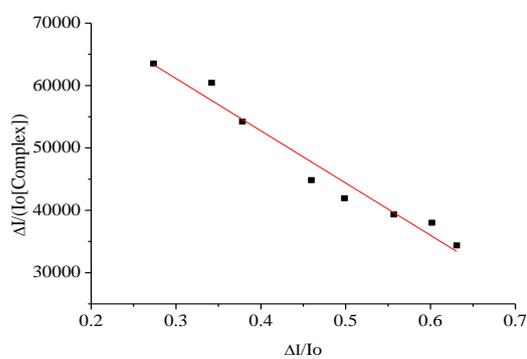


(γ)

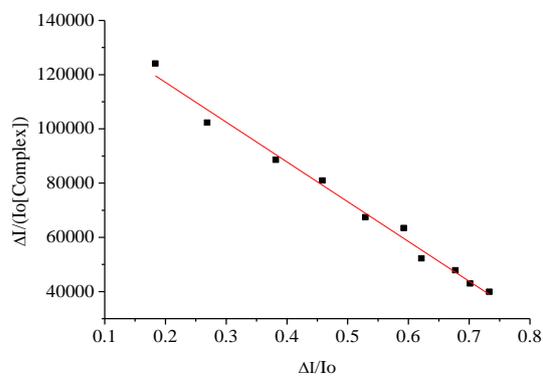


(δ)

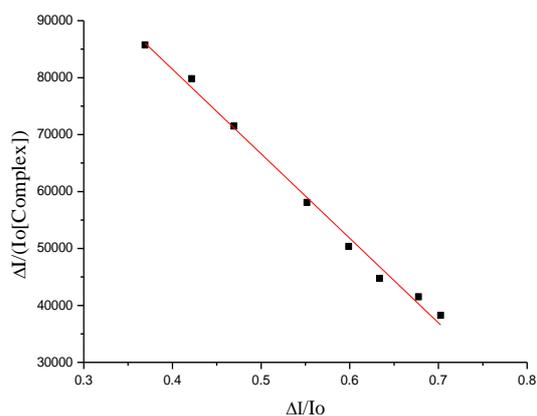
Σχήμα 93 : Διαγράμματα Scatchard για το σύμπλοκο (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$, (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$.



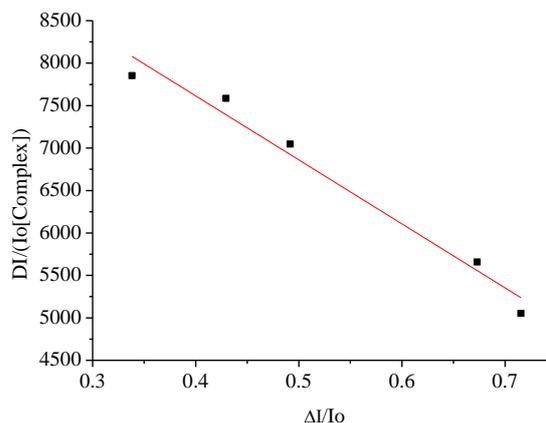
(α)



(β)



(γ)



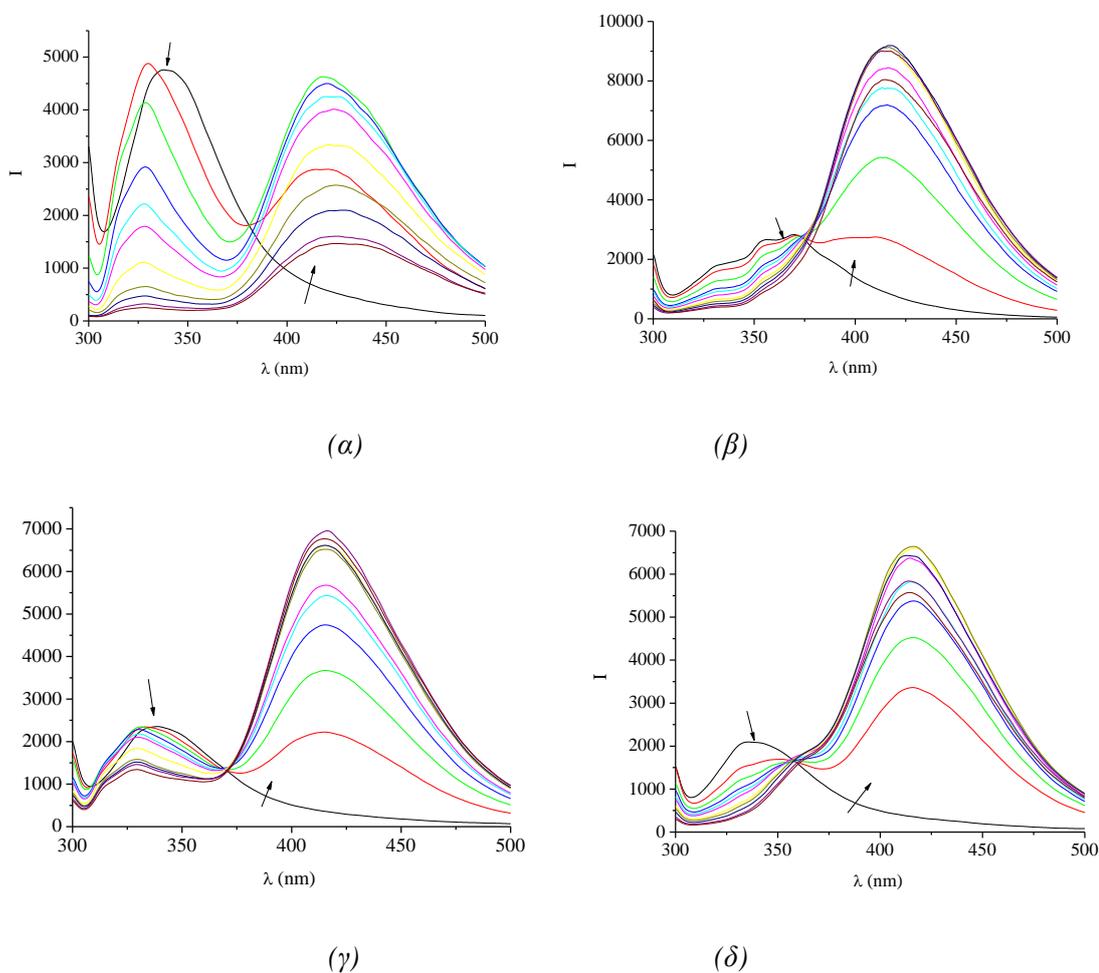
(δ)

Σχήμα 94: Διαγράμματα Scatchard για το σύμπλοκο (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$, (δ) $[Fe(eno)_3]$.

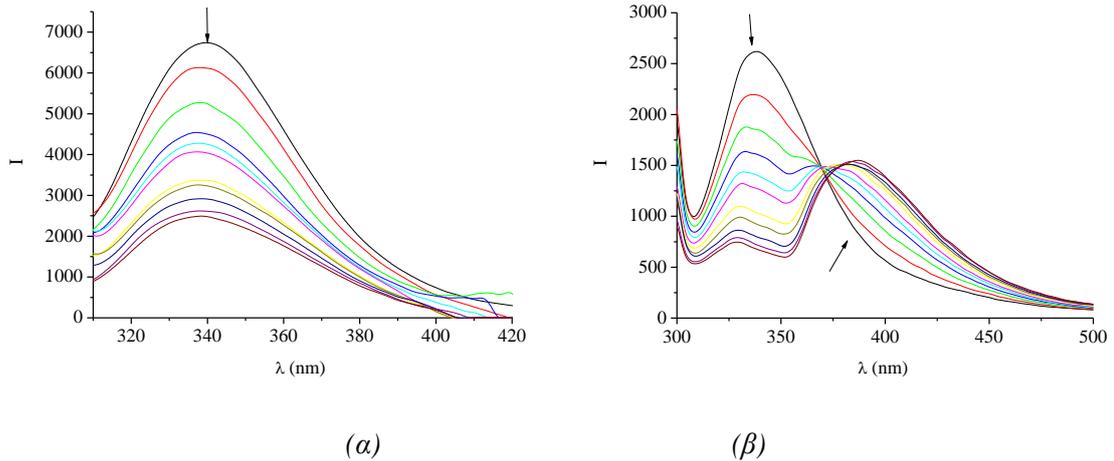
10.2) ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΗSA

Παρόμοια μελέτη πραγματοποιήθηκε και κατά την προσθήκη των διαλυμάτων των συμπλόκων ενώσεων σε διάλυμα ΗSA. Εμφανίζεται ομοίως ελάττωση της έντασης εκπομπής στα $\lambda_{\max} = 343$ nm στα φάσματα φθορισμού της ΗSA.

Στην συνέχεια ακολουθούν τα φάσματα που προέκυψαν για κάθε ένωση:

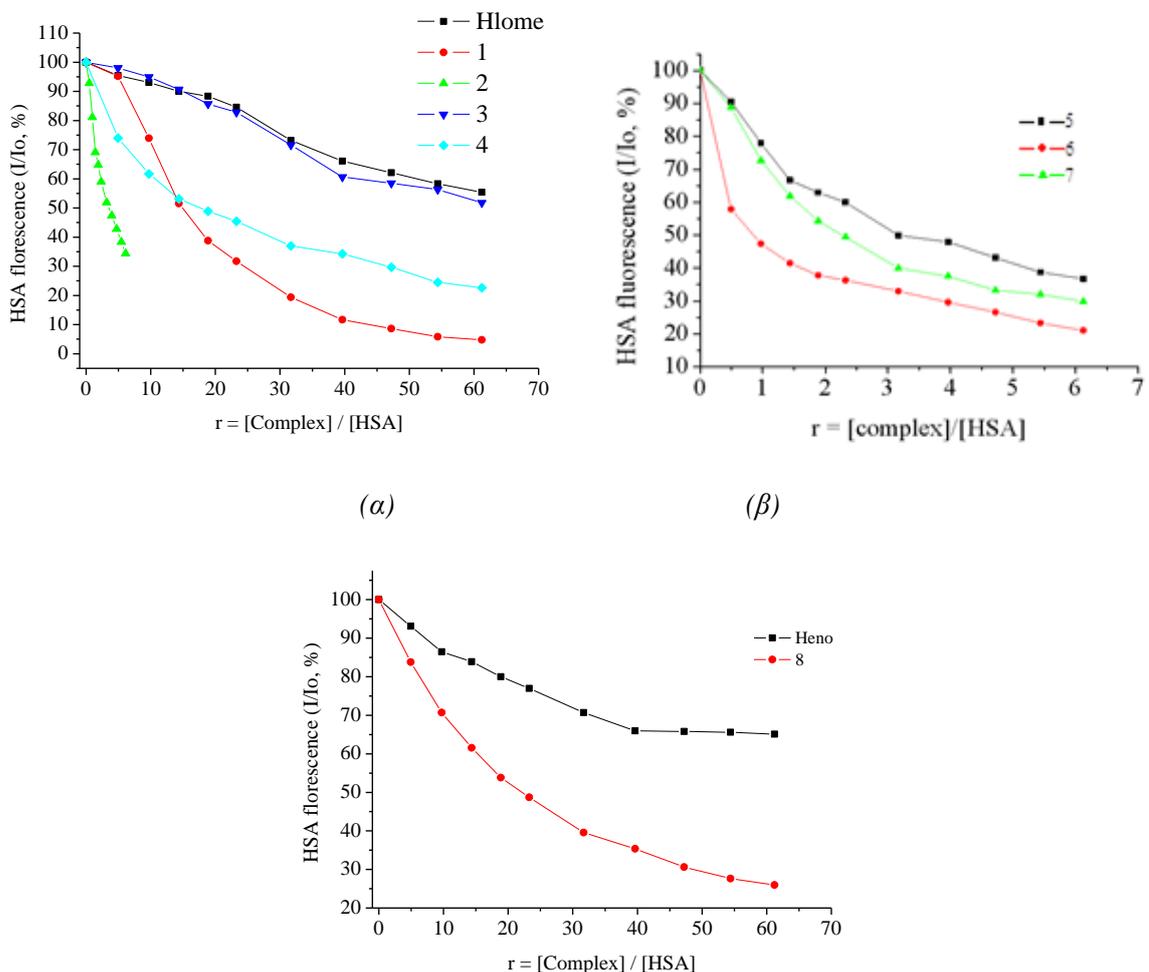


Σχήμα 95: Φάσμα εκπομπής φθορισμού της ΗSA με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$, (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη της ένωσης.



Σχήμα 96: Φάσμα εκπομπής φθορισμού της HSA με την προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (α) $[Cu(II)(bipy)Cl]$, (β) $[Fe(III)(eno)_3]$. Τα βέλη υποδηλώνουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη της ένωσης.

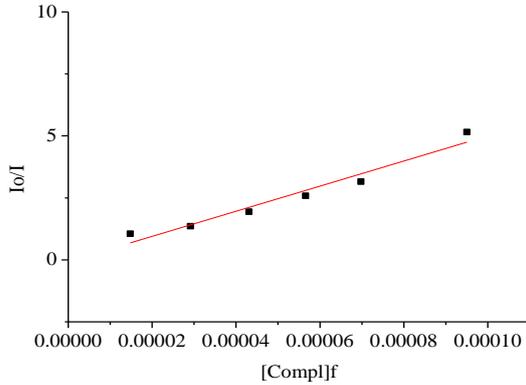
Στο σχήμα 97 φαίνεται η σύγκριση στην ελάττωση της έντασης φθορισμού σε κάθε περίπτωση. Φαίνεται ότι τα σύμπλοκα, **1**, **6** και **8** επάγουν το μεγαλύτερο ποσοστό ελάττωσης φθορισμού.



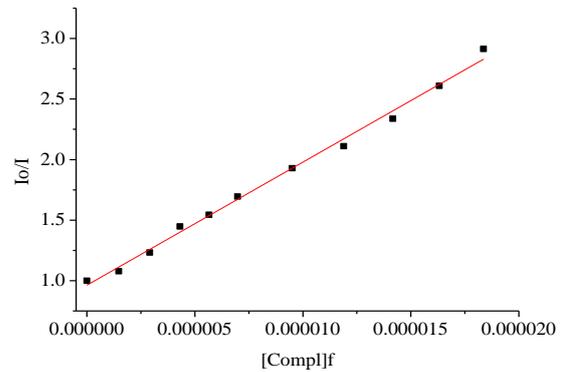
(γ)

Σχήμα 97: Διάγραμμα του % σχετικού φθορισμού της HSA στα $\lambda_{max}=351$ nm σε συνάρτηση με το λόγο $r=[\text{σύμπλοκο}]/[\text{HSA}]$ για (α) το lomefloxacin (Hlome) και τα σύμπλοκα του 1-4. (β) τα σύμπλοκα 5-7 και (γ) το epoxacin (Heno) και το σύμπλοκο 8.

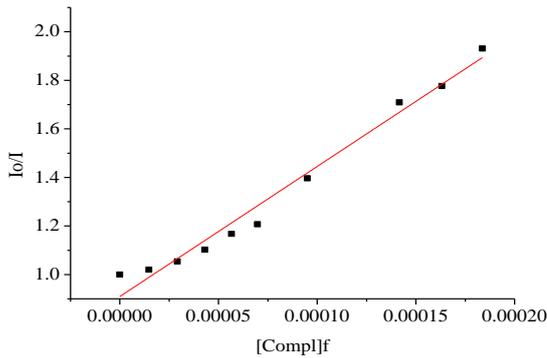
Στην συνέχεια ακολουθούν τα διαγράμματα Stern-Volmer και Scatchard για τα σύμπλοκα



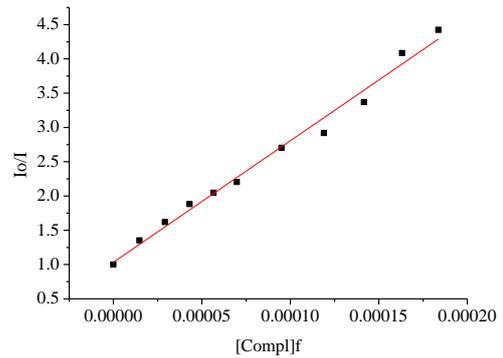
(α)



(β)

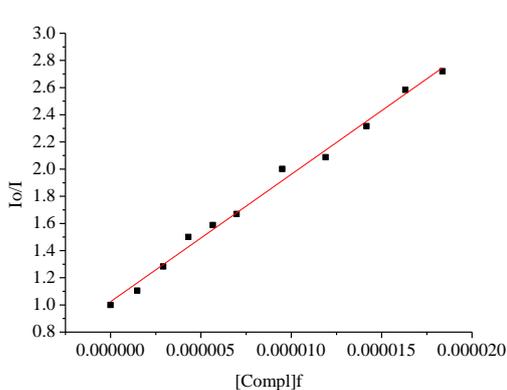


(γ)

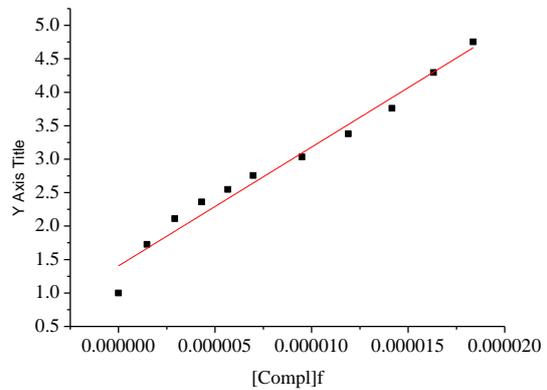


(δ)

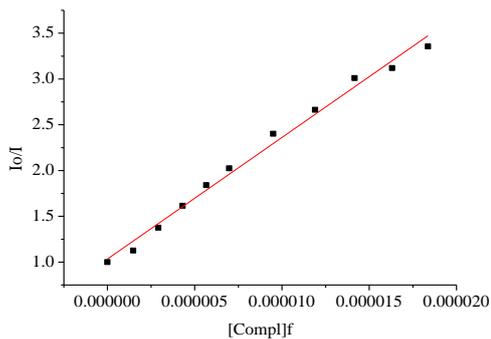
Σχήμα 98: Διάγραμμα Stern-Volmer της HSA παρουσία του συμπλόκου (α) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (β) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{phen})]$, (γ) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{bipy})]$, (δ) $[\text{Zn}(\text{lome})_2(\text{bipyam})]$



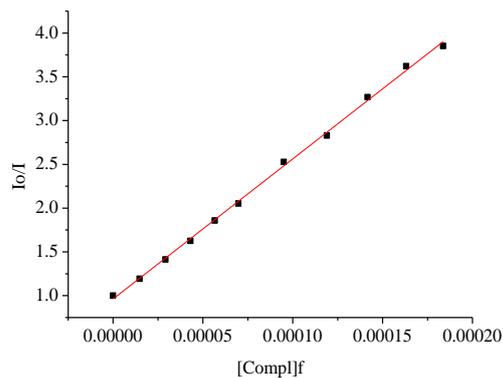
(α)



(β)

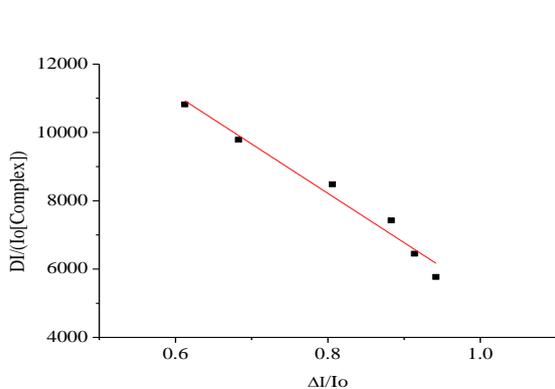


(γ)

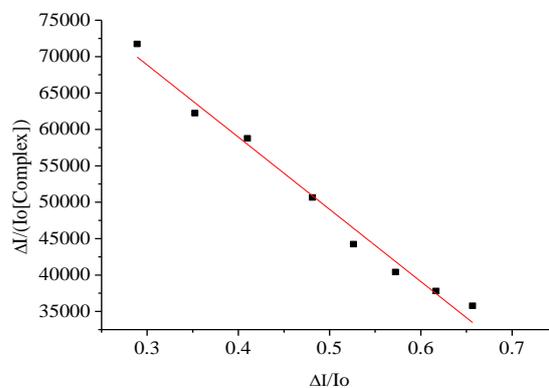


(δ)

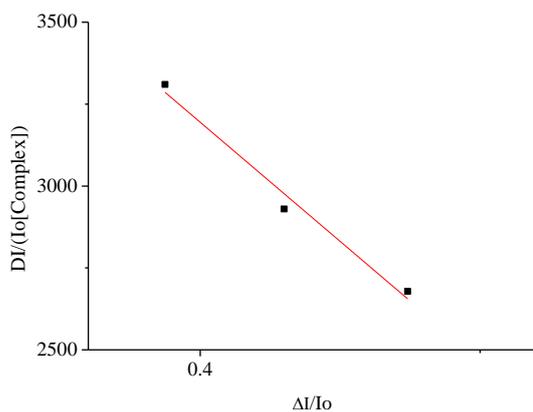
Σχήμα 99: Διάγραμμα Stern-Volmer της HSA παρουσία του συμπλόκου (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ και (δ) $[Fe(eno)_3]$.



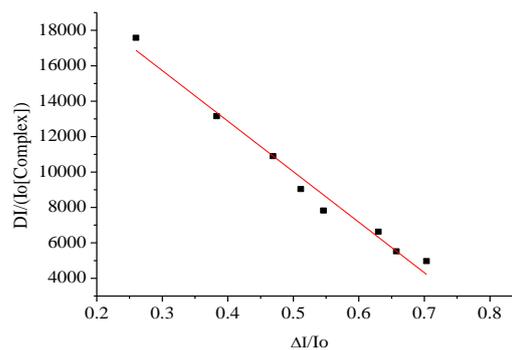
(α)



(β)

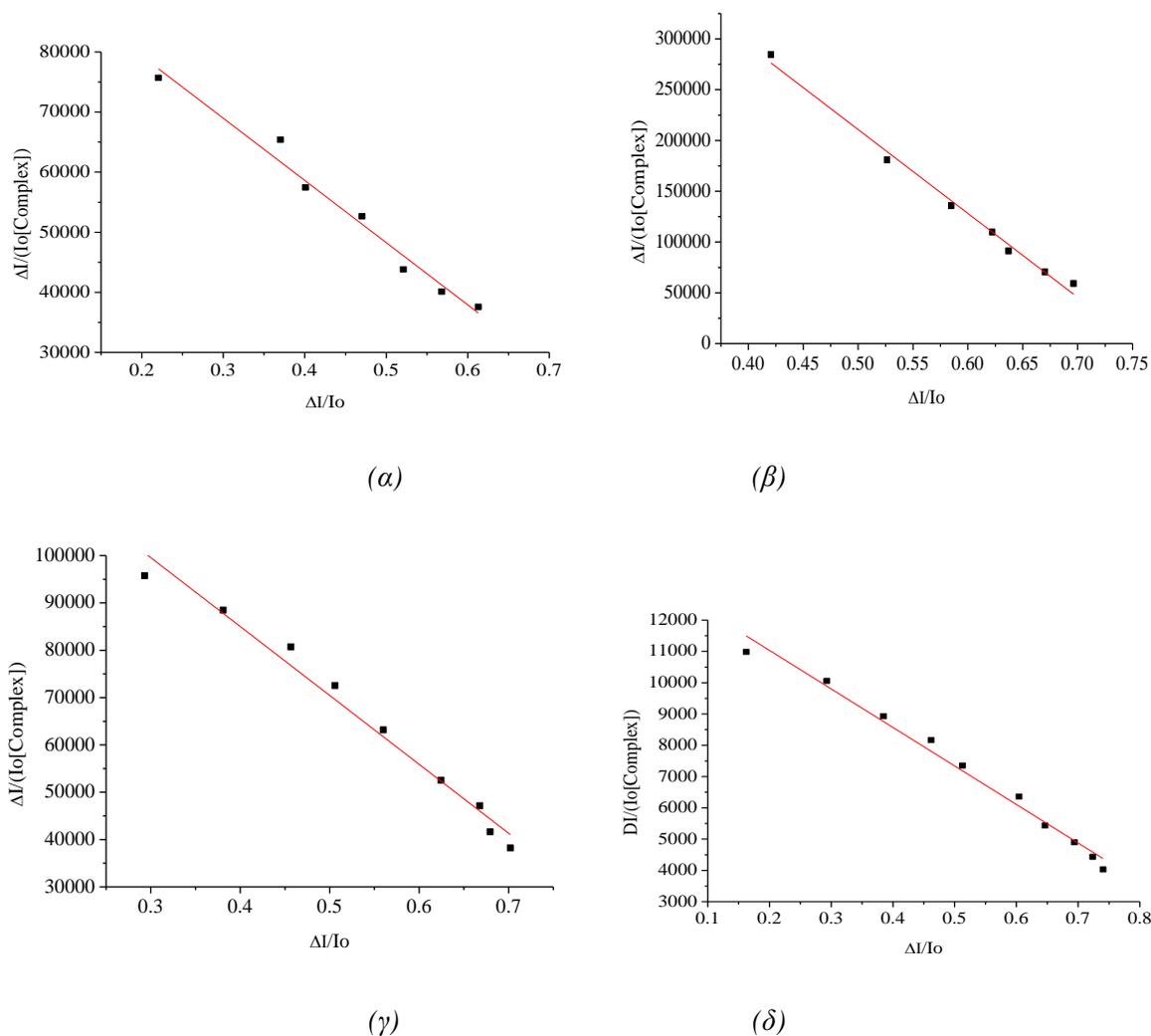


(γ)



(δ)

Σχήμα 100: Διάγραμμα Scatchard της HSA παρουσία του συμπλόκου συμπλόκου (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$, (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$



Σχήμα 101: Διάγραμμα Scatchard της HSA παρουσία του συμπλόκου (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ και (δ) $[Fe(eno)_3]$.

Πίνακας 22: Σταθερά σύνδεσης των συμπλόκων στη HSA και οι παράμετροι (K_{sv} , k_q , K , n).

| Σύμπλοκο | $K_{sv}(M^{-1})$ | $k_q(M^{-1} s^{-1})$ | $K(M^{-1})$ | n |
|------------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------|
| Lomefloxacin | $4.63(\pm 0.20) \times 10^3$ | $4.63(\pm 0.20) \times 10^{11}$ | $1.46(\pm 0.2) \times 10^3$ | 2.17 |
| $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$ | $5.06(\pm 0.54) \times 10^4$ | $5.06(\pm 0.54) \times 10^{12}$ | $1.44(\pm 0.12) \times 10^4$ | 1.37 |
| $[Zn(lome)_2(phen)]$ | $1.02(\pm 0.03) \times 10^5$ | $1.02(\pm 0.03) \times 10^{13}$ | $9.92(\pm 0.05) \times 10^4$ | 9.9 |
| $[Zn(lome)_2(bipy)]$ | $5.36(\pm 0.28) \times 10^4$ | $5.36(\pm 0.28) \times 10^{11}$ | $1.45(\pm 0.19) \times 10^4$ | 0.62 |
| $[Zn(lome)_2(bipam)]$ | $1.77(\pm 0.07) \times 10^4$ | $1.77(\pm 0.07) \times 10^{12}$ | $2.85(\pm 0.16) \times 10^4$ | 0.85 |
| Ofloxacin | $2.99(\pm 0.01) \times 10^4$ | $2.99(\pm 0.01) \times 10^{12}$ | 2.73×10^4 | 1.03 |
| $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$ | $9.37(\pm 0.26) \times 10^4$ | $9.37(\pm 0.26) \times 10^{12}$ | $1.04(\pm 0.07) \times 10^5$ | 0.97 |
| $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$ | $1.77(\pm 0.10) \times 10^5$ | $1.77(\pm 0.10) \times 10^{13}$ | $8.26(\pm 0.3) \times 10^5$ | 0.75 |
| $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ | $1.33(\pm 0.04) \times 10^5$ | $1.33(\pm 0.04) \times 10^{13}$ | $1.46(\pm 0.08) \times 10^5$ | 0.98 |
| Enoxacin | $3.85(\pm 0.20) \times 10^3$ | $3.85(\pm 0.20) \times 10^{11}$ | $6.62(\pm 0.3) \times 10^3$ | 0.76 |
| $[Fe(eno)_3]$ | $1.6(\pm 0.020) \times 10^4$ | $1.6(\pm 0.020) \times 10^{12}$ | $1.23(\pm 0.05) \times 10^4$ | 1.2 |

Όπως προκύπτει από τον πίνακα 22, τη μεγαλύτερη σταθερά απόσβεσης (k_q) άρα και τη μεγαλύτερη ικανότητα απόσβεσης φθορισμού εμφανίζει το σύμπλοκο [Cu(oflo)(bipyam)Cl] (**6**) με $k_q = 1.77(\pm 0.10) \times 10^{13} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ το οποίο εμφανίζει και την μεγαλύτερη σταθερά σύνδεσης K .

Από τα αποτελέσματα των δύο μελετών παρατηρούμε ότι:

- Οι σύμπλοκες ενώσεις παρουσιάζουν παρόμοια αλληλεπίδραση με την BSA και με την HSA αφού οι τιμές της σταθεράς απόσβεσης k_q και οι τιμές της σταθεράς σύνδεσης K βρίσκονται σχετικά στην ίδια κλίμακα.
- Τα σύμπλοκα **1**, **6** και **8** είναι αυτά που εμφανίζουν καλύτερη αλληλεπίδραση με τις αλβουμίνες.

Οι τιμές των σταθερών δέσμευσης στην αλβουμίνη υποδεικνύουν ότι τα σύμπλοκα μπορούν να συνδεθούν αντιστρεπτά στην αλβουμίνη προκειμένου να φτάσουν το βιολογικό τους στόχο, όπου μπορούν να αποδεσμευθούν όταν φτάσουν στους βιολογικούς τους στόχους, καθώς είναι αρκετά μικρότερες από την τιμή 10^{15} M^{-1} (σταθερά σύνδεσης της ισχυρότερης γνωστής μη-ομοιοπολικής αλληλεπίδρασης, όπως η αλληλεπίδραση της αβιδίνης με διάφορα σύμπλοκα).

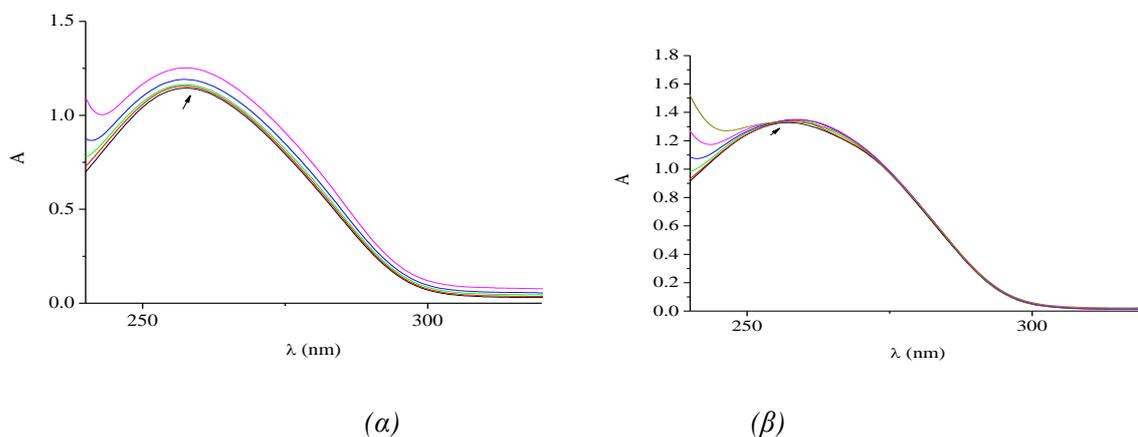
11) ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ DNA

11.1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ DNA ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ UV-vis

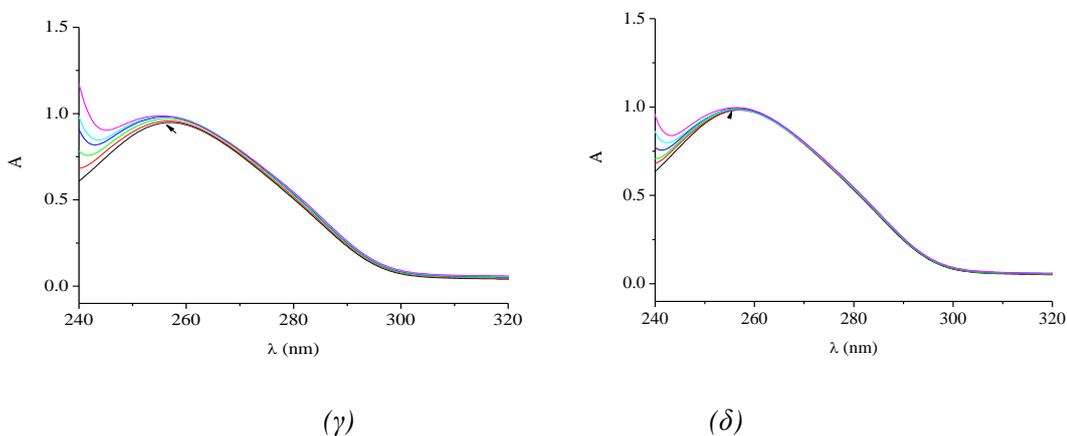
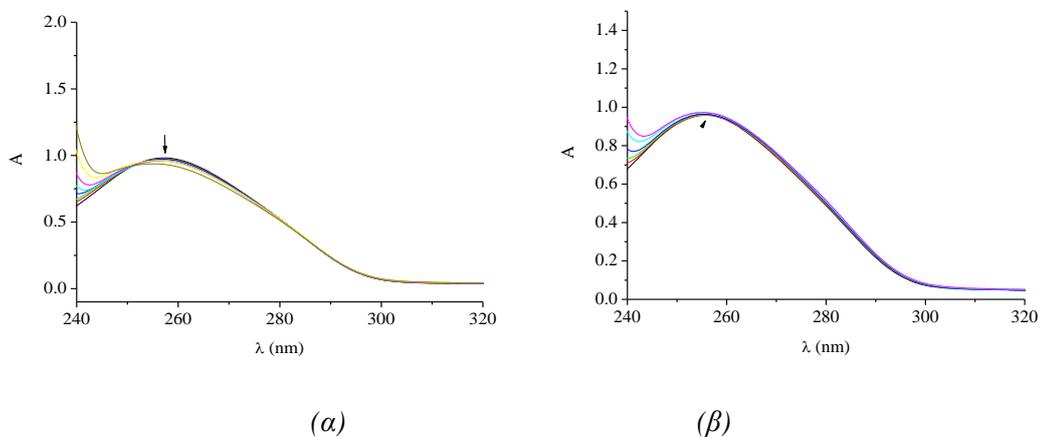
Η φασματοσκοπία UV-vis παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με το DNA καθώς και με το πόσο ισχυρή είναι η σύνδεση της κάθε ένωσης με αυτό μέσω του υπολογισμού της σταθεράς σύνδεσης K_b .

Η μελέτη της αλληλεπίδρασης μιας ένωσης με το DNA με φασματοσκοπία UV περιλαμβάνει δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο μελετάται η μεταβολή του φάσματος UV διαλύματος CT DNA (calf-thymus DNA), το οποίο είναι Β-μορφής, στην περιοχή $\lambda_{\max} = 200-400$ nm με την προσθήκη σε αυξανόμενες ποσότητες της υπό μελέτη ένωσης. Η οποιαδήποτε μεταβολή της απορρόφησης στο λ_{\max} αποτελεί ένδειξη αλληλεπίδρασης. Ειδικότερα, η αύξηση της απορρόφησης λόγω έκθεσης των αζωτούχων βάσεων του DNA, δηλαδή η υπερχρωμία, αποτελεί ένδειξη πιθανής καταστροφής δεσμών υδρογόνου μεταξύ των βάσεων, άρα και της δευτεροταγούς δομής του DNA, ενώ η αντίθετη περίπτωση, δηλαδή η υποχρωμία, υποδηλώνει παρεμβολή. Επίσης, η μετατόπιση της θέσης του λ_{\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 αποσταθεροποίησή της, αντίστοιχα, κατά την αλληλεπίδραση με την ένωση.

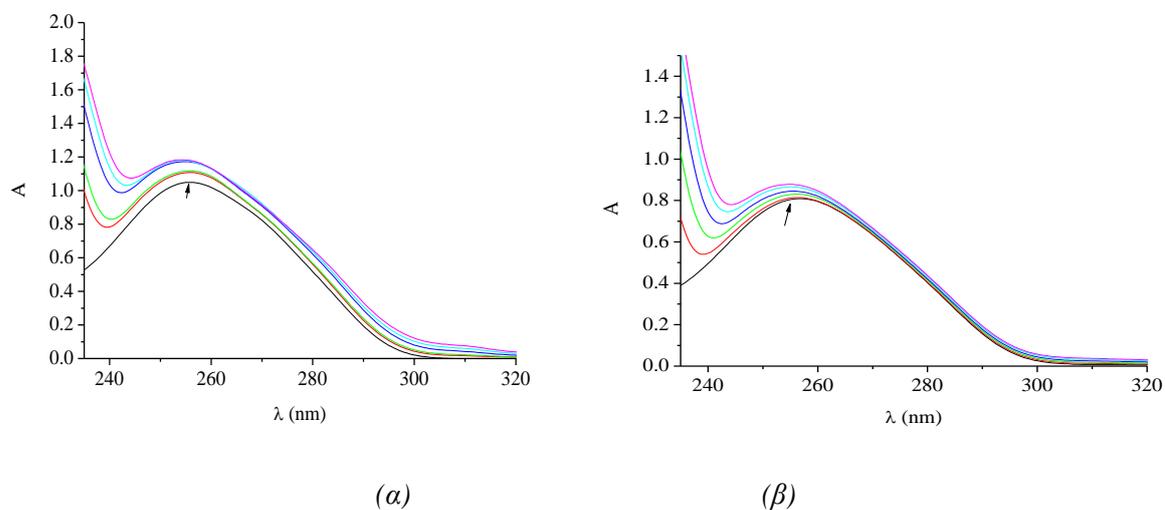
Τα φάσματα UV διαλύματος CT DNA καταγράφηκαν για σταθερή συγκέντρωση παρουσία των συμπλόκων σε διαφορετικούς λόγους $[\text{σύμπλοκο}]/[\text{DNA}]$. Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικά τα φάσματα του DNA παρουσία των συμπλόκων για κάθε περίπτωση ξεχωριστά.

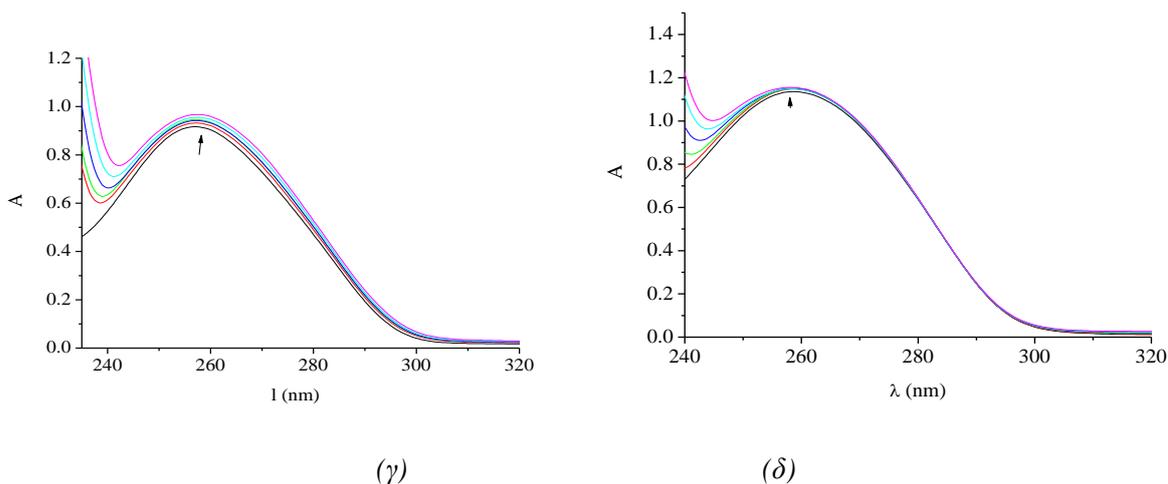


Σχήμα 102: Φάσμα UV διαλύματος CT DNA παρουσία διαλύματος του (α) *Hlome* και (β) *Heπο* σε αυξανόμενες ποσότητες. Το βέλος υποδεικνύει τις μεταβολές κατά την προσθήκη της κινολόνη.



Σχήμα 103: Φάσμα UV διαλύματος CT DNA παρουσία διαλύματος του (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$ και (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$ σε αυξανόμενες ποσότητες. Το βέλος υποδεικνύει τις μεταβολές κατά την προσθήκη του συμπλόκου.

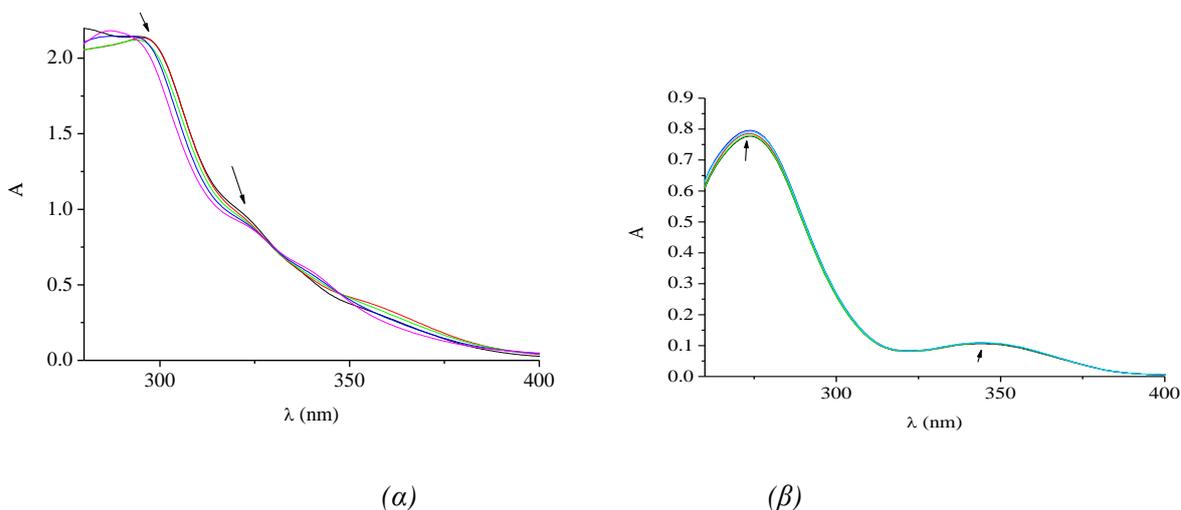




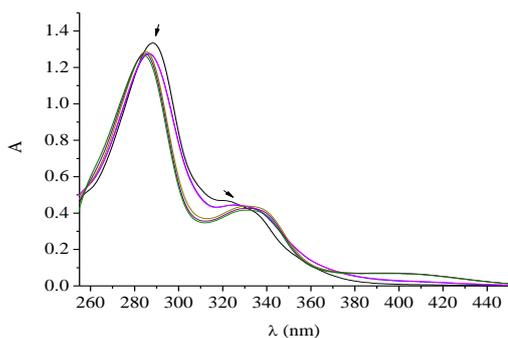
Σχήμα 104: Φάσμα UV διαλύματος CT DNA παρουσία διαλύματος του (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$, (δ) $[Fe(eno)_3]$ σε αυξανόμενες ποσότητες. Το βέλος υποδεικνύει τις μεταβολές κατά την προσθήκη του συμπλόκου.

Παρατηρούμε ότι κατά την προσθήκη των συμπλόκων, η ταινία με λ_{max} στα 258-260 nm παρουσιάζει μικρή υποχρωμία ή υπερχρωμία που υποδηλώνει την ύπαρξη της αλληλεπίδρασης τους με το DNA.

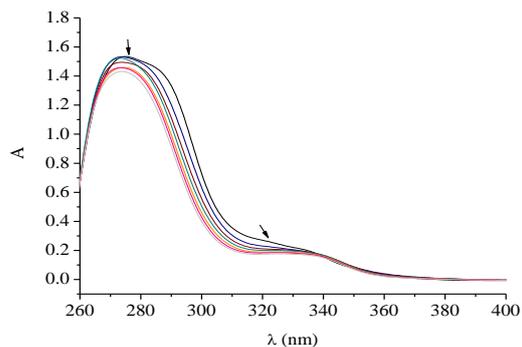
Στο δεύτερο στάδιο της μελέτης καταγράφηκαν τα φάσματα UV-vis διαλύματος των συμπλόκων παρουσία διαλύματος DNA για διαφορετικούς λόγους $[\text{σύμπλοκο}]/[\text{DNA}]$. Παρακάτω παρατίθενται τα διαγράμματα που προέκυψαν:



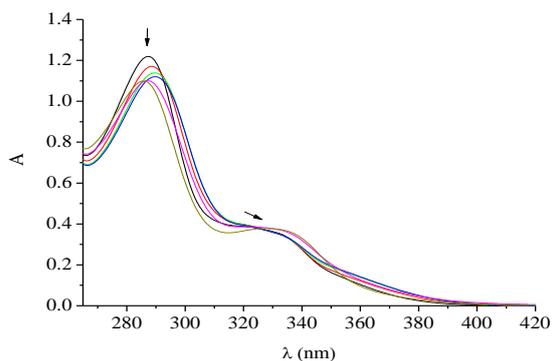
Σχήμα 105: Φάσμα UV-vis διαλύματος (α) H10me και (β) Heno σε DMSO ($10^{-5} M$) παρουσία CT DNA σε αυξανόμενες ποσότητες. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος DNA.



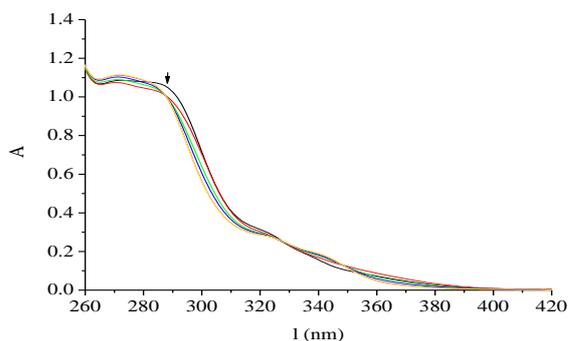
(α)



(β)

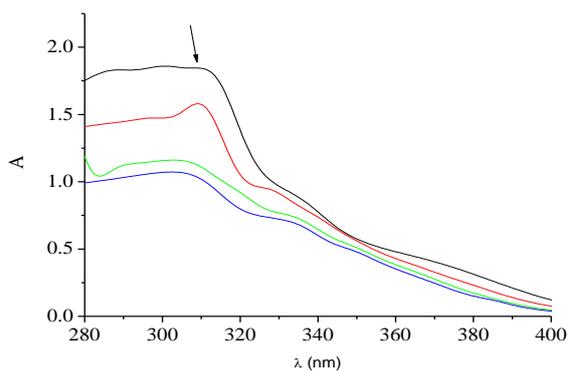


(γ)

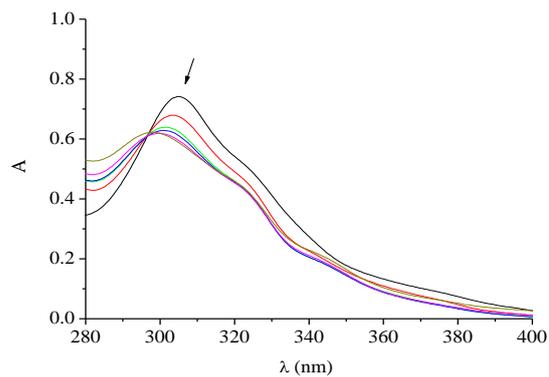


(δ)

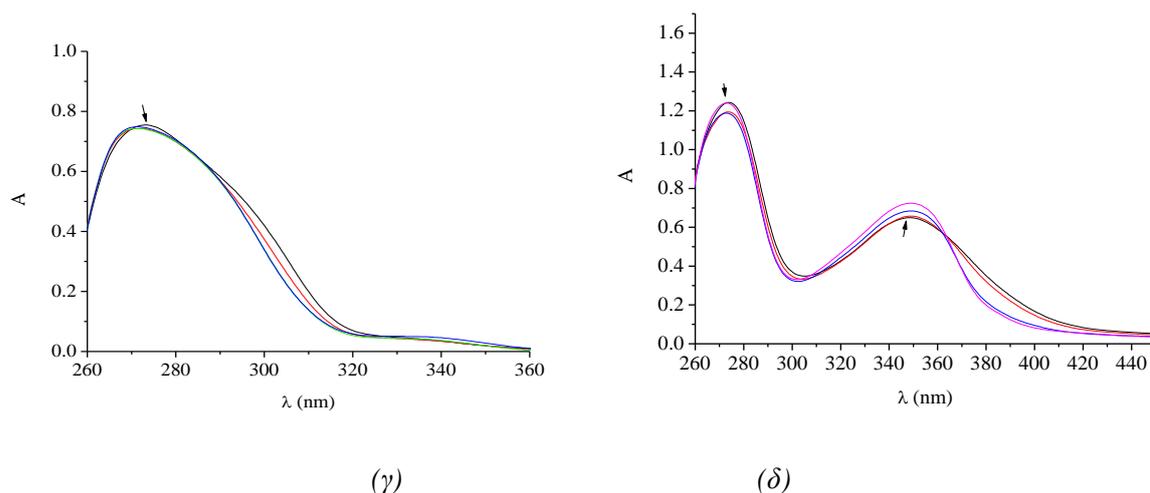
Σχήμα 106: Φάσμα UV-vis διαλύματος σε DMSO (10^{-5} M) του (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(rhen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$ και (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$ παρουσία CT DNA σε αυξανόμενες ποσότητες. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος DNA.



(α)



(β)



Σχήμα 107: Φάσμα UV-vis διαλύματος σε DMSO (10^{-5} M) του (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(rhen)Cl]$, (δ) $[Fe(eno)_3]$ παρουσία CT DNA σε αυξανόμενες ποσότητες. Τα βέλη υποδεικνύουν τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη του διαλύματος DNA.

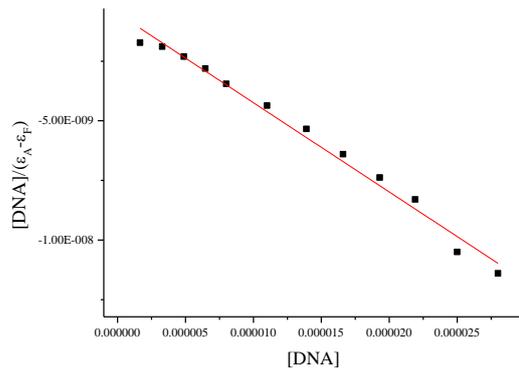
Στα φάσματα UV-vis των συμπλόκων παρουσία CT DNA παρατηρούμε πως η ταινία που οφείλεται σε intraligand μεταπτώσεις με $\lambda_{max} = 330-332$ nm εμφανίζει υποχρωμία, που αποτελεί μία πρώτη ένδειξη ότι η αλληλεπίδραση με το DNA γίνεται πιθανόν μέσω παρεμβολής.

Η σταθερά σύνδεσης K_b αποτελεί ένα μέσο για την εκτίμηση της ισχύος σύνδεσης των ενώσεων με το CT DNA. Αντιπροσωπεύει τη σταθερά σύνδεσης ανά ζεύγη βάσεων του DNA και υπολογίζεται μελετώντας τις αλλαγές στο λ_{max} στα φάσματα UV-vis κατά τη σταδιακή προσθήκη αυξανόμενων συγκεντρώσεων του CT DNA. Δίνεται από το λόγο της τεταγμένης επί την αρχή προς την κλίση της ευθείας ελαχίστων τετραγώνων στο διάγραμμα του λόγου $[DNA]/(\epsilon_A - \epsilon_f)$ προς τη $[DNA]$, όπως προκύπτει από την εξίσωση :

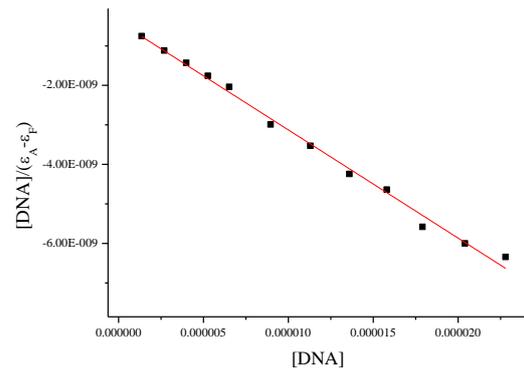
$$[DNA] / (\epsilon_A - \epsilon_f) = [DNA] / (\epsilon_b - \epsilon_f) + 1 / K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)$$

όπου $[DNA]$ είναι η συγκέντρωση του DNA σε ζεύγη βάσεων, ϵ_A δίνεται από το λόγο $A_{obs}/[\text{συμπλόκου}]$, ϵ_f είναι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης για το ελεύθερο σύμπλοκο και ϵ_b είναι ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης του πλήρως δεσμευμένου συμπλόκου.

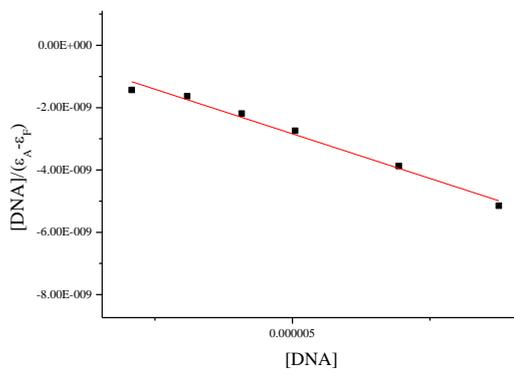
Στη συνέχεια ακολουθούν ενδεικτικά κάποια διαγράμματα που χρησιμοποιήθηκαν για το υπολογισμό του K_b :



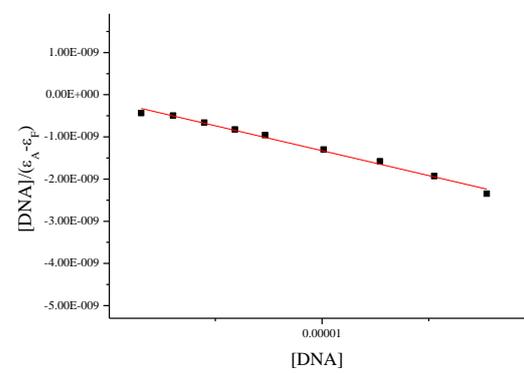
(α)



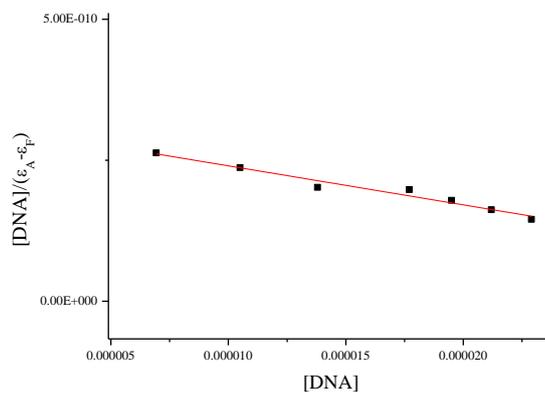
(β)



(γ)



(δ)



(ε)

Σχήμα 108: Διαγράμμα υπολογισμού K_b για τα σύμπλοκα: (α) $[Zn(lome)_2(bipy)]$, (β) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$, (γ) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (δ) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$ (ε) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$

Πίνακας 23: Σταθερά ισχύος σύνδεσης των υποκαταστατών και των συμπλόκων με το DNA.

| Ένωση | $K_b(M^{-1})$ |
|--|--|
| Lomefloxacin | $9.55(\pm 0.9) \times 10^4$ |
| [Zn(lome) ₂ (H ₂ O) ₂] | $4.51(\pm 0.17) \times 10^5$ |
| [Zn(lome) ₂ (phen)] | $2.28(\pm 0.12) \times 10^5$ |
| [Zn(lome) ₂ (bipy)] | $7.51(\pm 0.6) \times 10^5$ |
| [Zn(lome) ₂ (bipam)] | $7.03(\pm 0.8) \times 10^5$ |
| Ofloxacin | $3.91(\pm 0.45) \times 10^4$ |
| [Cu(oflo)(bipy)Cl] | $2.51(\pm 0.02) \times 10^7$ |
| [Cu(oflo)(bipyam)Cl] | $8.12(\pm 0.1) \times 10^5$ |
| [Cu(oflo)(phen)Cl] | $2.24(\pm 0.6) \times 10^4$ |
| Enoxacin | $1.59(\pm 0.1) \times 10^5$ |
| [Fe(eno) ₃] | $3.46(\pm 0.8) \times 10^5$ |

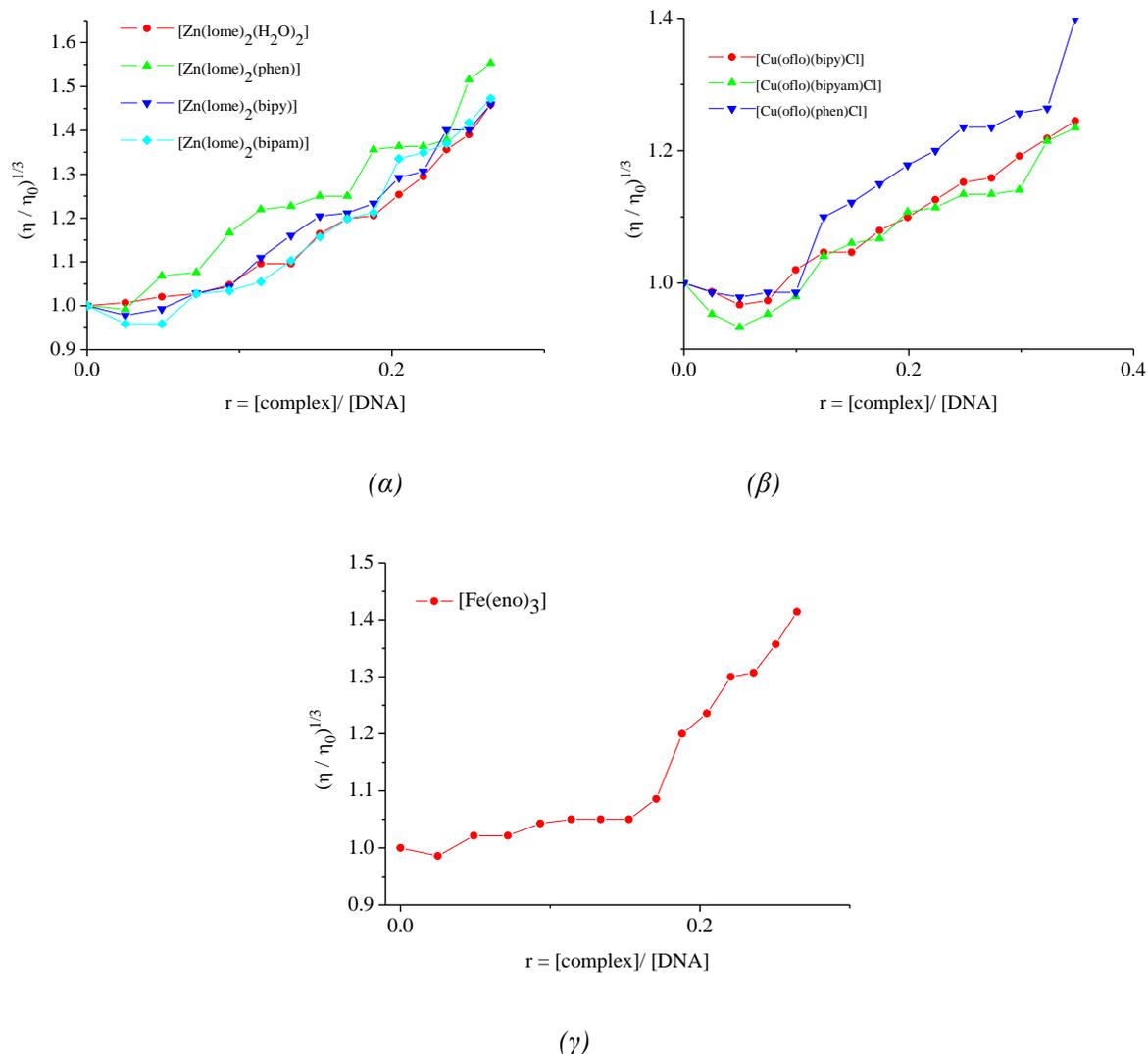
Όπως φαίνεται στον πίνακα 23, η σταθερά ισχύος σύνδεσης με το DNA των ενώσεων **1-8**, που υπολογίστηκε με τη βοήθεια των παραπάνω διαγραμμάτων, είναι υψηλότερη από την αντίστοιχη των ελεύθερων κινολονών κάτι το οποίο δείχνει ισχυρότερη αλληλεπίδραση με το DNA από αυτές. Η ένωση [Cu(oflo)(bipy)Cl] έχει την υψηλότερη τιμή K_b μεταξύ των ενώσεων **1-8** άρα παρουσιάζει και την ισχυρότερη δέσμευση στο CT DNA.

11.2 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΜΕ ΙΞΩΔΟΜΕΤΡΙΑ

Η ιξωδομετρία αποτελεί μια μέθοδο εξέτασης του τρόπου σύνδεσης του CT DNA με τις διάφορες ενώσεις. Λόγω της ευαισθησίας της, η μέθοδος αυτή είναι από τις πλέον αξιόπιστες μεθόδους για το σκοπό αυτό. Στην περίπτωση της κλασσικής παρεμβολής, τα ζεύγη βάσεων του CT DNA απομακρύνονται ώστε να μπορέσει να εισχωρήσει η ένωση που εισέρχεται και δεδομένου ότι το μήκος της έλικας είναι ανάλογο του μετρούμενου σχετικού ιξώδους, οποιαδήποτε αύξηση του μήκους της έλικας, οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του DNA. Στην περίπτωση που η σύνδεση μιας ένωσης στο DNA είναι μερική ή μη-κλασσική παρεμβολή δεν παρατηρείται καμία σημαντική μεταβολή στο σχετικό μήκος του DNA και συνεπώς το ιξώδες του παραμένει πρακτικά αμετάβλητο ή ελαττώνεται ελάχιστα. Τέλος, στην περίπτωση της ρήξης του DNA από την ένωση που προστίθεται, το μήκος ελαττώνεται με αποτέλεσμα να μειώνεται και το ιξώδες.

Οι μετρήσεις του ιξώδους πραγματοποιήθηκαν σε διάλυμα CT DNA (0.1 mM) με προσθήκη αυξανόμενων ποσοτήτων των συμπλόκων και παρουσιάζονται στα παρακάτω (σχήμα

109). Η αύξηση του ιξώδους του CT DNA που παρατηρείται υποδεικνύει ότι η παρεμβολή είναι ο πιθανότερος τρόπος αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το CT DNA.



Σχήμα 109: Το σχετικό ιξώδες $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ διαλύματος του CT DNA (0.1mM), παρουσία των ενώσεων (α) 1-4, (β) 5-7 και (γ) 8 σε αυξανόμενες ποσότητες (r).

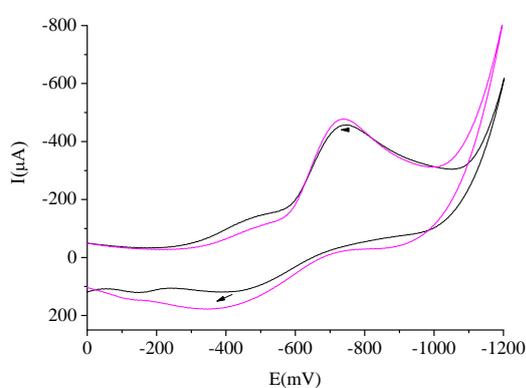
11.3 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕ ΚΥΚΛΙΚΗ ΒΟΛΤΑΜΜΕΤΡΙΑ

Η κυκλική βολταμμετρία είναι μία μέθοδος που παρέχει συμπληρωματικές πληροφορίες τόσο για τη σταθερότητα των συμπλόκων όσο και για τον τρόπο αλληλεπίδρασής τους με το CT DNA λόγω της οξειδωμένης και της ανηγμένης μορφής του μετάλλου. Έτσι, καταγράφονται τα κυκλικά βολταμμογραφήματα διαλύματος του συμπλόκου πριν και μετά την προσθήκη διαλύματος DNA και υπολογίζονται τα δυναμικά, στα οποία λαμβάνουν χώρα οι αντίστοιχες οξειδοαναγωγικές δράσεις. Οποιαδήποτε μεταβολή στη μορφή του κυκλικού βολταμμογραφήματος της ένωσης λαμβάνει χώρα κατά την προσθήκη διαλύματος CT DNA

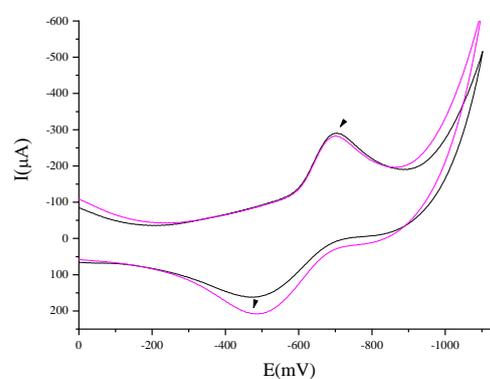
είναι χαρακτηριστική του τρόπου αλληλεπίδρασης. Τα συμπεράσματα που εξάγονται από τη μελέτη αυτή είναι συνήθως συμπληρωματικά για τις φασματοσκοπικές και υδροδυναμικές μελέτες.

Πιο συγκεκριμένα, εάν η αλληλεπίδραση της ένωσης με το DNA πραγματοποιείται μέσω παρεμβολής, τότε ένα τουλάχιστον από τα δυναμικά παρουσιάζει μετά την προσθήκη του διαλύματος DNA μετατόπιση προς θετικότερες τιμές. Αντίθετα, μετατόπιση ενός τουλάχιστον δυναμικού προς αρνητικότερες τιμές αποτελεί ένδειξη ύπαρξης ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Στην περίπτωση που κάποιο από τα δυναμικά εμφανίσει θετική μετατόπιση και κάποιο άλλο μετατοπιστεί προς αρνητικότερες τιμές, τότε το μέταλλο ή το σύμπλοκο φαίνεται να αλληλεπιδρά με το DNA μέσω παρεμβολής και ηλεκτροστατικά. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι, όσο μεγαλύτερη είναι κατά απόλυτη τιμή η μεταβολή του δυναμικού, τόσο ισχυρότερη είναι και η αλληλεπίδραση του συμπλόκου με το DNA.

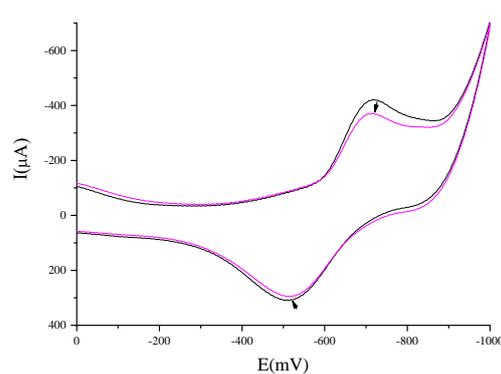
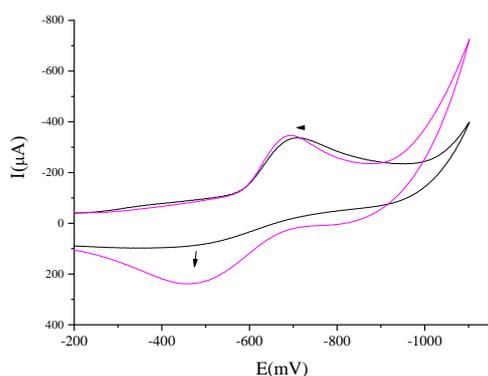
Τα κυκλικά βολταμμογραφήματα διαλυμάτων των συμπλόκων **5-8** λήφθηκαν στην περιοχή σάρωσης +1.5 έως -1.5 V, καθώς εκεί παρατηρούνται καλύτερα οι πιθανές μεταβολές κατά την προσθήκη CT DNA σε διάφορες αναλογίες με ταχύτητα σάρωσης 100 mV (σχήμα 110). Τα αντίστοιχα δυναμικά που εμφανίζονται καθώς και οι μετατοπίσεις τους κατά την προσθήκη CT DNA δίνονται στον πίνακα 23.



(α)



(β)



(γ)

(δ)

Σχήμα 110: Κυκλικά βολταμμογραφήματα 0.33 mM σε διάλυμα 1/2 DMSO/buffer για τα σύμπλοκα (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$, (δ) $[Fe(eno)_3]$ κατά την προσθήκη διαλύματος DNA .

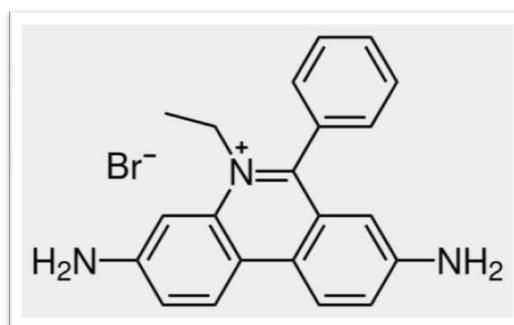
Πίνακας 24: Καθοδικά και ανοδικά δυναμικά (E , mV) για τα οξειδοαναγωγικά ζεύγη $Cu(II)/Cu(I)$ και $Fe(III)/Fe(I)$ σε διάλυμα 1/2 DMSO/buffer των συμπλόκων παρουσία (b) και απουσία (f) CT DNA.

| Ένωση | $E_{pc(f)}$ | $E_{pc(b)}$ | ΔE_{pc} | $E_{pa(f)}$ | $E_{pa(b)}$ | ΔE_{pa} |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-----------------|-------------|-------------|-----------------|
| $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, 5 | -745 | -735 | +10 | -390 | -340 | +50 |
| $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, 6 | -705 | -695 | +10 | -480 | -475 | +5 |
| $[Cu(oflo)(phen)Cl]$, 7 | -710 | -690 | +20 | -460 | -460 | 0 |
| $[Fe(eno)_3]$, 8 | -718 | -705 | +13 | -510 | -505 | +5 |

Από τον πίνακα 24 φαίνεται ότι οι μεταβολές των δυναμικών για τις σύμπλοκες ενώσεις **5-8** είναι θετικές και υποδηλώνουν την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT DNA μέσω παρεμβολής, γεγονός που είναι σε συμφωνία και με τα συμπεράσματα από την ιξωδομετρία.

11.4 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΜΕ ΤΟ EB

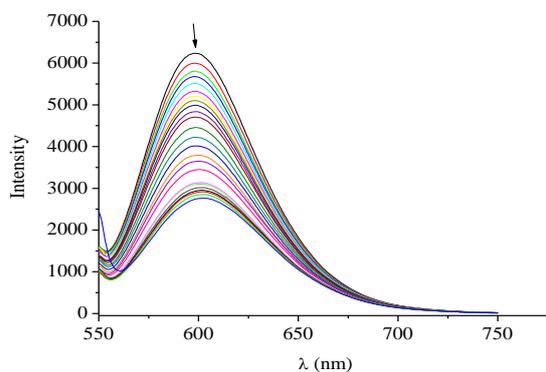
Η ανταγωνιστική δράση των συμπλόκων με το αιθίδιο βρωμίδιο (EB = 3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium bromide ή ethidium bromide) μελετήθηκε με φθορισμό και έχει ως σκοπό να εξεταστεί η ικανότητα των ενώσεων να αντικαταστήσουν το EB από το σύμπλοκο EB-DNA, δηλαδή να διαπιστωθεί επακριβώς ο τρόπος σύνδεσης της ένωσης με το DNA. Το EB είναι μια φαινανθριδίνη με φθορίζουσες ιδιότητες, η οποία είναι σε θέση να σχηματίσει σύμπλοκα ευδιάλυτα με νουκλεϊκά οξέα.



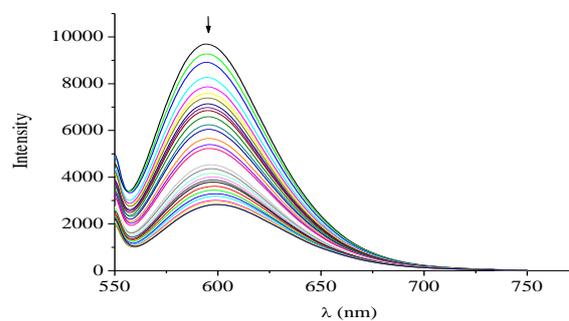
Σχήμα 111: Η δομή της ένωσης 3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridiniumbromide.

Το ελεύθερο EB παρουσιάζει μία ασθενή ταινία εκπομπής στο φάσμα φθορισμού με μέγιστο στα 605 nm σε ρυθμιστικό διάλυμα. Η παρουσία DNA σε διάλυμα EB αυξάνει σημαντικά την τιμή της έντασης φθορισμού, λόγω της παρεμβολής του επίπεδου δακτυλίου της φαινανθριδίνης μεταξύ δύο γειτονικών βάσεων της διπλής έλικας του DNA. Κατά την προσθήκη της ουσίας που μελετάται, η ένταση της ταινίας εκπομπής στα 592 nm (με $\lambda_{\text{διεγ}} = 540$ nm) μειώνεται σε αυξανόμενες ποσότητες, εφόσον η ένωση μπορεί να αντικαταστήσει το EB στο σύμπλοκο EB-DNA. Αυτή η ελάττωση του φθορισμού καθώς και το αντίστοιχο ποσοστό της μπορεί να αποκαλύψει τον ανταγωνισμό μεταξύ της ένωσης και του EB στη σύνδεσή τους με το DNA.

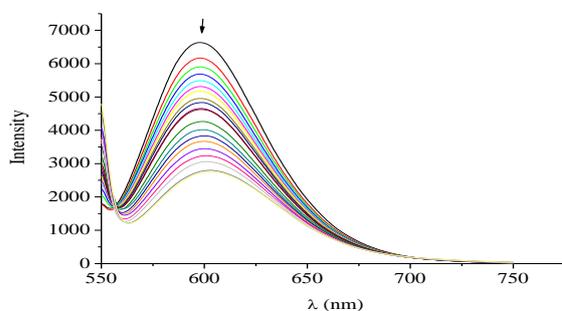
Το σύμπλοκο EB-DNA παρασκευάστηκε προσθέτοντας 20 μM EB και 26 μM DNA σε ρυθμιστικό διάλυμα. Τόσο οι ελεύθερες κινολόνες που μελετήθηκαν όσο και τα σύμπλοκα αρχικά δεν εμφανίζουν φθορισμό και επομένως η ικανότητα σύνδεσης στο CT DNA δεν μπορεί να μελετηθεί άμεσα από τα φάσματα εκπομπής φθορισμού. Ωστόσο μελετώντας την ανταγωνιστική δράση με το EB μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα για τον τρόπο αλληλεπίδρασης κάθε συμπλόκου με το CT DNA. Στην συνέχεια ακολουθούν ενδεικτικά τα διαγράμματα που προέκυψαν για τα σύμπλοκα **1-8**:



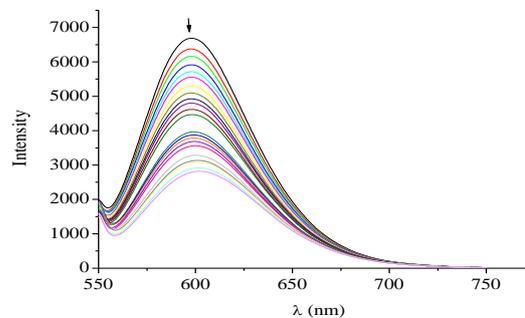
(α)



(β)

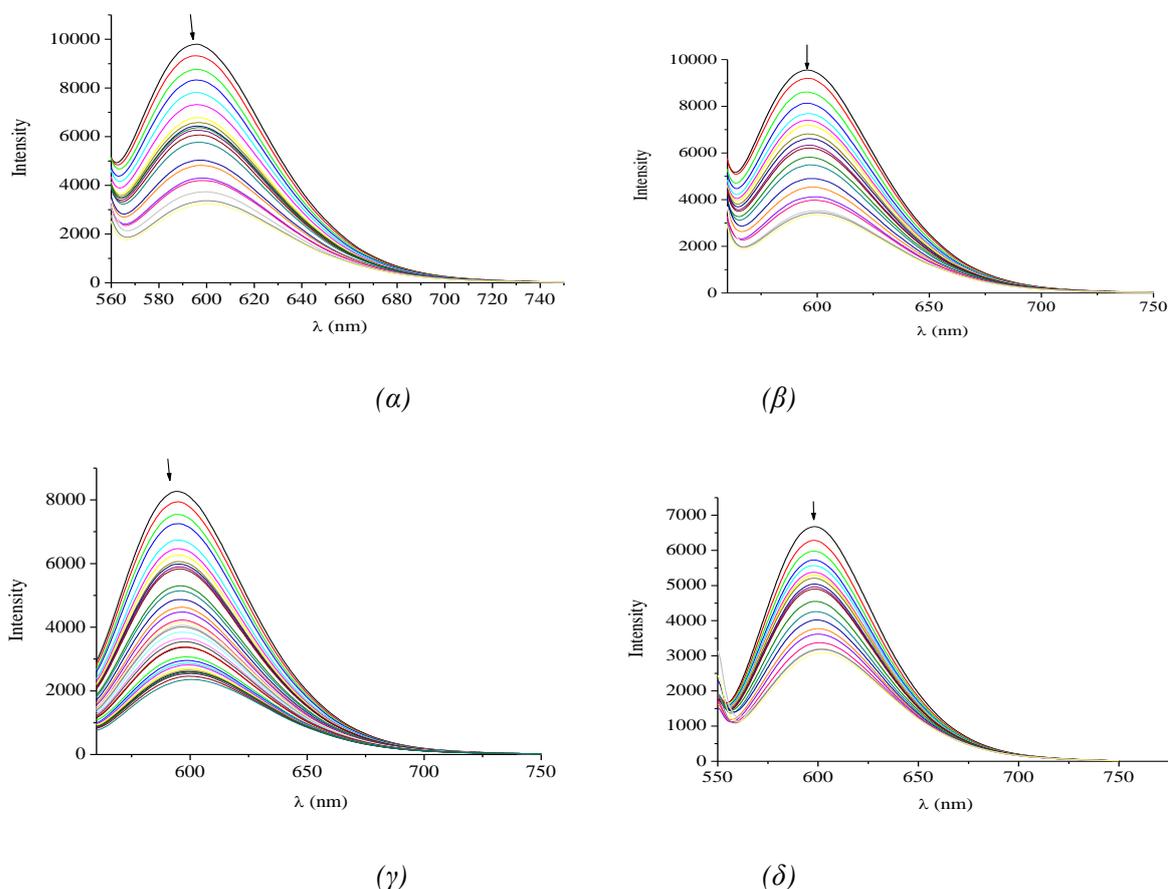


(γ)



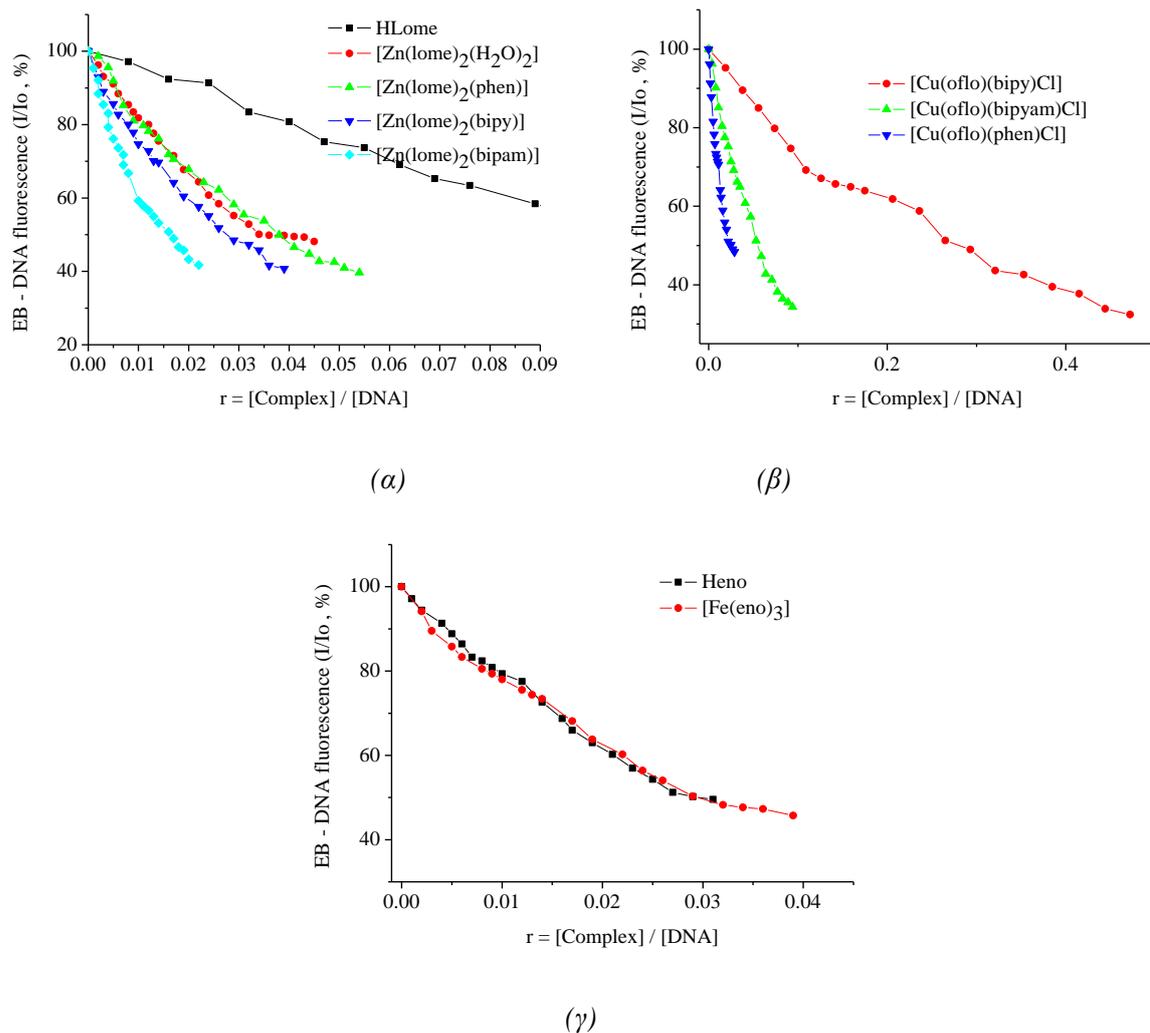
(δ)

Σχήμα 112: Φάσμα εκπομπής φθορισμού διαλύματος CT DNA-EB παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$ και (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$.



Σχήμα 113: Φάσμα εκπομπής φθορισμού διαλύματος CT DNA-EB παρουσία αυξανόμενων ποσοτήτων του συμπλόκου (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$, (δ) $[Fe(eno)_3]$.

Παρατηρείται ότι η προσθήκη των συμπλόκων σε διάλυμα EB-DNA έχει ως αποτέλεσμα σημαντική ελάττωση του φθορισμού, γεγονός που υποδηλώνει την ικανότητα αντικατάστασης του EB στην ένωση EB-DNA από τα σύμπλοκα. Έτσι λόγω της ικανότητας των ενώσεων να αντικαταστήσουν το EB, συμπεραίνουμε έμμεσα ότι ο πιθανότερος τρόπος αλληλεπίδρασής τους με το DNA είναι η παρεμβολή.



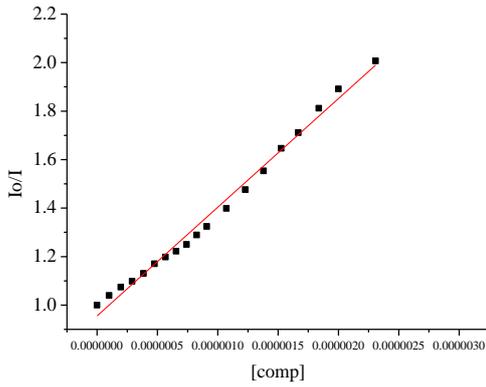
Σχήμα 114: Διάγραμμα του % φθορισμού του EB-DNA στα 592 nm (%) σε συνάρτηση με το λόγο r ($r=[\text{compound}]/[\text{DNA}]$) των συμπλόκων (α) 1-4, (β) 5-7 και (γ) 8.

Στο σχήμα 114 μπορούμε να παρατηρήσουμε την επίδραση που έχει στην ελάττωση του φθορισμού η προσθήκη της κάθε ένωσης. Το ποσοστό της ελάττωσης είναι ιδιαίτερα υψηλό καθώς στις περισσότερες περιπτώσεις φθάνει στο 80% της αρχικής έντασης φθορισμού.

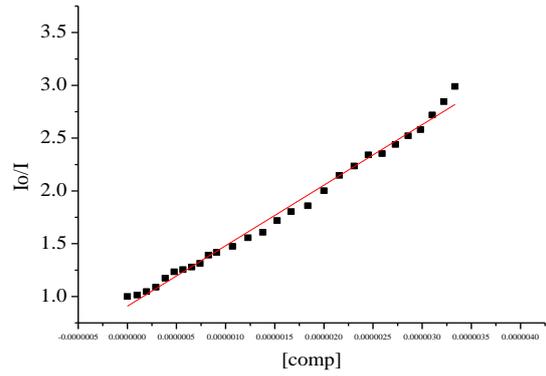
Με την εξίσωση Stern-Volmer K_{sv} , μπορούμε να υπολογίσουμε τη σταθερά Stern-Volmer για κάθε σύμπλοκο σύμφωνα με την εξίσωση:

$$I_0 / I = 1 + K_{sv} [Q]$$

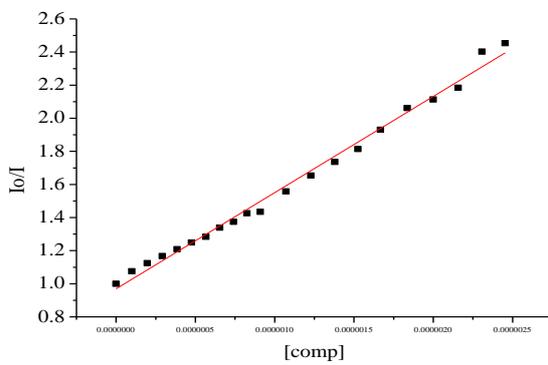
όπου I_0 και I είναι οι εντάσεις εκπομπής απουσία και παρουσία της ένωσης αντίστοιχα, $[Q]$ η συγκέντρωση της ένωσης, και K_{sv} η σταθερά Stern-Volmer η οποία υπολογίζεται από την κλίση του διαγράμματος I_0 / I προς $[Q]$ όπως φαίνεται στα σχήματα 115-116



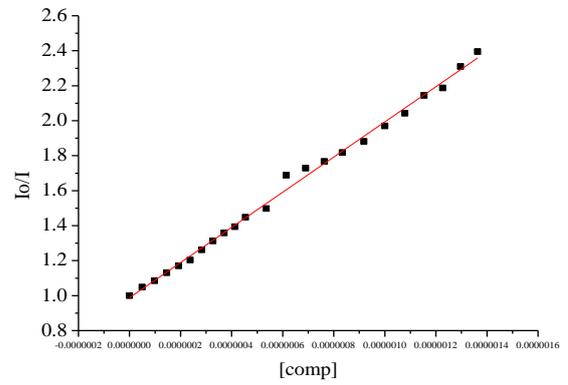
(α)



(β)

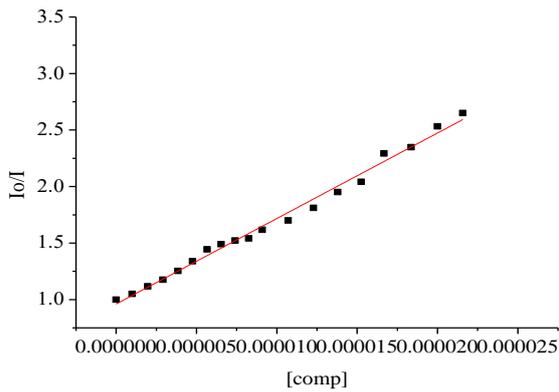


(γ)

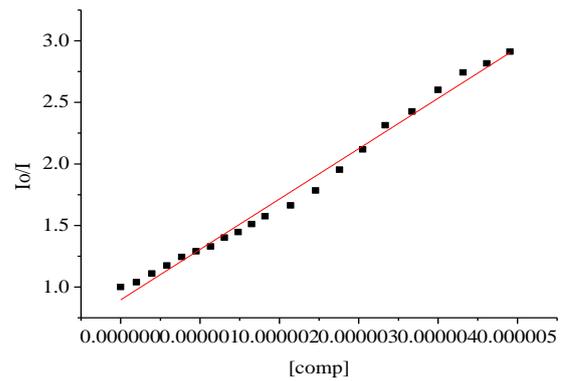


(δ)

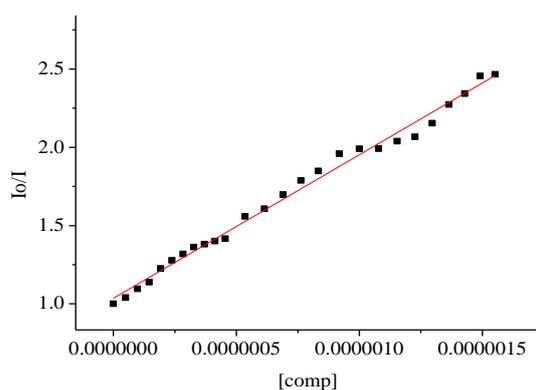
Σχήμα 115: Διαγράμματα Stern-Volmer για το σύμπλοκο (α) $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$, (β) $[Zn(lome)_2(phen)]$, (γ) $[Zn(lome)_2(bipy)]$ και (δ) $[Zn(lome)_2(bipyam)]$.



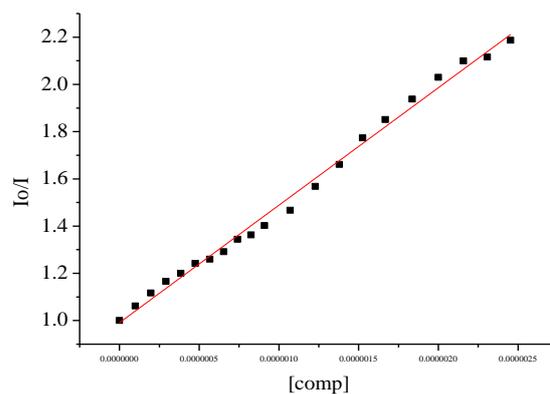
(α)



(β)



(γ)



(δ)

Σχήμα 116: Διαγράμματα Stern-Volmer για το σύμπλοκο (α) $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$, (β) $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$, (γ) $[Cu(oflo)(phen)Cl]$, (δ) $[Fe(eno)_3]$.

Πίνακα 25: Η σταθερά Stern-Volmer των συμπλόκων 1-8.

| Ένωση | Ποσοστό ελάττωσης φθορισμού (%) | $K_{sv}(M^{-1})$ | $kq (M^{-1}s^{-1})$ |
|------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| Lomefloxacin | 60 | $1.45(\pm 0.06) \times 10^5$ | $6.3(\pm 0.03) \times 10^{13}$ |
| $[Zn(lome)_2(H_2O)_2]$ | 52 | $4.48(\pm 0.1) \times 10^5$ | $1.95(\pm 0.045) \times 10^{13}$ |
| $[Zn(lome)_2(phen)]$ | 71.5 | $5.73(\pm 0.1) \times 10^5$ | $2.49(\pm 0.047) \times 10^{13}$ |
| $[Zn(lome)_2(bipy)]$ | 59.2 | $5.81(\pm 0.12) \times 10^5$ | $2.53(\pm 0.05) \times 10^{13}$ |
| $[Zn(lome)_2(bipam)]$ | 58.2 | $1.01(\pm 0.014) \times 10^6$ | $4.37(\pm 0.06) \times 10^{13}$ |
| Ofloxacin | 46 | $4.68(\pm 0.22) \times 10^5$ | |
| $[Cu(oflo)(bipy)Cl]$ | 67.6 | $7.56(\pm 0.2) \times 10^4$ | $3.29(\pm 0.076) \times 10^{12}$ |
| $[Cu(oflo)(bipyam)Cl]$ | 65.6 | $4.09(\pm 0.09) \times 10^5$ | $1.78(\pm 0.041) \times 10^{13}$ |
| $[Cu(oflo)(phen)Cl]$ | 75.7 | $9.17(\pm 0.17) \times 10^5$ | $3.99(\pm 0.075) \times 10^{13}$ |
| Enoxacin | 54 | $4.37(\pm 0.1) \times 10^5$ | $1.9(\pm 0.05) \times 10^{11}$ |
| $[Fe(eno)_3]$ | 54.3 | $4.97(\pm 0.09) \times 10^5$ | $2.16(\pm 0.04) \times 10^{13}$ |

Όπως φαίνεται στον πίνακα 25, τα σύμπλοκα εμφανίζουν γενικά μεγάλες τιμές K_{sv} , πράγμα που επαληθεύει την ικανότητά τους να αντικαταστήσουν το EB στην ένωση EB-DNA και να συνδεθούν ισχυρά με το DNA.

12. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

Στα πλαίσια της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν σύμπλοκες ενώσεις του δισθενούς ψευδαργύρου με το αντιμικροβιακό φάρμακο lomefloxacin, του δισθενούς χαλκού με το ofloxacin και του τρισθενούς σιδήρου με το enoxacin. Τα σύμπλοκα που προέκυψαν χαρακτηρίστηκαν δομικά και μελετήθηκε η αλληλεπίδρασή τους με calf-thymus DNA με φασματοσκοπία UV-vis, ιξωδομετρία, κυκλική βολταμετρία και φασματοσκοπία φθορισμού. Επίσης εξετάστηκε η αλληλεπίδραση των ενώσεων με τις αλβουμίνες ορού αίματος HSA και BSA.

Όλες οι σύμπλοκες ενώσεις που παρασκευάστηκαν είναι διαλυτές ή διαλύονται με παραμονή σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και σε αιθανόλη (EtOH), ενώ είναι αδιάλυτες σε ακετονιτρίλιο (CH₃CN) και σε ακετόνη. Οι μελέτες μοριακής αγωγιμότητας έδειξαν ότι τα σύμπλοκα δεν δίστανται σε διάλυμα DMSO διατηρώντας τη δομή τους.

Από τη φασματοσκοπία υπερύθρου προκύπτει ότι ο τρόπος συναρμογής των κινολονικών ligands είναι παρόμοιος και η αποπρωτονιωμένη κινολόνη συναρμόζεται διδραστικά στο μέταλλο μέσω του πυριδονικού οξυγόνου και ενός καρβοξυλικού οξυγόνου. Από τη φασματοσκοπία UV-vis προκύπτει ότι τα σύμπλοκα διατηρούν την δομή τους σε διάλυμα DMSO.

Η ικανότητα των συμπλόκων ενώσεων να συνδέονται με τις αλβουμίνες ορού αίματος (HSA και BSA) διερευνήθηκε με φασματοσκοπία φθορισμού και υπολογίστηκαν οι σταθερές σύνδεσης. Οι τιμές των σταθερών δέσμευσης στην αλβουμίνη υποδεικνύουν ότι τα σύμπλοκα μπορούν να συνδεθούν αντιστρεπτά στην αλβουμίνη προκειμένου να φτάσουν το βιολογικό τους στόχο, ενώ η αλληλεπίδραση είναι παρόμοια τόσο με την HSA όσο και με την BSA. Το σύμπλοκο [Zn(lome)₂(H₂O)₂] (**1**) είναι αυτό που εμφανίζει την ισχυρότερη αλληλεπίδραση με την BSA ενώ στην περίπτωση της HSA ισχυρότερα αλληλεπιδρά το σύμπλοκο [Cu(oflo)(bipyam)Cl] (**6**).

Η μελέτη αλληλεπίδρασης των συμπλόκων ενώσεων με το DNA με φασματοσκοπία UV-vis έδειξε ότι τα σύμπλοκα αλληλεπιδρούν με το DNA, πιθανόν μέσω παρεμβολής και οδηγούν σε σταθεροποίηση της δομής του DNA. Η σταθερά ισχύος σύνδεσης με το DNA των συμπλόκων ενώσεων είναι υψηλότερη από την αντίστοιχη των ελεύθερων κινολονών κάτι το οποίο δείχνει ισχυρότερη αλληλεπίδραση με το DNA από αυτές. Η ένωση [Cu(oflo)(bipy)Cl] έχει την υψηλότερη τιμή K_b μεταξύ των ενώσεων 1-8 άρα παρουσιάζει και την ισχυρότερη δέσμευση στο CT DNA.

Οι μετρήσεις του ιξώδους διαλύματος DNA παρουσία των συμπλόκων ενώσεων υπέδειξαν ως πιθανότερο τρόπο αλληλεπίδρασης των συμπλόκων με το DNA την παρεμβολή.

Επιπλέον από την μελέτη κυκλικής βολταμμετρίας παρατηρήθηκε ότι οι μεταβολές των δυναμικών για τις σύμπλοκες ενώσεις **5-8** είναι θετικές και υποδηλώνουν την αλληλεπίδραση των συμπλόκων με το CT DNA μέσω παρεμβολής.

Τέλος, με την φασματοσκοπία φθορισμού μελετήθηκε η ανταγωνιστική δράση των συμπλόκων ενώσεων με το EB και προσδιορίστηκε η ικανότητά τους να το αντικαταστήσουν στην ένωση EB-DNA, με τα σύμπλοκα να εμφανίζουν γενικά μεγάλες τιμές K_{sv} .

Βιβλιογραφία

1. **Bo G Malmström, Johan Leckner.** The chemical biology of copper. *Current Opinion in Chemical Biology*. v. 2, is. 2, p.p 286-292, 1998.
2. **Avila-Rodriguez, Rios C, Carrasco-Hernandez J, Manrique-Arias JC, Martínez-Hernandez R, García-Pérez FO, Jalilian AR, Martínez-Rodriguez E.** Biodistribution and radiation dosimetry of [64Cu]copper dichloride: first-in-human study in healthy volunteers. *EJNMMI*. v.12, p.p 98, 2017.
3. **Katherine E. Vest, Xinyu Zhu, Paul A. Cobine.** Copper Disposition in Yeast. *Clinical and Translational Perspectives on WILSON DISEASE*. p.p 115-126, 2019.
4. **Lisa M. Gaetke, Hannah S. Chow-Johnson, Ching K. Chow.** Copper: Toxicological relevance and mechanisms. *Archives of Toxicology*. v. 88, p.p.1929–1938, 2014.
5. **Δημήτρης Κεσίσογλου, Γεώργιος Ψώμας.** *Βιοανόργανη Χημεία*. s.l. : Εκδόσεις Ζήτη, 2011.
6. **Messerschmidt, Albrecht.** 8.14 - Copper Metalloenzymes. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. v. 8, p.p 489-545, 2010.
7. **EL, Gross.** Plastocyanin: Structure and function. *Photosynth Res*. v. 37, p.p. 103-116, 1993.
8. **V.R. Samygina, A.V. Sokolov, G Bourenkov, T.R. Schneider, V.A. Anashkin, S.O. Kozlov, N.N. Kolmakov, V.B. Vasilyev.** Rat ceruloplasmin: new labile copper binding site and zinc/copper mosaic. *Metallomics*. issue 12, 2017.
9. **Younus, H.** Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*. v. 12 pp.88–93., 2018.
10. **Tohru Fukai, Masuko Ushio-Fukai.** Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*. v. 15, p.p.1583-606, 2011.
11. **John Tainer, Elizabeth D. Getzoff, Jane S Richardson, David C. Richardson.** Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature*. v.306 p.p 284–287, 1983.
12. **Trine V. Vendelboe, Pernille Harris, Yuguang Zhao, Thomas S. Walte, Karl Harlos, Kamel El Omari, Hans E. M. Christensen.** The crystal structure of human dopamine β-hydroxylase at 2.9 Å resolution. *Science Advances*. v.2, n.4, 2016.
13. **Megen A. Culpepper, Amy C. Rosenzweig.** Architecture and active site of particulate methane monooxygenase. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. v.47, is. 6, p.p 483-492, 2012.
14. **Marte I. Flydal, Aurora Martinez.** Phenylalanine Hydroxylase: Function, Structure, and regulation. *IUBMB Life*. v.65, is.4, p.p 341-349, 2013.
15. **Benkovic, Robert T. Carr and Stephen J.** An Examination of the Copper Requirement of Phenylalanine Hydroxylase from *Chromobacterium violaceum*. *Biochemistry*. v.32, is. 51, p.p 14132-14138, 1993.
16. **Chen D., Frey PA.** Phenylalanine hydroxylase from *Chromobacterium violaceum*. Uncoupled oxidation of tetrahydropterin and the role of iron in hydroxylation. *The Journal of Biological Chemistry*. v. 273, p.p 25594-25601., 1998.
17. **Sam Horrell, Demet Kekilli, Richard W. Strange, Michael A. Hough.** Recent structural insights into the function of copper nitrite reductases. *Metallomics*. v.9, p.p 1470-1482, 2017.
18. **Markl, Jürgen.** Evolution of molluscan hemocyanin structures. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. v. 1834, is. 9, p.p 1840-1852, 2013.

19. **Leticia Arregui, Marcela Ayala, Ximena Gómez-Gil, Guadalupe Gutiérrez-Soto, Carlos Eduardo Hernández-Luna, Mayra Herrera de los Santos, Laura Levin, Arturo Rojo-Domínguez, Daniel Romero-Martínez, Mario C. N. Saparrat, Mauricio A. Trujillo-Roldán.** Laccases: structure, function, and potential application in water bioremediation. *Microbial Cell Factories*. v. 18, Article number: 200 , 2019.
20. **IDenis L.Rousseau, Sanghwa Han.** Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy of Intermediates in Cytochrome Oxidase. *Methods in Enzymology*. v. 354, p.p 351-368, 2002.
21. wikipedia. [Ηλεκτρονικό]
<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A7%CE%B1%CE%BB%CE%BA%CF%8C%CF%82>.
22. **C.J, Kudlick.** Learning from cholera: medical and social responses to the first great Paris epidemic in 1832. *Microbes and Infection*. v. 1, is. 12, p.p 1051-1057, 1999.
23. **Gregor Grass, Christopher Rensing, and Marc Solioz.** Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. *Applied and Environmental Microbiology, American Society for Microbiology*. Vol. 77, No. 5, p. 1541–1547, 2011.
24. **Isidoros Iakovidis, Ioannis Delimaris, Stylianos M. Piperakis.** Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach. *Molecular Biology International*. v.2011, 13 pages, 2011.
25. **Psomas, George.** Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Structural features and antioxidant activity. *Coordination Chemistry Reviews*. v. 412, 213259, 2020.
26. **S. Fountoulaki, F. Perdih, I. Turel, D.P. Kessissoglou, G. Psomas.** Non-steroidal anti-inflammatory drug diflunisal interacting with Cu(II). Structure and biological features. *J. Inorg.Biochem*. v.105, p.p 1645–1655, 2011.
27. **C. Tolia, A.N. Papadopoulos, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, C. Garino, L.Salassa, G. Psomas.** Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid: Structure, antioxidant activity and binding to DNA and albumins. *J. Inorg. Biochem*. v.123, p.p 53-65, 2013.
28. **J.E. Weder, T.W. Hambley, B.J. Kennedy, P.A. Lay, D. MacLachlan, R. Bramley, C.D. Delfs, K.S. Murray, B. Moubara, ki, B. Warwick, J.R. Biffin, H.L. Regtop.** Anti-Inflammatory Dinuclear Copper(II) Complexes with Indomethacin. Synthesis, Magnetism and EPR Spectroscopy. Crystal Structure of the N,N-Dimethylformamide Adduct. *Inorg.Chem*. v.38, p.p 1736-1744, 1999.
29. **D. Kovala-Demertzi, A. Theodorou, M.A. Demertzis, C.P. Raptopoulou, A.Terzis,.** Copper(II) complexes of diclofenac: Spectroscopic studies and DNA strand breakage. *Biometals*. v.12, p.p 167–172, 1999.
30. **D. Kovala-Demertzi, A. Galani, M.A. Demertzis, S. Skoulika, C. Kotoglou,.** Binuclear copper(II) complexes of tolfenamic: synthesis, crystal structure, spectroscopy and superoxide dismutase activity. *Inorg. Biochem*. v. 98, p.p 358–364., 2004.
31. **S. Dutta, S. Padhye, V. Mckee,.** Synthesis, Characterization and Antiproliferative Activity of Transition Metal Complexes with 3-(4,5-Diphenyl-1,3-oxazol-2-yl)propanoic Acid (Oxaprozin). *Chem. Pharm. Bull.* . v. 60, p.p 865–869 , 2012.
32. **C. Dendrinou-Samara, D.P. Kessissoglou, G.E. Manoussakis, D. Mentzafos, A.Terzis,.** Copper(II) complexes with anti-inflammatory drugs as ligands. Molecular and crystal structures of bis(dimethyl sulphoxide)tetrakis(6-methoxy- α -methyl-2-naphthaleneacetato)dicopper(II) and bis(dimethyl sulphoxide)tetrakis[1-methyl-5-(p-toluoyl)-1H-pyrrole-]. *J. Chem. Soc. Dalton Trans*. p.p 959-965, 1990.
33. **G. Facchin, M.H. Torre, E. Kremer, O.E. Piro, E.J. Baran, Z. Naturforsch,.** Crystal Structure and Spectroscopic Behaviour of a Binuclear Copper(II) Complex of Mefenamic Acid and Dimethylsulfoxide. *Teil B 53*. v. 53 p.p 871–874., 1998 .
34. **F.T. Greenaway, E. Riviere, J.J. Girerd, X. Labouze, G. Morgant, B. Viossat, J.C.Daran, M.R. Arveiller, N. Dung,.** Copper(II) complexes of a nonsteroidal anti-inflammatory drug niflumic acid. Synthesis, crystal structure

- of tetrakis- μ -(2-[3-(trifluoromethyl) phenyl]aminonicotinato)bis(dimethylsulfoxide)-dicopper(II) complex at 190 K. Anti-inflammatory properties. *J. Inorg. Biochem.* v. 76, p.p 19-27, 1999.
35. **S.H. Alisir, N. Dege, R. Tapramaz,** Synthesis, crystal structures and characterizations of three new copper(II) complexes including anti-inflammatory diclofenac. *Acta Crystallo.* v.75, p.p 388–397., 2019.
36. **Y.R. Morgan, P. Turner, B.J. Kennedy, T.W. Hambley, P.A. Lay, J.R. Biffin, H.L.Regtop, B. Warwick,** Preparation and characterization of dinuclear copper–indomethacin anti-inflammatory drugs. *Inorg. Chim.Acta.* v.324, p.p 150–161., 2001.
37. **S. Caglar, E. Adiguzel, B. Sariboga, E. Temel, O. Buyukgungor,** Mono and dinuclear copper(II) naproxenato complexes containing 3-picoline and 4-picoline: synthesis, structure, properties, catechol oxidase, and antimicrobial activities. *J. Coord. Chem.* v.67, p.p 670-683, 2014.
38. **S. Sayen, A. Carlier, M. Tarpin, E. Guillon,** A novel copper(II) mononuclear complex with the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Structural characterization and biological activity. *J. Inorg. Biochem.* v.120, p.p 39-43, 2013.
39. **Y. Wang, G. Tang, W. Wan, Y. Wu, T. Tian, J. Wang, C. He, X. Long, J. Wang, S.W.Ng,** New homochiral ferroelectric supramolecular networks of complexes constructed by chiral S-naproxen ligand. *CrystEngComm.* v. 14, p.p 3802-3812, 2012.
40. **R.P. Sharma, S. Kumar, P. Venugopalan, V. Ferretti, A. Tarushi, G. Psomas, M.Witwicki,** New copper(ii) complexes of the anti-inflammatory drug mefenamic acid: a concerted study including synthesis, physicochemical characterization and their biological evaluation. *RSC Adv.* v.6, p.p 88546-88556, 2016.
41. **A.L. Abuhijleh, J. Khalaf, Eur. J.** Copper (II) complexes of the anti-inflammatory drug naproxen and 3-pyridylmethanol as auxiliary ligand. Characterization, superoxide dismutase and catecholase – mimetic activities. *Med. Chem.* v.45, p.p 3811-3817, 2010.
42. **F. Valach, M. Tokarcik, P. Kubinec, M. Melnik, L. Macaskova,** BOND - VALENCE STUDY OF COPPER(II) NIFLUMATES. *Polyhedron.* v.16, p.p 1461–1464., 1997.
43. **F. Dimiza, F. Perdih, V. Tangoulis, I. Turel, D.P. Kessissoglou, G. Psomas,** Interaction of copper(II) with the non-steroidal anti-inflammatory drugs naproxen and diclofenac: Synthesis, structure, DNA- and albumin-binding. *Inorg. Biochem.* v.105, p.p 476-789, 2011.
44. **S. Kumar, R.P. Sharma, P. Venugopalan, V. Ferretti, M. Tarpin, S. Sayen, E.Guillon,** New copper(II) niflumate complexes with N-donor ligands: Synthesis, characterization and evaluation of anticancer potential against human cell lines. *Inorg. Chim.Acta.* v.488, p.p 260-268, 2019.
45. **A. Tarushi, S. Perontsis, A.G. Hatzidimitriou, A.N. Papadopoulos, D.P.Kessissoglou, G. Psomas,** Copper(II) complexes with the non-steroidal anti-inflammatory drug tolfenamic acid: Structure and biological features. *J. Inorg. Biochem.* v. 149, p.p 68-79, 2015.
46. **F. Dimiza, S. Fountoulaki, A.N. Papadopoulos, C.A. Kontogiorgis, V. Tangoulis, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, A. Terzis, D.P. Kessissoglou, G. Psomas,** Non-steroidal antiinflammatory drug–copper(ii) complexes: Structure and biological perspectives. *Dalton Trans.* v. 40, p.p 8555-8568, 2011.
47. **C. Dendrinou-Samara, P.D. Jannakoudakis, D.P. Kessissoglou, D. Mentzafos, A.Terzis,** Copper(II) complexes with anti-inflammatory drugs as ligands. Solution behaviour and electrochemistry of mono- and bi-nuclear complexes. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* p.p 3259-3264, 1992.
48. **M. Simunkova, P. Lauro, K. Jomova, L. Hudecova, M. Danko, S. Alwasel, I.M.Alhazza, S. Rajcaniova, Z. Kozovska, L. Kucerova, J. Moncol, L. Svorc, M. Valko,** Redox-cycling and intercalating properties of novel mixed copper(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs tolfenamic, mefenamic and flufenamic

- acids and phenanthroline functionality: Structure, SOD-mimetic activity, interaction with albumin. *J. Inorg. Biochem.* v. 194, p.p 97-113, 2019.
49. **A. Tarushi, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, D.P. Kessissoglou, A.N.Papadopoulos, G. Psomas.** Structure and biological perspectives of Cu(II)–indomethacin complexes. *J. Inorg. Biochem.* v. 140, p.p 185-198, 2014, Τόμ. Structure and biological perspectives of Cu(II)–indomethacin complexes.
50. **S. Kumar, R.P. Sharma, P. Venugopalan, V. Ferretti, S. Perontsis, G. Psomas.** Copper(II) diclofenac complexes: Synthesis, structural studies and interaction with albumins and calf-thymus DNA. *J.Inorg Biochem.* v.187, p.p 97-108, 2018.
51. **S. Perontsis, A.G. Hatzidimitriou, O.-A. Begou, A.N. Papadopoulos, G. Psomas.** Characterization and biological properties of copper(II)-ketoprofen complexes. *J.Inorg. Biochem.* v.162, p.p 22-30, 2016.
52. **Ichiro Sekiya, Toshiyuki Morito, Kenji Hara, Junya Yamazaki, Young-Jin Ju, Kazuyoshi Yagishita, Tomoyuki Mochizuki, Kunikazu Tsuji, Takeshi Muneta.** Ketoprofen Absorption by Muscle and Tendon after Topical or Oral Administration in Patients Undergoing Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *AAPS PharmSciTech.* v.11. p.p 154–158, 2010.
53. **M.D., Thomas G. Kantor.** Ketoprofen: A Review of Its Pharmacologic and Clinical Properties. *Pharmacotherapy.* v.6, is.3, pp.93-102, 1986.
54. **P. De, M. Baltas, F. Bedos-Belval.** Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents-A Review. *Current Medicinal Chemistry.* vo. 18,pp. 1672-1703, 2011.
55. **Syeda Shahzadi Batool, Syeda Rubina Gilani, Syeda Sakina Zainab.** Synthesis, crystal structure, thermal studies and antimicrobial activity of a mononuclear. *Polyhedron.* Journal Pre-proofs, 2020.
56. **María Elena Bravo-Gómez, Cristina Campero-Peredo, Daniela García-Conde, María José, Mosqueira-Santillán, Jorge Serment-Guerrero, Lena Ruiz-Azuarab.** DNA-binding mode of antitumoral copper compounds (Casiopeinas®) and analysis of its biological meaning. *Polyhedron.* v. 102, p.p 30-538, 2015.
57. **Jorge Serment-Guerrero, Maria Elena Bravo-Gomez, Eric Lara-Rivera, Lena Ruiz-Azuara.** Genotoxic assessment of the copper chelated compounds Casiopeinas: Clues about their mechanisms of action. *Journal of Inorganic Biochemistry.* v. 166, p.p 68-75, 2017.
58. **Nikhil H Gokhale, Shreelekha S Padhye, Subhash B Padhye, Christopher E Anson, Annie K Powell.** Copper complexes of carboxamidrazone derivatives as anticancer agents. 3. Synthesis, characterization and crystal structure of [Cu(appc)Cl₂], (appc=N1-(2-acetylpyridine)pyridine-2-carboxamidrazone). *Inorganica Chimica Acta.* v. 319, p.p 90-94, 2001.
59. **M. Barcel´o-Oliver, A. Garc´ia-Raso, A. Terr´on et al.,** Synthesis and mass spectroscopy kinetics of a novel ternary copper(II) complex with cytotoxic activity against cancer cells., *Journal of Inorganic Biochemistry.* vol. 101, no. 4, pp. 649–659, 2007.
60. **A. TH. Chaviara, P. C. Christidis, A. Papageorgiou, E.Chrysogelou, D. J. Hadjipavlou-Litina, and C. A. Bolos.** “In vivo anticancer, anti- inflammatory, and toxicity studies of mixed-ligand Cu(II) complexes of dien and its Schiff dibaseswith heterocyclic aldehydes and 2-amino-2-thiazoline. Crystalstructure of [Cu(dien)(Br)(2a-2tzn)](Br)(H₂O). *Journal of Inorganic Biochemistry.* vol. 99, no. 11, pp. 2102–2109., 2005.
61. **M. E. Katsarou, E. K. Efthimiadou, G. Psomas, A. Karaliota and D. Vourloumis.** Novel copper(II) complex of Npropyl-norfloxacin and 1,10-phenanthroline with enhanced antileukemic and DNA nuclease activities. *Journal of Medicinal Chemistry.* vol. 51, no. 3, pp. 470–478, 2008.

62. **E. K. Efthimiadou, M. E. Katsarou, A. Karaliota, and G. Psomas.** Copper(II) complexes with sparfloxacin and nitrogen-donor heterocyclic ligands: structure-activity relationship. *Journal of Inorganic Biochemistry.* vol. 102, no. 4, pp. 910–920, 2008.
63. **Nicole T. Watt, Isobel J. Whitehouse, Nigel M. Hooper.** The Role of Zinc in Alzheimer's Disease. *International Journal of Alzheimer's Disease.* 2011.
64. **Nazanin Roohani, Richard Hurrell, Roya Kelishadi, Rainer Schulin.** Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences.* v. 18, p.p 144–157., 2013.
65. **Krebs, Nancy F.** Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tract. *The Journal of Nutrition.* v. 130, p.p 1374-1377, 2000.
66. **Tomoki Kimura, Taiho Kambe.** The Functions of Metallothionein and ZIP and ZnT Transporters: An Overview and Perspective. *International Journal of Molecular Sciences.* v. 17, p.p 336, 2016.
67. **He Song, David L. Wilson, Erik R. Farquhar, Edwin A. Lewis, Joseph P. Emerson.** Revisiting Zinc Coordination in Human Carbonic Anhydrase II. *Inorganic Chemistry.* v. 51, is. 20, p.p 11098-11105, 2012.
68. **DEBRA R. HOLLAND, ANDREW C. HAUSRATH, DOUG JUERS, BRIAN W. MATTHEWS.** Structural analysis of zinc substitutions in the active site of thermolysin. *Protein Science.* v. 4, p.p 1955-1965, 1995.
69. **Jörnvall H, Persson B, Jeffery J.** Characteristics of alcohol/polyol dehydrogenases. The zinc-containing long-chain alcohol dehydrogenases. *European journal of biochemistry.* v. 167, p.p 195-201, 1987 .
70. **Huijia Yin, Zhou Yang, Xinyu Nie, Shannan Li, Xuyang Sun, Chao Gao, Zenghang Wang, Guangming Zhou, Ping Xu, Chunyu Yang.** Functional and cooperative stabilization of a two-metal (Ca, Zn) center in α -amylase derived from Flavobacteriaceae species. *Scientific Reports .* v. 7, Article number: 17933 , 2017.
71. **Vladimir Pelmeshnikov, Per E. M. Siegbahn.** Copper-Zinc Superoxide Dismutase: Theoretical Insights into the Catalytic Mechanism. *Inorganic Chemistry.* v. 44,p.p 3311-3320, 2005.
72. **Dmitriy Markov, Tatyana Naryshkina, Arkady Mustaev, Konstantin Severinov.** A zinc-binding site in the largest subunit of DNA-dependent RNA polymerase is involved in enzyme assembly. *Genes & Development.* v. 13, p.p 2439–2448., 1999.
73. **John H. Laity, Brian M. Lee, Peter E. Wright.** Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity. *Current Opinion in Structural Biology.* v. 11, is. 1, p.p 39-46, 2001.
74. **Julia Pasquet, Yves Chevalier, Jocelyne Pelletier.** The contribution of zinc ions to the antimicrobial activity of zinc oxide. *Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects.* v.457, p.p 263–274, 2014.
75. **Derry JE, McLean WM, Freeman JB.** A study of the percutaneous absorption from topically applied zinc oxide ointment. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition.* v.7, is.2, p.p 131-135, 1983.
76. **Larson, C., Roy, S., Khan, A., Rahman, A.,Qadri, F.** Zinc Treatment to Under-five Children: Applications to Improve Child Survival and Reduce Burden of Disease. *Journal of Health, Population and Nutrition.,* v.26 n.3, p.p 356-365., 2008.
77. **Muhammad Pervaiz, Aqsa Riaz, Anfal Munir, Zohaib Saeed, Shah Hussain,Ayoub Rashid, Ahmad Adnan.** Synthesis and Characterization of sulfonamide metal complexes as antimicrobial agents. *Journal of Molecular Structure.* v. 1202, nu. 127284, 2019.
78. **D Kartina, A W Wahab, A Ahmad, R Irfandi, I Raya.** In vitro antibacterial and anticancer activity of Zn(II)Valinedithiocarbamate complexes. *Journal of Physics: Conference Series.* v. 1341 nu. 032042, 2019.
79. **Hijazi Abu Ali, Baha'a aJabali.** Synthesis, characterization and biological activity of novel complexes of zinc(II) diclofenac with nitrogen based ligands. *Polyhedron.* v. 107. p.p 97-106, 2017.

80. **Ana Belén Lago, Arantxa Pino-Cuevas, Rosa Carballoa, Ezequiel M. Vázquez-López.** A new metal–organic polymeric system capable of stimuli-responsive controlled release of the drug ibuprofen. *Dalton Transactions*. v. 45, p.p 1614-1621, 2016.
81. **A. Tarushi, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, D.P. Kessissoglou, A.N.Papadopoulos, G. Psomas.** Interaction of zinc(II) with the non-steroidal anti-inflammatory drug niflumic acid. *J. Inorg. Biochem.* . v.176, p.p 100-112, 2017.
82. **P. Lemoine, B. Viossat, N.H. Dung, A. Tomas, G. Morgant, F.T. Greenaway, J.R.J.Sorenson,.** Synthesis, crystal structures, and anti-convulsant activities of ternary [ZnII(3,5-diisopropylsalicylate)2], [ZnII(salicylate)2] and [ZnII(aspirinate)2] complexes. *J. Inorg. Biochem.* v.98, p.p 1734-1749, 2004.
83. **A.A. Khandar, Z. Mirzaei-Kalar, J. White, S.A. Hosseini-Yazdi, A. Jouyban,.** Synthesis, X-ray crystal structure and solubility of a new zinc–naproxen complex: Potentiometric and thermodynamic studies in methanol + water mixtures. *Journal of Molecular Liquids*. v.224, p.p 684-693, 2016.
84. **A. Tarushi, X. Totta, C. Raptopoulou, V. Psycharis, G. Psomas, D.P.Kessissoglou, Dalton Trans. 41 (2012) 7082–7091.** Structural features of mono- and tri-nuclear Zn(ii) complexes with a non-steroidal anti-inflammatory drug as ligand. *Dalton Transactions*. v. 41 p.p 7082–7091, 2012.
85. **R. Smolkova, V. Zelenak, L. Smolko, D. Sabolova, J. Kuchar, R. Gyepes,.** Novel Zn(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory ligand, flufenamic acid: Characterization, topoisomerase I inhibition activity, DNA and HSA binding studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v. 177, p.p 143-158, 2017.
86. **Hijazi Abu Ali, Suhad N Omar, Mohanad D Darawsheh, Hadeel Fares.** Synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc (II) ibuprofen complexes with nitrogen-based ligands. *Journal of Coordination Chemistry*. v. 69, p.p 1110-1122, 2016.
87. **B. Jabali, H.A. Ali, Polyhedron 117 (2016) 249–258.** New zinc(II) complexes of the Non-steroidal Anti-Inflammatory Drug (indomethacin) and various nitrogen donor ligands. Synthesis, characterization and biological activity. *Polyhedron*. v.117, p.p 249-258, 2016.
88. **M. Lazou, A.G. Hatzidimitriou, A.N. Papadopoulos, G. Psomas,.** Zinc-oxaprozin compounds: Synthesis, structure and biological activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v. 195, p.p 101-110, 2019.
89. **R. Smolkova, V. Zelenak, L. Smolko, J. Kuchar, M. Rabajdova, M. Ferencakova, M. Marekova.** Novel zinc complexes of a non-steroidal anti-inflammatory drug, niflumic acid: Structural characterization, human-DNA and albumin binding properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v.153, p.p 131-139, 2018.
90. **A. Tarushi, Z. Karafrou, J. Kljun, I. Turel, G. Psomas, A.N. Papadopoulos, D.P.Kessissoglou.** Antioxidant capacity and DNA-interaction studies of zinc complexes with a non-steroidal anti-inflammatory drug, mefenamic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.128, p.p 85-96, 2013.
91. **A. Tarushi, C. Kakoulidou, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, D.P. Kessissoglou, I.Zoi, A.N. Papadopoulos, G. Psomas,.** Zinc complexes of diflunisal: Synthesis, characterization, structure, antioxidant activity, and in vitro and in silico study of the interaction with DNA and albumins. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v. 170, p.p 85-97, 2017.
92. **A. Tarushi, P. Kastanias, C.P. Raptopoulou, V. Psycharis, D.P. Kessissoglou, A.N.Papadopoulos, G. PsomasPapadopoulos, G. Psomas.** Zinc complexes of flufenamic acid: Characterization and biological evaluation. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.163 p.p 332–345., 2016.
93. **A. Tarushi, X. Totta, A. Papadopoulos, J. Kljun, I. Turel, D.P. Kessissoglou, G.Psomas,.** Antioxidant activity and interaction with DNA and albumins of zinc–tolfenamato complexes. Crystal structure of

- [Zn(tolfenamato)₂(2,2'-dipyridylketoneoxime)₂]. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 74 p.p 87–198., 2014.
94. **Crichton, Robert**. *Biological Inorganic Chemistry A New Introduction to Molecular Structure and Function*. s.l. : A New Introduction to Molecular Structure and Function, Elsevier, 2018.
95. **Ines A Ehrnstorfer, Eric R Geertsma, Els Pardon, Jan Steyaert & Raimund Dutzler**. Crystal structure of a SLC11 (NRAMP) transporter reveals the basis for transition-metal ion transport. *Nature Structural & Molecular Biology*. v. 21, p.p 990–996, 2014.
96. **Nazanin Abbaspour, Richard Hurrell, and Roya Kelishadi**. Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*. v. 19, p.p 164-174, 2014.
97. **Roat-Malone, Rosette M**. *Bioinorganic Chemistry: A Short Course, Second Edition*. Chapter 7, Iron-Containing Proteins and Enzymes (Pages: 343-476) : s.n., 2007.
98. **Z. Wang, C. Li, M. Ellenburg, E. Soistman, J. Ruble, B. Wright, J. X. Ho and D. C. Carter**. Structure of human ferritin L chain. *Acta Crystallographica Section D*. v. 62, p.p 800-806, 2006.
99. **Zakaria Halime, Hiroaki Kotani, Yuqi Li, Shunichi Fukuzumi, and Kenneth D. Karlin**. Homogeneous catalytic O₂ reduction to water by a cytochrome c oxidase model with trapping of intermediates and mechanistic insights. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v. 108, p.p 13990-13994, 2011 .
100. **Pernilla Wittung-Stafshede, Jennifer C. Lee, Jay R. Winkler, and Harry B. Gray**. Cytochrome b562 folding triggered by electron transfer: Approaching the speed limit for formation of a four-helix-bundle protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. v. 96. p.p 6587-6590, 1999.
101. **G.Vergères, L.Waskella**. Cytochrome b5, its functions, structure and membrane topology. *Biochimie*. v. 77, p.p 604-620, 1995.
102. **Groves, John T**. Cytochrome P450 enzymes: understanding the biochemical hieroglyphs . *F1000 Research* . 178, 2015.
103. **Marengo-Rowe, Alain J**. Structure-function relations of human hemoglobins. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. . v.19, p.p 239-245, 2006.
104. **Beutler E**. History of iron in medicine. *Blood Cells Mol Dis*. v. 29, p.p 297-308, 2002.
105. **Olus Api, Christian Breyman, Mustafa Çetiner, Cansun Demir, Tevfik Eceder**. Diagnosis and treatment of iron deficiency anemia during pregnancy and the postpartum period: Iron deficiency anemia working group consensus report. *Turk J Obstet Gynecol.*. v. 12, p.p 173-181, 2015.
106. **Michael Alleyne, MD, McDonald K. Horne, MD and Jeffery L. Miller, MD**. Individualized Treatment for Iron-deficiency Anemia in Adults. *The American Journal of Medicine*. v.121, p.p 943-948, 2008.
107. **Gordeuk VR, Brittenham GM, McLaren CE, Hughes MA, Keating LJ**. Carbonyl iron therapy for iron deficiency anemia. *Blood*. v. 67, .p.745-752., 1986.
108. **Mc Cullough, Uhlig K, Neylan JF, Pergola PE, Fishbane S**. Usefulness of Oral Ferric Citrate in Patients With Iron-Deficiency Anemia and Chronic Kidney Disease With or Without Heart Failure. *The American journal of cardiology*. v.122. p.p 683-688., 2018.
109. **Johnson, Cage S**. Intravenous Iron-Dextran in the Treatment of Iron Deficient Anemia. *Journal of the National medical Association*. v. 71. p.p 1101-1105, 1979.
110. **Rodolfo Delfini Cançado, Pedro Otavio Novis de Figueiredo, Maria Cristina Albe Olivato, and Carlos Sérgio Chiattonne**. Efficacy and safety of intravenous iron sucrose in treating adults with iron deficiency anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. v. 33, p.p 439–443., 2011.

111. **Keating, Katherine A. Lyseng-Williamson & Gillian M.** Ferric Carboxymaltose A Review of its Use in Iron-Deficiency Anaemia. *Adis Drug Evaluation*. v. 69, p.p 739–756, 2009.
112. **Casparis D, Del Carlo P, Branconi F, Grossi A, Merante D, Gafforio L.** [Effectiveness and tolerability of oral liquid ferrous gluconate in iron-deficiency anemia in pregnancy and in the immediate post-partum period: comparison with other liquid or solid formulations containing bivalent or trivalent iron]. *Minerva Ginecol*. v. 48, p.p 511-518., 1996.
113. **Zlotkin S, Arthur P, Antwi KY, Yeung G.** Treatment of anemia with microencapsulated ferrous fumarate plus ascorbic acid supplied as sprinkles to complementary (weaning) foods. *Am J Clin Nutr*. v. 74, p.p 791-795, 2001.
114. **DW, Coyne.** Ferumoxytol for treatment of iron deficiency anemia in patients with chronic kidney disease. *Expert Opin Pharmacother*. v. 10, p.p 2563-2568, 2009.
115. **Gasche C, Ahmad T, Tulassay Z, Baumgart DC, Bokemeyer B, Büning C, Howaldt S, Stallmach A.** Ferric maltol is effective in correcting iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease: results from a phase-3 clinical trial program. *Inflamm Bowel Dis*. . v. 21, p.p 579-588, 2015.
116. **Pollock RF, Biggar P.** Indirect methods of comparison of the safety of ferric derisomaltose, iron sucrose and ferric carboxymaltose in the treatment of iron deficiency anemia. *Expert Rev Hematol*. v.13, p.p 187-195, 2020 .
117. **Des R. Richardson, Paul V. Bernhardt.** Crystal and molecular structure of 2-hydroxy-1-naphthaldehyde isonicotinoyl hydrazone (NIH) and its iron(III) complex: an iron chelator with anti-tumour activity. *JBIC* . v. 4, p.p 266–273, 1999.
118. **Takahashi H, Hayakawa I, Akimoto T.** The history of the development and changes of quinolone antibacterial agents. *Yakushigaku Zasshi*. . v.38, p.p 161-179., 2003.
119. **Ball, Peter.** Quinolone generations: natural history or natural selection? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. v.46, p.p 17-24, 2000.
120. **Katie J. Aldred, Robert J. Kerns, Neil Osherooff.** Resistance, Mechanism of Quinolone Action and. *Biochemistry*. v.53, p.p 1565-1574, 2014.
121. **Willmore E, de Caux S, Sunter NJ, Tilby MJ, Jackson GH, Austin CA, Durkacz BW.** A novel DNA-dependent protein kinase inhibitor, NU7026, potentiates the cytotoxicity of topoisomerase II poisons used in the treatment of leukemia. *Blood*. v. 103, p.p 4659-4665, 2004.
122. **L L Shen, W E Kohlbrenner, D Weigl and J Baranowski.** Mechanism of quinolone inhibition of DNA gyrase. Appearance of unique norfloxacin binding sites in enzyme-DNA complexes. *The Journal of Biological Chemistry*. v. 264, p.p 2973-2978., 1989.
123. **I. Turel, I. Leban, M. Zupancic, P. Bukovec and K. Gruber.** An Adduct of Magnesium Sulfate with a Member of the Quinolone Family (Ciprofloxacin). *Acta Cryst*. C52, 2443-2445, 1996.
124. **M. Ruiz, L. Perello, J. Server–Carrio, R. Ortiz, S. Garcia–Granda, M.R. Diaz, E.Canton.,** Cinoxacin complexes with divalent metal ions. Spectroscopic characterization. Crystal structure of a new dinuclear Cd(II) complex having two chelate-bridging carboxylate groups. Antibacterial studies. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.69, p.p 231-239, 1998.
125. **Panagiotis Xerras, Anna-Maria Bacharidou, Stavros Kalogiannis, Franc Perdih, Marina V.** Extending the family of quinolone antibacterials to new copper derivatives: self-assembly, structural and topological features, catalytic and biological activity. *New J. Chem*. v.42, p.p 19644-19658, 2018.

126. **Alexandra Kostelidou, Stavros Kalogiannis, Olga-Aggeliki Begou, Franc Perdih, Iztok Turel, George Psomas.** Synthesis, structure and biological activity of copper(II) complexes with gatifloxacin. *Polyhedron*. v. 119, p.p 359-370, 2016.
127. **Iztok Turel, Ivan Leban, Nataša Bukovec.** Synthesis, characterization, and crystal structure of a copper(II) complex with quinolone family member (ciprofloxacin): bis(1)-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-piperazin-1ylquinoline-3-carboxylate) copper(II) chloride hexahydrate. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.4, p.p 273-282, 1994.
128. **Efthimiadou EK, Thomadaki H, Sanakis Y, Raptopoulou CP, Katsaros N, Scorilas A, Karaliota A, Psomas G.** Structure and biological properties of the copper(II) complex with the quinolone antibacterial drug N-propyl-norfloxacin and 2,2'-bipyridine. *J Inorg Biochem*. v. 101, p.p 67-73, 2007.
129. **George Psomas, Alketa Tarushi, Eleni K.Efthimiadou, Yiannis Sanakis, Catherine P.Raptopoulou, Nikos Katsaros.** Synthesis, structure and biological activity of copper(II) complexes with oxolinic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v. 100, p.p 1764-1773, 2006.
130. **Eleni K. Efthimiadou, Yiannis Sanakis, Catherine P. Raptopoulou, Alexandra Karaliota, Nikos Katsaros and George Psomas.** Crystal structure, spectroscopic, and biological study of the copper(II) complex with third-generation quinolone antibiotic sparfloxacin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v.16, p.p 3864-3867, 2006.
131. **Chrisoula Kakoulidou, Stavros Kalogiannis, Panagiotis Angaridis, George Psomas.** Synthesis, characterization and biological activity of Zn coordination compounds with the quinolone gatifloxacin. *Polyhedron* . v. 166, p.p 98-108, 2019.
132. **Alketa Tarushi, George Psomas, Catherine P. Raptopoulou, Dimitris P. Kessissoglou.** Zinc complexes of the antibacterial drug oxolinic acid: Structure and DNA-binding properties. *Journal of Inorganic Biochemistry* . v.103, p.p 898-905, 2009.
133. **Alketa Tarushi, Eleni Polatoglou, Jakob Kljun, Iztok Turel, George Psomas and Dimitris P. Kessissoglou.** Interaction of Zn(II) with quinolone drugs: Structure and biological evaluation. *Dalton Trans*. v. 40, 9461, 2011.
134. **Alketa Tarushi, Jakob Kljun, Iztok Turel, Anastasia A. Pantazaki, George Psomas.** Zinc(II) complexes with the quinolone antibacterial drug flumequine: structure, DNA- and albumin-binding. *NewJ.Chem*. v. 37, 342, 2013.
135. **Eleni K. Efthimiadou, Alexandra Karaliota, George Psomas.** Metal complexes of the third-generation quinolone antimicrobial drug sparfloxacin: Structure and biological evaluation. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v. 104, p.p 455-466, 2010.
136. **Eleni K. Efthimiadou, Alexandra Karaliota, George Psomas.** Mononuclear metal complexes of the second-generation quinolone antibacterial agent enrofloxacin: Synthesis, structure, antibacterial activity and interaction with DNA. *Polyhedron*. v.27, p.p 1729-1738, 2008.
137. **Psomas, George.** Mononuclear metal complexes with ciprofloxacin: Synthesis, characterization and DNA-binding properties. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.102, p.p 1798-1811, 2008.
138. **Monk JP, Campoli-Richards DM.** Ofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*., v. 33, p.p 346-391, 1987.
139. **V, Uivarosi.** Metal complexes of quinolone antibiotics and their applications: an update. *Molecules*. v.11, p.p 11153-11197, 2013 .

140. **Iztok Turel, Jakob Kljun, Franc Perdih, Elena Morozova, Vladimir Bakulev, Nina Kasyanenko.** First Ruthenium Organometallic Complex of Antibacterial Agent Ofloxacin. Crystal Structure and Interactions with DNA. *Inorg. Chem.* . v.49. p.p 10750-10752, 2010.
141. **Sherif M. Abd El-Hamid, Sadeek A. Sadeek, Wael A. Zordok, Walaa H. El-Shwiniy.** Synthesis, spectroscopic studies, DFT calculations, cytotoxicity and antimicrobial activity of some metal complexes with ofloxacin and 2,2'-bipyridine. *Journal of Molecular Structure.* v.1176, p.p 422-433, 2019.
142. **S.A. Sadeek, S.M. Abd El-Hamid.** Preparation, characterization and cytotoxicity studies of some transition metal complexes with ofloxacin and 1,10-phenanthroline mixed ligand. *Journal of Molecular Structure.* v. 1122, p.p 175-185, 2016.
143. **Golcua, Aysegul.** Ofloxacin Metal Complexes: Synthesis, Characterization, Analytical Properties, and DNA Binding Studies. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry.* v.44, p.p 1509-1520, 2014.
144. **Min Xu, Yu-cui Zhang, Zhi-hong Xu, Zheng-zhi Zeng.** Crystal structure, biological studies of water-soluble rare earth metal complexes with an ofloxacin derivative. *Inorganica Chimica Acta.* v. 384, p.p 324–332, 2012.
145. **E., Rizk.** A worldwide clinical overview of lomefloxacin, a once-daily fluoroquinolone. *Int J Antimicrob Agents.* v.2, p.p 67-78, 1992.
146. **Patrícia Fernandes, Isabel Sousa, Luís Cunha-Silva, Mariana Ferreira, Baltazar de Castro, Eulália F. Pereira, Maria J. Feio, Paula Gameiro.** Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) lomefloxacin ternary complex. *Journal of Inorganic Biochemistry.* v. 131, p.p21-29, 2014.
147. **Sadeek A. Sadeek, Walaa H. El-Shwiniy.** Preparation, structure and microbial evaluation of metal complexes of the second generation quinolone antibacterial drug lomefloxacin. *Journal of Molecular Structure* . v.981, p.p 130-138, 2010.
148. **Hanan F. Abd El-Halim, Gehad G. Mohamed, Maher M.I. El-Dessouky, Walaa H. Mahmoud.** Ligational behaviour of lomefloxacin drug towards Cr(III), Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Th(IV) and UO₂(VI) ions: Synthesis, structural characterization and biological activity studies. *Spectrochimica Acta* . v.82, p.p 8-19, 2011.
149. **Henwood JM, Monk JP.** Enoxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* v.36, p.p 32-66, 1988.
150. **Saeed Arayne, Najma Sultana, Urooj Haroon, M. Ahmed Mesaik.** Synthesis, Characterization, Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of EnoxacinMetal Complexes. *Bioinorganic Chemistry and Applications.* Volume 2009, Article ID 914105, 6 pages.
151. **N. Jimenez-Garrido, L. Perello, R. Ortiz, G. Alzuet, M. Gonzalez-Alvarez, E. Canton, M. Liu-Gonzalez, S. Garcia-Granda, M. Perez-Priede.** Antibacterial studies, DNA oxidative cleavage, and crystal structures of Cu(II) and Co(II) complexes with two quinolone family members, ciprofloxacin and enoxacin. *Journal of Inorganic Biochemistry.* v.99, p.p677-689, 2005.
152. **DI-CHANG ZHONG, ZHEN-FENG CHEN, YAN-CHENG LIU,.** Syntheses, crystal structures of Ni(II), Ag(I)-enoxacin complexes, and their antibacterial activity. *Journal of Coordination Chemistry.* v.63, p.p 3146-3154, 2010.
153. **J. E. Weder, C. T. Dillon, T. W. Hambley et al.** "Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized,". *Coordination Chemistry Review.* vol. 232, no. 1-2, pp. 95–126, 2002.

154. **Spyros Perontsis, Antonios G. Hatzidimitriou, Olga-Aggeliki Begou, Athanasios N. Papadopoulos, George Psomas.** Characterization and biological properties of. *Journal of Inorganic Biochemistry*. v.162, p.p. 22-30, 2016.
155. **Stella Fountoulaki, Franc Perdih, Iztok Turel, Dimitris P.Kessissoglou, George Psomas.** Non-steroidal anti-inflammatory drug diflunisal interacting with Cu(II). Structure and biological features. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Volume 105, Issue 12, December 2011, Pages 1645-1655.
156. **Charikleia Tolia, Athanassios N.Papadopoulos, Catherine P.Raptopoulou, Vassilis Psycharis, Claudio Garino, Luca Salassa, George Psomas.** Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid: Structure, antioxidant activity and binding to DNA and albumins. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Volume 123, June 2013, Pages 53-65.
157. **IDimitra Kovala-Demertzia, Angela Theodorou, Mavroudis A.Demertzis, Catherine P.Raptopoulou, Aris Terzis,.** Synthesis and characterization of tetrakis- μ -2-[(2,6dichlorophenyl) amino] benzeneacetodiaquodicopper(II) dihydrate and tetrakis- μ -2-[(2,6dichlorophenyl)amino]benzeneaceto dimethylformamidodicopper(II). *Journal of Inorganic Biochemistry*. Volume 65, Issue 3, 15 February 1997, Pages 151-157.
158. **B. Viossat, J. Daran, G. Savouret, G. Morgant, F.T. Greenaway, N. Dung, V.A.B. Viossat, J. Daran, G. Savouret, G. Morgant, F.T. Greenaway, N. Dung, V.A.B. Viossat, J. Daran, G. Savouret, G. Morgant, F.T. Greenaway, N. Dung, V.A.Pham-Tran, J.R.J. Sorenson,.** *J. Inorg. Biochem.* 96 (2003) 375–385.
159. **S.H. Alisir, N. Dege, R. Tapramaz,.** *Acta Crystallogr. Sect. C* 75 (2019) 388–397.
160. **R.P. Sharma, S. Kumar, P. Venugopalan, V. Ferretti, A. Tarushi, G. Psomas, M.Witwicki,.** *RSC Adv.* 6 (2016) 88546–88556.
165. **G. Psomas, A. Tarushi, E. K. Efthimiadou, Y. Sanakis, C.P. Raptopoulou, and N. Katsaros,.** Synthesis, structure and biological activity of copper(II) complexes with oxolinic acid. *Journal of Inorganic Biochemistry*. vol. 100, no. 11, pp. 1764–1773., 2006