







**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΤΟΜΕΑΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

ΤΟΜΕΑΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΔΡΑΣΕΩΝ ΝΕΩΝ  
ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ  
ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ**

**ΛΕΩΝΙΔΑΣ Ε. ΡΟΥΜΠΑΤΗΣ**  
ΧΗΜΙΚΟΣ Μ.Δ.Ε.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2014**



«Η Έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα, Νόμος 5343/32, Άρθρο 202, Παράγραφος 2, (Νομική Κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»



## **ΝΟΜΙΚΗ ΚΑΤΟΧΥΡΩΣΗ**

Ημερομηνία αίτησης του κ. Ρουμπάτη Λεωνίδα: 7-10-2009

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 670<sup>α</sup>/3-11-2009

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

### Επιβλέπων

Καρκαμπούνας Σπυρίδωνας, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας, με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.

### Μέλη

Βελτσίστας Παναγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων.  
Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.

Ανασύσταση Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Αριθμ.Συνεδρ. 690<sup>α</sup>/30-6-2010.

### Επιβλέπων

Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.

### Μέλη

Καρκαμπούνας Σπυρίδωνας, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας, με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.

Βελτσίστας Παναγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 7- 12- 2009.

«Μελέτη Βιολογικών Δράσεων Νέων Μεταλλικών Συμπλόκων του Βαναδίου, με Κυτταροτοξικές Ιδιότητες»

## ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 747<sup>α</sup>/31-1-2013

1. Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.
2. Καμπανός Θεμιστοκλής, Καθηγητής Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων.
3. Περλεπές Σπυρίδωνας, Καθηγητής Χημείας, Παν/μίου Πατρών.
4. Βελτσίστας Παναγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής Χημείας, Παν/μίου Ιωαννίνων.
5. Καλφακάκου Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.
6. Πέσχος Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας, με έμφαση στην Κυτταρική Φυσιολογία, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.
7. Καρκαμπούνας Σπυρίδωνας, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας, με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία, Ιατρικής Σχολής, Παν/μίου Ιωαννίνων.

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 12-7-2013.

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**Τσαφλίδου Μαργαρίτα**

**Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής**





**Στην μνήμη του Πατέρα μου Ευθύμιου  
και του Παππού μου Αντωνίου**



**"Ανήθικος είναι, αυτός που έμαθε να έχει:**

- Πολιτική χωρίς αρχές.
- Απόλαυση χωρίς συναίσθημα.
- Γνώση χωρίς χαρακτήρα.
- Επιστήμη χωρίς ανθρωπιά.
- Λατρεία χωρίς θυσία".

**"Στην αρχή σε αγνοούν, στη συνέχεια γελούν μαζί σου, μετά σε πολεμούν και στο τέλος Νικάς".**

**Mahatma Gandhi**



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η χρήση διαφόρων χημικών ουσιών, για τη θεραπεία του καρκίνου ξεκινά πολλούς αιώνες παλαιότερα με τη χρήση δρογών, που εμφάνισαν αντικαρκινική δράση, όπως είναι η Ρητίνη Ποδοφύλλου η οποία περιέχει Ποδοφυλλοτοξίνη, το *Solanum Dulcamara* το οποίο περιέχει σολαμαρίνη, η *Cetraria*, η *Usnea*, η *Cladonia* που περιέχουν ουσκινικό οξύ. Αργότερα, στην προσπάθεια αυτή επιστρατεύτηκε και η συνθετική χημεία, η οποία έχει προσφέρει και συνεχίζει μαζί με τις φυσικές χημικές ουσίες να προσφέρει σημαντική βοήθεια στη θεραπευτική του καρκίνου. Επομένως, δεν μπορεί παρά να νιώθει δέος, όποιος συμβάλλει σε αυτή την γιγάντια προσπάθεια, αντιμετώπισης μιας ασθένειας η οποία με καλπάζοντα ρυθμό εμφανίζει συνεχώς αυξανόμενες επιπτώσεις στο γενικό πληθυσμό. Επομένως, δεν μου μένει παρά να ευχαριστήσω εκ βάθους καρδιάς τους ανθρώπους, οι οποίοι μου έδωσαν την δυνατότητα να συνεργαστώ μαζί τους και συνέδραμαν στην προσπάθειά μου, να συμβάλλω έστω και λίγο σε αυτό το τεράστιο εγχείρημα. Πρώτα απ όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Θεό που μου έδωσε υγεία, δύναμη και υπομονή για να φτάσω στην ολοκλήρωση της Διδακτορικής Διατριβής.

Να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα της διατριβής μου, τον Καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής, Κ<sup>ο</sup> Άγγελο Ευαγγέλου, για την ευκαιρία που μου προσέφερε, ώστε να ασχοληθώ με αυτό το δύσκολο ερευνητικό πεδίο, αλλά και την ανεκτίμητη βοήθεια και υποστήριξη, που μου προσέφερε απλόχερα, όλα αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή Χημείας του Πανεπιστημίου Πατρών Κ<sup>ο</sup> Περλεπέ Σπυρίδωνα, για την υπέρ πολύτιμη συμμετοχή του, στην μελέτη και στο χαρακτηρισμό των συμπλόκων ενώσεων, αλλά και για την άφογη συνεργασία μας όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή Ιατρικής Κ<sup>ο</sup> Σπυρίδωνα Καρκαμπούνα, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοριστική βοήθεια του, στην διεξαγωγή των βιοϊατρικών πειραμάτων και στην συγγραφή των δοκιμίων της Διατριβής. Η συνεισφορά του όλα αυτά τα χρόνια, υπήρξε καθοριστική και λίαν εποικοδομητική.

Ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Κ<sup>α</sup> Βασιλική Καλφακάκου, τον Καθηγητή Χημείας κ. Καμπανό Θεμιστοκλή, τον Επίκουρο Καθηγητή Κ<sup>ο</sup> Πέσχο Δημήτριο για την βοήθεια τους και τις πολύ χρήσιμες συμβουλές τους.

Εδώ θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου και θα του είμαι πάντα ευγνώμων για όλη μου την ζωή τον Αναπληρωτή Καθηγητή Χημείας Κ<sup>ο</sup> Βελτσίστα Παναγιώτη για την σύνθεση των νέων συμπλόκων ενώσεων του βαναδίου, για την πολύ μεγάλη βοήθεια στην συγγραφή της Διδακτορικής Διατριβής, για τις συμβουλές και τις πάρα πολλές γνώσεις, που απέκτησα όλα αυτά τα χρόνια δίπλα του. Δεν είναι τυχαία η θέση που επέλεξα να ευχαριστήσω των Κ<sup>ο</sup> Βελτσίστα Παναγιώτη, γιατί η πρώτη μου ευχαριστία και αυτή συνδέονται πάρα πολύ για μένα, αλλά και για τον ίδιο.

Ευχαριστώ το κοινωφελές "Ίδρυμα Ιωάννη Σ. Λάτση", για την οικονομική υποστήριξη που μου παρείχε, με την μορφή υποτροφίας, κατά την διάρκεια της εκπόνησης της Διαδακτορικής μου Διατριβής,

Είμαι βαθιά υποχρεωμένος προς τον Αναπληρωτή Καθηγητή της Οργανικής Χημείας Κ<sup>ο</sup> Σκομπρίδη Κωνσταντίνο, για την πολύτιμη βοήθεια του στις διορθώσεις και τις εύστοχες παρεμβάσεις του, στα εδάφια Οργανικής Χημείας της Διατριβής.

Είμαι επίσης βαθιά υποχρεωμένος προς τον Επίκουρο Καθηγητή Βιοχημείας Κ<sup>ο</sup> Περυσινάκη Άγγελο, για την προθυμία του να διορθώσει και να ελέγξει τα βιοχημικά εδάφια της Διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά, από την θέσης αυτή τον Καθηγητή της Οργανικής Χημείας, του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Πατρών, Κ<sup>ο</sup> Διονύσιο Παπαϊωάννου, ο οποίος μετά

από επίπονη προσπάθεια και διεξοδική μελέτη κατέληξε στην πρόταση του νέου μηχανισμού, της ταυτόχρονης οξειδο-αναγωγής της πιπεραζίνης, παρουσία O<sub>2</sub> και βαναδικών ανιόντων, προς την πουτρεσκίνη.

Τον Πατέρα Αγαπίωνα πρώην Γυμνασιάρχη, Θεολόγο καθηγητή ευχαριστώ, για την σημαντική τόνωση καρτερικότητας και μεταφυσικού στοχασμού, που μου ενέπνευσε, σε στιγμές ψυχολογικής φόρτισης και σωματικής καταπόνησης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως την υποψήφια διδάκτορα Γκιούλη Μαρία, για την πάρα πολύ σημαντική βοήθεια που μου προσέφερε όλα αυτά τα χρόνια, όσον αφορά την διεξαγωγή και την ολοκλήρωση των βιολογικών πειραμάτων.

Ευχαριστώ τον υποψήφιο Διδάκτορα του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Πατρών, Αναστασιάδη Νικόλαο για την βοήθεια του, στην επεξεργασία της δομής των συμπλόκων ενώσεων.

Είμαι βαθιά υποχρεωμένος προς τον Προϊστάμενο της Διεύθυνσης Μηχανοργάνωσης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Κ<sup>ο</sup>ν Κωνσταντίνο Πλατή, για την πάσης φύσεως συνδρομή του, σε υπηρεσιακά και τεχνικά θέματα πληροφορικής.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους χημικούς-κρυσταλλογράφους: α)-Βασιλική Ντόκορου του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, καθώς και β)-τους Αναστάσιο Τασιόπουλο, Μαρία Παπατριανταφυλλοπούλου και Ελένη Μούση, του Τμήματος Χημείας, του Πανεπιστημίου Κύπρου, για την εμπριθή αποτίμηση και την επιτυχή επίλυση της δομής, των πέντε νέων πολυβαναδικών συμπλόκων ενώσεων, της παρούσης διατριβής.

Ευχαριστώ την υποψήφια διδάκτορα Δήμα Ίριδα, τις γραμματείς και τα μέλη Ε.Τ.Ε.Π. και Ε.Ε.Δ.Ι.Π. για την άψογη συνεργασία μας.

Ευχαριστώ πολύ όλους του φίλους μου για την βοήθεια και την στήριξη που μου παρείχαν όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από τα βάθη της καρδιάς μου την μητέρα μου Σταυρούλα, τον αδερφό μου Ιωάννη, καθώς και την φίλη μου Κεσίδου Βικτώρια, για τη αδιάλειπτη αρωγή, ηθική υποστήριξη και την πολύπλευρη συμπαράσταση, που μου προσέφεραν καρτερικά, καθ' όλη την διαδρομή των πανεπιστημιακών σπουδών μου.

Λεωνίδας Ε. Ρουμπάτης

15-2-2014

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΔΑΦΙΟ	ΘΕΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΣΕΛΙΔΑΣ	ΣΕΛΙΔΑ
	Πρόλογος	1-2
	<b>ΕΔΑΦΙΟ Α: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΚΑΙ ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ</b>	7
1.0	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.0</b>	8
1	<b>Χημεία και Υδροχημεία των Απλών και Συμπλόκων Ενώσεων Βαναδίου</b>	8
1.1	Εισαγωγική Περιγραφή- Γενικά	8
1.2	Χημεία των Ενώσεων V(V) (d <sup>0</sup> )	11
1.3	Χημεία των Ενώσεων V(IV) (d <sup>1</sup> )	16
1.4	Χημεία των Ενώσεων V(III) (d <sup>2</sup> )	17
1.5	Χημεία των Ενώσεων V(II) (d <sup>3</sup> )	18
1.6	Καρβονύλια και Οργανομεταλλικές Ενώσεις του V(0) (d <sup>3</sup> )	20
1.7	Φασματοσκοπία <sup>51</sup> V NMR	21
1.8	Δράση των Ενώσεων Βαναδίου στα Βιολογικά Συστήματα	25
1.9	Αντιμετώπιση του Διαβήτη με Ενώσεις του Βαναδίου	26
1.9.1	Αντιμετώπιση του Καρκίνου με Ενώσεις του Βαναδίου	26
2	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.0</b>	29
2.0	<b>Χημεία και Ιδιότητες των υποκαταστατών</b>	29
2.1	<b>Πυριδίνη</b>	29
2.1.1	Εισαγωγή-Σημασία του Υποκαταστάτη	29
2.1.2	Ιστορική Ανασκόπηση- Φυσικές ιδιότητες	30
2.1.3	Μοριακές Ιδιότητες χρήσεις Πυριδίνης	33
2.1.4	Χημικές Ιδιότητες χρήσεις Πυριδίνης	34
2.1.5	Συνθετική Παραγωγή χρήσεις Πυριδίνης	38
2.1.6	Χημικές Αντιδράσεις χρήσεις Πυριδίνης	40
2.1.7	Παράγωγα χρήσεις Πυριδίνης	43
2.1.8	Αναλυτικές και Χημικές Εφαρμογές χρήσεις Πυριδίνης	48
2.1.9	Βιοϊατρική, Βιοχημεία, Τοξικολογία και Μεταβολισμός χρήσεις Πυριδίνης	51
2.1.10	Βιοχημικές και Φαρμακευτικές Δράσεις χρήσεις Πυριδίνης	53
2.2	<b>Νικοτιναμίδιο ή Βιταμίνη Β3</b>	57
2.2.1	Εισαγωγικό Ιστορικό	57
2.2.2	Φυσικές και Χημικές Ιδιότητες	59
2.2.3	Μέθοδοι Συνθετικής Παραγωγής Νικοτιναμιδίου	60
2.2.4	Διάφορα Παράγωγα και Σύμπλοκα Άλατα του Νικοτιναμιδίου	62
2.2.5	Ανασκόπηση χρήσεις Βιοχημείας Νικοτιναμιδίου και χρήσεις NAD	64
2.2.6	Βιολογικές και Βιοχημικές Δράσεις Νικοτιναμιδίου	65
2.2.7	Αναλυτικοί Προσδιορισμοί Νικοτιναμιδίου	70
2.2.8	Παθοφυσιολογία των Βιταμινών Β3	73
2.2.9	Θεραπευτικές Χρήσεις και Ιατρικές Εφαρμογές	75
2.2.10	Βιταμινική Δράση χρήσεις Βιταμίνης Β3	78
2.2.11	Ωφέλειες Συμπληρωμάτων Νιασίνης	79

2.2.12	Ασφάλεια – Αλληλεπιδράσεις	79
2.3	<b>Πιπεραζίνη</b>	80
2.3.1	Εισαγωγή Ανασκόπηση	80
2.3.2	Φυσικές και Χημικές Ιδιότητες	82
2.3.3	Συνθετικές Πορείες Απομόνωσης χρήσεις Πιπεραζίνης	83
2.3.4	Διάφορα Χρήσιμα Παράγωγα χρήσεις Πιπεραζίνης	84
2.3.5	Διάφορα Βιολογικά Παράγωγα χρήσεις Πιπεραζίνης	89
2.3.6	Φαρμακευτικές Χρήσεις χρήσεις Πιπεραζίνης	90
2.3.7	Αναλυτικές και Ανόργανες Εφαρμογές χρήσεις Πιπεραζίνης	97
2.3.8	Διάφορες Εφαρμογές και Χρήσεις Χρήσεις χρήσεις Πιπεραζίνης	103
2.4	<b>Καδαβερίνη</b>	107
2.4.1	Εισαγωγή Ανασκόπηση	107
2.4.2	Φυσικές και Χημικές Ιδιότητες	108
2.4.3	Διάφορα Παράγωγα Καδαβερίνης	109
2.4.4	Συνθετικές Πορείες χρήσεις Καδαβερίνης	111
2.4.5	Μικροβιακή Παραγωγή χρήσεις Καδαβερίνης	113
2.4.6	Βιολογικές Ιδιότητες των Βιογενικών Αμινών	114
2.4.7	Βιολογικές Ιδιότητες χρήσεις Καδαβερίνης	117
2.4.8	Χρήσεις και Αναλυτικές Εφαρμογές χρήσεις Καδαβερίνης	121
2.5	<b>Υδραζωτικό Νάτριο ή Αζίδιο του Νατρίου</b>	125
2.5.1	Ιστορική Ανασκόπηση χρήσεις Σύνθεσης του $\text{HN}_3$ και των Αλάτων του	125
2.5.2	Φυσικοχημικές Ιδιότητες του Υδραζωτικού Οξέος και των Αλάτων	126
2.5.3	Μοριακές Ιδιότητες των Υδραζωτικών Ενώσεων	129
2.5.4	Βιομηχανική Παραγωγή των Υδραζωτικών Παραγώγων	133
2.5.5	Αναλυτικοί Προσδιορισμοί των Υδραζωτικών Αλάτων	133
2.5.6	Εφαρμογές των Διαφόρων Αζιδιακών Ενώσεων στην Συνθετική Οργανική Χημεία	135
2.5.7	Διάφορα Παράγωγα του Υδραζωτικού Οξέος	137
2.5.8	Βιοχημικές Ιδιότητες και Τοξικότητα των Αζιδίων	143
2.5.9	Αδρανοποίηση των Υδραζωτικών Ενώσεων	143
2.5.10	Διάφορες Χρήσεις. Βιομηχανικές και Γεωργικές	144

3	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.0</b>	148
3.0	<b>Βιοχημική-Βιοϊατρική Περιγραφή Καρκινογένεσης. Μέθοδοι Χημειοθεραπείας</b>	148
3.1	Εισαγωγή-Ανασκόπηση -Νεοπλάσματα	148
3.2	Ταξινόμηση των Νεοπλασμάτων	148
3.3	Ιδιότητες των Κακοήθων Κυττάρων	150
3.4	Καρκινογένεση	151
3.5	Μοριακοί Μηχανισμοί Καρκινογένεσης	152
3.6	Η Χημειοθεραπεία του Καρκίνου	156
3.7	Παρενέργειες των Αντικαρκινικών Φαρμάκων	157
3.8	Κατηγορίες Αντικαρκινικών Φαρμάκων	158
3.8.1	Αλκυλιωτικοί Παράγοντες	159
3.8.2	Οι Αντιμεταβολίτες	164



3.8.3	Αντινεοπλασματικά Φάρμακα Φυτικής Προέλευσης	167
3.8.4	Αντιβιοτικά	169
3.8.5	Ορμόνες	171
3.8.6	Άλλες Ενώσεις με Αντικαρκινική Δράση	173

4	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.0</b>	175
4.0	<b>Θεραπευτικές αγωγές καρκίνου, με την χορήγηση ενώσεων του βαναδίου</b>	175
4.1	Εισαγωγική Περιγραφή	175
4.2	Χημεία και Βιοχημεία των Ενώσεων του Βαναδίου, στη Θεραπεία του Καρκίνου	176
4.3	Βιοκινητική Κατανομή και Μεταβολισμός του Βαναδίου	179
4.4	Τοξικότητα των Χημικών Ενώσεων του Βαναδίου σε Ανθρώπους και σε Ζώα	182
4.5	Αντικαρκινική Δράση των Βαναδιούχων Ενώσεων	184
4.6	Κυτταρικοί Μηχανισμοί Αντικαρκινικών Επιδράσεων των Ενώσεων του Βαναδίου	186
4.7	Χημικές και Βιοχημικές Επιδράσεις στον Κυτταρικό Πολλαπλασιασμό	187
4.8	Αποπτωτικές Επιδράσεις των Βαναδιούχων Ενώσεων	189
4.9	Οξειδωτικό Στρες των Κυττάρων, υπό των Χημικών Ενώσεων του Βαναδίου	194
4.10	Δυναμικές Αντιμεταστατικές Δράσεις των Χημικών Ενώσεων του Βαναδίου	197
4.11	Φαρμακευτική Αντίσταση και Χημικές Ενώσεις του Βαναδίου	199
4.12	Εφαρμογές Άλλων Μετάλλων σε Βιο-Ιατρικούς και Θεραπευτικούς Σκοπούς	202

	<b>ΕΔΑΦΙΟ Β: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	244
	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.0 ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΝΑΔΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ</b>	245
5.0.1	Αντιδραστήρια στη Σύνθεση, Κατεργασία και Διαλυτοποίηση των Συμπλόκων.	245
5.0.2	Συσκευές που Χρησιμοποιήθηκαν στον Χαρακτηρισμό των Νέων Συμπλόκων.	245
5.1	PYRIVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του Συμπλόκου: $[(pyH)_6(V_{10}O_{28}) \cdot 2H_2O]$	247
5.2	NICOTIVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του Συμπλόκου: $(LH)_4\{V_{10}O_{26}(OH)_2\} \cdot 2L \cdot 2H_2O$	256
5.3	RIPERVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του Βαναδικού Συμπλόκου: $\{(L^+H_2)(VO_3)_2\}_n$	265
5.4	CADIVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του Συμπλόκου $(L^+H_2)_3[V^{IV}_9V^V_6O_{36}] \cdot 14H_2O$ .	272
5.5	AZIVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του $\{[V^{IV}_{11}V^V_7 Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot 14H_2O\}_n$ .	284

	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6.0 ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ</b>	298
6.1	Υλικά και Αντιδραστήρια.	298
6.1.1	Σύμπλοκες Ενώσεις.	299
6.1.2	In vitro Πειράματα – Κυτταρικές Σειρές.	299
6.1.3	Λειομυοσάρκωμα	299
6.1.4	Ιστολογική Παρουσίαση	300
6.1.5	Κυτταρική Σειρά MCF – 7	300
6.1.6	Φυσιολογικοί Ινοβλάστες	301
6.1.7	Μεθοδολογία και Δημιουργία Κυτταρικής Σειράς LMS	302
6.1.8	Ανακαλλιέργεια Κυττάρων	303
6.1.9	Διατήρηση των Κυττάρων Ψύξη-Απόψυξη	304
6.1.10	Σπορά Κυττάρων σε Πολυτρυβλία.	304
6.1.11	Υπολογισμός Αναστολής του Κυτταρικού Πολλαπλασιασμού με τη Χρήση MTT.	304
6.1.12	Προσδιορισμός Απόπτωσης – Νέκρωσης με Κυτταρομετρία Ροής.	305

6.2	Αποτελέσματα In Vitro Πειράματα.	306
6.2.1	Βιοχημική Μελέτη του Συμπλόκου Nicotivan.	306
6.2.2	Βιοχημική Μελέτη του Συμπλόκου Azivan.	310
6.2.3	Βιοχημική Μελέτη του Συμπλόκου Pygivan.	313
6.2.4	Βιοχημική Μελέτη του Συμπλόκου Pipervan.	317
6.2.5	Βιοχημική Μελέτη του Συμπλόκου Cadivan.	320
6.3	Οι Οργανικοί Υποκαταστάτες στην Κυτταρική Σειρά LMS.	324
6.4	Προσδιορισμός της Απόπτωσης – Νέκρωσης με Κυτταρομετρία Ροής.	327
6.5	Αιμοπετάλια.	331
6.5.1	Συσσώρευση Αιμοπεταλίων.	333
6.5.2	Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF).	335
6.5.3	Ανίχνευση και Προσδιορισμός του (PAF).	336
6.5.4	Μια Νέα Προσέγγιση στον Καρκίνο.	337
6.5.5	Διφωσφορική Αδενοσίνη (ADP).	338
6.5.6	Αραχιδονικό Οξύ.	339
6.5.7	Πειράματα Συσσώρευσης Αιμοπεταλίων Ανθρώπου. Δότες και Αιμοληψίες.	341
6.5.8	Παρασκευή των Αιμοπεταλίων.	341
6.5.9	Περιγραφή του Συσσωρευομέτρου και της Μεθόδου Μελέτης των Αιμοπεταλίων.	342
6.5.10	Τυπικά Χαρακτηριστικά των Φυσιολογικών Συσσωρευο-γραφημάτων.	343
6.5.11	Μεταβολές κατά την Χρήση Αναστολέων της Αιμοπεταλιακής Συσσώρευσης.	346
6.5.12	Εκτέλεση των Πειραμάτων Αναστολής των Αιμοπεταλιακών Αντιδράσεων.	347
6.5.13	Συσκευές που Χρησιμοποιήθηκαν στα Πειράματα των Αιμοπεταλίων.	349
6.6.1	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Συμπλόκου Nicotivan.	350
6.6.2	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Συμπλόκου Azivan.	352
6.6.3	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Συμπλόκου Pygivan.	354
6.6.4	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Συμπλόκου Pipervan.	356
6.6.5	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Συμπλόκου Cadivan.	357
6.7	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων των Υποκαταστατών.	359
6.7.1	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Νικοτιναμιδίου.	360
6.7.2	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων του Αζιδίου του Νατρίου.	361
6.7.3	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων της Πυριδίνης.	361
6.7.4	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων της Πιπεραζίνης.	362
6.7.5	Αποτελέσματα Αιμοπεταλίων της Καδαβερίνης	362

	<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.0 ΣΥΖΗΤΗΣΗ, ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ, ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.</b>	363
7.1	Το Ιστορικό μιας Ερευνητικής Ομάδας με Θέμα τον Καρκίνο από το 1985 μέχρι Σήμερα.	363
7.2	Συζήτηση Πειραματικών Αποτελεσμάτων	365
7.3	Συμπεράσματα	373
7.4	Περίληψη στα Ελληνικά.	375
7.5	Περίληψη στα Αγγλικά.	379
7.6	Βιβλιογραφία	383

# **ΕΔΑΦΙΟ Α΄**

## **ΓΕΝΙΚΟ ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΚΑΙ ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

**1-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

**2-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΩΝ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ**

**3-ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ**

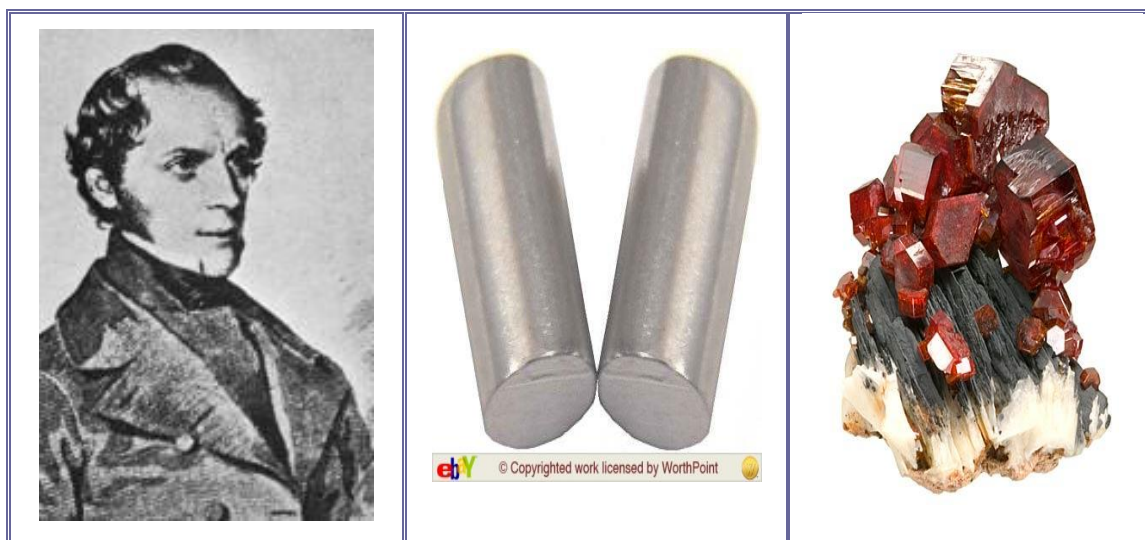
**4-ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ, ΜΕ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΥΓΡΟΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΠΛΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ

### 1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ-ΓΕΝΙΚΑ

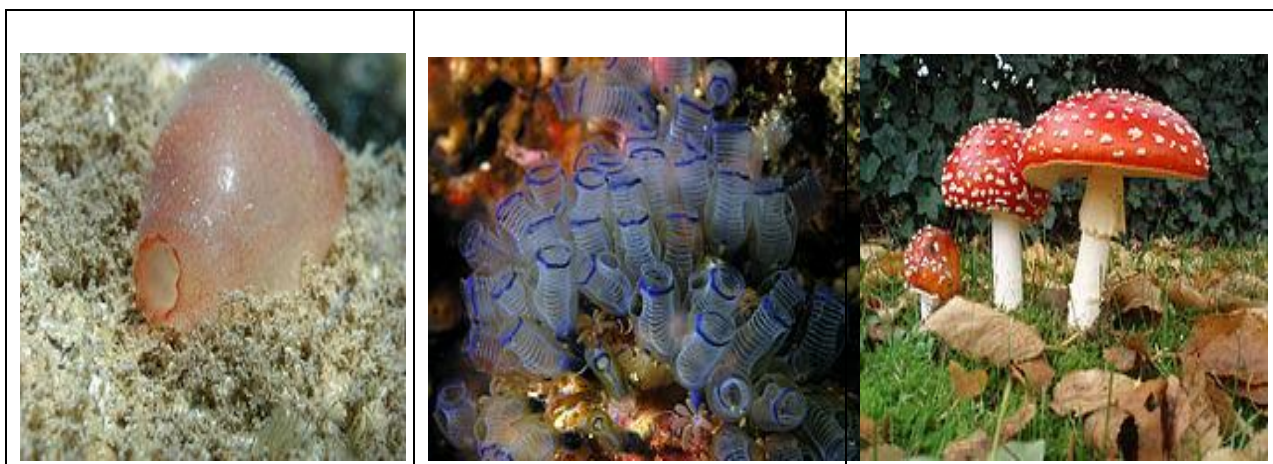
Το στοιχείο **βανάδιο** ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1801, στο Μεξικό, από τον Ισπανό ορυκτολόγο-χημικό Andrés Manuel del Río, εντός του ορυκτού βαναδινίτης. Λόγω της μεγάλης ποικιλίας χρωμάτων, που εμφάνιζαν οι ενώσεις του βαναδίου, έδωσε αρχικά στο μέταλλο την ονομασία "ranchromium" (παγχρώμιο) και αργότερα την ονομασία "erythronium" (ερυθρός). Το 1831 ο Σουηδός χημικός Nils Gabriel Sefström επαναβεβαίωσε την ανακάλυψη του νέου στοιχείου, το οποίο απεκάλεσε Vanadium απ' το όνομα της αρχαίας θεάς των Σκανδιναβών Vanadis, [Sefström N.G., "Über das Vanadin", 1831]. Το βανάδιο (V) είναι ένα ευρέως διασκορπισμένο στοιχείο, το οποίο έχει βρεθεί σε 65 διαφορετικά είδη μεταλλευμάτων ενώ γενικά συναντάται σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Το ποσοστό του στον φλοιό της γης είναι 0,014%, γεγονός που το τοποθετεί στην 5<sup>η</sup> θέση, κατά σειρά αφθονίας, της κατάταξης των στοιχείων μετάπτωσης, [Smith P.D., 1997]. Απαντάται σε κοιτάσματα, μαζί με ορυκτά και άλλων μετάλλων.



Εικόνα 1.1. Αριστερά: Ο Σουηδός χημικός Nils Gabriel Sefström, 1787-1845. Κέντρο: Ράβδοι μεταλλικού βαναδίου και Δεξιά: Βαναδινίτης, πάνω σε Βαρύτη.

Τα σημαντικότερα ορυκτά του μετάλλου είναι ο πατρονίτης (Patronite,  $VS_4$ ), ο βαναδινίτης (Vanadinite,  $[Pb_5(VO_4)_3Cl]$ ) και ο καρνοτίτης, Carnotite,  $[K_2(UO_2)_2(VO_4)_2 \cdot 3H_2O]$ , γνωστός και ως μέταλλευμα ουρανίου. Τα κυριότερα κοιτάσματα βαναδίου ευρίσκονται κυρίως στην Νότια Αφρική, νοτιο-δυτική Κίνα και στην ανατολική Ρωσία. Επίσης απαντάται σε ορισμένα κοιτάσματα αργού πετρελαίου, καθώς και σε ανθρακοφόρα κοιτάσματα. Η στάχτη από συσκευές καύσης αερίων ή πετρελαίου συνήθως περιέχουν περισσότερο από 10% βανάδιο. Κάποια είδη γλυκού νερού περιέχουν βανάδιο σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις, ενώ στα

ωκεάνεια ύδατα οι συγκεντρώσεις του είναι της τάξης των 30nmol/l, [Berry, 1999]. Απαντάται επίσης στο κυκλοφορικό σύστημα ορισμένων κατώτερων εχινόδερμων οργανισμών, όπου υποκαθιστά εν μέρει το σίδηρο στην αιμοσφαιρίνη. Το βανάδιο παίζει σπουδαίο ρόλο κυρίως στα ωκεάνια περιβάλλοντα, παρά στα χερσαία, [Schneider C.J., 2008]. Οι πιο συνηθισμένες οξειδωτικές καταστάσεις του βαναδίου είναι +2, +3, +4 και +5, αν και είναι γνωστές και οι οξειδωτικές καταστάσεις +1, 0 και -1. Σε υδατικά διαλύματα το βανάδιο υπάρχει μόνο στις οξειδωτικές καταστάσεις +3, +4 και +5, οι οποίες έχουν και την πιο γνωστή βιολογική σημασία, αν και η λειτουργία τους δεν έχει κατανοηθεί ακόμα. Η χημεία του βαναδίου είναι αξιοσημείωτη εξαιτίας της ικανότητάς του να διατρέχει εύκολα και αντιστρεπτά τις γειτονικές οξειδωτικές βαθμίδες +2, +3, +4 και +5. Γι' αυτό στα διάφορα χημικά, βιοχημικά και βιολογικά οξειδοαναγωγικά συστήματα αποτελεί έναν δραστικό πολυδυναμικό καταλύτη, μία ουσία θα λέγαμε "passe partout".



**Εικόνα 1.2. Αριστερά: Ascidiacea περιέχει βανάδιο, ως vanabin, Κέντρο: Tunicates such as this bluebell tunicate contain vanadium as vanabin και Δεξιά: Amanita muscaria περιέχει την amavadin.**

Η οξειδωτική βαθμίδα 0 εμφανίζεται κυρίως στις οργανο-μεταλλικές ενώσεις, με υποκαταστάτες-δέκτες π ηλεκτρονίων. Οι ενώσεις του V(II) χρησιμοποιούνται ως μετρίως ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες, ενώ του V(V) ως μετρίως ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες, [Lenhardt J., 2006]. Η χημεία του V(IV) είναι συνδεδεμένη με το σχηματισμό όξειδομορφών, με πιο γνωστά τα παράγωγα του βαναδυλίου που περιέχουν την ομάδα  $VO^{2+}$ . Τα ιόντα δισθενούς V(II) και τρισθενούς βαναδίου V(III) οξειδώνονται γρήγορα, κατά την έκθεση τους στον αέρα. Οι οξειδωτικές βαθμίδες και η στερεοχημεία του μετάλλου συνοψίζονται στον Πίνακα 1.1, [Tracey A.C., et al, "Vanadium Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Practical Applications", Taylor and Francis Group, 2007].

Μέχρι πρόσφατα, η πιο καλά μελετημένη οξειδωτική κατάσταση του βαναδίου ήταν το V(IV), [Peri D., 2006]. Η κατάσταση άλλαξε ριζικά μετά την εμφάνιση της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), η οποία βοήθησε σημαντικά στη μελέτη και κατανόηση της οξειδωτικής βαθμίδας του V(V). Πράγματι, τις τελευταίες δυο δεκαετίες φάνηκε μια μεγάλη αλλαγή στην επιστήμη της χημείας του V(V), ιδιαίτερος σε ότι έχει να κάνει με την παρουσία του στα υδατικά διαλύματα. Η κυριότερη αιτία για την μεγάλη ανάπτυξη της χημείας του V(V) ήταν η αξιοσημείωτη ποικιλία στη βιοχημική δραστηριότητα, η οποία συνδέεται με αυτή την οξειδωτική βαθμίδα. Το βανάδιο(V) υπάρχει στη φύση στις

αλοπεροξειδάσες βαναδίου, αλλά εκτός αυτού, διάφορες σύμπλοκες ενώσεις του V(V) έχουν πολύ αποτελεσματικό ρόλο στην αναστολή της λειτουργίας, μιας μεγάλης κλίμακας ενζύμων και στην προώθηση της λειτουργίας κάποιων άλλων.

**Πίνακας 1.1: Οι διάφορες οξειδωτικές βαθμίδες και η αντίστοιχη στερεοχημεία του βαναδίου. Πιο συνήθεις αριθμοί ένταξης.**

Oxidation state	Coordination number	Geometry	Examples
V <sup>-1</sup> , d <sup>6</sup>	6	Octahedral	V(CO) <sub>6</sub> <sup>-</sup> , Li[V(bipy) <sub>3</sub> ] <sub>2</sub> ·4C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O
V <sup>0</sup> , d <sup>5</sup>	6	Octahedral	V(CO) <sub>6</sub> , V(bipy) <sub>3</sub> , V[C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> (PMe <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>3</sub>
V <sup>I</sup> , d <sup>4</sup>	6	Octahedral	[V(bipy) <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
		Tetragonal pyramidal	η <sup>5</sup> -C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> V(CO) <sub>4</sub>
	7	Monocapped octahedral	[V(CO) <sub>3</sub> (PMe <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> , V(CO) <sub>2</sub> (dmpe) <sub>2</sub> Cl
V <sup>II</sup> , d <sup>3</sup>	4	Almost planar	[Li(THF)] <sub>2</sub> V(2,6-diisopropylphenolate) <sub>2</sub>
	5	sp	(2,6-Ph <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> V(py) <sub>3</sub>
	6 <sup>a</sup>	Octahedral	[V(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>2+</sup> , [V(CN) <sub>6</sub> ] <sup>4-</sup>
V <sup>III</sup> , d <sup>2</sup>	3	Planar	V[N(SiMe <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] <sub>3</sub> , V[CH(SiMe <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ] <sub>3</sub>
	4	Tetrahedral	[VCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
	5	tbp	trans-VCl <sub>3</sub> (SMe <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> , VCl <sub>3</sub> (NMe <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	6 <sup>a</sup>	Octahedral	[V(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> , [V(C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> ] <sup>3-</sup> , VF <sub>3</sub>
	7	Pentagonal bipyramidal	K <sub>4</sub> [V(CN) <sub>7</sub> ]·2H <sub>2</sub> O
V <sup>IV</sup> , d <sup>1</sup>	4	Tetrahedral	VCl <sub>4</sub> , V(NEt <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> , V(CH <sub>2</sub> SiMe <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>
	5	Tetragonal pyramidal	VO(acac) <sub>2</sub> , PCl <sub>4</sub> <sup>+</sup> VCl <sub>5</sub> <sup>-</sup>
		?	[VO(SCN) <sub>4</sub> ] <sup>2-</sup>
		sp	[V <sub>4</sub> O <sub>4</sub> (OH) <sub>2</sub> (PhPO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>2+</sup> , see text
		tbp	VOCl <sub>2</sub> trans-(NMe <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	6 <sup>a</sup>	Octahedral	VO <sub>2</sub> (rutile), K <sub>2</sub> VCl <sub>6</sub> , VO(acac) <sub>2</sub> (py), V(acac) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
V <sup>V</sup> , d <sup>0</sup>	8	Dodecahedral	VCl <sub>4</sub> (diars) <sub>2</sub> , V(S <sub>2</sub> CMe) <sub>4</sub>
	4	Tetrahedral (C <sub>3v</sub> )	VOCl <sub>3</sub>
	5	tbp	VF <sub>5</sub> (g), VNCl <sub>2</sub> (quinuclidine) <sub>2</sub>
		sp	CsVOF <sub>4</sub>
	6 <sup>a</sup>	Octahedral	VF <sub>5</sub> (s), VF <sub>6</sub> <sup>-</sup> , V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (very distorted, almost <i>tbp</i> with one distant O); [VO <sub>2</sub> (ox) <sub>2</sub> ] <sup>3-</sup> , V <sub>2</sub> S <sub>5</sub>
	7	Pentagonal bipyramidal	VO(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·CH <sub>3</sub> CN, VO(Et <sub>2</sub> NCS <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>

Επιπρόσθετα, τα οξειδία του βαναδίου έχουν δείξει αξιοσημείωτη ινσουλινομιμητική δράση, ή επίδραση στην αύξηση της ινσουλίνης, σε διαβητικά ζώα. Παρά τις εκτεταμένες έρευνες, δεν έχει βρεθεί ο συγκεκριμένος ρόλος του μετάλλου, που οδηγεί σε αυτή τη συμπεριφορά, [Rehder D., "Structure and Function of Vanadium Compounds in Living Organisms", *Biometals*, 1992]. Το βανάδιο, σε μεταλλική μορφή, χρησιμοποιείται μαζί και με άλλα μέταλλα, ως πρόσθετο στους σιδηρο-χάλυβες, με σκοπό την κατασκευή σκληρού, ανθεκτικού και ανοξειδωτού βαναδιο-χάλυβα. Χρησιμοποιείται επίσης ως συστατικό σε διάφορα υπεραγωγίμα κράματα και ως καταλύτης της θερμικής διασπάσεως του CO σε C και CO<sub>2</sub>. Το πεντοξειδίο του βαναδίου(V), V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, είναι ένας ιδιαίτερα αποτελεσματικός καταλύτης, με ευρύτατες εφαρμογές, ο οποίος χρησιμοποιείται σε ποικίλλες βιομηχανικές διαδικασίες και σε πρόσφατες ερευνητικές εφαρμογές στα νανο-υλικά. Εξ' άλλου τα περοξοβαναδικά (peroxo-vanadates) άλατα είναι πολύ χρήσιμα οξειδωτικά, που συνήθως χρησιμοποιούνται στην οργανική σύνθεση και τα οποία συναντώνται σε ένζυμα, που υπάρχουν στη φύση, τις αλοπεροξειδάσες βαναδίου (vanadium-dependent haloperoxidases), [Armstrong E., 1993] και [Hermon T., 2008]. Η ύπαρξη πολύ καθαρού, χωρίς

προσμίξεις, βαναδίου είναι σπάνια, αφού στις υψηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται στη θερμομεταλλουργία, αντιδρά με το O<sub>2</sub>, το N<sub>2</sub> και τον C. Σε πολύ καθαρή μορφή παρασκευάζεται, α)-με την μέθοδο Boer-van Arkel, κατά την οποία το αέριο VI<sub>4</sub> διασπάται σε ένα θερμό αργυρόλευκο, εύκαμπτο νήμα, υπό χαμηλή πίεση και β)-με ηλεκτρολυτική απόθεση, Εικόνα 1.3. Το βανάδιο παρουσιάζει μεγάλη ανθεκτικότητα στη διάβρωση και είναι αδιάλυτο σε μη-οξειδωτικά οξέα, με εξαίρεση το HF. Σε υψηλές θερμοκρασίες αντιδρά με τα περισσότερα αμέταλλα. Με το οξυγόνο αντιδρά δίνοντας V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> και με το N<sub>2</sub> δίνοντας νιτρίδιο του βαναδίου, VN.



**Εικόνα 1.3. Αριστερά υπερ-καθαρό μεταλλικό βανάδιο (99,97%), ληφθέν ηλεκτρολυτικώς και Δεξιά καθαρό μεταλλικό βανάδιο με την μέθοδο Boer-van Arkel.**

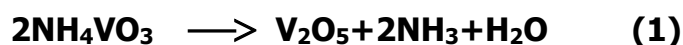
Η απευθείας αντίδραση του βαναδίου με As, Si και C έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό των αντίστοιχων, μη στοιχειομετρικών πολλές φορές, ομοιοπολικών ενώσεων.



**Εικόνα 1.4. Μηχανουργικά εργαλεία πάγκου των τεχνικών συνεργείων, από βανάδιο –χρωμιο-χάλυβες. Αριστερά: "Γερμανικά κλειδιά" για το βίδωμα ξεβίδωμα πολυγωνικών βιδών, "παξιμαδιών". Δεξιά: Πολυγωνικά εργαλεία "καρυδάκια" βιδώματος ξεβιδώματος μεγάλων βιδών "μπουλονιών".**

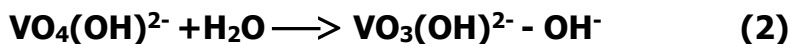
## 1.2 ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ V(V) (d<sup>0</sup>)

Η πιο γνωστή ένωση του βαναδίου, όπου το μέταλλο βρίσκεται στην +5 οξειδωτική του βαθμίδα είναι το πεντοξείδιο του βαναδίου V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Συνήθως παρασκευάζεται από τη θέρμανση του μεταβαναδικού αμμωνίου σύμφωνα με την αντίδραση :



Απομονώνεται από τήγματα του, ως πορτοκαλί κρυσταλλικές βελόνες. Είναι διαλυτό τόσο

σε βάσεις όσο και σε οξέα. Απόδειξη ότι οι ενώσεις του V(V) είναι σημαντικώς ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες, αποτελεί η απελευθέρωση χλωρίου (Cl<sub>2</sub>), κατά τη διάλυση του V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> σε υδροχλωρικό οξύ (HCl) και η παραγωγή V(IV). Μία ακόμη κατηγορία ενώσεων με το μέταλλο στην (+5) οξειδωτική βαθμίδα είναι τα βαναδικά ιόντα. Το V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> διαλύεται σε NaOH, δίνοντας ένα άχρωμο διάλυμα όπου σε υψηλά pH (>13), το κύριο ιόν είναι το βαναδικό νάτριο [VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>]. Το πρωτονιωμένο είδος σχηματίζεται πρώτο σύμφωνα με την αντίδραση:

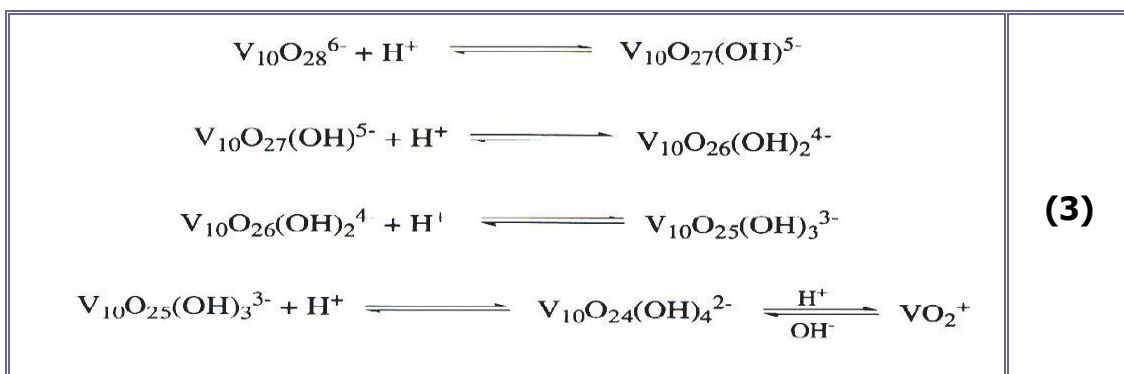


και αυτό, στη συνέχεια, συσσωματώνεται σε διπυρηνικά ή πιο περίπλοκα είδη, ανάλογα με την συγκέντρωση και το pH. Τα κυριότερα είδη που εμφανίζονται σε pH 2 με 6 είναι πορτοκαλόχρωμα δεκαβαναδικά ιόντα, τα οποία μπορούν να υπάρξουν σε διάφορες πρωτονιωμένες μορφές, όπως φαίνεται από τις παρακάτω ισορροπίες. Το δεκαβαναδικό ανιόν [V<sub>10</sub>O<sub>24</sub>(OH)<sub>4</sub><sup>2-</sup>] είναι πολύ ασταθές και με περισσότερο οξύ οδηγεί ταχέως στο σχηματισμό του ιόντος [VO<sup>+</sup>].

**Πίνακας 1.2. Βαναδικά ανιόντα τα οποία είναι παρόντα σε υδατικό διάλυμα συγκέντρωσης C(V) > ~ 1mM και τα αντίστοιχα σήματα στο NMR. Για τα πρωτονιωμένα ανιόντα, δίνονται οι τιμές pK<sub>a</sub>, για δύο διαφορετικές τιμές ιονικής ισχύος I (NaCl).**

Βαναδικά ανιόντα	pK <sub>a</sub> (I = 0,15M)	pK <sub>a</sub> (I = 0,6M)	δ ( <sup>51</sup> V)
HVO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	13,36	-534
H <sub>2</sub> VO <sup>4+</sup>	8,17	7,95	-560
HV <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>3-</sup>	10,34	9,79	-564
H <sub>2</sub> V <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup>	8,50	8,23	-573
HV <sub>4</sub> O <sub>13</sub> <sup>5-, a</sup>	9,35	8,73	-566 έως -571
V <sub>4</sub> O <sub>12</sub> <sup>4+</sup>	-	-	-577
V <sub>5</sub> O <sub>15</sub> <sup>5-</sup>	-	-	-585
HV <sub>10</sub> O <sub>28</sub> <sup>5-</sup>	6,62	6,07	-424, -499, -515b
H <sub>2</sub> V <sub>10</sub> O <sub>28</sub> <sup>4+</sup>	4,17	3,61	-422, -502, -519b
H <sub>3</sub> V <sub>10</sub> O <sub>28</sub> <sup>3-</sup>	1,86	1,21	-427, -515, -534b
H <sub>12</sub> V <sub>13</sub> O <sub>40</sub> <sup>3-</sup>	-	-	-523, -538c

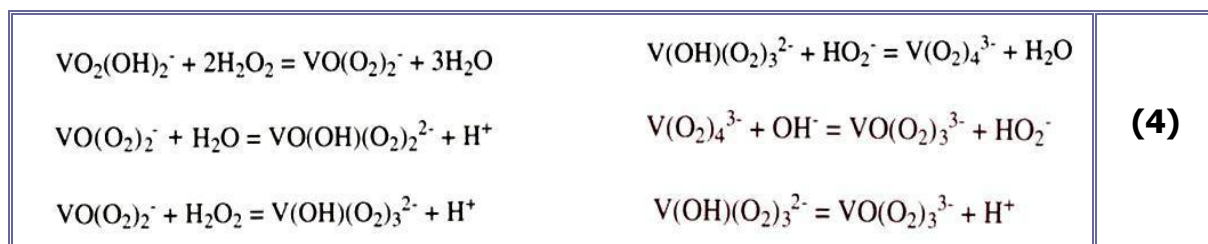
a) Γραμμικό τετραβαναδικό ανιόν, b) Τα σήματα ανήκουν στα διαφορετικά είδη βαναδίων Va (χαμηλού πεδίου), Vb και Vc (υψηλού πεδίου). Δες σχήμα 5. c) Ο λόγος των ολοκληρωμάτων των δύο σημάτων είναι 1:12, με το χαμηλού πεδίου σήμα (-523) να αντιστοιχεί στο εσωτερικό τετραεδρικό βανάδιο.



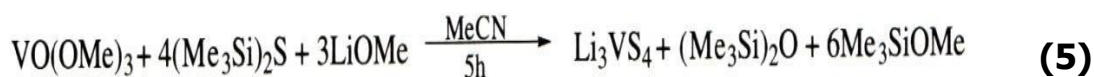
Όταν το V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ή το NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> διαλύονται σε όξινα διαλύματα 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, τότε προκύπτουν κόκκινες υπερόξο- ενώσεις, στις οποίες τα άτομα του οξυγόνου των βαναδικών ανιόντων



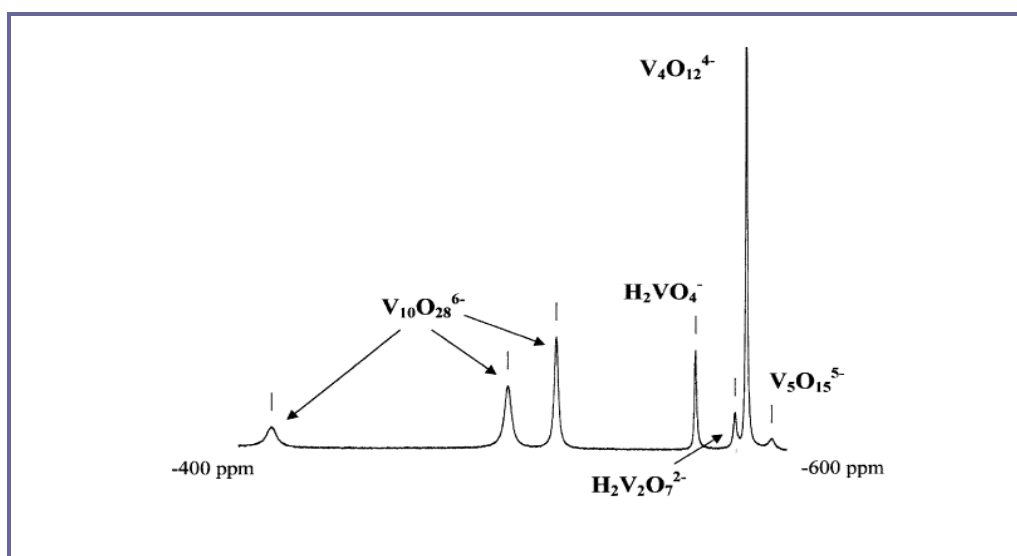
έχουν αντικατασταθεί από μία ή και περισσότερες υπερόξο (O<sub>2</sub>) ομάδες. Έχουν παρασκευαστεί υπερόξο-ενώσεις όπως η K[V(O<sub>2</sub>)<sub>3</sub>]-3H<sub>2</sub>O, η K<sub>3</sub>[VO(O<sub>2</sub>)<sub>4</sub>] και η [VO(O<sup>2-</sup>)(pic)(py)<sub>2</sub>, Na<sub>3</sub>[VO(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(ox)]. Οι παρακάτω ισορροπίες δείχνουν τα σημαντικότερα είδη αυτών των ενώσεων σε pH 7, που έχουν μελετηθεί με <sup>51</sup>V-NMR: Διπυρηνικά υπερόξο-σύμπλοκα του V(V), όπως το (NH<sub>4</sub>)<sub>5</sub>[V<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(O<sub>2</sub>)<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>].H<sub>2</sub>O, έχει βρεθεί ότι συμμετέχουν στην οξείδωση των βρωμιούχων από το υπεροξείδιο του υδρογόνου, μια διαδικασία σημαντική σε κάποια βιολογικά συστήματα. Επίσης, πολλά σταθερά υπερόξο-σύμπλοκα επιδεικνύουν ινσουλινομιμητική συμπεριφορά, τόσο in vivo όσο και in vitro.



Τέλος, ενώσεις στις οποίες το μέταλλο βρίσκεται στην (+5) οξειδωτική βαθμίδα είναι τα θειοβαναδικά ιόντα. Το κόκκινο άλας τετραθειοβαναδικό λίθιο [Li<sub>3</sub>VS<sub>4</sub>] μπορεί να παρασκευασθεί, σύμφωνα με την αντίδραση :



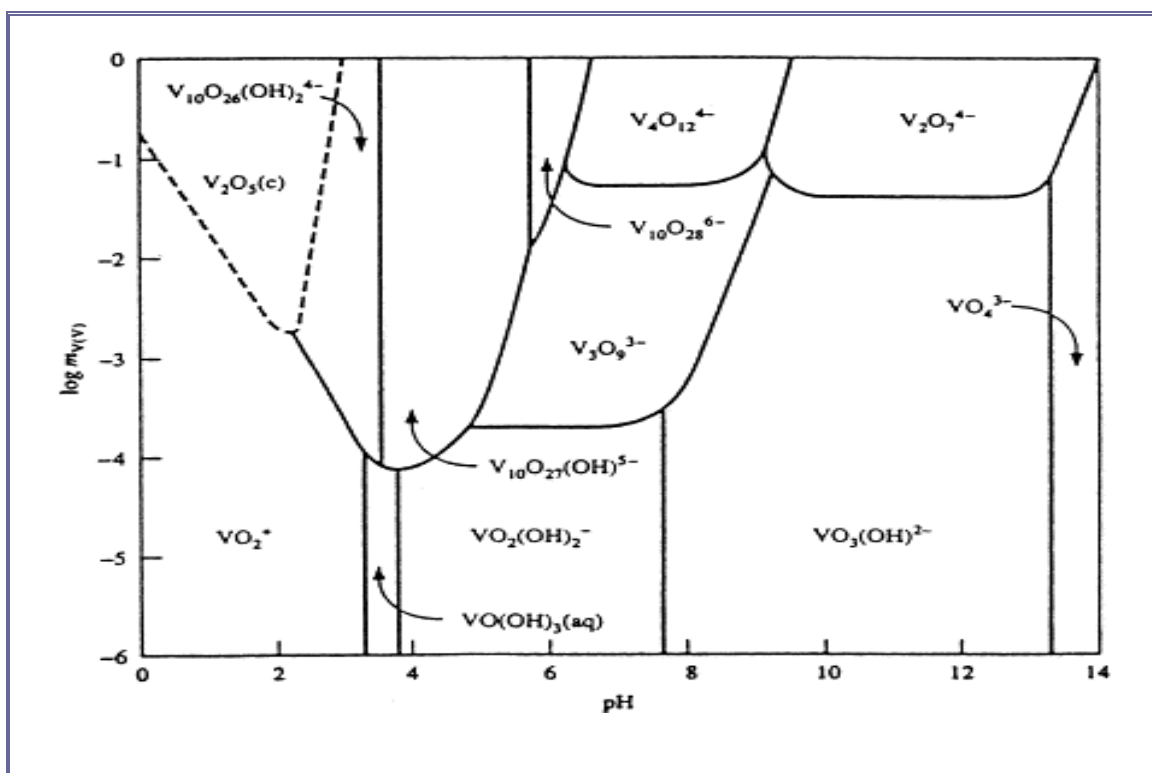
Η δραστηριότητα του ιόντος [VS<sub>4</sub><sup>3-4</sup>] έχει μελετηθεί εκτεταμένα, κυρίως λόγω της πιθανής σχέσης του δεσμού V-S στις νιτρογενάσες του V. Όλες οι μορφές του βαναδίου(V), σε υδατικό περιβάλλον και σε φυσιολογικό pH, είναι ανιονικές. Οι κατιονικές μορφές VVO<sub>3</sub><sup>+</sup> και VO<sub>2</sub><sup>+</sup> υπάρχουν μόνο, όταν σταθεροποιούνται από κατάλληλους υποκαταστάτες.



**Σχήμα 1.1.** Φάσμα <sup>51</sup>V-NMR ενός υδατικού διαλύματος βαναδικών συγκέντρωσης 5 mM, pH 5,7 και ιονικής ισχύος 0,6 M NaCl.

Η κατανομή βαναδικών σε υδατικό σύστημα έχει μελετηθεί επισταμένως εδώ και δύο δεκαετίες, συνδυάζοντας ποτενσιομετρικές μεθόδους και τη φασματοσκοπία <sup>51</sup>V-NMR<sup>6</sup>,

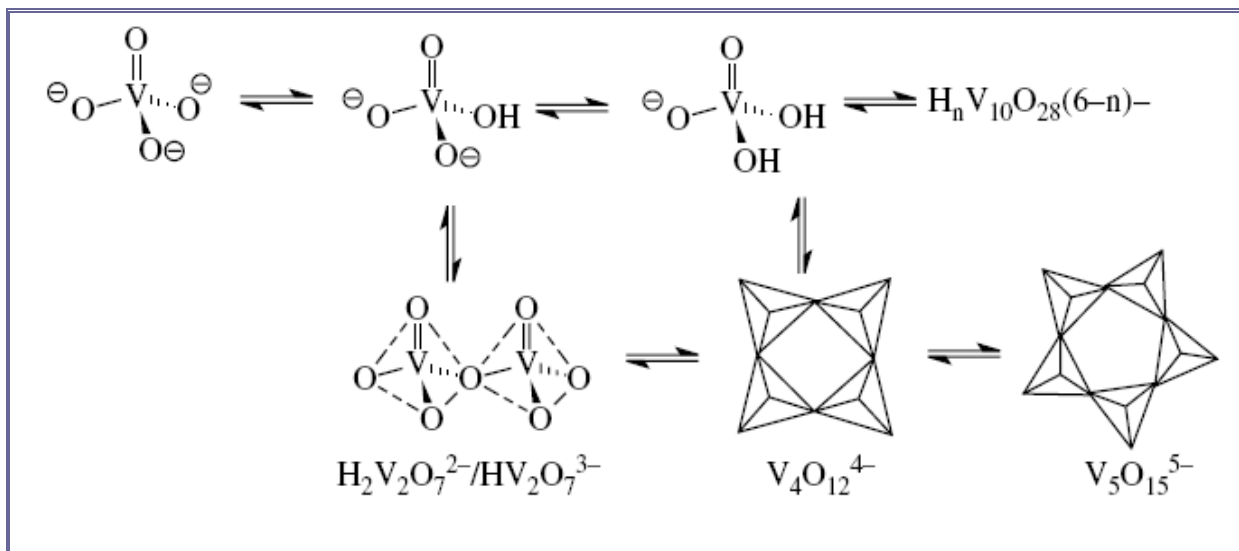
[Pettersson, 1985]. Το Σχήμα 1.1 είναι μια απόδειξη της διαφοροποίησης που υφίσταται τα πολύ-βαναδικά ανιόντα, συγκεντρώσεων  $C(V) = 5\text{mM}$ , σε υδατικά διαλύματα ( $\text{pH} \sim 6$ ) και πως αυτή αναδεικνύεται μέσω της φασματοσκοπίας  $^{51}\text{V-NMR}$ . Η διαφοροποίηση είναι συνάρτηση του  $\text{pH}$ , της συγκέντρωσης και σε μικρότερο βαθμό της ιονικής ισχύος του υδατικού διαλύματος. Το διάγραμμα με τις σημαντικότερες πολύ-βαναδικές ειδο-μορφές, στις διάφορες τιμές  $\text{pH}$  φαίνεται στο Σχήμα 1.2. Οι δομές αυτών των ενώσεων αναπαρίστανται στις Εικόνες 1.4 και 1.5. Στον Πίνακα 1 φαίνονται οι περισσότερες από τις ενώσεις του βαναδίου(V), μαζί με τις τιμές  $\text{pKa}$  σε τιμές ιονικής ισχύος 0,6 και 0,15 M NaCl αντίστοιχα. Η τιμή ιονικής ισχύος 0,15 M αντιστοιχεί στις συνθήκες του ορού του αίματος, ενώ η τιμή 0,6 M αντιστοιχεί σε αυτές του περιβάλλοντος των ωκεανών. Σε ουδέτερα υδατικά διαλύματα ( $\text{pH} \sim 7$ ) και σε  $C(V) > \sim 1\text{ mM}$ , η πιο σημαντική ένωση βαναδίου(V) είναι το κυκλικό τετραβαναδικό ανιόν  $[\text{V}_4\text{O}_{12}]^{4-}$ .



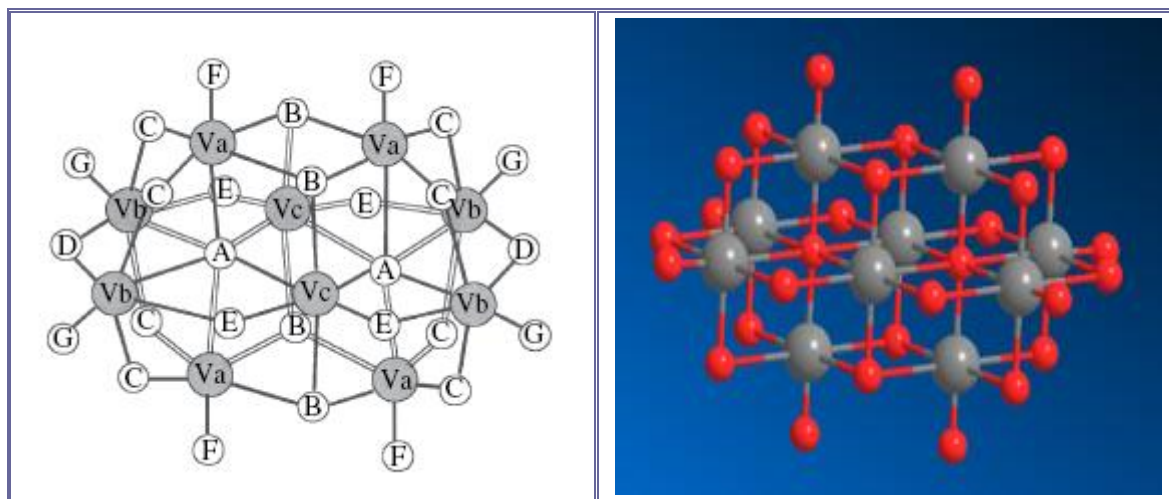
**Σχήμα 1.2.** Διάγραμμα κατανομής βαναδίου ( $\text{V}^{5+}$ ), συναρτήσει του  $\text{pH}$ , στο οποίο παρουσιάζονται οι περιοχές, που εμφανίζονται οι διάφορες μορφές των βαναδικών ανιόντων, στα υδατικά τους διαλύματα, στους  $25^\circ\text{C}$  και σε ιονική ισχύ  $1\text{M}$ .

Μαζί με το τετραβαναδικό ανιόν μπορούν να ανιχνευθούν μονο- και δι-βαναδικά, καθώς επίσης και μερικά κυκλικά πενταβαναδικά ανιόντα  $[\text{V}_5\text{O}_{15}]^{5-}$ , (Σχήμα 1.2). Ο σχηματισμός των συμπυκνωμένων πολύ-βαναδικών ειδομορφών του V(V) προτιμάται σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης και υψηλής ιονικής ισχύος, [Schmidt H., 2001]. Οι ενώσεις του βαναδίου(V), οι οποίες διαφέρουν ως προς τα άτομα βαναδίου, βρίσκονται σε ισορροπία μεταξύ τους, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1.2. Οι ταχύτητες ανταλλαγής βρίσκονται στην κλίμακα των milliseconds (ms).

Τα μόνο- και δι-βαναδικά υφίστανται ταχεία πρωτονίωση/αποπρωτονίωση. Στο pH 7, τα πιο σημαντικά είναι τα διπρωτικά ανιόντα  $[H_2V^VO_4]^-$  ( $pK_a=8,17$  για φυσιολογικές τιμές ιονικής ισχύος) και  $[H_2V_2O_7]^{2-}$  ( $pK_a=8,50$ ). Το σύστημα αποκτά ξεχωριστό ενδιαφέρον από τη στιγμή που εμπλέκεται το μονοβαναδικό ανιόν, λόγω της ομοιότητας του με τα φωσφορικά, τα οποία σε  $pH\sim 7$ , υπάρχουν κυρίως υπό τη μορφή των μονόξινων φωσφορικών  $[HPO_4]^{2-}$  ( $pK_a[H_2PO_4^-] = 6,7$ ).



**Εικόνα 1.5. Δομές των πιο σημαντικών τετραεδρικών βαναδικών ανιόντων τα οποία υφίστανται σε υδατικά διαλύματα.**



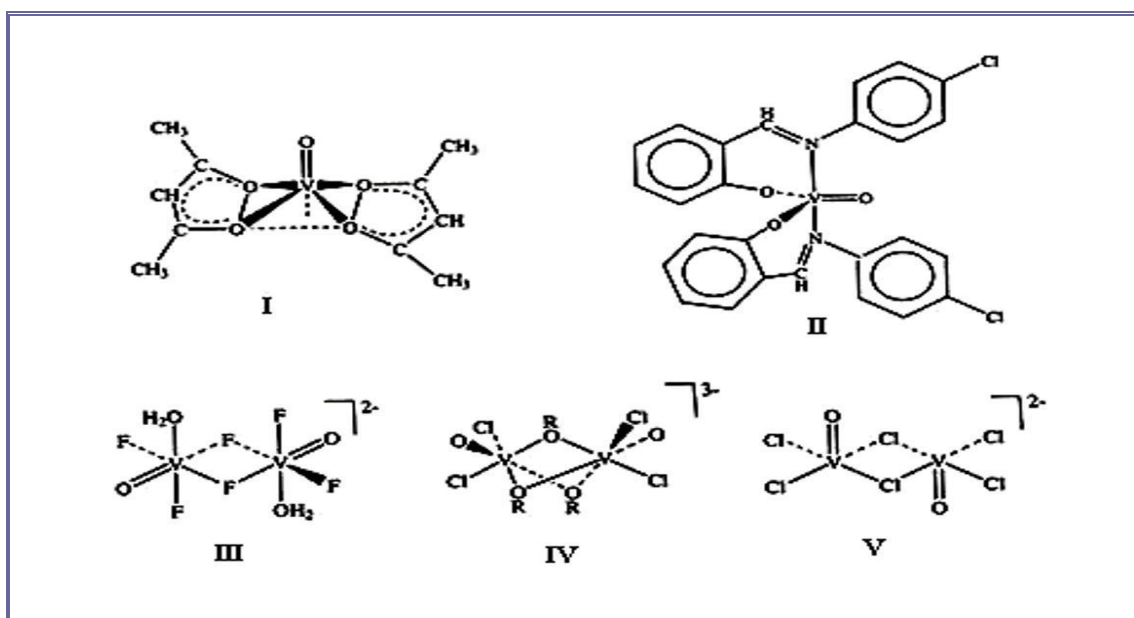
**Εικόνα 1.6. Η δομή των δεκαβαναδικών,  $V_{10}O_{28}^{6-}$ , με τα διαφορετικά είδη βαναδίου και οξυγόνου.**

Σε ισχυρά αλκαλικό περιβάλλον υπάρχουν αποκλειστικώς τα μόνο- και τα δι-βαναδικά ανιόντα. Κατά την οξίνιση ξεκινά ο σχηματισμός των δεκαβαναδικών σε  $pH\sim 6$ . Αν και τα μόνο-, δι-, τετρα- και πεντα-βαναδικά αποτελούνται από άτομα βαναδίου, τα οποία διαθέτουν τετραεδρική γεωμετρία, στα δεκαβαναδικά παρατηρείται, ως επικρατέστερη η οκταεδρική γεωμετρία.

Σε υψηλότερες οξύτητες με  $\text{pH} < 3$  τα δεκαβαναδικά ανιόντα καθίστανται ασταθή, οπότε και ξεκινά ο σχηματισμός του κατιόντος  $[\text{VVO}_2(\text{H}_2\text{O})_4]^+$ . Αυτή η κατιονική μορφή του V(V) είναι και η μόνη που υπάρχει κάτω από  $\text{pH} = 2$ .

### 1.3 ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ V(IV) ( $d^1$ )

Τα αλογονίδια  $\text{VF}_4$ ,  $\text{VCl}_4$ ,  $\text{VBr}_4$  και  $\text{VI}_4$ , καθώς και ενώσεις που παράγονται από αυτά  $[\text{V}(\text{CH}_2\text{SiMe}_3)_4]$ ,  $[\text{V}(\text{NR}_2)_4]$  και  $[\text{V}(\text{S}_2\text{CNR}_2)_4]$ , που περιέχουν το βαναδίο στην +4 οξειδωτική του βαθμίδα. Όμως η χημεία του τετρασθενούς βαναδίου βασίζεται στις ενώσεις του με το οξυγόνο. Το σκούρο μπλε διοξειδίο του βαναδίου  $\text{VO}_2$ , λαμβάνεται μετά από ήπια αναγωγή του  $\text{V}_2\text{O}_5$ , με μια κλασσική μέθοδο, όπως είναι η σύντηξη με οξαλικό οξύ. Είναι επαμφοτερίζον, συνεπώς μπορεί να διαλυθεί σε οξέα, των οποίων το ανιόν δεν μπορεί να συμπλοκοποιηθεί, δίνοντας το μπλε ιόν  $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ , καθώς και σε βάσεις. Ο δεσμός  $\text{V}=\text{O}$  είναι αρκετά πιο βραχύς, σε σχέση με τους άλλους δεσμούς στην  $[\text{VO}_6]$  μονάδα.



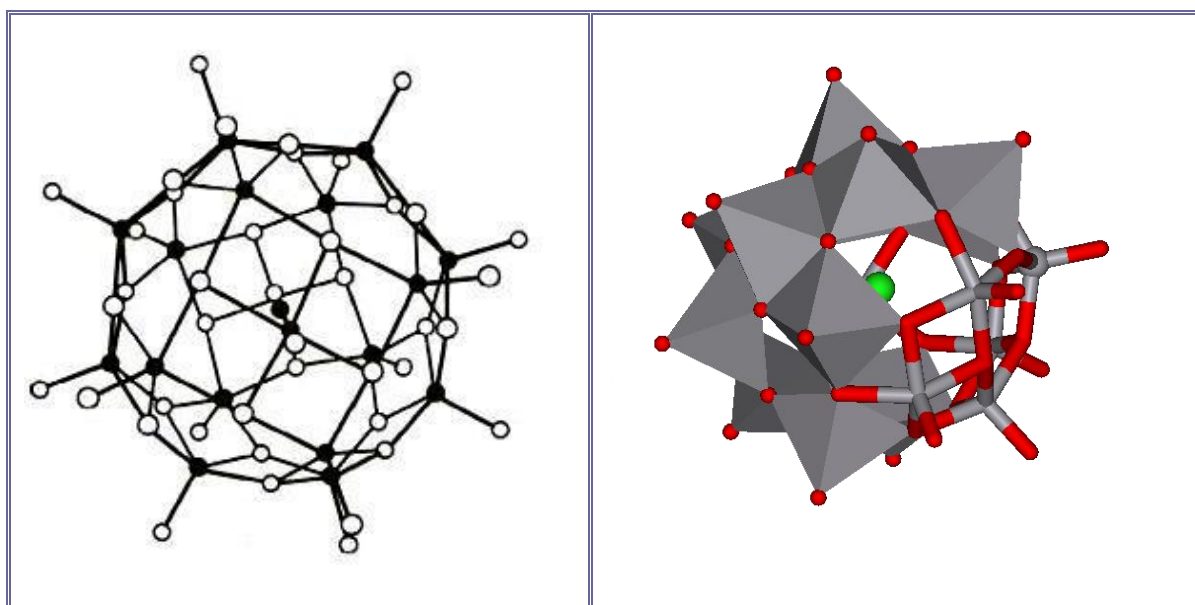
Εικόνα 1.7 : Χαρακτηριστικές ενώσεις του ιόντος βαναδίου: (I) μονοπυρηνικό σύμπλοκο με το ιόν της ακετυλοακετόνης, (II) μονοπυρηνικό σύμπλοκο με βάση του Schiff, (III, IV, V) διπυρηνικά σύμπλοκα με αλογόνα.

Με την προσθήκη ισχυρής βάσης σε διάλυμα  $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ , σχηματίζεται το γκρι οξείδιο  $[\text{VO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}]$ , από το διάλυμα του οποίου μπορεί να κρυσταλλωθεί το άλας  $[\text{Na}_{12}\text{V}_{18}\text{O} \cdot 24\text{H}_2\text{O}]$ . Αυτό περιέχει το ανιόν  $[\text{V}_{18}\text{O}^{12-}]$ , (Σχήμα 1.2), το οποίο είναι ασταθές σε αραιά διαλύματα. Οι περισσότερες από τις πολυπυρηνικές ενώσεις του τετρασθενούς βαναδίου παρασκευάζονται με την υδροθερμική σύνθεση (hydrothermal synthesis) όπως αρχικά αναφέρθηκε, το ιόν που κυριαρχεί στη χημεία του τετρασθενούς βαναδίου είναι το **βαναδύλιο**  $[\text{VO}^{2+}]$ , το οποίο λαμβάνεται είτε από ήπια αναγωγή του ιόντος  $[\text{VO}_2^+]$ , είτε από την ατμοσφαιρική οξείδωση διαλυμάτων V(III). Η αντίδραση του  $\text{V}_2\text{O}_5$  με αιθανολικό  $\text{HCl}$  δίνει ένα διάλυμα που περιέχει το ανιόν  $[\text{VOCl}_5^{3-}]$ , το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή όξο- συμπλόκων του V(IV). Πολλές ενώσεις που περιέχουν την μονάδα

[VO<sup>2+</sup>] είναι μπλε και υιοθετούν δύο χαρακτηριστικές φυσικές ιδιότητες :

- 1)- ένα EPR φάσμα με χαρακτηριστική τιμή g και ένα ιδιαίτερο <sup>51</sup>V-NMR φάσμα (οκτώ γραμμές), καθώς και
- 2)- μία ισχυρή ταινία που οφείλεται στη δόνηση τάσης του δεσμού V=O στο IR φάσμα μεταξύ των 950 και 1035cm<sup>-1</sup>.

Αντιπροσωπευτικές ενώσεις που περιέχουν βαναδύλιο φαίνονται στην παραπάνω Εικόνα 1.7. Ο δεσμός V=O είναι πολύ ισχυρός, πιθανά λόγω της μερικής φύσης τριπλού δεσμού που έχει, και οι αποστάσεις V=O είναι πολύ μικρές (1,55-1,68Å) και εξαρτώνται από τη φύση των υποκαταστατών και τον τρόπο ένταξης τους. Σε μερικά στερεά, οι μονάδες [V=O] συσσωματώνονται σχηματίζοντας αλυσίδες [V=O.....V=O]. Αντιπροσωπευτικές στερεές ουσίες του βαναδυλικού ιόντος αποτελούν το ένυδρο θειικό βαναδύλιο [VOSO<sub>4</sub>·nH<sub>2</sub>O], όπου n=5 ή 6, στο οποίο περιέχονται διακριτά ιόντα [VO(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub><sup>2+</sup>] και [VO(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub><sup>2+</sup>], καθώς και ενώσεις με όξο ανιόντα στις οποίες αναπτύσσονται δίκτυα τριών διαστάσεων, όπως τα [VOSO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O], [VOMoO<sub>4</sub>], [(VO)<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] και [(VO)<sub>2</sub>H<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>9</sub>].



Εικόνα 1.8 : Η δομή του ισοπολυανιόντος του βαναδίου(IV), [V<sub>18</sub>O<sub>42</sub><sup>-12</sup>].

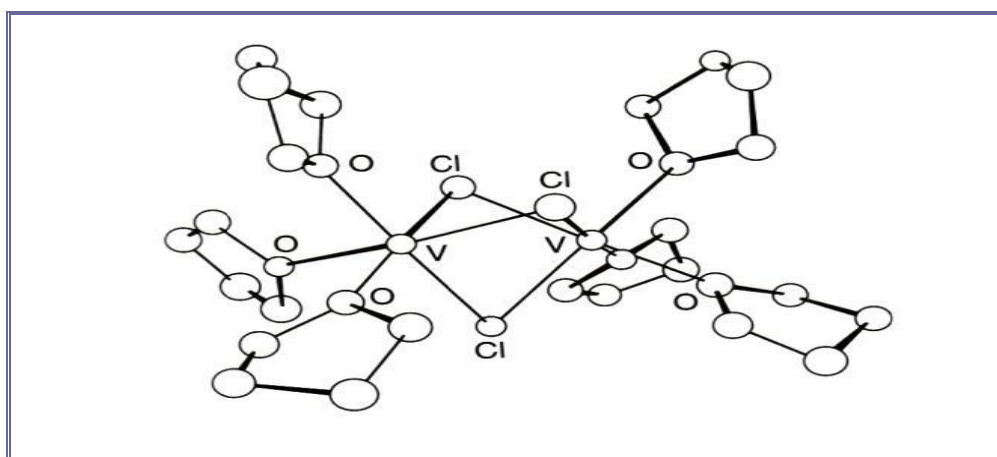
#### 1.4 ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ V(III) (d<sup>2</sup>)

Από την αναγωγή του V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> με υδρογόνο ή μονοξείδιο του άνθρακα προκύπτει το μαύρο στερεό V<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, το οποίο λόγω της ευαισθησίας του να αντιδρά με το οξυγόνο της ατμόσφαιρας, δεν μπορεί να απομονωθεί τελειώς καθαρό. Το πράσινο/μπλε υδατικό ιόν [V(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> μπορεί να ληφθεί είτε από ηλεκτρόλυση, είτε από χημική αναγωγή διαλυμάτων τετρασθενούς και πεντασθενούς βαναδίου. Τα διαλύματα του V<sup>III</sup> που προκύπτουν, οξειδώνονται από τον αέρα. Το ιόν [V(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> βρίσκεται σε στυπτηρίες όπως (NH<sub>4</sub>)V(SO<sub>4</sub>)·12H<sub>2</sub>O, η οποία σχηματίζεται από ηλεκτρολυτική αναγωγή του (NH<sub>4</sub>)[VO<sub>3</sub>] σε H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Μελέτες απλών μ-οξο διπυρηνικών συμπλόκων του V<sup>III</sup> έχουν αποκαλύψει δύο γενικές τάσεις για αυτές τις ενώσεις: (1) στα μονά γεφυρωμένα μ-οξο

είδη, το εύρος της γωνίας V—O—V είναι 165-180° και (2) όταν οι γέφυρες είναι τριπλές, δηλαδή υπάρχουν μία όξο και δύο καρβοξυλάτο ή φωσφορικές ομάδες, τότε το εύρος της γωνίας V—O—V μειώνεται σε 130-145°. Γνωστές ενώσεις του τρισθενούς βαναδίου είναι τα τριαλογονίδια  $\text{VF}_3$ ,  $\text{VCl}_3$ ,  $\text{VBr}_3$  και  $\text{VI}_3$ . Από την αντίδραση V και HF στους 500°C προκύπτει το πρασινοκίτρινο στερεό  $\text{VF}_3$ , ενώ η αντίδραση V με  $\text{Br}_2$  δίνει το πρασινό-μαυρο στερεό  $\text{VBr}_3$ . Το άλυτο  $\text{VCl}_3$  προκύπτει από τη διάσπαση του  $\text{VCl}_4$  στους 420°C ενώ το  $\text{VI}_3$  παρασκευάζεται από την αντίδραση V με  $\text{I}_2$ . Το τρισθενές μέταλλο μπορεί να σχηματίσει ποικιλία συμπλόκων υιοθετώντας οκταεδρική γεωμετρία, όπως το  $\text{mer-[VCl}_3(\text{THF})_3]$ . Παράδειγμα συμπλόκου με υψηλότερο αριθμό ένταξης αποτελεί το επταενταγμένο  $[\text{V}(\text{CN})_7]^{4-}$ , με δομή πενταγωνικής διπυραμίδας, το οποίο παρασκευάζεται από την αντίδραση  $\text{VCl}_3$  και  $\text{KCN}$ , σε υδατικό διάλυμα και απομονώνεται, ως το μετά καλίου άλας,  $\text{K}_4[\text{V}(\text{CN})_7] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

### 1.5 ΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ V(II) ( $d^3$ )

Από αναγωγή όξινων διαλυμάτων πεντασθενούς, τετρασθενούς και τρισθενούς βαναδίου ή από διάλυση του μετάλλου σε οξύ, παράγεται ένα μωβ, ευαίσθητο στον αέρα διάλυμα, που περιέχει το ιόν  $[\text{V}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ . Η οξειδωση του  $\text{V}^{\text{II}}$  είναι περίπλοκη και φαίνεται να προχωρά εν μέρει με άμεση οξειδωση προς το ιόν  $\text{VO}^{2+}$ . Πολλά κρυσταλλικά άλατα περιέχουν το εφυδατωμένο ιόν  $[\text{V}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ , με κυριότερα το θειικό άλας  $\text{V}(\text{SO}_4) \cdot n\text{H}_2\text{O}$  ( $n=6,7$ ) και το διπλό άλας  $\text{M}_2[\text{V}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{SO}_4)_2$  ( $\text{M}=\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$  ή  $\text{Cs}^+$ ). Χαρακτηριστικές ενώσεις του μετάλλου στην +2 οξειδωτική του βαθμίδα αποτελούν τα διαλογονίδια.

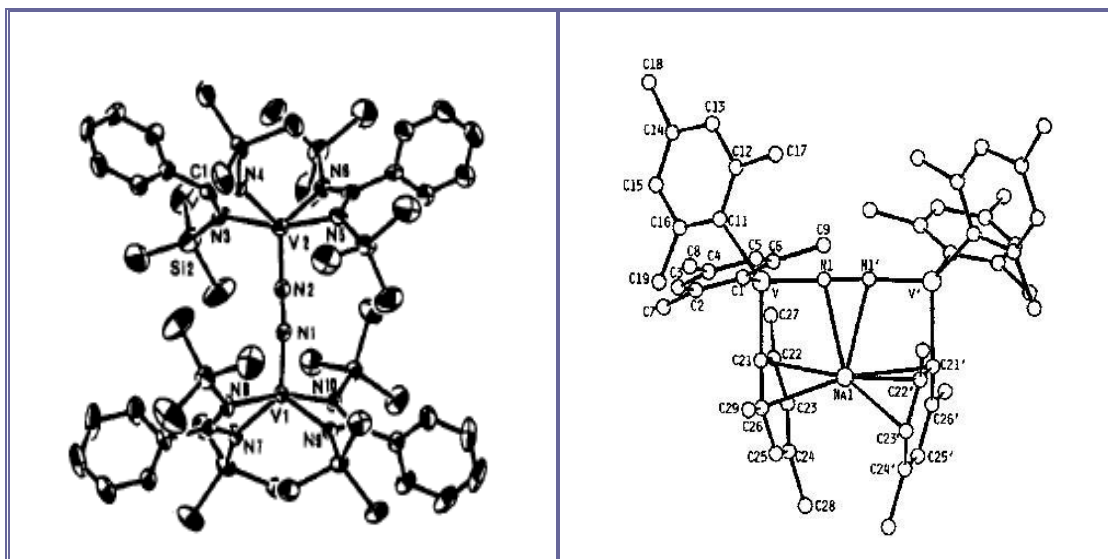


**Εικόνα 1.9.** Η δομή του συμπλόκου κατιόντος  $[\text{V}_2(\mu\text{-Cl})_3(\text{THF})_6]^+$ , όπου φαίνεται η οκταεδρική γεωμετρία των μετάλλων.

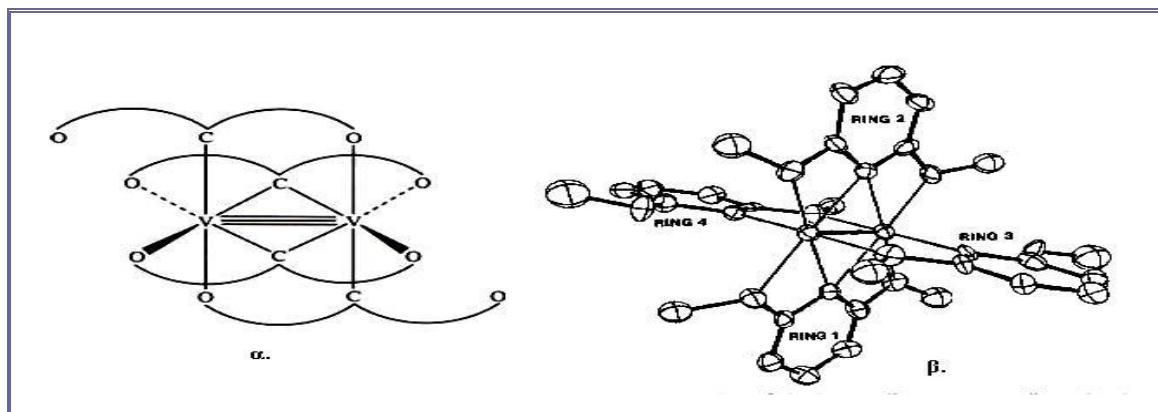
Το πράσινο  $\text{VCl}_2$  σχηματίζεται από την αντίδραση  $\text{VCl}_3$  με  $\text{H}_2$  στους 770°C και μετατρέπεται σε κυανούν  $\text{VF}_2$ , από την αντίδραση με HF και  $\text{H}_2$ . Ομοίως τα  $\text{VBr}_2$  και  $\text{VI}_2$  μπορούν να παραχθούν αντίστοιχα από  $\text{VBr}_3$  και  $\text{VI}_3$ . Τα διαλογονίδια είναι διαλυτά στο νερό. Τα σύμπλοκα που σχηματίζει το δισθενές βανάδιο είναι σχετικά σπάνια.

Η γεωμετρία που συνήθως υιοθετεί το μέταλλο σε αυτά είναι η οκταεδρική, με χαρακτηριστικά παραδείγματα τις ενώσεις  $\text{trans-[VCl}_2(\text{py})_4]$ ,  $[\text{V}(\text{NH}_3)_6]\text{I}_2$ ,  $[\text{V}(\text{NCS})_6]^{4-}$  και  $[\text{V}_2(\mu\text{-Cl})_3(\text{THF})_6]^+$ , (Εικόνα 1.8). Η ικανότητα πολλών συστημάτων που περιέχουν δισθενές

βανάδιο, όπως τα  $V(OH)_2/Mg(OH)_2$  και  $V(OH)_2/ZrO_2 \cdot H_2O$ , να ανάγουν το  $N_2$  σε  $NH_3$  και  $N_2H_4$ , έχει αποδειχθεί και η ενεργειακή μεταβολή αυτής της διεργασίας έχει μελετηθεί, με θεωρητικούς υπολογισμούς. Μερικά καλώς χαρακτηρισμένα σύμπλοκα έχουν απομονωθεί με σκοπό τη μελέτη αυτών των συστημάτων (Εικόνα 1.9).



Εικόνα 1.10. Σύμπλοκα του  $V^{II}$  που έχουν απομονωθεί με σκοπό τη μελέτη του συστήματος  $V^{II}/Mg^{II}$  και τη μετατροπή του  $N_2$  σε  $NH_3$  και  $N_2H_4$ .



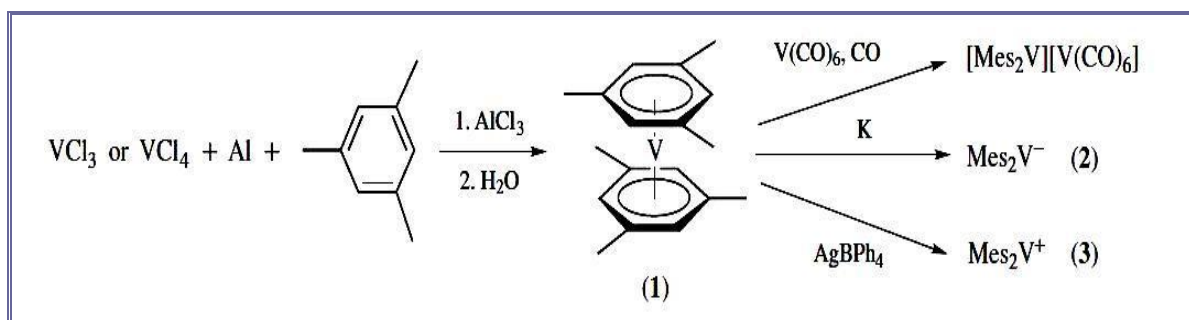
Εικόνα 1.11. (α): Ο τριπλός δεσμός που σχηματίζεται μεταξύ των μεταλλοϊόντων στο σύμπλοκο  $[V_2(2,6\text{-διμεθοξυφαινυλο})_4]$  (β). Η σύμπλοκη ένωση  $[V_2(\text{salophen})_2Na_2(\text{THF})_6]$  με τον διπλό δεσμό  $V=V$ .

Όπως το γειτονικό του βαναδίου μέταλλο Cr, και τα άλλα μέταλλα της ομάδας (Nb, Ta), σχηματίζουν ενώσεις με ισχυρούς δεσμούς μετάλλου-μετάλλου, ίδια συμπεριφορά θα περιμέναμε και από το βανάδιο. Μέχρι στιγμής όμως, μόνο μερικές τέτοιες ενώσεις είναι γνωστές. Ο τριπλός δεσμός και η οκταεδρική διευθέτηση του συμπλόκου  $[V_2(2,6\text{-διμεθοξυφαινυλο})_4]$  φαίνονται στην Εικόνα 1.10.

Δύο ακόμη ενώσεις, η  $V_2(PMePh_2)(H_2ZnH_2BH_2)_2$  και η  $V_2(\text{salophen})_2Na_2(\text{THF})_6$ , έχουν αναφερθεί να περιέχουν διπλούς δεσμούς μεταξύ των μεταλλοϊόντων. Στο άρθρο ανασκοπήσεως γίνεται εκτεταμένη αναφορά, στη εφαρμογή διαφόρων διαμεταλλικών ενώσεων, πολλών χημικών στοιχείων, στην θεραπεία του καρκίνου, [Desoize Bernard,

### 1.6 ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΜΕΤΑΛΛΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ V(0) ( $d^3$ )

Οι πρώτες οργανομεταλλικές ενώσεις με π ή σ δεσμό βαναδίου-υποκαταστάτη χαρακτηρίστηκαν, αντίστοιχα, το 1953 ( $\text{Cr}_2\text{VX}_2$ ,  $\text{X}=\text{Cl}, \text{Br}$ ) και το 1960 ( $\text{PhVCl}_3$ ). Από τότε μέχρι σήμερα φαίνεται πως το πεδίο αυτό της χημείας του βαναδίου αναπτύσσεται προοδευτικά. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη αυτών των ενώσεων είναι ο ηλεκτρονιακός παραμαγνητικός συντονισμός (η EPR) και η  $^{51}\text{V}$  NMR (πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός) φασματοσκοπίες.



Εικόνα 1.12. Τρόπος παρασκευής και δραστηριότητας των δις-( $\eta^6$ -αρένιο)-βανάδιο συμπλόκων.

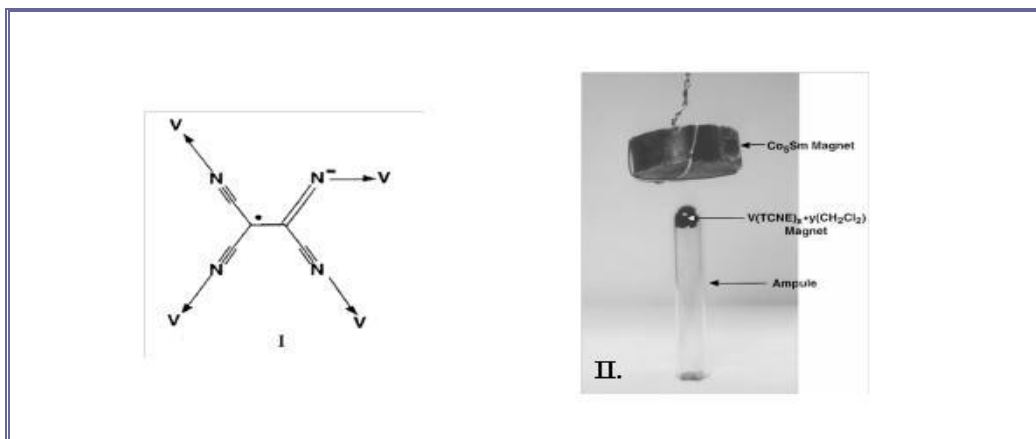
Το ενδιαφέρον στην ανάπτυξη της οργανο-μεταλλικής χημείας του βαναδίου αυξάνεται εξαιτίας της χρήσης αυτών των ενώσεων ως καταλυτών ( $\text{Cr}_2\text{VCl}_2/\text{AlEt}_2\text{Cl}$ ,  $\text{VCl}_3/\text{LiBu}$ ) και στην οργανική σύνθεση ( $[\text{CrV}(\text{H})(\text{CO})_3]^-$ ), καθώς και της σημασίας τους στην ιατρική και στις βιολογικές διεργασίες. Από τη μελέτη της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι υπάρχει ένας τεράστιος αριθμός οργανομεταλλικών ενώσεων του βαναδίου που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα. Θα αναφερθούμε χαρακτηριστικά σε μερικές από αυτές. Τα ( $\eta^6$ -αρένια)-βανάδιο(0) σύμπλοκα, καθώς και εκείνα που φέρουν τους συγγενικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, αποτελούν μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες οργανοβαναδικών ενώσεων.

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.11, τα σύμπλοκα του Δις-( $\eta^6$ -αρένιο)-βαναδίου παρασκευάζονται με αναγωγική αρωματοποίηση  $\text{VCl}_3$  ή  $\text{VCl}_4$  με αρένια παρουσία αλουμινίου και τριχλωριούχου αλουμινίου, ακολουθούμενη από υδρόλυση των παραγόμενων κατιονικών συμπλόκων τύπου "σάντουιτς". Ποικιλία παραγώγων αυτού του συμπλόκου παρασκευάζονται με υποκατάσταση του αρωματικού δακτυλίου. Η πιο γνωστή καρβονυλική ένωση του βαναδίου είναι το εξακαρβόνυλο βανάδιο,  $\text{V}(\text{CO})_6$ . Το μονοπυρηνικό αυτό σύμπλοκο που αποτελεί εξαίρεση του κανόνα των 18 ηλεκτρονίων είναι σχετικά ασταθές και ανάγεται εύκολα στο ανιόν  $\text{V}(\text{CO})_6^-$  και ο σχηματισμός του προκύπτει σύμφωνα με την αντίδραση, της Εικόνας 1.11. Η ένωση  $\text{V}(\text{CO})_6$  με αρένια δίνει το σύμπλοκο  $[\text{V}(\eta^6\text{-arene})(\text{CO})_4]^+[\text{V}(\text{CO})_6]^-$ . Ακόμα μία κατηγορία οργανοβαναδικών ενώσεων αποτελούν τα σύμπλοκα του βαναδίου με το  $\eta^5$ -κυκλοπενταδιενύλιο ( $\text{Cp}$ ). Γενικά στις ενώσεις αυτές η οξειδωτική βαθμίδα του μετάλλου κυμαίνεται από -1 έως +5.

Τα βαναδοκένια είναι χαρακτηριστικά σύμπλοκα αυτού του είδους και παρασκευάζονται από την αντίδραση  $\text{VCl}_3$  ή  $\text{VCl}_2$  με κάποιο αλκαλιμέταλλο του κυκλοπενταδιενυλίου,

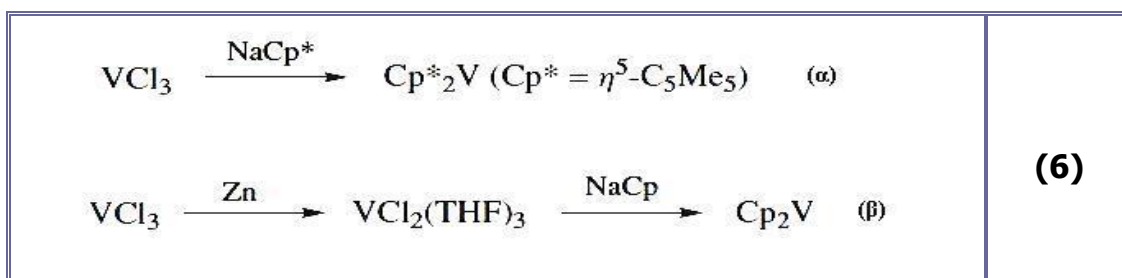


απευθείας ή μετά από αναγωγή, όπως φαίνεται στις Αντιδράσεις 6. Τελειώνοντας, στην οργανομεταλλική χημεία οφείλεται η ανακάλυψη του πρώτου υβριδικού μαγνήτη, με τις ιδιότητες αυτές να εμφανίζονται σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 300°K.



Εικόνα 1.13. Ο προτεινόμενος τρόπος ένταξης των υποκαταστατών στην ένωση δισθενούς βαναδίου,  $V(TCNE)_2 \cdot 1/2(CH_2Cl_2)$  (I) και η μαγνήτιση της σε θερμοκρασία δωματίου (II).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας ουσίας αποτελεί η ένωση  $V^{II}(TCNE)_2 \cdot 1/2(CH_2Cl_2)$ , όπου  $TCNE =$  ιόν του τετρακυανοαιθυλενίου και η οποία παρασκευάστηκε από την αντίδραση  $TCNE$  με  $VO^0(C_6H_6)_2$ .



Η μαγνητική του συμπεριφορά ήταν τόσο έντονη που ένας μόνιμος μαγνήτης μπορούσε να έλξει το προϊόν ακόμη και σε θερμοκρασία δωματίου. Η δομή της ένωσης δεν είναι γνωστή. Όμως οι μαγνητικές μετρήσεις (κατάσταση του σπιν  $S=3/2$ ), το IR φάσμα και τα δεδομένα της στοιχειακής ανάλυσης οδήγησαν στην υιοθέτηση του παραπάνω τύπου, (Εικόνα 1.12). Πιστεύεται, ότι η δομή αποτελείται από ένα δίκτυο τριών διαστάσεων. Σε αυτό, κάθε ιόν βαναδίου περιβάλλεται από έξι υποκαταστάτες,  $[TCNE]^{2-}$ , που εντάσσονται μέσω των ατόμων N και κάθε ιόν  $[TCNE]^{2-}$  ενώνεται με 4 κέντρα V μέσω 6 δεσμών.

### 1.7 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ $^{51}V$ NMR

Το βανάδιο-51 είναι ένας πυρήνας με **Spin=7/2**, ο οποίος είναι μοναδικός λόγω των εξαιρετικών ιδιοτήτων του, Πίνακας 2. Η επιδεκτικότητα του βρίσκεται κοντά σε αυτή του πρωτονίου λόγω της αφθονίας του στη φύση και του επιθυμητού γυρομαγνητικού λόγου, ειδικά του δεύτερου, αν αναλογιστεί κανείς ότι η συχνότητα που είναι προσβάσιμος ο πυρήνας βρίσκεται κοντά σε αυτή του  $^{13}C$ . Πυρήνες με **Spin>1/2** διαθέτουν μια μη

σφαιρική κατανομή του πυρηνικού φορτίου, κάτι που έχει σαν αποτέλεσμα την ύπαρξη τετραπολικής ροπής. Η τετραπολική ροπή του πυρήνα  $^{51}\text{V} = -4,8 \text{ fm}^2$ , είναι συγκριτικά μικρή, επιτρέποντας τη λήψη φασμάτων πολύ καλής ανάλυσης. Η ύπαρξη τετραπολικής ροπής έχει σαν αποτέλεσμα να έχουμε διευρυμένα σήματα, κάτι που μπορεί να θεωρηθεί ως μειονέκτημα στην ανάλυση του φάσματος.

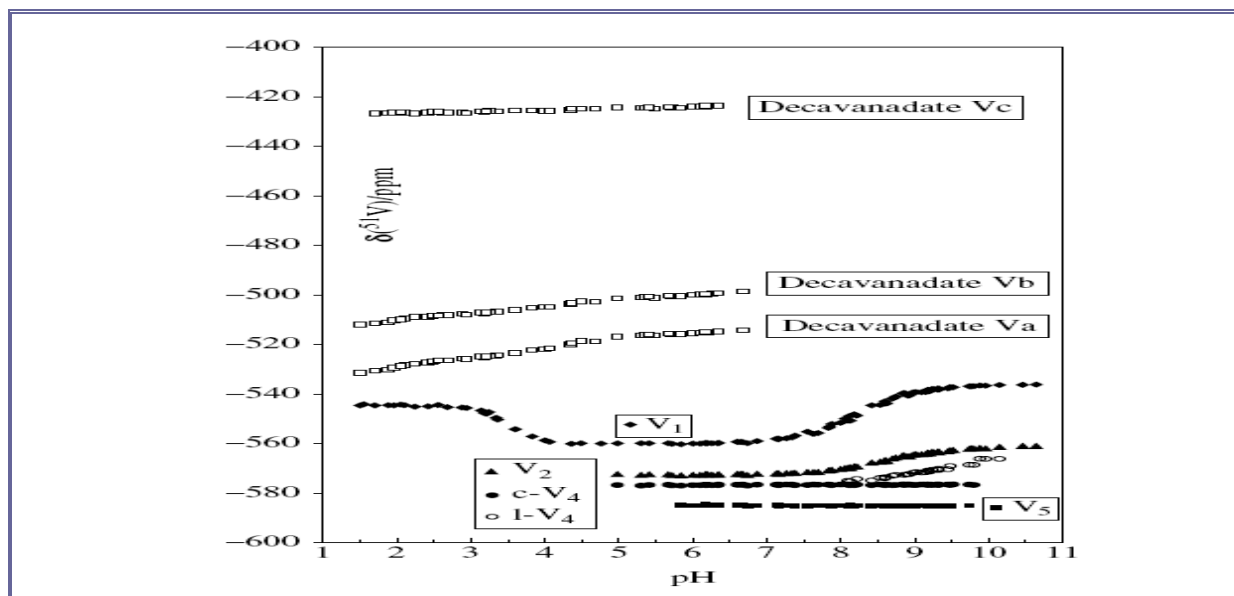
**Πίνακας 1.2. NMR-παράμετροι για τον πυρήνα  $^{51}\text{V}$ .**

Πυρηνικό Spin $I=7/2$	Τετραπολική Ροπή $Q \text{ (fm}^2\text{)} = -4,8^b$	Αφθονία (%) = 99,76
Γυρομαγνητικός λόγος, $\gamma \text{ (} 10^7 \text{ rads}^{-1}\text{T}^{-1}\text{)} +7,0492$	Επιδεκτικότητα σχετική με $^1\text{H} = 0,38$	Συχνότητα, $\nu_0 \text{ (MHz)}^a$ =26,350

a) Η συχνότητα μετρήθηκε στα 2,35 T (το  $^1\text{H}$  σε TMS συντονίζεται στα 100 MHz)

b) Η τιμή  $Q \text{ (}^{51}\text{V)}$ , η οποία συνήθως αναφέρεται στα  $-5,2 \text{ fm}^2$ , διορθώθηκε πρόσφατα.<sup>R</sup>

Το μειονέκτημα αυτό εξισορροπείται σε μεγάλο ποσοστό από την ευρεία κλίμακα χημικών μετατοπίσεων η οποία καλύπτει περίπου 4600 ppm. Ακόμα και ελάχιστες μεταβολές στην ηλεκτρονιακή κατάσταση του πυρήνα του βαναδίου είναι ανιχνεύσιμες με βάση τη μεταβολή στη χημική μετατόπιση. Οι τιμές των χημικών μετατοπίσεων παρουσιάζουν ευαισθησία ως προς τη θερμοκρασία. Για αυτό το λόγο, η σύγκριση των τιμών  $\delta$  απαιτεί τον προσδιορισμό τους στην ίδια περίπου θερμοκρασία.



**Σχήμα 1.6.** Χημικές μετατοπίσεις των δεκαβαναδικών, των μονοβαναδικών [ $\text{V}_1 = \text{H}_x\text{VO}_4^{(3-x)-}$  και κάτω από  $\text{pH} \sim 2$ ,  $\text{VO}^{2+}$ ], διβαναδικών [ $\text{V}_2 = \text{H}_x\text{V}_2\text{O}_7^{(4-x)-}$ ], κυκλικών τετραβαναδικών ( $\text{c-V}_4 = \text{V}_4\text{O}_{12}^{4-}$ ), γραμμικών τετραβαναδικών ( $\text{l-V}_4 = \text{V}_4\text{O}_{13}^{6-}$ ) και πενταβαναδικών ανιόντων ( $\text{V}_5 = \text{V}_5\text{O}_{15}^{5-}$ ). Δες στο Σχήμα 3 για τη δομή των  $\text{V}_1$ ,  $\text{V}_2$ ,  $\text{c-V}_4$  και  $\text{V}_5$ .

Ο συνδυασμός των μικρών χρόνων αποκατάστασης και του τετραπολικού πυρήνα μειώνουν δραστικά το χρόνο που χρειάζεται ένα πείραμα NMR  $^{51}\text{V}$  καθώς επίσης και την απαιτούμενη συγκέντρωση του δείγματος ( $\mu\text{M}$ ). Η ποικιλία στο εύρος των κορυφών ( $\Delta\nu$ ) είναι μια άκομα παράμετρος η οποία μας δίνει πληροφορίες για την ηλεκτρονιακή και στερεοχημική κατάσταση στην πρωτεύουσα σφαίρα ένταξης των ενώσεων του βαναδίου,

για τη συμμετρία τους καθώς και για την αλληλεπίδραση τους με άλλα μόρια ή ιόντα, όπως αντισταθμιστικά ιόντα, μόρια διαλύτη και άλλα συστατικά που μπορεί να υπάρχουν στο διάλυμα, [Tracey A.C., et al, "Vanadium Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Practical Applications", Taylor and Francis Group, 2007]. Η ένωση αναφοράς, η οποία χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση των χημικών μετατοπίσεων του  $^{51}\text{V}$  είναι καθαρό  $\text{VOCl}_3$ , για το οποίο η χημική μετατόπιση  $\delta$  ορίζεται στην τιμή μηδέν. Λόγω της δυσκολίας στη χρήση αυτής της ένωσης (υδρολύεται άμεσα παρουσία υγρασίας), έχει προταθεί η χρήση πιο εύχρηστων προτύπων διαλυμάτων. Ένα από αυτά περιέχει υδατικό διάλυμα μεταβαναδικού νατρίου 1M σε pH= 12, το οποίο περιέχει τα ιόντα  $\text{VO}_4^{3-}$  ( $\delta=-535,7$  ppm) και  $\text{V}_2\text{O}_7^{4-}$  ( $\delta=-559,0$  ppm). Σχετικό άρθρο επισκόπησης για τη φασματοσκοπία NMR  $^{51}\text{V}$ , δημοσιεύθηκε πρόσφατα [Rehder D., 2007]. Για τις καθαρά ανόργανες ενώσεις του βαναδίου, το κατώτατο όριο μαγνητικού πεδίου, [Pribsch, 1990] καθορίζεται από την ένωση  $[\text{V}^{\text{V}}\text{Se}_4]^{3-}$  (+2570 ppm) ενώ το ανώτατο από την ένωση  $\text{V}_2\text{F}_5$  (-895 ppm). Για τις οργανικές ενώσεις του βαναδίου, οι χημικές μετατοπίσεις εκτείνονται από τα +2382 ppm με βάση την ένωση  $[(\text{C}_6\text{V})_2\mu\text{-O}(\mu\text{-Te})(\mu\text{-Te}_2)]$  [Cr=  $\eta^5$ -κυκλοπεντα-διενύλιο(-1)], έως τα -2054 ppm με βάση την ένωση  $[\text{C}_6\text{V}(\text{CO})_3\text{SnPh}_3]^{-9}$ , [Crans D.C., et al, 1990]. Οι ακόλουθοι εμπειρικοί κανόνες χρησιμεύουν για την ερμηνεία των τιμών  $\delta$  στα φάσματα NMR  $^{51}\text{V}$ .

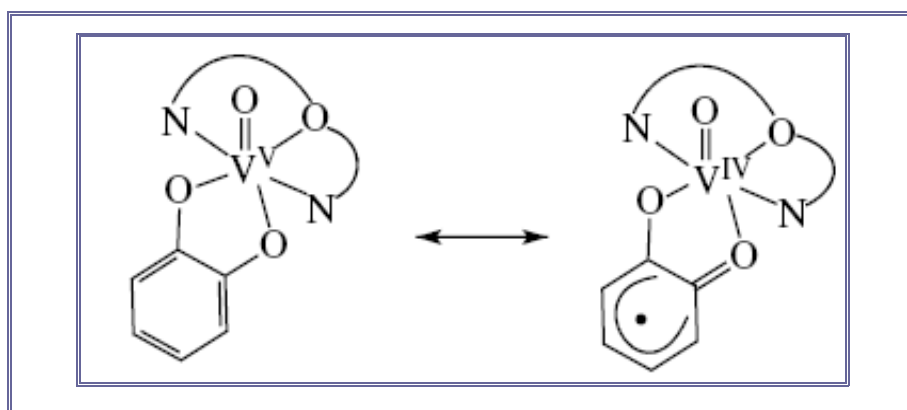
**1)-Εξάρτηση από την ηλεκτραρνητικότητα.** Αναμφισβήτητα υπάρχει σχέση μεταξύ της ηλεκτραρνητικότητας των υποκαταστατών και της προστασίας που υφίσταται ο πυρήνας του βαναδίου. Η σύγκριση βέβαια μπορεί να γίνει ανάμεσα σε "αθώους" υποκαταστάτες (για τον ορισμό της έννοιας δες παρακάτω) και χωρίς την παρουσία ενταγμένων  $\eta^2$ -υποκαταστατών. Ενώσεις οι οποίες περιέχουν υποκαταστάτες με άτομα οξυγόνου και άτομα αζώτου ως δότες, δίνουν σήματα κατά προσέγγιση στην κλίμακα 400-600 ppm, [Rehder D., 1988]. Η εισαγωγή ενός χλωρο-υποκαταστάτη, ή ενός απλού θειο-υποκαταστάτη όπως  $\text{S}^{2-}$  ή  $\text{RS}^-$ , αποπροστατεύει τον πυρήνα του βαναδίου.

**2)- Αριθμός ένταξης και γεωμετρία.** Σε μια σειρά συμπλόκων ανιόντων με ταυτόσημους υποκαταστάτες, όπως τα βαναδικά ανιόντα  $[\text{V}^{\text{V}}\text{O}_n]$  ( $n=4-6$ ), έχει βρεθεί ότι η προστασία μειώνεται καθώς αυξάνεται το  $n$ , (Σχήμα 1.6). Τα τετραεδρικά βαναδικά ανιόντα συντονίζονται όλα στην περιοχή χημικών μετατοπίσεων -534 έως -586 ppm. Η ακριβής τιμή καθορίζεται και από τον αριθμό ατόμων βαναδίου στην ένωση καθώς και το φορτίο του ανιόντος. Στα 10 περιφερειακά άτομα βαναδίου των δεκαβαναδικών ανιόντων (Σχήμα 5), η γεωμετρία των V(a) και V(b) είναι κάτι μεταξύ τετραγωνικής πυραμίδας και τετραγωνικής διπυραμίδας, [Pribsch W., 1985]. Το σήμα για τα V(a) και V(b) βρίσκεται κοντά στα -500 ppm. Έντονη αποπροστασία παρατηρείται στα κεντρικά άτομα βαναδίου V(c), τα οποία έχουν οκταεδρική γεωμετρία και εμφανίζουν ένα σήμα στα -420 ppm.

**3)- Στερεοχημικά φαινόμενα.** Ογκώδεις υποκαταστάτες μετατοπίζουν το σήμα των ενώσεων του V(V) σε υψηλότερο πεδίο. Ένα παράδειγμα είναι ο εστέρας του ορθοβαναδικού οξέος  $\text{V}^{\text{V}}\text{O}(\text{OR})_3$ . Όταν R = Et (αιθυλο-ομάδα) έχουμε μια τιμή  $\delta = -605$  ppm, ενώ όταν R = i-Pr (ισοπρόπυλο-ομάδα) έχουμε  $\delta = -623$  ppm και όταν R = t-Bu (τριτοπαγής βούτυλο-ομάδα) έχουμε  $\delta = -681$  ppm.

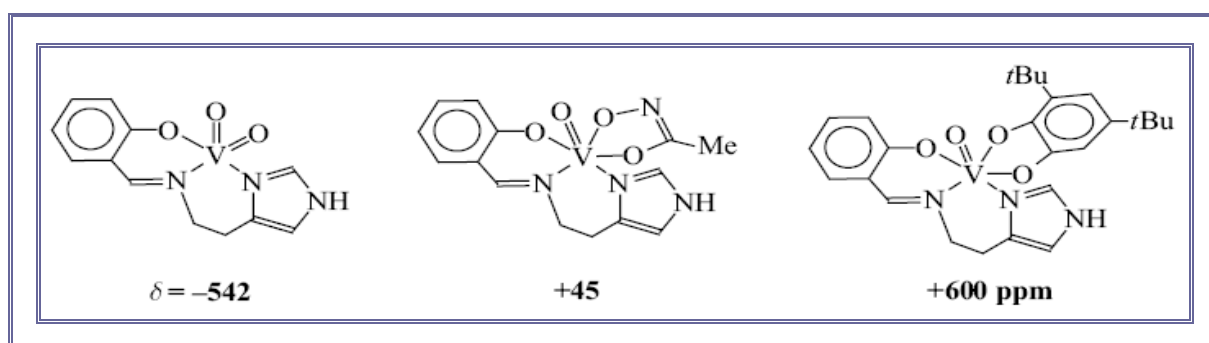
**4)- Περόξο- και υδροξυλάμιδο- υποκαταστάτες.** Αυτοί οι υποκαταστάτες εντάσσονται κατά η<sup>2</sup> τρόπο. Σχηματίζουν έτσι τριμελείς δακτυλίους, κάτι που έχει σαν αποτέλεσμα η τιμή της χημικής μετατόπισης να αυξάνεται κατά 50 περίπου ppm (ή και περισσότερο) για κάθε περόξο (O<sub>2</sub><sup>2-</sup> ή RO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ή υδροξυλάμιδο-υποκαταστάτη (NR<sub>2</sub>O<sup>-</sup>, R = H ή/και αλκύλιο).

**5)- "Ένοχοι υποκαταστάτες".** Υποκαταστάτες οι οποίοι είναι ικανοί να απεντοπίσουν ηλεκτρονιακό φορτίο προς το μέταλλο καλούνται "ένοχοι". Αυτή η μεταφορά φορτίου από το μέταλλο προς τον υποκαταστάτη (LMCT) έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία υβριδίων συντονισμού (Εικόνα 1.14) και την σημαντική αποπροστασία του πυρήνα του βαναδίου.



**Εικόνα 1.14. Η δημιουργία υβριδίων συντονισμού, συμπλόκων του βαναδίου, με ένοχους υποκαταστάτες.**

Οι τιμές  $\delta$  σχετίζονται κατά κανόνα γραμμικά με τις ενέργειες από τις ταινίες μεταφοράς φορτίου στο ορατό και στο εγγύς υπέρυθρο, [Cornman C., 1992]. Χαμηλής ενέργειας ταινίες μεταφοράς φορτίου οδηγούν σε δραστική αποπροστασία. "Ένοχοι υποκαταστάτες" τυπικά είναι οι κατεχόλες και τα υδροξαμικά οξέα.



**Εικόνα 1.15. Χημικές μετατοπίσεις  $\delta(^{51}\text{V})$  για τα σύμπλοκα του οξοβαναδίου με τον "αθώο" υποκαταστάτη σαλικυλιδενο-αμινατοαιθυλ-ιμιδαζολιο και τους "ένοχους" υποκαταστάτες, μεθυλο-υδροξαμικό οξύ και δις (t-βουτυλο)-κατεχόλη.**

Ως παράδειγμα παρατίθενται τρεις ενώσεις του V(V) με υποκαταστάτη μια βάση του Schiff, στις οποίες μπορεί να γίνει άμεση σύγκριση, Εικόνα 1.15. Αν και η παρουσία μόνο του "αθώου υποκαταστάτη" στην ένωση του βαναδίου έχει ως αποτέλεσμα μια αρκετά λογική τιμή  $\delta$ , στα υδροξαμικά και κατεχολικά παράγωγα παρατηρούμε δραματική αποπροστασία.

## **1.8 ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ ΣΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ**

Αρκετό ενδιαφέρον έχει προκύψει γύρω από την κατανόηση της βιολογικής δράσης των ενώσεων του βαναδίου, λόγω των ενδεχομένων εφαρμογών του βαναδίου στην αντιμετώπιση του καρκίνου και του διαβήτη και λόγω της διαθεσιμότητας αυτού του μετάλλου, σε συμπληρώματα διατροφής τα οποία καταναλώνονται ευρέως από την πλειοψηφία του κόσμου και κυρίως από αθλητές.

Οι πρώτες ενδείξεις για τη βιολογική δράση των ενώσεων του βαναδίου φάνηκαν το 1977, όταν και ανακαλύφθηκε ότι το βανάδιο που βρίσκεται στον ανθρώπινο μυ, αναστέλλει την ATP-άση καλίου-νατρίου, [Gantley L., 1977]. Αυτή η ανακάλυψη οδήγησε σε μία ώθηση γύρω από την έρευνα του ρόλου του βαναδίου στα βιολογικά συστήματα, [Boyd D., 1984] και [Jones Chris J., and Thornback John R., in "Medicinal Applications of Coordination Chemistry", 2007].

Τα πολύπλοκα χαρακτηριστικά των βιολογικών συστημάτων, σε συνδυασμό με την πλούσια χημεία του βαναδίου στα υδατικά διαλύματα, καθιστά αρκετά δύσκολη τη μελέτη της δράσης των ενώσεων του βαναδίου στους ζώντες οργανισμούς. Το κύτταρο χωρίζεται με μεμβράνες σε διαφορετικά οργανίδια και κυστίδια. Κάθε ξεχωριστό τμήμα, εντός του κυττάρου, μπορεί να έχει διαφορετική τιμή pH, διαφορετική ικανότητα στο να δεσμεύει το βανάδιο και διαφορετικούς φυσικούς υποκαταστάτες για το βανάδιο.

Συνδυάζοντας την επίδραση της κυτταρικής αρχιτεκτονικής με την εξάρτηση από το pH και την συγκέντρωση, τα οποία χαρακτηρίζουν τη χημεία του βαναδίου, μπορεί να διαπιστώσει κανείς, ότι όταν μία μόνο ένωση του βαναδίου εισάγεται στο κύτταρο, είναι δυνατό να οδηγηθούμε σε διαφορετικές ολιγομερικές μορφές και σε διαφορετικές οξειδωτικές βαθμίδες, στα διαφορετικά τμήματα αυτού του κυττάρου.

Οι ενώσεις του βαναδίου έχουν μελετηθεί αρκετά λόγω της φαρμακολογικής τους δράσης απέναντι στο διαβήτη και στον καρκίνο. Η έρευνα στοχεύει στην εξειδικευμένη και εκλεκτική λειτουργία των συμπλόκων του βαναδίου με απώτερο σκοπό την αντιμετώπιση των ασθενειών αυτών. Από την άλλη πλευρά, όσα περισσότερα ανακαλύπτονται για τη δράση του βαναδίου στα βιολογικά συστήματα, μπορούν να οδηγήσουν και σε άλλες εφαρμογές του μετάλλου αυτού στην ιατρική, [Morinville A., 1998] και [Hulley P., 1998].

Για την επίτευξη της μέγιστης θεραπευτικής ισχύος και των λιγότερων παράπλευρων τοξικών δράσεων, στα φαρμακευτικά σκευάσματα του βαναδίου, απαιτείται υψηλή εξειδίκευση του ενζύμου και σταθερότητα του παρεχόμενου φαρμάκου σε αντιδράσεις διάσπασης στο σώμα.

Υποκατεστημένα σύμπλοκα του βαναδίου, σχεδιασμένα με βάση την πλήρη γνώση της υδατικής χημείας του μετάλλου, φαίνεται να έχουν τις περισσότερες πιθανότητες να επιτύχουν τους παραπάνω στόχους, [Hubregtse T., 2005] και [Tracey A.C., et al, "Vanadium Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Practical Applications", Taylor and Francis Group, 2007].

## **1.9 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΒΗΤΗ, ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ΒΑΝΑΔΙΟΥ.**

Το μεγαλύτερο πρόβλημα στους ασθενείς, στους οποίους χορηγείται ινσουλίνη, είναι το ρίσκο της υπογλυκαιμίας, της απότομης δηλαδή μείωσης των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα. Η κλινική υπογλυκαιμία μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια των αισθήσεων ή ακόμα και στο θάνατο. Η ινσουλίνη μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης όταν εισάγεται στο αίμα, ακόμα και αν τα επίπεδα γλυκόζης του ασθενούς βρίσκονται σε κανονικές τιμές. Ταυτόχρονη λήψη βαναδίου και ινσουλίνης φαίνεται να βοηθάει την κατάσταση, διατηρώντας τον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και προλαμβάνοντας φαινόμενα υπογλυκαιμίας, [Cam M.C., 2000]. Η περιορισμένη τοξικότητα των ενώσεων του βαναδίου στον μεταβολισμό καθιστά τις ενώσεις αυτές ιδιαίτερα ενδιαφέρουσες ως συμπληρωματικά φάρμακα στη θεραπεία του διαβήτη.

Οι υποκαταστάτες, οι οποίοι χρησιμοποιούνται στη σύνθεση των ενώσεων του βαναδίου, φαίνεται να επηρεάζουν άμεσα τις αντιδιαβητικές ή κυτταροτοξικές ιδιότητες των ενώσεων αυτών. Το σύμπλοκο του βαναδίου (4-υδροξυπυριδινη-2,6-δι- καρβοξυλικό)-οξοβανά-δικο(V),  $cis-[V^{VO_2}(dipic)]$ , έχει βρεθεί ότι διαθέτει αντιδιαβητικές ιδιότητες στα ποντίκια, καθώς και κυτταροτοξική δράση στα *Saccharomyces Cerevisiae*, [Crans D.C., 2003]. Εφαρμόζοντας τις πρόσφατες γνώσεις επάνω στη χημεία του βαναδίου μπορούμε να πετύχουμε το σχεδιασμό υποκατεστημένων ενώσεων του βαναδίου, οι οποίες παρουσιάζουν ινσουλινομιμητική δράση έχοντας παράλληλα μειωμένη τοξικότητα στα ζώα. Οι πρώτες ενώσεις του βαναδίου, οι οποίες δοκιμάστηκαν για ινσουλινομιμητική δράση, ήταν το θειικό βαναδύλιο(IV) και τα άλατα του βαναδίου(V). Σε μια προσπάθεια να αυξηθεί η δραστηριότητα και να μειωθεί η τοξικότητα, χρησιμοποιήθηκαν υποκατεστημένες ενώσεις του βαναδίου με οργανικά μόρια, [Thompson K.H., 2001].

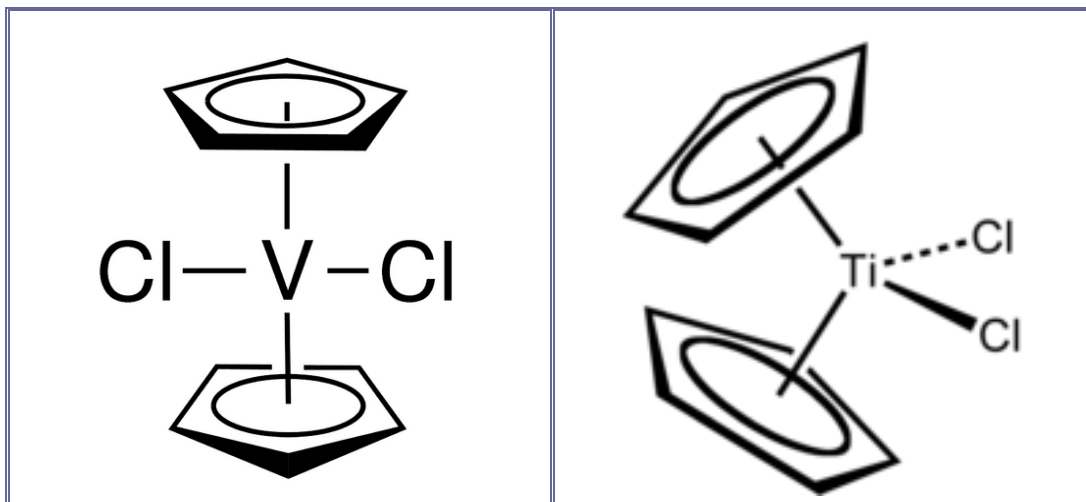
Οι υποκαταστάτες που χρησιμοποιήθηκαν περιλαμβάνουν πυρονικές, πυριδινονικές καθώς και πικολινικές ομάδες, ακετυλακετόνες, δικαρβοξυλικούς εστέρες και την N,N-δι-σαλικυλιδενοαιθυλενοδιαμίνη (Salen). Φυσικές ενώσεις, με ισχυρή τάση σύμπλεξης με το βανάδιο, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί επιτυχώς. Ένα παράδειγμα είναι το L-ισομερές του γλουταμικού οξέος, το γ-μονουδροξαμικό, [Shechter Y., 2003].

Επίσης, έχουν μελετηθεί οι ινσουλινομιμητικές ιδιότητες των μονο- και διπεροξοβαναδικών, [Bevan A.P., 1995]. Η έλλειψη υδρολυτικής σταθερότητας, καθώς και ο σχηματισμός σημαντικού αριθμού ελευθέρων ριζών, κατά τη χρήση αυτών των ενώσεων περιορίζει κατά πολύ τη θεραπευτική τους δράση, [Thompson K.H., 1999]. Έχει βρεθεί ότι μακροκυκλικές διπυρηνικές ενώσεις του οξοβαναδίου διορθώνουν τις διαβητικές μεταβολές του μεταβολισμού των λιπιδίων, σε διαβητικά ποντίκια χωρίς καμία παρατηρούμενη τοξικότητα, [Ramachandran B., 2005].

### **1.9.1. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΜΕ ΕΝΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

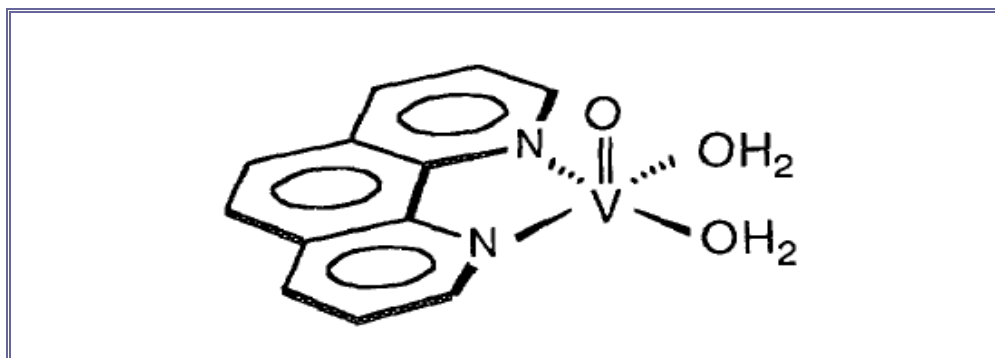
Η αντινεοπλαστική δράση των ενώσεων του βαναδίου έχει μελετηθεί επίσης ευρέως. Το 1979 προτάθηκε η οργανομεταλλική ένωση Δις-κυκλοπενταδιενυλιο-διχλωρο-βανάδιο(IV),  $(C_5H_5)V^{IV}Cl_2$ , η οποία βρέθηκε να έχει αντικαρκινική δράση, [Djordjjevic C., 1995]. Η ένωση προκαλούσε αναστολή της ανάπτυξης σε διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές και της

ανάπτυξης όγκων in vivo. Περιοξοσύμπλοκα του βαναδίου(V) με γνωστή ινσουλινομιμητική δράση, εμφάνισαν και αντικαρκινική δράση ενάντια στα κύτταρα της λευχαιμίας.



**Εικόνα 1.16.** Οι οργανομεταλλικές ενώσεις Δις-κυκλοπενταδιενυλιο-διχλωρο-βανάδιο (IV),  $(C_5H_5)_2V^{IV}Cl_2$  και Δις-κυκλοπενταδιενυλιο-διχλωρο-τιτάνιο (IV),  $(C_5H_5)_2Ti^{IV}Cl_2$  αναφέρθηκε ότι εμφανίζουν σημαντική αντικαρκινική δράση.

Είναι γνωστό πως οι ενώσεις του βαναδοκενίου προκαλούν απόπτωση στις κυτταρικές σειρές. Το σήμα απόπτωσης των ενώσεων του βαναδοκενίου εμφανίζεται ξεχωριστά σε σχέση με αυτό της ένωσης cisplatin, η οποία χρησιμοποιείται ευρύτατα ως φάρμακο κατά του καρκίνου. Σε σύγκριση με τέσσερα άλλα χλωρίδια μεταλλοκενίων (τιτανίου, ζirkονίου, μολυβδαινίου και αφνίου), το βαναδοκένιο(IV) είναι η πιο ισχυρή κυτταροτοξική ουσία κατά τη δοκιμή σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές των όρχων, [Ghosh P., 2000].



**Εικόνα 1.17.** Η μοριακή δομή του Metvan, δις(4,7-διμεθυλο-1,10-φαινανθρολίνη)-θειικό-οξοβανάδιο(IV),  $[V^{IV}O(phen)(H_2O)_2]SO_4$ .

Η λήψη βαναδίου από ζώα έχει δείξει αρκετά καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση θανάσιμων όγκων. Το 1984, στοματική εισαγωγή θειικού βαναδυλίου έδειξε μείωση στην ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού, [Thompson H.J., 1984]. Η λήψη βαναδίου προστατεύει τα ποντίκια από ανάπτυξη καρκίνου, όπως αποδείχθηκε από ιστολογικά δεδομένα. Επιπρόσθετα, διακρίνεται σημαντική μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης του συνολικού αριθμού όγκων και καθυστέρηση στην εμφάνιση τους. Ζώα, στα οποία έχει χορηγηθεί βανάδιο, παρουσιάζουν μειωμένη κατανομή μεταλλοθειονίνης στους ιστούς,

ενός προγνωστικού για την εμφάνιση καρκίνου στους μαστούς. Οι ιστοί του μαστού στα ζώα που είχε χορηγηθεί θεραπεία με βανάδιο παρουσίασαν αύξηση της απόπτωσης, κάτι το οποίο συνδέεται με την αντικαρκινική δράση, [Ray R.S., Cell Biochemistry and Function, 2005]. Οι ενώσεις του βαναδίου διαθέτουν ανασταλτική δράση ενάντια στον καρκίνο του ήπατος στα ποντίκια περιορίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες στα προνεοπλαστικά στάδια της ανάπτυξης αυτού του καρκίνου, [Chakraborty T., 2006]. Αυτές οι αντινεοπλαστικές ιδιότητες του βαναδίου μπορούν να συσχετιστούν με την πρόκληση της απόπτωσης και της εκλεκτικής βλάβης στο DNA των καρκινικών κυττάρων, [Ray R.S., Nutrition and Cancer, 2005], [Mukherjee B., 2004].

Η ένωση του βαναδίου(III) με την κυστεΐνη έχει παρουσιάσει σημαντική αντιμεταστατική δράση, ενάντια στη μετάσταση του καρκίνου του πνεύμονα, στα ποντίκια του γένους Wistar, στα οποία είχε χορηγηθεί 3,4-βενζοπυρένιο, [Papaioannou A., 2004]. Το σκεύασμα Metvan, Δις-(4,7-διμεθυλο-1,10-φαινανθρολίνη)-θειικό-οξοβανάδιο (IV), (Εικόνα 1.17), είναι ένα ευρέως φάσματος υποσχόμενο αντικαρκινικό φάρμακο του βαναδίου με επιθυμητά φαρμακολογικά χαρακτηριστικά και μειωμένη τοξικότητα, [D' Cruz O.J., 2002]. Έχει βρεθεί ότι είναι πιο δραστικό στην πρόκληση απόπτωσης στα πρώιμα ανθρώπινα λευχαιμικά κύτταρα σε σύγκριση με τις πρότυπες θεραπευτικές ουσίες, δεξαμεθαζόνη και βινκριστίνη. Η επιτυχία της χρήσης των ενώσεων του βαναδίου σε αυτά τα πειράματα θέτει υπό συζήτηση το ρόλο του βαναδίου στη χημειοθεραπεία, [Tracey A.C., et al, "Vanadium Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Practical Applications", Taylor and Francis Group, 2007].



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

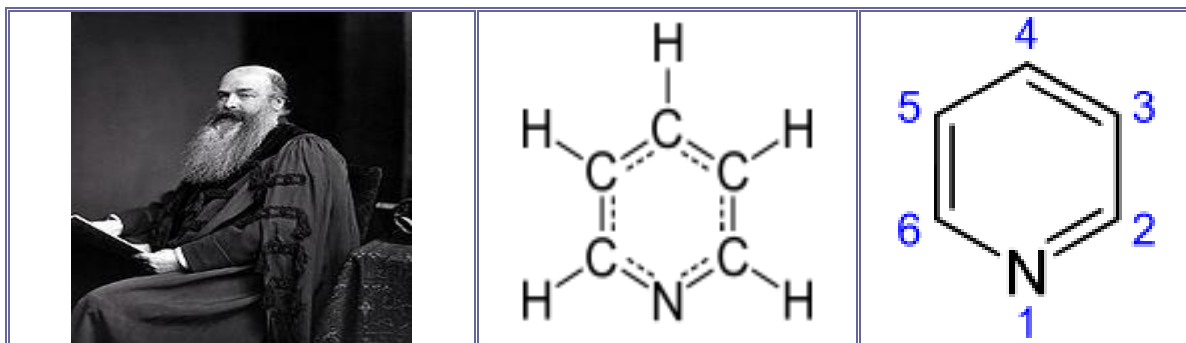
### ΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ

#### 2.1 ΠΥΡΙΔΙΝΗ ή PYRIDINE ή AZINE ή AZABENZENE

##### 2.1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗ

Σήμερα η σπουδαιότητα και η χρησιμότητα της Πυριδίνης στους επιστημονικούς τομείς της Αναλυτικής Χημείας, της Συνθετικής Χημείας, της Ανόργανης Χημείας, της Οργανικής Χημείας, της Βιοχημείας, της Ιατρικής, της Φαρμακευτικής Χημείας και της Βιομηχανικής Χημείας είναι τεράστια και αναντικατάστατη, [Britannica Encyclopedia on line, Wikipedia on line], [New World Encyclopedia, "Pyridine", on line]. Είναι το πρώτο ομόλογο της μεγάλης σειράς των ετεροκυκλικών, εξαμελών, αρωματικών ενώσεων και οι εφαρμογές της στην σύγχρονη Επιστημονική Τεχνολογία είναι απειράριθμες, [Landenburg Albert, 1900], [Bansal Raj K., 1999], [Katritzky A.R., 2000], [O'Neil M.I., 2006], [Eller K., 2005] και [Shimizu S.A., 2005], [Barger George, "The Simpler Natural Bases", 1914].

Στην παρούσα Διατριβή δίνεται έμφαση στην Χημεία της πυριδίνης και μελετάται σχετικώς διεξοδικά, για δύο κύριους λόγους, διότι **α)**- η ίδια η πυριδίνη είναι ο πρώτος υπό μελέτη υποκαταστάτης συμπλοκοποιήσεων με στοιχεία μεταπτώσεως, [De Koning A., 1980] και **β)**- διότι οι αμέσως επόμενοι δύο υποκαταστάτες, Πιπεραζίνη και Νικοτιναμίδιο αποτελούν παράγωγα της πυριδίνης, [Sherman A.R., 2004].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.1.** Αριστερά: ο Thomas Anderson, Κέντρο: ο Αρωματικός Δακτύλιος κατά Kekule, Δεξιά: Ο Συνήθης Συντακτικός Τύπος της Πυριδίνης, με την Αρίθμηση των Ατόμων κατά IUPAC.

Αρχικά η πυριδίνη παρασκευάσθηκε από την λιθανθρακόπισσα (coal tar) και ως παραπροϊόν της εξαέρωσης του άνθρακα. Εντούτοις, η συνεχώς αυξανόμενη απαίτηση για μεγαλύτερες ποσότητες πυριδίνης οδήγησε στην ανάπτυξη οικονομικότερων μεθόδων σύνθεσης, από την ακεταλδεΐδη και την αμμωνία.

Η πυριδίνη είναι μια σημαντική πρώτη ύλη της χημικής βιομηχανίας, με ετήσια παραγωγή της τάξεως των 50.000 τόνων παγκοσμίως. Μεταξύ των βασικότερων βιομηχανικών μονάδων παραγωγής της πυριδίνης είναι η [Shimizu S., et al, 2005]. Εξ' άλλου η Αμερικανο-Κινεζική κοινοπραξία **Vertellus** είναι σήμερα ο παγκόσμιος ηγέτης στην παραγωγή πυριδίνης, [AgroChemEx, 2010, on line] και [Vertellus, on line, 2012].

### 2.1.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ - ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ακάθαρτη πυριδίνη παρασκευάσθηκε από τους πρώτους αλχημιστές, με τη θέρμανση των ζωικών οστών και άλλων οργανικών ουσιών, [Weissberger A., et al, 1960], αλλά η πρώτη τεκμηριωμένη αναφορά αποδίδεται στον Σκώτο επιστήμονα Thomas Anderson. Το 1849 ο Anderson εξέτασε το περιεχόμενο του ελαίου, που λήφθηκε μέσω της θέρμανσης των ζωικών οστών, σε υψηλές θερμοκρασίες, [Von Anderson Th., 1849 και 1851]. Παρέλαβε ένα ελαιώδες υγρό με δυσάρεστη οσμή, μίγμα πολλών άλλων πτητικών ουσιών. Δύο έτη αργότερα, με κλασματική απόσταξη του ελαιώδους μίγματος, διεχώρισε και απομόνωσε καθαρή πυριδίνη, ένα άχρωμο υγρό, με δυσάρεστη και αποπνικτική οσμή. Την περιέγραψε ως ουσία ιδιαίτερα διαλυτή στο ύδωρ, εύκολα διαλυτή σε πυκνά οξέα και τα άλατα αυτών υπό θέρμανση και μόνο ελαφρώς διαλυτή στα έλαια. Εξ' αιτίας του εύφλεκτου της νέας ουσίας, ο Anderson την ονόμασε Πυριδίνη, από την Ελληνική: (τὸ) πῦρ (pyr), σημαίνοντας την πυρκαγιά. Το επίθεμα -ιδίνη (-idine) προστέθηκε σε συμφωνία με την χημική ονοματολογία, όπως η τολουιδίνη (toluidine), για να υποδηλώσει τον αρωματικό δακτύλιο, που περιέχει ένα άτομο αζώτου, [Von Anderson Th., 1849 και 1851]. Η χημική δομή της πυριδίνης αποσαφηνίσθηκε μετά από δεκαετίες, όταν Wilhelm Körner (1869), [Körner W. G., 1869] και ο Albert Landenburg, [Landenburg Albert, 1900] ανεξάρτητα πρότειναν ότι, κατ'αναλογία προς την κινολίνη και το ναφθαλίνιο, η μοριακή δομή της πυριδίνης προκύπτει από το μοριακό οικοδόμημα του βενζολίου, δια υποκαταστάσεως μιάς μονάδος C-H με ένα άτομο αζώτου. Η πρόταση των δύο ερευνητών επιβεβαιώθηκε αργότερα, σε ένα πείραμα, όπου η πυριδίνη υποβλήθηκε σε αναγωγή προς πιπεριδίνη, με μεταλλικό νάτριο, σε αλκοόλη, [Bansal Raj K., 1999]. Ο William Ramsay συνδύασε την αντίδραση ακετυλενίου με υδροκυάνιο, με παραγωγή πυριδίνης εντός σιδηρού φούρνου, σε θερμοκρασία ερυθροπυρώσεως Αυτό αποτέλεσε την πρώτη ιστορική σύνθεση ετεροαρωματικής ενώσεως, [Ramsay W., 1878 and 1879] και [Henninger A., 1877]. Οι σύγχρονες μέθοδοι παραγωγής πυριδίνης έχουν χαμηλές αποδόσεις, αλλά η ολοένα αυξανόμενη ζήτηση ποσοτήτων της νέας ενώσεως, ώθησε την έρευνα σε νέες αποδοτικότερες συνθετικές πορείες, [Linnell R., 1960], [Pearson R.G., 1953] και [Clayden J., et al, 2001]. Παρεμφερείς αμινικές ενώσεις είναι η πυριμιδίνη (pyrimidine), η πιπεριδίνη (piperidine), η πικολίνη (picoline), η κινολίνη (quinoline) και η 1,2- διπυριδύλη (1,2-dipyridyl), [Dewar J., 1871, 1872, and 1872].

Μια σημαντική ανακάλυψη ήρθε το 1924 όταν ο Ρώσος φαρμακοποιός Aleksei Chichibabin εφηύρε μια αντίδραση σύνθεσης πυριδίνης, που βασίστηκε σε φτηνά αντιδραστήρια, [Chichibabin A.E., 1924]. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται ακόμα και σήμερα, για τη βιομηχανική παραγωγή της πυριδίνης. Η πυριδίνη είναι μια βασική, ετεροκυκλική, οργανική ένωση, με το χημικό τύπο C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N, [Shimizu S., 2005]. Ο πυριδινικός δακτύλιος συσχετίζεται ευθέως με τον βενζολικό αρωματικό δακτύλιο, στον οποίο μία μεθυνική ομάδα (>CH-) έχει αντικατασταθεί με ένα άτομο αζώτου (>N-). Ο πυριδινικός δακτύλιος εμφανίζεται σε πολλές σημαντικές ενώσεις, με βιολογική και φαρμακευτική δράση, συμπεριλαμβανομένων των διαφόρων αζινικών παραγώγων, καθώς και των βιταμινών νιασίνης και πυριδοξάλης, [Tang S., 2013]. Είναι ένα άχρωμο, ιδιαίτερα

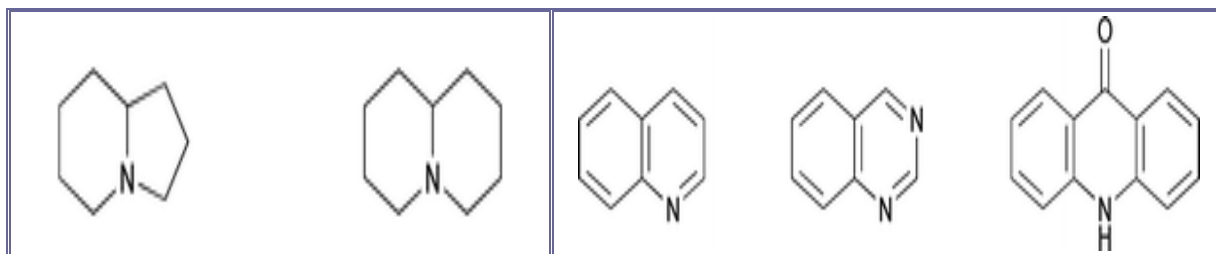
εύφλεκτο, ελαφρώς αλκαλικό, υδατοδιαλυτό υγρό με μια χαρακτηριστική, δυσάρεστη και αποκρουστική οσμή ιχθύων.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.1 Συγκεντρωτικά φυσικοχημικά δεδομένα της πυριδίνης**

CAS number	110-86-1	Molecular formula	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N
ChemSpider	1020	Molar mass	79,1 g mol <sup>-1</sup>
Appearance	Colorless liquid	Melting point	(-41,6°C), (- 232°K), 43°F
Viscosity	0,88 cP	Refractive index (n <sub>D</sub> )	1,5093
Acidity (pK <sub>a</sub> )	5,25	Dipole moment	2,2 D
Hazards	Flammable (F), Harmful (Xn)	Threshold Limit Value	5 ppm (TWA)
Density	0,9819 g/mL	Boiling point	(115,2°C), (388°K), (239°F)
Solub. in water	Thoroughly Miscible	Vapor pressure	18 mmHg
Flash point	21°C	LD <sub>50</sub>	1,580 mg/kg, in rats

**Τα δεδομένα δίνονται για τις συνθήκες συνθήκες δωματίου (25°C, 100 kPa)**

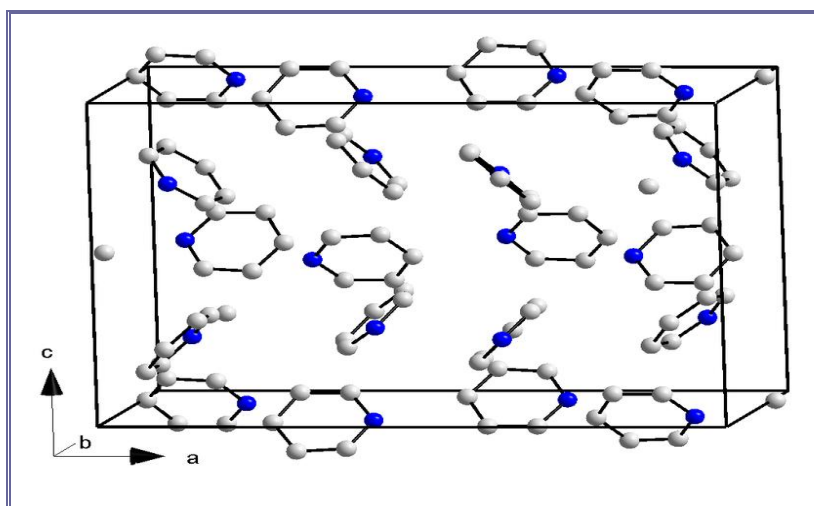
Η πυριδίνη χρησιμοποιείται ως πρόδρομος ουσία στα αγροχημικά και τα φαρμακευτικά προϊόντα, είναι ένας σημαντικός διαλύτης και ένα χρήσιμο αντιδραστήριο. Η πυριδίνη χρησιμοποιείται στη μετουσίωση της αιθανόλης, προκειμένου να την καταστήσει ακατάλληλη προς πόση (denaturated), σε ευφραντικά και άλλα ποτά. Χρησιμοποιείται στην **α)**- in vitro σύνθεση του DNA, [Oppenheimer Norman J., et al, 1971], στη σύνθεση **β)**- της σουλφαπυριδίνης, ενός φαρμάκου ενάντια στις βακτηριακές και ιογενείς μολύνσεις, **γ)**- του αντιισταμινικού φαρμάκου τριπελενναμίνης (tripelennamine), **δ)**- της μεπυραμίνης (mepyramine), **ε)**- διαφόρων υδρο-απωθητικών ουσιών, **στ)**- διαφόρων βακτηριοκτόνων (bactericides) και **ζ)**- διαφόρων ζιζανιοκτόνων, [Chaubey Ajit, 2011].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.2. Τα Μοριακά Ικρίωματα- Παράγωγα του Μορίου της Πυριδίνης, που ανευρίσκονται σε διάφορα Φυτικά Αλκαλοειδή. Αριστερά: Συντακτικοί τύποι της Ινδολιζιδίνης (Indolizidine) και της Κινολιζιδίνης (Quinolizidine) και Δεξιά: Συντακτικοί τύποι Κινολίνης (Quinoline), Κιναζολίνης (Quinazoline) και Ακριδόνης (Acridone).**

Μερικές χημικές ενώσεις, αν και δεν συντίθενται απ'ευθείας από την πυριδίνη, περιέχουν ωστόσο το δομικό χαρακτηριστικό του εν λόγω ετερο-κυκλικού δακτυλίου. Η πυριδινική αποτελεί μοριακό τμήμα πολλών αλκαλοειδών, που απαντώνται αυτούσια στο φυτικό βασίλειο και συγκεκριμένα στην *Atropa Belladonna* και στην *Althaea Officinalis*, [Burdock G.A., 1995] και [Täufel A., 2005]. Οι εργασίες του J.P. Michael υπερκαλύπτουν την απομόνωση, την σύνθεση, την ταυτοποίηση, τον προσδιορισμό της δομής και τις βιολογικές δράσεις διαφόρων κινολινικών, κιναζολινικών, ακριδινικών, ινδολιζιδινικών και κινολιζιδινικών αλκαλοειδών, (Εικόνα 2.1.2), προερχομένων από φυτικές και μικροβιακές καλλιέργειες, καθώς επίσης και από ζωικές πηγές, [Michael J.P., 2005 and 2005 and 2008]. Στα παράγωγα της πυριδίνης υπάγονται οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β, νιασίνη και

πυριδοξάλη, το αντι-φυματικό φάρμακο ισονιαζίδιο, η νικοτίνη του καπνού, καθώς και άλλα φυτικά προϊόντα περιέχοντα άζωτο [R&D., Chemicals, on line]. Η πυριδίνη είναι ένα άχρωμο, ευκίνητο υγρό, με σημείο ζέσεως 115,2°C και σημείο τήξεως -41,6°C. Η πυκνότητά της 0,9819g/cm<sup>3</sup> είναι πλησίον εκείνης του ύδατος. Ο δείκτης διάθλασης είναι 1,5093, σε μήκος κύματος 589nm και θερμοκρασία 20°C, [Linde D.R. and Milne G.W.A., 1994, 1996]. Η προσθήκη μέχρι 40 mol% νερού σε πυριδίνη σταδιακά μειώνει το σημείο τήξης του από -41,6°C έως -65,0°C, [Mootz D., 1981]. Η μοριακή ηλεκτρική διπολική ροπή είναι 2,2 Debye, [Clayden J., et al, 2001]. Η πυριδίνη είναι διαμαγνητική ένωση και έχει μια διαμαγνητική επιδεκτικότητα  $-48,7 \times 10^{-6}$  cm<sup>3</sup>/mol, [Gilchrist T.L., 1997]. Η πρότυπη ενθαλπία σχηματισμού είναι 100,2 kJ/mol, στην υγρή και 140,4 kJ/mol στην αέρια φάση, [Katritzky A.R., et al, 2000]. Η πυριδίνη στους 25°C έχει ιξώδες 0,88mPa/s και θερμική αγωγιμότητα των 0,166 W/m·K, [Linde D.R., et al, 1994], [IFA, "Record of Pyridine", in the Gestis Substance Database, 2010]. Η ενθαλπία εξάτμισης είναι 35,09 kJ/mol στο σημείο ζέσεως και υπό κανονική πίεση, [Majer V., et al, 1985] και [Mensch F., 1969].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.3 Η Κρυσταλλική Δομή της Πυριδίνης**

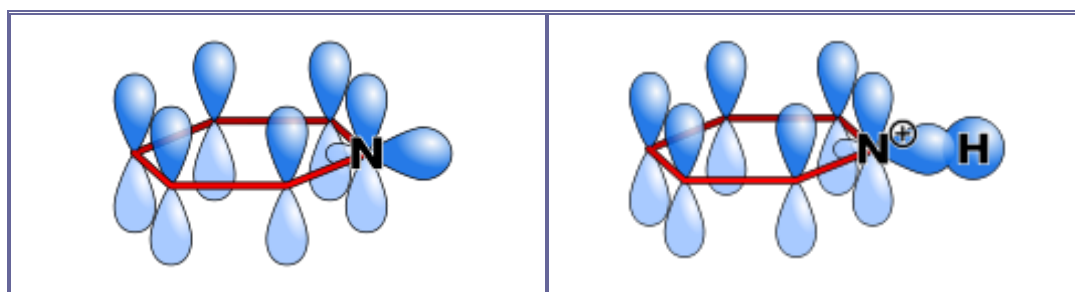
Η ενθαλπία της τήξεως είναι 8,28 kJ/mol στο σημείο τήξης, [Domalski E.S., et al, 1996]. Η πυριδίνη κρυσταλλώνεται στο ορθορομβικό κρυσταλλικό σύστημα, με ομάδα χώρου Pna2<sub>1</sub> και παραμέτρους πλέγματος  $a=1752$ ,  $b=897$ ,  $c=1,135$ nm, και 16 μοριακές μονάδες, ανά μοναδιαία κυψελίδα (στους σε 153°K). Για σύγκριση, το κρυσταλλικό βενζόλιο είναι επίσης ορθορομβικής συμμετρίας, με ομάδα χώρου Pbc<sub>a</sub>,  $a=729,2$  μ.μ.,  $b=947,1$ μ.μ.,  $c=674,2$ nm (στους 78°K), αλλά ο αριθμός των μορίων ανά κυψελίδα είναι μόνο 4, [Cox E.G., 1958]. Αυτή η διαφορά σχετίζεται εν μέρει με την κατώτερη συμμετρία του μορίου πυριδίνης, έναντι της D<sub>6h</sub> του βενζολίου. Η τρι-ένυδρη πυριδίνη (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N·3H<sub>2</sub>O) κρυσταλλώνεται επίσης στο ορθορομβικό σύστημα, με ομάδα χώρου Pbc<sub>a</sub>, παραμέτρους πλέγματος  $a=1244$ ,  $b=1,783$ ,  $c=679$  μ.μ. και οκτώ μοριακές μονάδες ανά μοναδιαία κυψελίδα (στους 223°K), [Mootz D., 1981]. Οι κρίσιμες παράμετροι της πυριδίνης είναι πίεση 6,70MPa, θερμοκρασία 620°K και όγκος 229cm<sup>3</sup>/mol, [Linde D.R. and Milne G.W.A., 1994 και 1996]. Στην περιοχή θερμοκρασιών 340 έως 426°C, ο log<sub>p</sub> της τάσεως ατμών παρέχεται ικανοποιητικά με την εξίσωση Antoine

$$\log_{10} P = A - \frac{B}{C + T}$$

Όπου: T είναι η θερμοκρασία, A=4,16272, B=1371,358K και C= -58,496K, [McCullough J.P., et al, 1957]. Το οπτικό φάσμα απορρόφησης της πυριδίνης σε εξάνιο περιέχει τρεις ζώνες στα μήκη κύματος 195nm (π→π\* μετάπτωσης, μοριακή απορροφητικότητα ε=7,500L/(mol·cm), 251nm (π→π\* μετάπτωσης, ε=2,000L/(mol·cm) και 270nm (n→π\* μετάπτωσης, ε=450 L/(mol·cm), [Joule J.A. 1978, 2012]. Το <sup>1</sup>H πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) φάσμα πυριδίνης περιέχει τρία σήματα, με την ενσωματωμένη αναλογία έντασης των 2:2:1, που αντιστοιχούν στα τρία είδη μη ισοδύναμων πρωτονίων στο μόριο. Αυτά τα σήματα προέρχονται από τα α-πρωτόνια (2,6-θέσεις: χημική μετατόπιση 8,5ppm), γ-πρωτόνιο (4-θέση: 7,5 ppm) και β-πρωτόνια (3,5-θέσεις: 7,1ppm). Το αντίστοιχο NMR του βενζολίου, έχει μόνο ένα σήμα πρωτονίου στα 7,27ppm, δεδομένου ότι όλα τα πρωτόνια είναι χημικά και μαγνητικά ισοδύναμα. Οι μεγαλύτερες χημικές μετατοπίσεις των α- και γ-πρωτονίων, σε σύγκριση με το βενζόλιο είναι αποτέλεσμα της μικρότερης πυκνότητας ηλεκτρονίων στις α- και γ-θέσεις, ως απόρροια των δομών συντονισμού. Η εικόνα των φασμάτων <sup>13</sup>C NMR της πυριδίνης και του βενζολίου είναι ανάλογη: Η πυριδίνη δείχνει μια τριπλέτα μετατοπίσεων, σε δ(α-C)=150 ppm, δ(β-C)= 124ppm και δ(γ-Γ)=136ppm, ενώ το βενζόλιο έχει μια απλή κορυφή στα 129ppm. Όλες οι μετατοπίσεις αναφέρονται στις χωρίς διαλύτη καθαρές ουσίες, [Joule J.A. 1978 και 2012]. Συμβατικά η πυριδίνη ανιχνεύεται ποιοτικά και προσδιορίζεται ποσοτικά, με τις μεθόδους της αέριας χρωματογραφίας και της φασματομετρίας μάζας, [IARC Monographs, 1985] και [O' Neil Maryadele J., "The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals", 2006].

### 2.1.3 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ

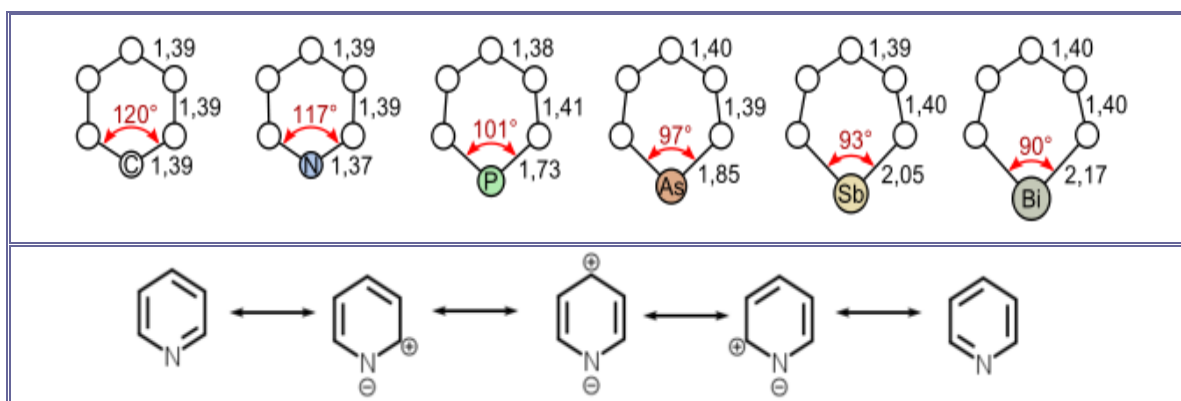
Η Πυριδίνη διαθέτει ένα συζυγιακό σύστημα έξι π-ηλεκτρονίων, απεντοπισμένων επί του αρωματικού δακτυλίου. Το μόριο είναι επίπεδο και επομένως ακολουθεί τα κριτήρια Hückel, για τα αρωματικά συστήματα. Σε αντίθεση με το βενζόλιο, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα δεν είναι ομοιόμορφα κατανομημένη επί του δακτυλίου, πράγμα που αποκαλύπτει το φαινόμενο της αρνητικής επαγωγικής επίδρασης, του ατόμου του αζώτου.



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.4. Αριστερά: Τα Ηλεκτρονιακά Τροχιακά της Μοριακής Πυριδίνης, με το Ασύζευκτο Ζεύγος Ηλεκτρονίων και Δεξιά: Τα Ηλεκτρονιακά Τροχιακά της Πρωτονωμένης Πυριδίνης (Πυριδίνιο-Κατιόντος).**

Για το λόγο αυτό, η πυριδίνη έχει διπολική ροπή και μία ασθενέστερη σταθεροποίηση συντονισμού, από το βενζόλιο. Η ενέργεια συντονισμού είναι 117kJ/mol στην πυριδίνη,

έναντι των 150kJ/mol στο βενζόλιο [Weissberger A., et al, 1960] και [Joule J.A., 1978]. Ο εντοπισμός των ηλεκτρονίων στην πυριδίνη αντικατοπτρίζεται επίσης στον βραχύτερο δεσμό C-N του δακτυλίου: 137pm για το δεσμό C-N στην πυριδίνη, έναντι 139pm για το μήκος δεσμού C-C στο βενζόλιο, [Elschenbroich C., 2008], ενώ οι δεσμοί C-C στον δακτύλιο της πυριδίνης διατηρούν το ίδιο μήκος 139pm, όπως και στο βενζόλιο. Αυτά τα μήκη δεσμών κυμαίνονται μεταξύ των τιμών για τους απλούς και τους διπλούς δεσμούς και είναι τυπικές των αρωματικών ενώσεων. Όλα τα άτομα του δακτυλίου στο μόριο της πυριδίνης εμφανίζουν  $sp^2$ -υβριδισμό. Το άτομο αζώτου "παραχωρεί" τα τρία υβριδοποιημένα ηλεκτρόνια του, στο αρωματικό σύστημα του δακτυλίου και το επιπλέον ζεύγος ηλεκτρονίων του ευρίσκεται στο επίπεδο μορίου και προβάλλει εκτός του δακτυλίου, (Εικόνα 2.1.5). Αυτό το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων δεν συνεισφέρει στο αρωματικό συζυγιακό σύστημα, αλλά καθορίζει σημαντικά τις χημικές ιδιότητες της πυριδίνης, όπως το σχηματισμό δεσμού μέσω μιας πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης, καθώς και μια ηλεκτρονιόφιλη αρωματική υποκατάσταση, αν και κάτω από δραστηρότερες συνθήκες σε σχέση με το βενζόλιο, κυρίως στην 3-θέση.



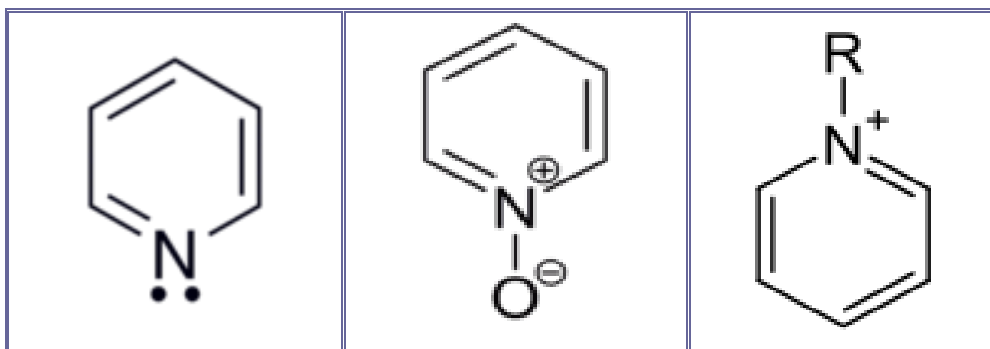
**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.5.** Πάνω: Μήκη και Γωνίες Δεσμών του Βενζολίου, της Πυριδίνης, της Φωσφορίνης, του Αρσαβενζολίου, του Στιλβαβενζολίου και του Βισμαβενζολίου. Κάτω: οι Διάφορες Μεσομερείς Μορφές της Πυριδίνης.

Ωστόσο, λόγω του διαχωρισμού του μονήρους ζεύγους από το αρωματικό σύστημα του δακτυλίου, το άτομο του αζώτου, όπως προαναφέρθηκε, έχει ιδιότητες βάσεως και δεν δύναται να εμφανίσει ένα θετικό φαινόμενο μεσομέρειας. Πολλά ανάλογα της πυριδίνης είναι γνωστά, όπου το N- έχει αντικατασταθεί από άλλα ετεροάτομα (Εικόνα 2.1.4). Υποκατάσταση μίας ομάδος C-H στο μόριο της πυριδίνης, με ένα δεύτερο N οδηγεί στις "διαζα-" ετεροκυκλικές ενώσεις ( $C_4H_4N_2$ ), με την ονομασίες πυριδαζίνη (1,4-διαζίνη), πυριμιδίνη (1,3-διαζίνη) και πυραζίνη (1,2-πυραζίνη).

#### 2.1.4 ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ

Η πυριδίνη είναι αναμίξιμη σε οποιαδήποτε αναλογία με το ύδωρ και σχεδόν με όλους τους οργανικούς διαλύτες, [Linde D.R., 1994 και 1996]. Είναι ασθενώς βασική ένωση, η οποία με υδροχλωρικό οξύ σχηματίζει ένα κρυσταλλικό υδροχλωρικό άλας, το οποίο τήκεται στους 145-147°C, [Alfa Aesar, 2013]. Οι περισσότερες χημικές ιδιότητες της πυριδίνης είναι οι τυπικές ιδιότητες μίας ετερο-αρωματικής ένωσης. Στις οργανικές αντιδράσεις, η

πυριδίνη συμπεριφέρεται: **α)**- ως μια τριτοταγής αμίνη, υφιστάμενη πρωτονίωση, αλκυλίωση, ακυλίωση, και N-οξειδωση στο άτομο αζώτου, αλλά και ως **β)**- αρωματική ένωση, υφιστάμενη πυρηνόφιλες υποκαταστάσεις. Λόγω της ηλεκτραρνητικότητας του αζώτου στον ετεροκυκλικό δακτύλιο, το μόριο εμφανίζει σχετικό έλλειμμα ηλεκτρονίων. Κατά συνέπεια συμμετέχει δυσκολότερα σε αντιδράσεις ηλεκτρόφιλων αρωματικών υποκαταστάσεων, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές των παραγώγων του βενζολίου. Ωστόσο, σε αντίθεση με βενζόλιο και τα παράγωγά του, η πυριδίνη συμμετέχει ευκολότερα σε πυρηνόφιλες αρωματικές υποκαταστάσεις και μεταλλώσεις του δακτυλίου, από ισχυρές οργανομεταλλικές βάσεις, [Joule J.A., 1978 και 2012] και [Davies D.T., 1992]. Η δραστηριότητα της πυριδίνης διακρίνεται έναντι τεσσάρων διαφορετικών αντιδραστηρίων: **α)**- με ηλεκτρονιόφιλα αντιδραστήρια, πραγματοποιούνται ηλεκτρονιόφιλες αρωματικές υποκαταστάσεις, όπου η πυριδίνη εκφράζει τις αρωματικές της ιδιότητες, **β)**- με πυρηνόφιλα αντιδραστήρια, η πυριδίνη αντιδρά μέσω 2ου και 4ου ατόμου άνθρακα και συνεπώς συμπεριφέρεται παρόμοια με τις ιμίνες και τα καρβονύλια, **γ)**- με διάφορα οξέα Lewis η πυριδίνη συμπεριφέρεται ως βάση και η αντίδραση λαμβάνει χώρα στο άτομο αζώτου της πυριδίνης, η οποία προσομοιάζει με την δραστηριότητα των τριτοταγών αμινών και **δ)**- με οξειδωτικά αντιδραστήρια, εκδηλώνεται η ικανότητα της πυριδίνης και των παραγώγων της να οξειδώνονται, σχηματίζοντας αμινικά οξείδια (N-οξείδια), πράγμα επίσης χαρακτηριστικό των τριτοταγών αμινών, [Milcent R., 2002] και [Ochiai Eiji, 1953].

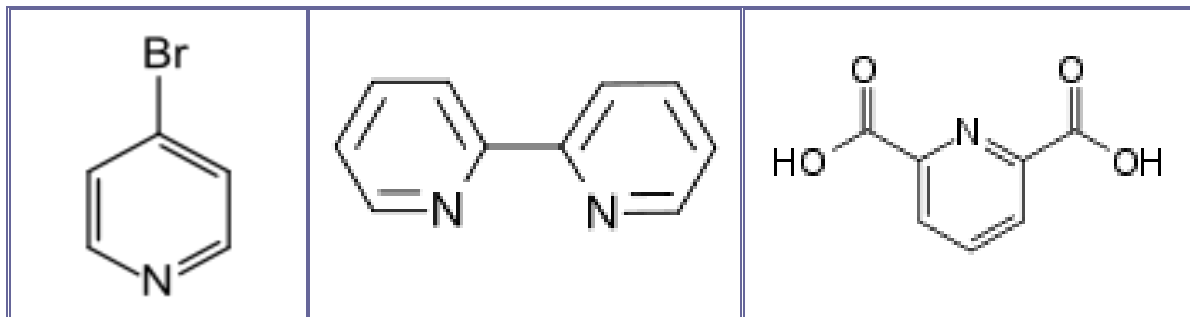


**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.6.** Αριστερά: το Μόριο της Πυριδίνης, με Ελεύθερο (Ασύζευκτο) Ζεύγος Ηλεκτρονίων, Μέση: η Δομή του Πυριδινιο-N-οξειδίου και Δεξιά: ο γενικός τύπος ενός κατιόντος Πυριδινίου.

Το άτομο του αζώτου της πυριδίνης διαθέτει ένα μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων. Επειδή το εν λόγω μονήρες ζεύγος δεν αποτελεί μέρος του αρωματικού δακτυλίου, η πυριδίνη εμφανίζει ιδιότητες βάσεως, έχοντας χημικές ιδιότητες παρόμοιες, με εκείνες των τριτοταγών αμινών. Η  $pK_a$  του συζυγούς οξέος είναι 5,25. Η πυριδίνη υφίσταται εύκολα πρωτονίωση με οξέα, σχηματίζοντας ένα θετικά φορτισμένο αρωματικό πολυατομικό ιόν, το κατιόν του πυριδινίου. Τα μήκη δεσμών και οι γωνίες δεσμών στην ελεύθερη πυριδίνη και το κατιόν πυριδινίου είναι σχεδόν ταυτόσημα, [Krygowski T.M., et al, 2005].

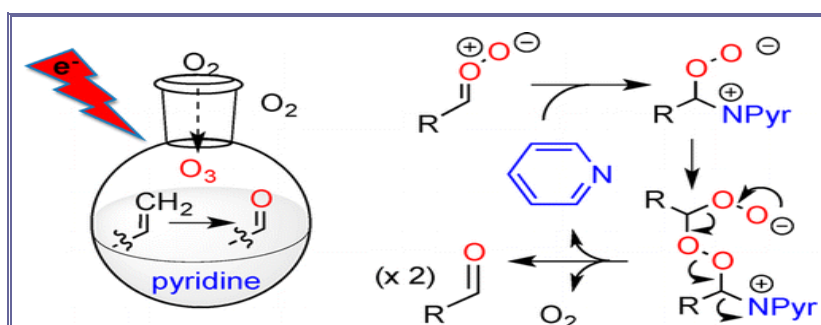
Το κατιόν του πυριδινίου είναι ισοηλεκτρονικό με το βενζόλιο. Το π-τολουολοσουλφονικό άλας του πυριδινίου (PPTS) είναι ένα χαρακτηριστικό άλας του πυριδινίου, το οποίο παράγεται διά κατεργασίας της πυριδίνης με π-τολουολο-σουλφονικό οξύ. Η πυριδίνη μπορεί να δράσει ως βάση Lewis, χορηγώντας το ζεύγος ηλεκτρονίων, σε ένα οξύ κατά

Lewis, όπως το σύμπλοκο τριοξειδίου θείου- πυριδίνης. Η ίδια η πυριδίνη είναι ένας σχετικά ασθενής υποκαταστάτης, αναφορικά με τον σχηματισμό συμπλόκων με τα μεταλλοκατιόντα των στοιχείων μεταπτώσεως. Για παράδειγμα, σχηματίζει ένα 1:1 σύμπλοκο, τόσο με τα κατιόντα νικελίου  $[Ni^{2+}]$ , όσο και τα κατιόντα χαλκού  $[Cu^{+2}]$ , με τιμές  $\log K_1=1,9$  και 2,6 αντίστοιχα, [IUPAC SC- Database, 2001], [Encyclopædia Britannica, "Pyridine", 2013].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.7.** Τρία χρήσιμα παράγωγα μόρια της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος της 4-βρωμο-πυριδίνης (4-bromopyridine), Κέντρο: Συντακτικός τύπος της 2,2'-διπυριδίνης (2,2'-bipyridine) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Διπικολινού οξέως (pyridine-2,6-dicarboxylic acid).

Τα υπέρυθρα φάσματα των συμπλόκων της πυριδίνης έχουν συζητηθεί λεπτομερώς [Nakamoto K., 1997]. Το πικολινικό οξύ, το οποίο είναι ένα υποκατεστημένο παράγωγο της πυριδίνης, σχηματίζει ισχυρά συμπλοκα, λόγω του φαινομένου της χηλικοποίησης. Η 2,2'-διπυριδίνη και η 1,10-φαινανθρολίνη, τα οποία μπορούν επίσης να θεωρηθούν, ως υποκατεστημένα παράγωγα της πυριδίνης, σχηματίζουν επίσης ισχυρά συμπλοκα, όπως αυτό της φερροΐνης (Ferroin), που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας δείκτης οξειδοαναγωγής, στην ποσοτική ανάλυση του σιδήρου, [Mendham J., et al, 2000]. Η  $n^6$  διαμόρφωση συντονισμού, όπως συμβαίνει στα  $n^6$  συμπλοκα του βενζολίου, παρατηρείται μόνο στα παράγωγα εκείνα που εμφανίζουν στερεοχημική παρεμπόδιση, με αποτέλεσμα το μπλοκάρισμα του κέντρου του αζώτου, [Elschenbroich C., 2008].

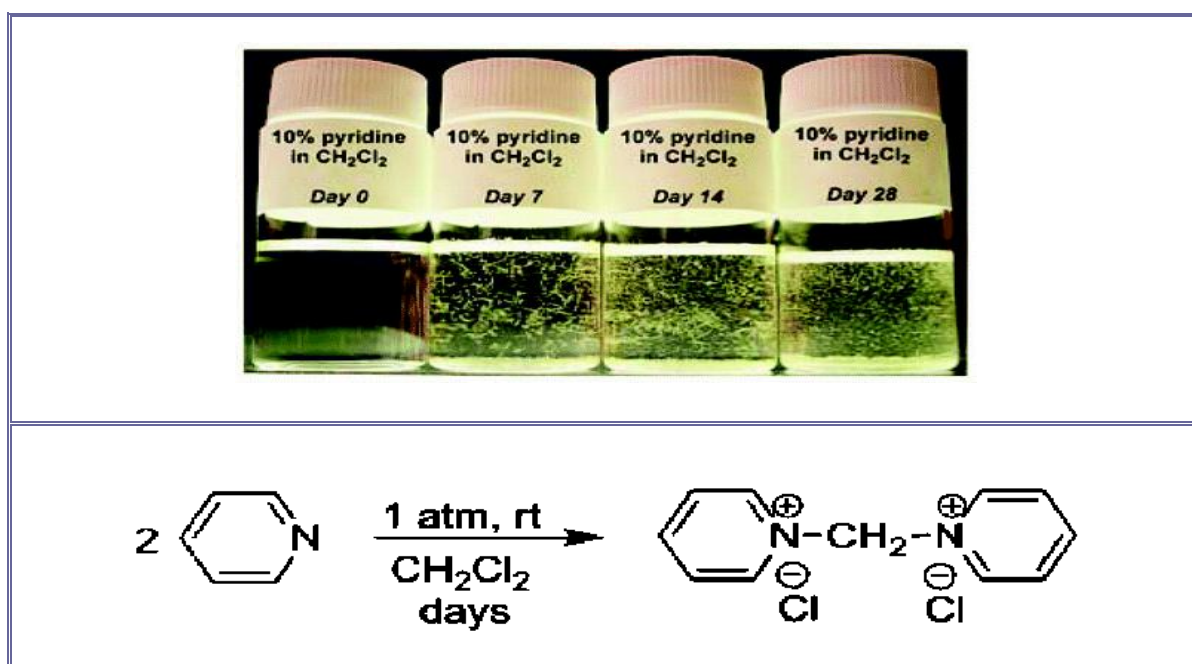


**Εικόνα 2.1.8.** Αναπαράσταση της Αναγωγικής Οζονόλυσης των Αλκενίων, παρουσία της Πυριδίνης.

Έχει αναφερθεί μία σπουδαία ιδιότητα-η καταλυτική δράση της πυριδίνης, κατά την αναγωγική οζονόλυση των αλκενίων, κατά την οποία παράγονται απ'εύθείας αλδεΐδες ή κετόνες, χωρίς καμία κατανάλωση πυριδίνης και χωρίς την ανεύρεση περίσσειας υπεροξειδίων, στο τέλος της αντιδράσεως, όπως φαίνεται και στην παραπάνω Εικόνα 2.1.8, [Willand-Charnley R., et al, 2012]. Η μονο-δευτεριωμένη πυριδίνη εμφανίζει το φαινόμενο του ισοτοπικού κρυσταλλικού πολυμορφισμού, κατά τον [Boese Roland, 2009].



Η μελέτη της δομής των πυριδινικών νουκλεοτιδικών συνενζύμων, με υψηλής συχνότητας NMR απέδειξε ότι υφίσταται ταχεία ισορροπία μεταξύ δύο διαφόρων διαμορφώσεων, μίας "διπλωμένης" και μίας "ανοικτής" δομής, σύμφωνα με τους [Orpenheimer Norman J., et al, 1971]. Μελετήθηκε ηλεκτροχημικά η συμπεριφορά της πυριδίνης και αποδείχτηκε ότι στην περιοχή δυναμικών (-0,8V μέχρις +0,6V), προσροφάται με δύο διαφορετικούς προσανατολισμούς, στην διεπιφάνεια της με διάλυμα κατιόντων Au(III), [Stolberg A.L., et al, 1991]. Μελετήθηκε η πορεία προσρόφησης της πυριδίνης πάνω σε μεταλλικά ηλεκτρόδια Ag, με την χρήση φασματοσκοπίας Raman, από τους [Fleischmann M., et al, 1974], καθώς επίσης πάνω σε μεταλλικά ηλεκτρόδια Rh, από τον [Bilmes S.A., 1990], με την χρήση της τεχνικής SERS. Μία συγκριτική μελέτη της αλληλεπίδρασης της πυριδίνης με μεταλλικά υμένα Ag, Cu και Au, σε υψηλό κενό (UHV) και με την φασματοσκοπία σκέδασης Raman (SERS) αναφέρθηκε από τον [Rockrand I., 1982]. Οι μελέτες μαγνητικού κυκλικού διχρωσμού των συμπλόκων της πυριδίνης, με τα κατιόντα  $Fe^{3+}$  και  $Fe^{2+}$ , της αιμίνης και της αίμης, σε υδατικό περιβάλλον, αποκαλύπτουν την ευαισθησία των ηλεκτρονικών δομών των συμπλόκων αυτών, έναντι της φύσεως του διαλύτη, όπως αναφέρουν οι [Shimizu Toru, et al, 1976].



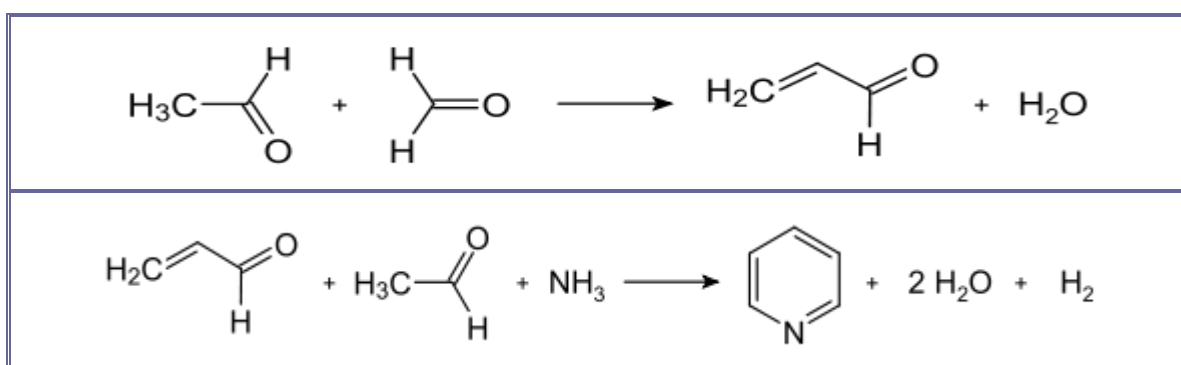
**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.9.** Πάνω: η χρονική εξέλιξη της αντιδράσεως συμπυκνώσεως του διχλωρο-μεθανίου (DCM), με την πυριδίνη, προς κρυσταλλικό στερεό προϊόν, το οποίο αποβάλλεται σε κρυσταλλική μορφή στον πυθμένα του φιαλιδίου. Κάτω: Η αντίδραση συμπυκνώσεως.

Η πυριδίνη και τα παράγωγα της αντιδρούν αργά, σε ήπιες συνθήκες δωματίου, με τον διαλύτη διχλωρομεθάνιο και σχηματίζουν στερεά προϊόντα συμπυκνώσεως- ενώσεις του διχλωριούχου-μεθυλενο-δισ-πυριδινίου- το οποίο αποβάλλεται σε κρυσταλλική μορφή στον πυθμένα του φιαλιδίου, όπως φαίνεται στην παραπάνω Εικόνα 2.1.9, [Rudine Alexander B., et al, 2010]. Δύο διαδοχικές S<sub>N</sub>2, πυρηνόφιλες αντιδράσεις υποκαταστάσεως λαμβάνουν χώρα, με  $k_1=2.56 (\pm 0.06) \times 10^{-8}$  και  $k_2= 4.29(\pm 0.01) \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  και ολοκληρώνονται σε διάστημα 28 ημερών. Το ενδιάμεσο μονο-υποκατεστημένο προϊόν δεν μπορεί να

απομονωθεί, δεδομένου ότι το δεύτερο στάδιο της αντιδράσεως είναι κατά πολύ ταχύτερο του πρώτου. Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίον το δχλωρομεθάνιο δεν συνιστάται ως διαλύτης, σε διάφορα χημικά συστήματα της πυριδίνης και των παραγώγων της. Οι ερευνητές [Baker Robert J., et al, 2010], πραγματοποίησαν την παραπάνω αντίδραση, συζεύξεως, παρουσία ένυδρου διχλωριούχου-ουρανυλίου και απομόνωσαν το βαθέως καστανέρυθρο σύμπλοκο Δις- [1,1'- μεθυλενο- δις- πυριδινο]- διχλωρίδιο- τετραχλωρο-διοξο- ουρανικό- (IV) άλας. Η επίλυση της κρυσταλλικής δομής αποκάλυψε σειρά δεσμών και αλληλεπιδράσεων H<sup>+</sup>...Cl και π-π, σε μία διάταξη "ανοικτού μυδιού".

### 2.1.5 ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ

**ΜΕΘΟΔΟΣ CHICHIBABIN:** Η αντίδραση Chichibabin αναφέρθηκε το 1924 και από τότε εφαρμόζεται βιομηχανικά μέχρι σήμερα, [Chichibabin, A.E., 1906]. Στη γενική της μορφή μπορεί να περιγραφεί ως η αντίδραση συμπύκνωσης των αλδευδών, των κετονών, των α,β-ακόρεστων καρβονυλικών ενώσεων, η οποιοδήποτε συνδυασμού αυτών, με αμμωνία ή και παράγωγα αυτής, [Frank R.L., 1949]. Ειδικότερα, μη-υποκατεστημένη πυριδίνη παρασκευάζεται από φορμαλδεΐδη και ακεταλδεΐδη, ενώσεις με ευρύτατη χρήση. Κατ' αρχήν παράγεται ακρολεΐνη, σε μια τύπου Knoevenagel συμπύκνωση, μεταξύ ακεταλδεΐδης και φορμαλδεΐδης. Στη συνέχεια το προϊόν αυτό συμπυκνώνεται περαιτέρω με ακεταλδεΐδη και αμμωνία, προς διυδρο-πυριδίνη και ακολούθως οξειδώνεται παρουσία καταλύτη στερεάς φάσεως, τελικώς προς πυριδίνη.



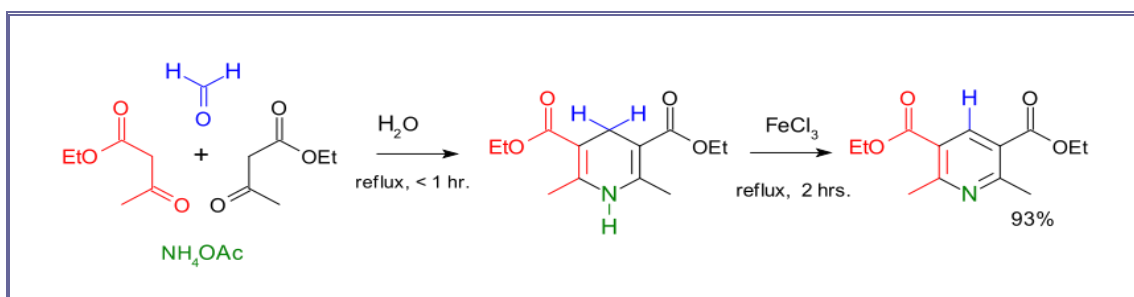
**Εικόνα 2.1.10** Πάνω: Ο σχηματισμός της ακρολεϊνης από την συμπύκνωση (1:1) ακεταλδεΐδης και φορμαλδεΐδης και Κάτω: Συμπύκνωση της ακρολεΐνης με ακεταλδεΐδη και αμμωνία (1:1:1), προς πυριδίνη, αέριο υδρογόνο και ύδωρ.

Η πορεία πραγματοποιείται στην αέρια φάση και σε θερμοκρασία 400–450°C. Το προϊόν συνίσταται από μίγμα πυριδίνης και μεθυλιωμένων πυριδινών (πικολίνη και λουτιδίνη). Η ακριβής σύνθεση εξαρτάται από την φύση του χρησιμοποιούμενου καταλύτη και μπορεί να προσαρμοσθεί στις απαιτήσεις του συνθετικού χημικού. Ο καταλύτης είναι συνήθως φθοριούχα άλατα στοιχείων μεταπτώσεων, όπως το CdF<sub>2</sub>, το MnF<sub>2</sub> και διάφορες ενώσεις των Co και Tl. Η ληφθείσα πυριδίνη διαχωρίζεται από τα παραπροϊόντα με πολυσταδιακές βιομηχανικές, διαδικασίες διαχωρισμών, [Shimizu S., 2005].

Οι πρακτικές εφαρμογές της παραδοσιακής Chichibabin μεθόδου συνθέσεως της πυριδίνης είναι περιορισμένες, λόγω **α)**- των χαμηλών χημικών αποδόσεων (20%) και **β)**- των υψηλών ποσοστών παραπροϊόντων, με αποτέλεσμα η κλασσική μη-τροποποιημένη

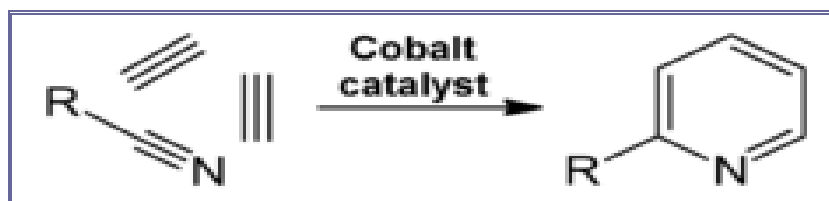
μέθοδος Chichibabin να μην είναι ιδιαίτερα ελκυστική στους συνθετικούς χημικούς, [Frank R.L., 1949]. Εναλλακτικά η πυριδίνη μπορεί να παραχθεί με απαλκυλίωση των διαφόρων αλκυλιωμένων πυριδινών, οι οποίες λαμβάνονται ως παραπροϊόντα, κατά τη σύνθεση άλλων παραγώγων πυριδίνης. Η οξειδωτική απαλκυλίωση λαμβάνει χώρα: **α)**- με την χρήση αέρος υπεράνω καταλύτη πεντοξειδίου του βαναδίου ( $V_2O_5$ ), [ICI DE-AS Patent No 1917037, 1969], **β)**- με αποαλκυλίωση στην αέρια φάση, παρουσία καταλύτη νικελίου και **γ)**- υδρογονική απαλκυλίωση, παρουσία καταλύτη αργύρου ή πλατίνας. Με τις προαναφερθείσες καταλυτικές μεθόδους επιτυγχάνονται αποδόσεις σε καθαρή πυριδίνη, της τάξεως του 93%, [Shimizu S., 2005].

**ΜΕΘΟΔΟΣ HANTZSCH:** Arthur Rudolf Hantzsch, [Hantzsch A.R., Pyridine Synthesis, 1881], χρησιμοποίησε ένα τυπικό μίγμα 2:1:1 ενός β-κετο-οξέος -συνήθως ακετοξυ-οξικό οξύ-, μία αλδεΐδη -συνήθως φορμαλδεΐδη- και ένυδρη αμμωνία ή ένα αμμωνιακό άλας, ως δότη ατόμου αζώτου. Κατ' αρχήν παράγεται μία δις-υδρογονωμένη πυριδίνη, η οποία στη συνέχεια οξειδώνεται στην αντίστοιχη πυριδίνη. Ο Knoevenagel απέδειξε ότι μ' αυτήν τη συνθετική πορεία μπορούν να συντεθούν μη συμμετρικά υποκατεστημένα πυριδινικά παράγωγα, [Knoevenagel E., 1898] και [Hantzsch A.R., 1881].



Εικόνα 2.1.11 Η σύνθεση πυριδίνης κατά Hantzsch, με οξικό αιθυλεστέρα, φορμαλδεΐδη και οξικό αμμώνιο, παρουσία  $FeCl_3$ , ως καταλύτη.

**ΜΕΘΟΔΟΣ BÖNNEMANN:** Αυτή η μέθοδος, που αποτελεί τροποποίηση της συνθέσεως κατά Reppe ενεργοποιείται είτε **α)**- σε συνθήκες υψηλών πιέσεων και θερμοκρασιών, **β)**- είτε με την επίδραση του φωτός, οπότε η φωτοεπαγόμενη κυκλοπροσθήκη πραγματοποιείται σε σχετικά ήπιες συνθήκες, παρουσία  $CoCr_2(cod)$  ( $Cr$ =cyclopentadienyl,  $cod$ =1,5-cyclooctadiene), ως καταλυτών και μπορεί να πραγματοποιηθεί, ακόμη και σε υδατικό περιβάλλον, [Behr A., 2008].



Εικόνα 2.1.12 Η αρχή της Σύνθεσης Διαφόρων Παραγώγων της Πυριδίνης, στην κυκλοποίηση κατά Bönnemann.

Μια μεγάλη σειρά πυριδινικών παραγώγων, μπορεί να παρασκευασθεί με την μέθοδο αυτήν. Εάν χρησιμοποιηθεί το ακετονιτρίλιο, ως το νιτρίλιο της αντίδρασης αυτής, τότε

λαμβάνεται η 2-μεθυλοπυριδίνη, η οποία στη συνέχεια εύκολα απαλκυλιώνεται σε πυριδίνη. Στη συνέχεια αναφέρονται, εν συντομία, τρεις επί πλέον συνθετικές μέθοδοι παρασκευής πυριδίνης.

**ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗ KRÖHNKE:** Χρησιμοποιείται επίσης, η μέθοδος Kröhnke, κατά την οποία πραγματοποιείται συμπύκνωση μιας 1,5-δικετόνης, με οξικό αμμώνιο, σε περιβάλλον οξικού οξέως και στη συνέχεια το σύστημα υφίσταται οξειδωση προς 1,3,5-τρις-υποκατεστημένες πυριδίνες, [Lowry M.S., et al, 2004].

**ΑΝΤΙΜΕΤΑΘΕΣΗ CIAMICIAN-DENNSTEDT:** Επιτυγχάνει την επέκταση του πυρρολικού δακτυλίου με το διχλωροκαρβένιο, προς την 3-χλωροπυριδίνη, [Ciamician G.L., 1881], [Corwin A.H., 1950], [Mosher H.S., 1950] και [Jones R.L., 1969].

**ΣΥΜΠΥΚΝΩΣΗ GATTERMANN-SKITA:** Κατά την σύνθεση Gattermann-Skita ένας μηλονικός διεστέρας συμπυκνώνεται με την διχλωρο-μεθυλαμίνη, σε βασικό περιβάλλον και παράγει τετρα-υποκατεστημένα παράγωγα της πυριδίνης, [Gattermann L., 1916].

**ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ:** Διάφορα πυριδινικά παράγωγα διαδραματίζουν σημαντικούς ρόλους στα βιολογικά συστήματα. Ενώ η βιοσύνθεσή τους δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί, το νικοτινικό οξύ (βιταμίνη B3) εμφανίζεται σε κάποια βακτήρια, μύκητες και θηλαστικά. Τα θηλαστικά συνθέτουν το νικοτινικό οξύ, μέσω της οξειδωσης του αμινοξέος θρυπτοφάνης, όπου ένα ενδιάμεσο προϊόν, η ανιλίνη, δημιουργεί ένα πυριδινικό παράγωγο, την κυουρενίνη. Αντίθετα, τα βακτηρίδια της φυματίωσης *Mycobacterium Tuberculosis* καθώς και τα *Escherichia Coli* παράγουν nicotinic οξύ, μέσω της συμπύκνωσης της 3-φωσφορικής- γλυκεριναλδευδης και του ασπαρτικού οξέος, [Tarr J.B., 1982].

### 2.1.6 ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ

Πολλές αντιδράσεις που είναι χαρακτηριστικές του βενζολίου πραγματοποιούνται και στην πυριδίνη, είτε σε πλέον περίπλοκες συνθήκες, είτε/και με χαμηλές αποδόσεις. Εξ αιτίας της μειωμένης ηλεκτρονιακής πυκνότητας στο αρωματικό της σύστημα, οι ηλεκτρονιόφιλες υποκαταστάσεις δεν ευνοούνται με την πυριδίνη και τα παράγωγά της, ενώ ευνοούνται οι πυρηνόφιλες αρωματικές υποκαταστάσεις, ως αρωματικές ενώσεις μειωμένης ηλεκτρονικής πυκνότητας, καθώς και οι πυρηνόφιλες προσθήκες από το άτομο του αζώτου.

Η πυρηνόφιλη προσθήκη του αζώτου σε ηλεκτρονιόφιλα, οδηγεί σε μια περαιτέρω απενεργοποίηση των ηλεκτρονιόφιλων αρωματικών υποκαταστάσεων, [Scriven E.F.V., in "Comprehensive Heterocyclic Chemistry", Editors: Katritzky A.R. and Rees C.W., 1984], [Joule J.A., 1978] και [Römpp Hermann, 2009].

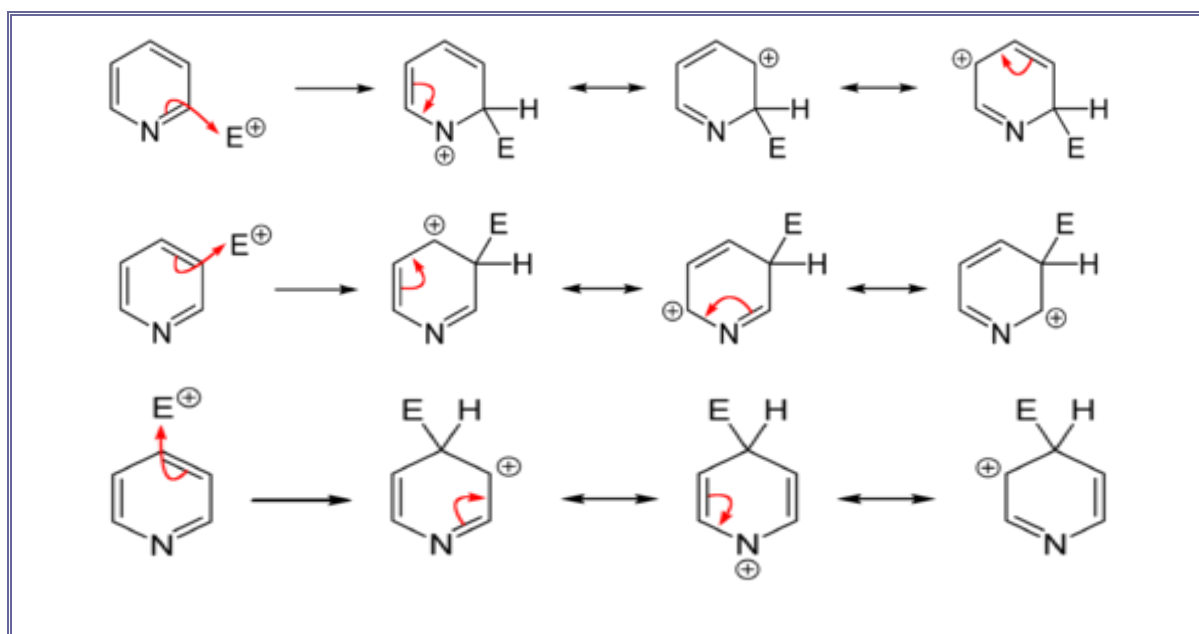
**ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΟΦΙΛΕΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ:** Πολλές ηλεκτρονιόφιλες υποκαταστάσεις στην πυριδίνη, είτε δεν προχωρούν, είτε προχωρούν μόνο με σχετικά χαμηλές αποδόσεις. Εντούτοις, ο ετερο-αρωματικός χαρακτήρας μπορεί να ενεργοποιηθεί με υποκαταστάτες δότες ηλεκτρονίων. Κοινές αλκυλίωσεις και ακυλίωσεις, όπως η αλκυλίωση και ακυλίωση Friedel–Crafts, δεν εφαρμόζονται στην πυριδίνη, επειδή αυτές οδηγούν συνήθως μόνον σε προσθήκες επί του ατόμου του αζώτου. Οι αντικαταστάσεις συνήθως λαμβάνουν χώρα

στην 3-θέση, όπου ευρίσκεται το πλουσιότερο ηλεκτρονικά άτομο άνθρακα, εντός του δακτυλίου και ως εκ τούτου είναι το πλέον δεκτικό, σε ηλεκτρονιόφιλες υποκαταστάσεις. Ηλεκτρονιόφιλες αρωματικές υποκαταστάσεις στις θέσεις 2- ή 4- οδηγούν σε ένα ενεργειακά μη ευνοϊκό ενδιάμεσο  $\sigma$ - σύμπλοκο.

Εντούτοις, αυτές μπορούν να προαχθούν, χρησιμοποιώντας έξυπνες πειραματικές τεχνικές, όπως ο σχηματισμός του N-οξειδίου της πυριδίνης (pyridine-N-oxide). Η προσθήκη του οξυγόνου στο άτομο του αζώτου μειώνει την ηλεκτρονική πυκνότητα στο άτομο του αζώτου και προάγει την ηλεκτρονιόφιλη υποκατάσταση στους 2- και 4-άνθρακες.

Το άτομο οξυγόνου μπορεί στη συνέχεια να απομακρυνθεί, μέσω διάφορων μεθόδων, με συνηθέστερη την χρήση ενώσεων του τρισθενούς φωσφόρου ή του δισθενούς θείου, τα οποία εύκολα μπορούν να οξειδωθούν. Η τριφαινυλοφωσφίνη είναι ένα συχνά χρησιμοποιημένο αντιδραστήριο, το οποίο στην αντίδραση αυτή οξειδώνεται σε τριφαινυλο-φωσφινooξειδίο (triphenylphosphine oxide). Οι ακόλουθες παράγραφοι περιγράφουν τις πλέον αντιπροσωπευτικές ηλεκτρονιόφιλες αρωματικές υποκαταστάσεις της πυριδίνης, [Joule J.A., 1978].

Η απευθείας νίτρωση της πυριδίνης απαιτεί αρκετά δραστικές συνθήκες και έχει χαμηλές αποδόσεις. Τουναντίον, η 3- νιτροπυριδίνη μπορεί να ληφθεί από την αντίδραση της πυριδίνης με το πεντοξειδίο του διαζώτου ( $N_2O_5$ ), παρουσία μεταλλικού νατρίου, [Joule J.A., 1978], [Bakke, J.M. et al, 1994] και [Murashima Takashi, et al, 2002]. Πυριδινικά παράγωγα, όπου το άτομο αζώτου εμφανίζει στερεοχημική ή και ηλεκτρονική παρεμπόδιση, μπορούν να ληφθούν με την χρήση του τετραφλουορο-βορικού νιτρωνίου ( $NO_2^+BF_4^-$ ).



**Εικόνα 2.1.13 Μηχανισμοί των Ηλεκτρονιόφιλων Υποκαταστάσεων στο μόριο της Πυριδίνης.**

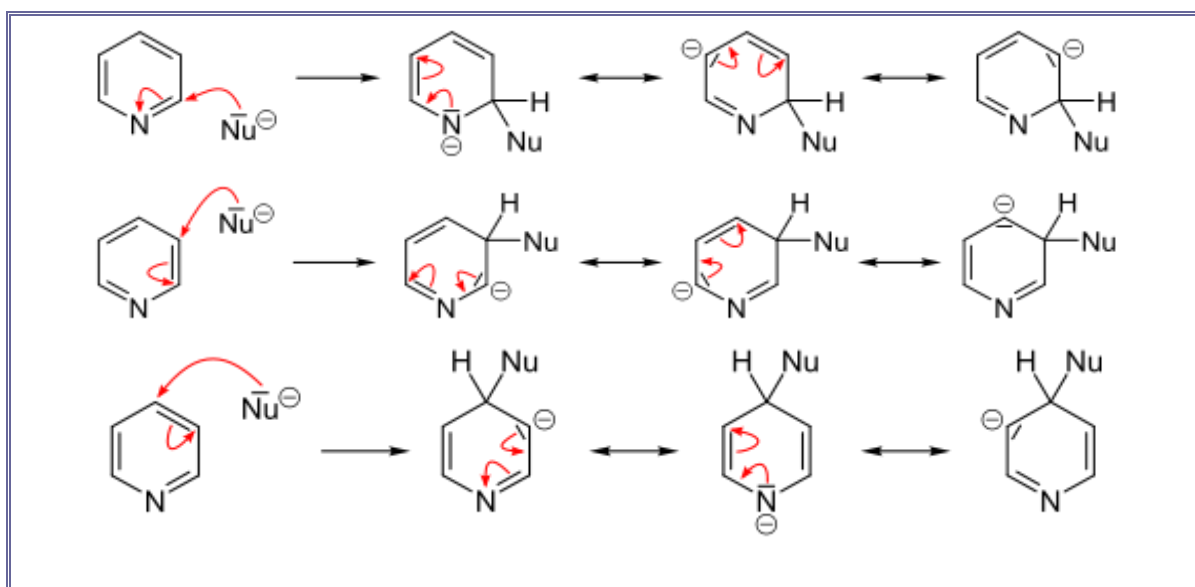
Κατ' αυτό τον τρόπο, η 3- νιτροπυριδίνη μπορεί να ληφθεί, μέσω της σύνθεσης της 2,6-διβρωμοπυριδίνης, ακολουθούμενης από την απομάκρυνση των ατόμων βρωμίου, [Duffy J.L., 1991] και [Joule J.A., 1978]. Η άμεση σουλφονίωση της πυριδίνης είναι ακόμα δυσκολότερη από την άμεση νίτρωση. Εντούτοις, το 3-σουλφονικό οξύ της πυριδίνης

μπορεί να ληφθεί σε ικανοποιητικές αποδόσεις, διά ζέσεως της πυριδίνης, σε περίσσεια θειϊκού οξέος, στους 320°C, [Gabriel, S., 1882]. Η αντίδραση με το αέριο τριοξείδιο του θείου (SO<sub>3</sub>) διευκολύνει επίσης την προσθήκη του θείου στο άτομο αζώτου, ειδικά παρουσία καταλύτη HgSO<sub>4</sub>, [Möller E.F., 1942], [Joule J.A., 1978] και [Noboru O., et al, 2002].

Σε αντίθεση με την νίτρωση και τη σουλφονίωση, η άμεση βρωμίωση και χλωρίωση της πυριδίνης πραγματοποιούνται ομαλά. Η αντίδραση της πυριδίνης με το μοριακό βρώμιο, στο θειϊκό οξύ και σε θερμοκρασία σε 130°C δίνει εύκολα την 3-βρωμοπυριδίνη. Η απόδοση είναι χαμηλότερη για την 3-χλωροπυριδίνη, διά της χλωρίωσης της πυριδίνης με μοριακό χλώριο, παρουσία τριχλωριούχου αργιλίου (AlCl<sub>3</sub>), στους 100°C. Αμφότερες, οι 2-βρωμοπυριδίνη και 2-χλωροπυριδίνη μπορούν να παραχθούν, με απευθείας αντιδράσεις με τα στοιχειακά αλογόνα, παρουσία PdCl<sub>2</sub>, ως καταλύτη, [Joule J.A., 1978].

**ΠΥΡΗΝΟΦΙΛΕΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ:** Σε αντίθεση προς το βενζόλιο, η πυριδίνη αποκρίνεται ευνοϊκά σε πολλές πυρηνόφιλες αντικαταστάσεις και θεωρείται ως καλός πυρηνόφιλος δέκτης, με αριθμό χορηγίας (33.1). Ο λόγος είναι η σχετικά χαμηλότερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου.

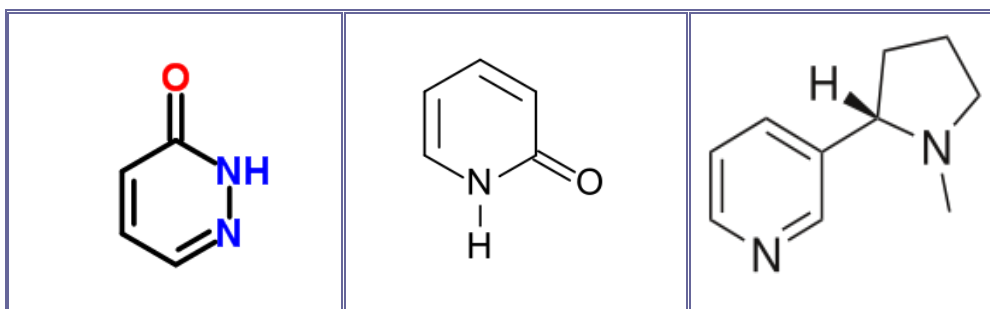
Αυτές οι αντιδράσεις περιλαμβάνουν τις υποκαταστάσεις, με την απομάκρυνση ενός υδριδίου ιόντος και μιας "**αποχωρούσας ομάδας**", με το σχηματισμό ενός ενδιάμεσου δραστικού, του βενζινίου, και την υποκατάσταση να λαμβάνει χώρα στις θέσεις 2- και 4-, [Joule J.A., 1978 and 2012] και [Davies D.T., 1992].



Εικόνα 2.1.14 Μηχανισμοί των πυρηνόφιλων υποκαταστάσεων, στο μόριο της πυριδίνης.

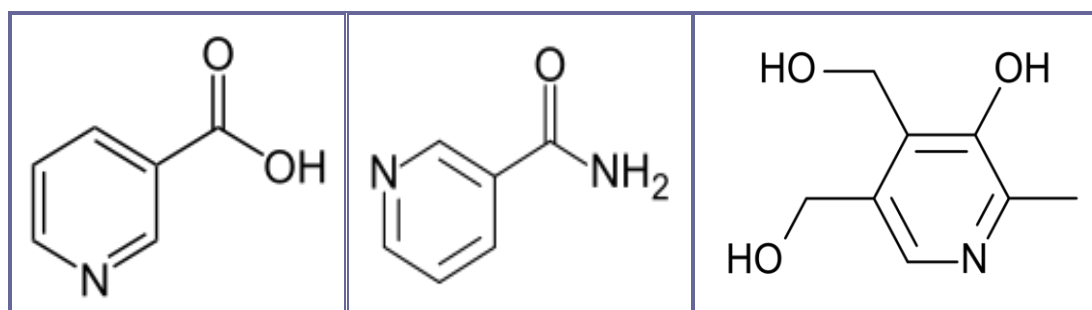
Πολλές πυρηνόφιλες υποκαταστάσεις λαμβάνουν χώρα ευκολότερα, όχι με τη μη υποκατεστημένη πυριδίνη, αλλά με παράγωγα πυριδίνης, με υποκαταστάτες άτομα βρωμίου, χλωρίου, φθορίου ή σουλφονικού οξέος, τα οποία στη συνέχεια λειτουργούν ως "αποχωρούσες ομάδες". Έτσι το φθόριο είναι η καλύτερη "αποχωρούσα ομάδα", στις αντιδράσεις πυρηνόφιλης αρωματικής υποκατάστασης, με οργανομεταλλικές ενώσεις του

λιθίου. Ως πυρηνόφιλα μπορούν να δράσουν τα αλκοξειδία, τα θειολικά ανιόντα, οι αμίνες και η αμμωνία, σε υψηλές κατά κανόνα πιέσεις, [Joule J.A., 2012].



**Εικόνα 2.1.15** Τρία μοριακά παράγωγα της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Πυριδαζινόνης (Pyridazinone), Κέντρο: Συντακτικός τύπος της Πυριδόνης (Pyridone) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Νικοτίνης.

Το υδρίδιο-ión είναι γενικά μία φτωχή ηλεκτρονιακή ομάδα και εμφανίζεται μόνο σε μερικές ετεροκυκλικές αντιδράσεις υποκατάστασης. Οι πυρηνόφιλες υποκαταστάσεις περιλαμβάνουν επίσης την αντίδραση Chichibabin, η οποία οδηγεί σε πυριδινικά παράγωγα αμινώσεως στη 2-θέση. Το σοδαμίδιο ( $\text{NaNH}_2$ ) χρησιμοποιείται ως πυρηνόφιλος παράγοντας, που οδηγεί στη 2-αμινο-πυριδίνη. Το υδρίδιο-ión, που απελευθερώνεται σε αυτήν την αντίδραση ενώνεται με το πρωτόνιο, μιας διαθέσιμης αμινοομάδος, προς σχηματισμό  $\text{H}_2\uparrow$ , [Shreve R.N., et al, 1940] και [Davies D.T., 1992]. Ανάλογα με το βενζόλιο, οι πυρηνόφιλες υποκαταστάσεις της πυριδίνης μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό ενός ετεροαρενικού (heteroaraine intermediate) ενδιάμεσου προϊόντος.

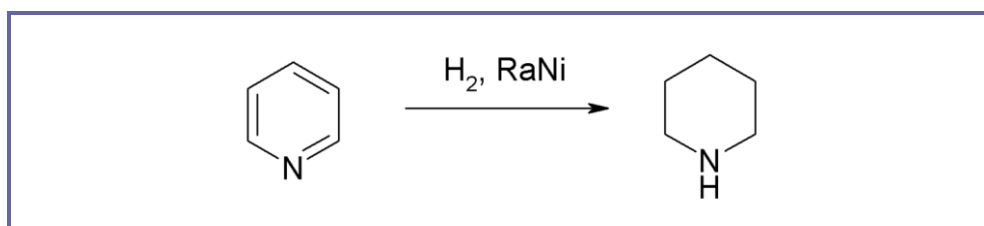


**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.16.** Τρία επιπλέον μοριακά παράγωγα της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Νικοτινικού Οξέος, Κέντρο: Συντακτικός τύπος του Νικοτιναμιδίου και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Βιταμίνης Β3.

### 2.1.7 ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ

Για αυτόν το λόγο, τα παράγωγα της πυριδίνης μπορούν να τροποποιηθούν χημικά, με την απόσπαση "αποχωρουσών ομάδων", χρησιμοποιώντας ισχυρές βάσεις, όπως το τριτοταγές βουτοξειδίο του Na ή του K. Η ακολουθούσα προσθήκη ενός πυρηνόφιλου στον τριπλό δεσμό του ενδιάμεσου δραστικού, του βενζινίου, έχει χαμηλή επιλεκτικότητα, οπότε προκύπτει μίγμα δύο πιθανών προϊόντων προσθήκης, [Joule J.A., 1978], [Larsen P.O., et al, "Hydride Ion and Sulfite Ion Attack on Pyridine Derivatives. Correspondence Between Biochemical and Chemical Reactions as Demonstrated by UV Spectroscopy", Journal of Chemical Education, 59(12), 1080-81, 1982].

**Raney Nickel Hydrogenation and Reduction.** Η αντίδραση αυτή απελευθερώνει ενέργεια 193,8kJ/mol, [Burrows G., et al, 1935], ελαφρώς μικρότερη, απ' την ενέργεια υδρογονώσεως του βενζολίου (205,3 kJ·mol<sup>-1</sup>), [Cox J.D., 1970]. Μερικώς υδρογονωμένα παράγωγα της πυριδίνης λαμβάνονται, υπό ηπιότερες συνθήκες. Η αναγωγή με αλουμινοϋδρίδιο του λιθίου (lithium aluminium hydride) (LiAlH<sub>4</sub>) παράγει μίγμα 1,4-διυδροπυριδίνης, 1,2-διυδροπυριδίνης και 2,5-διυδροπυριδίνης, [Tanner D.D., et al, 1993]. Η εκλεκτική σύνθεση της 1,4- διυδροπυριδίνης επιτυγχάνεται παρουσία οργανο-μεταλλικών συμπλόκων του Mg και του Zn, [De Koning A., et al, 1980], ενώ η (Δ3,4)-τετραϋδροπυριδίνη λαμβάνεται με ηλεκτροχημική αναγωγή της πυριδίνης, [Ferles M., 1959] και [Ferles M., et al, 1990].



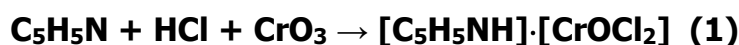
**Εικόνα 2.1.17** Η αντίδραση αναγωγής της Πυριδίνης, προς Πιπεριδίνη, με αέριο Υδρογόνο και παρουσία του καταλύτη Raney Nickel. (Hydrogenation and Reduction of pyridine to piperidine, with Raney nickel).

Η πυριδίνη χρησιμοποιείται ως πολικός, βασικός, χαμηλής δραστηριότητας διαλύτης, για παράδειγμα σε συμπυκνώσεις Knoevenagel [Knoevenagel E., 1898]. Στις εστεροποιήσεις και ακυλιώσεις η πυριδίνη ενεργοποιεί τα καρβοξυλικά οξέα, τα αλογονίδια και τους ανυδρίτες. Ακόμη πιο δραστικά σε αυτές τις αντιδράσεις είναι τα πυριδινικά παράγωγα N,N-διμεθυλαμινοπυριδίνη (DMAP) και η 4-(1-πυρρολιδινυλο)-πυριδίνη. Η πυριδίνη χρησιμοποιείται επίσης ως ο βασικός παράγων στις αντιδράσεις συμπύκνωσης, [Sherman A.R., 2004].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.18.** Η Αντίδραση αποσπάσεως του χλωρίου από την πυριδίνη, για τον σχηματισμό του υδροχλωρικού πυριδινίου.

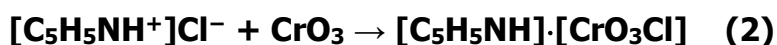
Το **χλωριοχρωμικό πυριδινικό άλας** αναπτύχθηκε από τους Corey και Suggs το 1975 και χρησιμοποιείται για τις οξειδώσεις πρωτοταγών αλκοολών σε αλδεΐδες και δευτεροταγών αλκοολών προς κετόνες [Corey E.J., and Suggs W., 1975]. Λαμβάνεται με την προσθήκη πυριδίνης σε μικτό διάλυμα χρωμικού οξέος και πυκνού υδροχλωρικού οξέος :



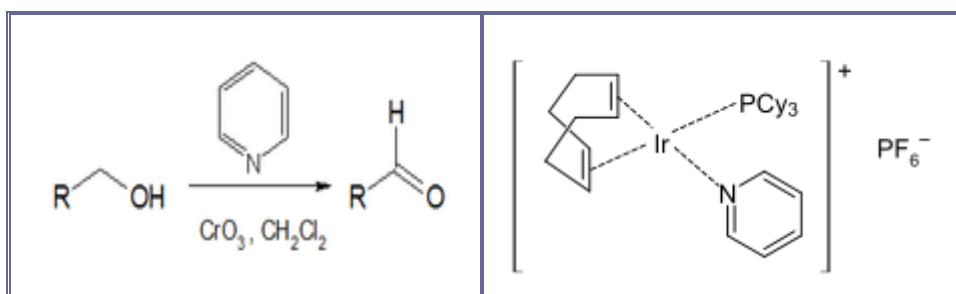
Λόγω της καρκινογένεσης, που προκαλεί το παραπροϊόν χλωριούχο χρωμύλιο (CrO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), οι επιστήμονες αναγκάστηκαν να ερευνήσουν εναλλακτικές συνθετικές πορείες, όπως η



κατεργασία του οξειδίου του χρωμίου (VI) με χλωριούχο πυριδίνιο, [Agarwal S., et al, 1990]:



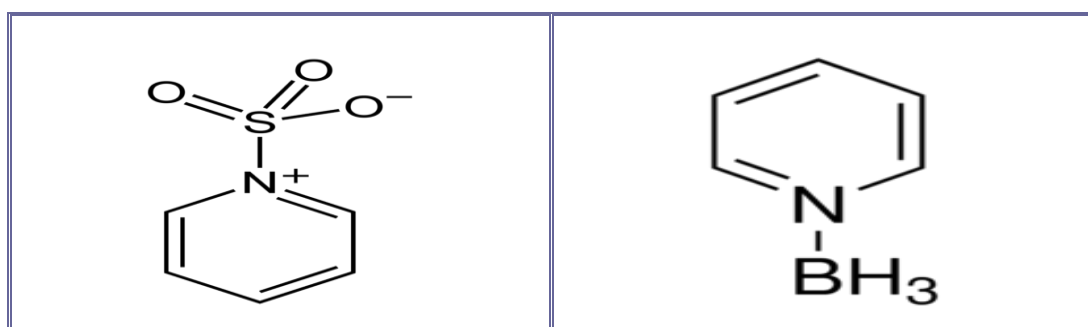
Τα αντιδραστήρια **Cornforth** (διχρωμικό πυριδίνιο, PDC) και χλωροχρωμικό πυριδίνιο (PCC), [Cornforth R.H., et al, 1962], το αντιδραστήριο **Collins** (σύμπλοκο του CrO<sub>3</sub> με πυριδίνη σε διχλωρομεθάνιο) και το αντιδραστήριο **Sarret** (σύμπλοκο CrO<sub>3</sub> με πυριδίνη, σε πυριδίνη) είναι παρόμοιες ενώσεις πυριδίνης, με βάση το χρώμιο, οι οποίες χρησιμοποιούνται επίσης για την οξειδωση, δηλαδή την μετατροπή των πρωτοταγών και δευτεροταγών αλκοολών σε αλδεύδες και κετόνες, αντίστοιχα, [Collins J.C., et al, 1968 και 1988] και [Coperet C., et al, 1998]. Τα αντιδραστήρια Collins και Sarret είναι υγροσκοπικά, εύφλεκτα, δύσχρηστα και επικίνδυνα, κατά την παρασκευή τους. Για το λόγο αυτό προτιμήθηκε η χρήση του PCC και PDC. Αυτά τα αντιδραστήρια ήταν δημοφιλή παλαιότερα, αλλά λόγω της τοξικότητάς τους και της βεβαιωμένης καρκινογόνου φύσεως, σήμερα χρησιμοποιούνται σπάνια, [Tojo G., 2006]. Όταν η πυριδίνη συμμετέχει, ως υποκαταστάτης σε μία σύμπλοκη ένωση μεταλλικού στοιχείου, μπορεί εύκολα να αντικατασταθεί από έναν ισχυρότερο χηλικό υποκαταστάτη- βάση κατά Lewis. Αυτή η ιδιότητα έχει αξιοποιηθεί στην κατάλυση του πολυμερισμού [Bamford C.H. et al, 1980] και [Hopper A.V., 2007], καθώς και στις αντιδράσεις υδρογόνωσης, χρησιμοποιώντας, για παράδειγμα, τον καταλύτη **Crabtree**, [Crabtree R., 1979]. Ο πυριδινικός υποκαταστάτης αντικαθίσταται ποσοτικά και μετά την ολοκλήρωση τέτοιων αντιδράσεων αποκαθίσταται πλήρως, [Jones G., in "Comprehensive Heterocyclic Chemistry II", 1996].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.19.** Αριστερά: Οξειδωση μίας αλκοόλης προς την αντίστοιχη αλδεύδη, με την χρήση του αντιδραστηρίου Collins και Δεξιά: Η Δομή του καταλύτη Crabtree.

Στη φαρμακευτική βιομηχανία η πυριδίνη χρησιμεύει ως το βασικό μοριακό κριώμα διαφόρων παραγώγων ενώσεων, για την παρασκευή μιας ποικιλίας φαρμάκων, εντομοκτόνων και ζιζανιοκτόνων, [IARC Monographs, 1985]. Χρησιμοποιείται, επίσης, σε μεγάλες ποσότητες, στην παραγωγή ζιζανιοκτόνων Diquat και Paraquat, τα οποία περιέχουν μόρια διπυριδίνης. Το πρώτο στάδιο συνθέσεως του εντομοκτόνου **Chlorpyrifos** αποτελείται από την χλωρίωση της πυριδίνης. Η πυριδίνη είναι επίσης η αρχική ένωση για την παρασκευή μυκητοκτόνων, που βασίζονται στην πυριθειόνη, [IARC Monographs, 1985]. Το κετυλοπυριδίνιο και το λαυρυλοπυριδίνιο (laurylpyridinium), τα οποία παράγονται από την πυριδίνη με μία αντίδραση Zincke, χρησιμοποιούνται ως αντισηπτικά προϊόντα, στοματικής και οδοντιατρικής φροντίδας [Clayden J., et al, 2001]

και [Römpp Hermann, 2009]. Επίσης, τα παράγωγα της πιπεριδίνης είναι σημαντικά μοριακά ικρίωματα, διαφόρων συνθετικών δομήσεων. Μια κοινή σύνθεση της πιπεριδίνης είναι η αναγωγή της πυριδίνης, με καταλύτη παράγωγα του νικελίου, του κοβαλτίου και του ρουθηνίου, σε υψηλές θερμοκρασίες, [Eller K., et al, 2005]. Η πυριδίνη χρησιμοποιείται ως διαλύτης για την **παρασκευή χρωμάτων**, βαφών και καουτσούκ [Terry C.E., et al, 1999]. Χρησιμοποιείται επίσης στην υφαντουργία για τη βελτίωση της χωρητικότητας του πλέγματος του βάμβακος, [Clayden J., et al, 2001]. Επίσης, χρησιμοποιείται για τη **μετουσίωση της αιθανόλης**, προκειμένου να καταστεί ακατάλληλη, για την παρασκευή και κατανάλωση, αλκοολούχων ποτών, [Clayden J., et al, 2001] και [Römpp Hermann, 2009]. Σε χαμηλές δόσεις, η πυριδίνη προστίθεται στα τρόφιμα, για να τους δώσει μια πικρή γεύση και η χρήση αυτή έχει εγκριθεί από την αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων, [IARC Monographs, 1985]. Το όριο ανίχνευσης της πυριδίνης σε διαλύματα είναι περίπου 1-3mmol/lit (79-237 mg/L), [Täufel A., et al, 2005]. Ως βάση, η πυριδίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως **αντιδραστήριο Karl Fischer**, αλλά συνήθως αντικαθίσταται από εναλλακτικές λύσεις με πιο ευχάριστη οσμή, όπως το ιμιδαζόλιο, [Fischer Karl, 1935], [Sigma-Aldrich Catalogue, "Volumetric Titration, High-quality Titration Reagents, Iodine Solution, 0,02M in THF/Pyridine/H<sub>2</sub>O- 70:20:10" and "Hydranal® Going Green Ethanol-Based Karl Fischer Titration with Hydranal E-Type Reagents", Sigma-Aldrich Company Ltd., 2011]. Επίσης σημαντικά χημικά συμπλεκτικά αντιδραστήρια είναι τα παράγωγά της 2,2'- Διπυριδίνης, που συνίσταται από δύο μόρια πυριδίνης, γεφυρωμένων με ένα απλό δεσμό, και η τριπυριδίνη, ένα μόριο τριών δακτυλίων πυριδίνης, που συνδέονται μεταξύ τους [Jeffery J.C., et al, 1995], [Sasse, W.H.F., 1973 and 1966], [Blau Fritz, "Die Destillation Pyridinmonocarbonsaurer Salze", Berichte 1888] και [Scriven E.F.V., et al, 2000]. Η πυριδίνη εύκολα προσβάλλεται από αλκυλιωτικούς παράγοντες, για να δώσει άλατα του N-αλκυλπυριδινίου, όπως το χλωριούχο κετυλοπυριδίνιο, ένα κατιονικό επιφανειοδραστικό, που χρησιμοποιείται ευρέως ως απολυμαντικός και αντισηπτικός παράγοντας.

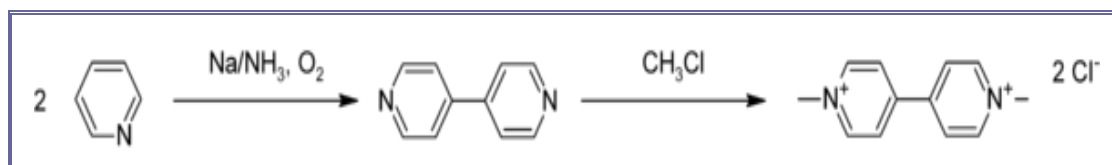


**Εικόνα 2.1.20** Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Πυριдино-Θειοτριοξειδίου, (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>NSO<sub>3</sub>) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Πυριδίνης-Βορανίου, (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>NBH<sub>3</sub>).

Άλατα πυριδινίου μπορούν να ληφθούν με την αντίδραση Zincke. Χρήσιμα προϊόντα προσθήκης της πυριδίνης περιλαμβάνουν: **α)- την πυριδίνη-βοράνιο**, (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>NBH<sub>3</sub>, σημείο τήξεως 10-11°C), ένα ήπιο αναγωγικό μέσο, με βελτιωμένη σταθερότητα σε σχέση με NaBH<sub>4</sub>, σε πρωτικούς διαλύτες και με βελτιωμένη διαλυτότητα σε απρωτικούς οργανικούς διαλύτες, [Burkhardt Elizabeth, 2007] και **β)- το πυριдино-θειο τριοξείδιο**,

(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>NSO<sub>3</sub>, σημείο τήξεως 175°C), που είναι ένας παράγοντας σουλφόνωσης, ο οποίος χρησιμοποιείται για τη μετατροπή αλκοολών σε σουλφονικά παράγωγα, τα οποία με τη σειρά τους υφίστανται σχάση του δεσμού C-O, κατά την αναγωγή με υδριδικούς παράγοντες, [Gribble G.W., et al, 2003], [Tidwell Thomas T., 2001], [Parikh Jekishan R., 1967]. **Όταν ένα μόριο πυριδίνης είναι υποκαταστάτης, σε ένα μεταλλικό σύμπλοκο, μπορεί εύκολα να αντικατασταθεί από μια ισχυρότερη χηλική βάση Lewis.** Αυτή η ιδιότητα έχει αξιοποιηθεί στην κατάλυση του πολυμερισμού, [Bamford C.H. et al, 1980] και [Hopper A.V., 2007], καθώς και στις αντιδράσεις υδρογόνωσης, χρησιμοποιώντας ένα καταλύτη Crabtree, [Crabtree R., 1979].

Η πυριδίνη έχει εισαχθεί επιτυχώς στην χημεία των πολυμερών, από τους [Shanyin Y., et al, 2011]. Συνέθεσαν και ταυτοποίησαν αρχικά το μονομερές **4-φαινυλο-2,6-bis-[3-(4-αμινοφαινοξυ)-φαινυλο]-πυριδίνη**, το οποίο μετά χρησιμοποίησαν στην πολυσυμπύκνωσή του, με διάφορους αρωματικούς δι-ανυδρίτες, ώστε να προκύψουν ενδιαφέροντα και διαλυτά πολυμερή υλικά. Το μόριο πυριδίνης αντικαθίστανται κατά την διάρκεια της αντιδράσεως και επανέρχεται, μετά την ολοκλήρωσή της. Στη φαρμακευτική βιομηχανία η πυριδίνη χρησιμεύει ως ένα δομικό στοιχείο για την κατασκευή μιας ποικιλίας φαρμάκων, εντομοκτόνων και ζιζανιοκτόνων και χρησιμοποιείται σε μεγάλες ποσότητες στην παραγωγή των ζιζανιοκτόνων **Diquat** και **Paraquat**, τα οποία περιέχουν θραύσματα διπυριδίνης. Η πυριδίνη είναι επίσης η αρχική ένωση για την παρασκευή των μυκητοκτόνων πυριθειόνης, [IARC Monographs, 1985]. Τα παράγωγα κετυλο-πυριδίνιο και λαυρυλο-πυριδίνιο παράγονται από την πυριδίνη, με μία αντίδραση Zincke και χρησιμοποιούνται ως αντισηπτικά στα εμπορικά προϊόντα, στοματικές και οδοντιατρικής φροντίδας, [Clayden J., et al, 2001].



**Εικόνα 2.1.21** Η σύνθεση του Paraquat, με αρχικό αντιδραστήριο την πυριδίνη και στη συνέχεια του μεθυλο-βιολογόνου, με τη χρήση του μεθυλοχλωριδίου, [World Health Organization, 1984].

Η 1:1 δέσμευση-σύμπλεξη της πυριδίνης με το πορφυρινικό σύμπλοκο, **meso-τετρα-4-βενζυλο-οξυφαινυλο-πορφυρινικός-ψευδάργυρος**, έχει μελετηθεί με φασματοσκοπία απορροφήσεως, σε διάφορους οργανικούς διαλύτες, όπως το βενζόλιο, τολουόλιο, χλωροβενζόλιο, βρωμοβενζόλιο, νιτροβενζόλιο, η ανισόλη και η ακετοφαινόνη, από τους [Nirmalendu Datta-Gupta, et al, 1981]. Αναφέρεται η σύνθεση και η μελέτη της μοριακής και της ηλεκτρονιακής δομής των ετερο-διμεταλλικών ενώσεων συναρμογής, [Τζημόπουλου Δ.Ι., 2009], καθώς και η συναρμογή **τριοργανο-κασσιτερικών παραγώγων**, των πυριδινυλο-2-ιμινο υποκατεστημένων αρωματικών οξέων, προς κέντρα μονοσθενούς χαλκού. Έχουν συντεθεί μερικά παράγωγα της πυριδίνης και έχει μελετηθεί η οξειδοαναγωγική συμπεριφορά των, ως **αναστολέων διαβρώσεως** 2M HCl, πάνω σε ανθρακούχους χάλυβες, με τη χρήση της ποτενσιοδυναμικής μεθόδου ηλεκτροχημικής

πολώσεως –προβολής Tafel και της σταθμικής απώλειας βάρους, από τους [Abdel-Maksoud S.A., 2005]. Η χημεία εντάξεως μικτών τετρασχιδίων υποκαταστατών, πυριδίνης-φαινόλης και φαινανθρολίνης- φαινόλης, καθώς και οι κρυσταλλικές δομές των αντιστοιχών συμπλόκων, του γενικού τύπου  $[FeL_2] \cdot [PF_6]$  έχουν επιλυθεί από τους [Jeffery J.C., et al, 1995]. Εκτεταμένη αναφορά των μεθόδων βιομηχανικής συνθέσεως, βιομηχανικής χημείας και εμπορικών εφαρμογών, της πυριδίνης και των παραγώγων ενώσεων της πυριδίνης αποτελεί το άρθρο ανασκοπήσεως των, [Scriven E.F.V., et al, 2000] και η Εγκυκλοπαίδεια Χημικής Τεχνολογίας Kirk-Othmer, 4<sup>η</sup> Έκδοση, Τόμος 20. Η διδακτορική διατριβή και οι δημοσιεύσεις του ερευνητή Matthew Hill, αποτελούν μια εξαιρετική και σύγχρονη πηγή συνθέσεων και ιδιοτήτων μεγάλου αριθμού παραγώγων της πυριδίνης. Αναφέρονται διάφορες τροποποιήσεις και στρατηγικές των κλασικών συνθέσεων συμπυκνώσεως, των καταλυτικών αντιδράσεων κυκλοποίησης, υπό μετάλλων μεταπτώσεως, καθώς και πορείες διασταυρούμενων αντιδράσεων συζεύξεως, [Hill Matthew D., 2008] και [Hill Matthew D., 2010].

### 2.1.8 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ.

Η πυριδίνη αποτελεί έναν **εξαιρετικό οργανικό διαλύτη**, για την εκτέλεση των ογκομετρήσεων εκείνων, που απαιτείται να πραγματοποιηθούν σε μη υδατικούς διαλύτες, με μοναδικό μειονέκτημα την έντονη –σχεδόν ανυπόφορη– και αποπνικτική δυσσομία της. Είναι ένας πολικός και απρωτικός διαλύτης, με ασθενείς βασικές ιδιότητες. Ο **κουλομετρικός προσδιορισμός** της πυριδίνης, με ηλεκτρολυτικώς παραγόμενα κατιόντα υδρογόνου, παρουσία θειϊκού νατρίου, ως φέροντος ηλεκτρολύτη και οπτικού δείκτη κυανού της βρωμοφαινόλης, επετέυχθη για περιοχή βαρών αναλύτη 20-30mg, με μέσο σφάλμα 0,8%, από τους [Munemori M., et al, 1960].

Σε περιβάλλον πυριδίνης μπορούν να υποστούν **διαφορική ογκομέτρηση** τα λιαν ασθενώς όξινα κατιόντα, των αλκαλιμετάλλων Li(I) και Na(I), [Banick W.M., 1963]. Είναι γνωστό ότι ο υγροσκοπικός διαλύτης θειϊκό διμεθύλιο (dimethyl sulphate, ο διμεθυλεστέρας του θειϊκού οξέος), που είναι ένας ισχυρός μεθυλιωτικός παράγων στην οργανική χημεία, υφίσταται -με την πάροδο του χρόνου- σταδιακή υδρόλυση, από την ατμοσφαιρική υγρασία και γίνεται ένα μίγμα τριών σωμάτων, **α)**- το απομένον θειϊκό διμεθύλιο ( $Me_2SO_4$ ), **β)**- το μονόξινο θειϊκό μεθύλιο ( $MeHSO_4$ ) και **γ)**- το παραγόμενο θειϊκό οξύ ( $H_2SO_4$ ). Η παραπάνω ερευνητική ομάδα του Banick W.M., πέτυχε την διαφορική ποτενσιομετρική ογκομέτρηση των τριών αυτών συγγενών ενώσεων, σε περιβάλλον πυριδίνης, με τιτλοδότη υδροξείδιο του τριβουτυλο-αιθυλαμμώνιου, [Banick W.M.Jr., et al, 1966].

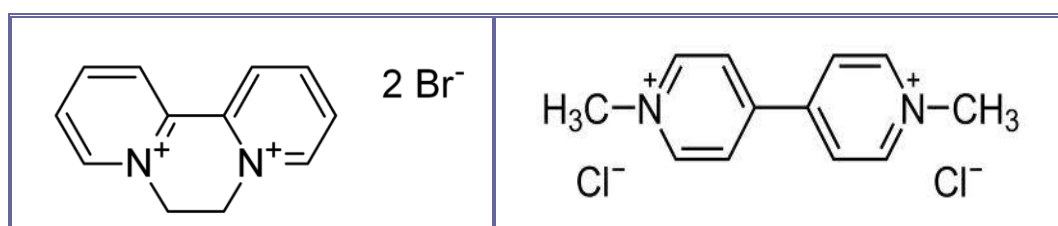
Έχει αναφερθεί μία αναλυτική μέθοδος **ποτενσιομετρικού προσδιορισμού**, των ανιόντων διαφόρων οργανικών καρβοξυλικών οξέων ( $RCOO^-$ ), από τους [Groagonά A., 1968] σε περιβάλλον πυριδίνης. Για τον επιτυχή προσδιορισμό των μονο- και δι-καρβοξυλικών ενώσεων του διακυλο- και τριακυλο-κασσιτέρου(IV), χρησιμοποιήθηκε ως ενδεικτικό το εκλεκτικό ηλεκτρόδιο του αντιμονίου, ως οπτικός δείκτης η θυμολοφθαλίνη και το σφάλμα ογκομετρήσεως ήταν <0,5%. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό διαφόρων υποκατεστημένων φαινολών, με ομάδες όξινης παρεμποδιστικής συμπεριφοράς, που

περιέχονται στο προϊόν του καπνού, καθώς και στον παραγόμενο αέριο καπνό χρησιμοποιήθηκε ως μη υδατικός διαλύτης η πυριδίνη και ως τιτλοδότης το υδροξείδιο του τετραβουτυλαμμωνίου 0,02M, όπως αναφέρει ο [Robinson W.T.Jr., 1964].

Όλα τα αμινοξέα (πλην τυροσίνης, κυστεΐνης, κυστίνης) **ογκομετρήθηκαν ποτενσιομετρικά** σε μη υδατικούς διαλύτες, με τιτλοδότη υδροξείδιο του τετραβουτυλαμμωνίου 0,036M, σε 2-προπανόλη και σε συστήματα διαλυτών πυριδίνης-ύδατος (90:10%) ή ακετονιτριλίου-ύδατος (90:10%). Τα τελικά σημεία (αναστροφής) των καμπυλών ογκομετρήσεως ήταν ικανοποιητικά και απότομα, ενώ τα σχετικά σφάλματα της μεθόδου κυμάνθηκαν στα  $<\pm 2\%$ , [Gündüz T., et al, 1988].

Επίσης, έχει αναφερθεί ο **ενθαλπιαμετρικός προσδιορισμός** αζωτούχων οργανικών βάσεων, όπου η ογκομέτρηση της αμμωνίας και των αλειφατικών αμινών λαμβάνει χώρα προ της ογκομετρήσεως των πυριδινικών και ανιλινικών βάσεων, [Vaughan G.A., 1967]. Το αέριο CO<sub>2</sub>, ύστερα από την απορρόφηση και κατακράτηση του, εντός ακετόνης ή πυριδίνης, ογκομετρήθηκε ικανοποιητικά σε μη-υδατικούς διαλύτες, με τιτλοδότη CH<sub>3</sub>ONa+CH<sub>3</sub>OH, παρουσία του οπτικού δείκτη κυανού της θυμόλης, [Grant J.A., et al, 1963], [Blom L., et al, 1955] και [Blom L., et al, 1964]. Για την θεωρία και πρακτική των ογκομετρήσεων **σε μη υδατικούς διαλύτες**, πολύ κατατοπιστικά είναι τα εγχειρίδια των [Bruttel Peter, 1999] και [Felgner Andrea, 2013].

Η πυριδίνη έχει αναφερθεί ως ύποπτος καρκινογόνος παράγων, ως τοξικό αντιδραστήριο έναντι του ήπατος, του γαστροεντερικού συστήματος, του αναπνευστικού, του δέρματος, των αισθητηρίων οργάνων, ως νευροτοξικό αντιδραστήριο και ως ανοσοτοξικός παράγων, [Toxicopedia Connecting Science and People, on line, 2013]. Λόγω των μοναδικών φυσικοχημικών και βιολογικών ιδιοτήτων, η πυριδίνη αποτελεί τον θεμέλιο λίθο ως πρώτη ύλη των μη επιλεκτικών γεωργικών παρασιτοκτόνων του διπυριδυλίου καθώς και του παρακουάτ (paraquat) και του δικουάτ (diquat), που χρησιμοποιούνται για την αύξηση της γεωργικής παραγωγής και την μείωση της διάβρωσης του εδάφους.

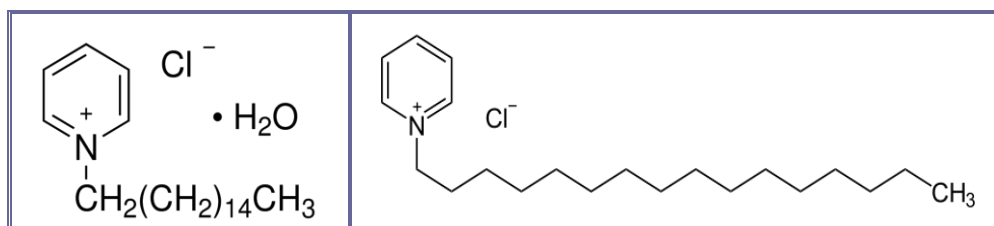


**Εικόνα 2.1.22** Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Δικουάτ (Diquat) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Βιολογόνου (Viologen).

Το παρακουάτ εύκολα μετατρέπεται σε μεθυλο-βιολογόνο (**Methyl-viologen**). Επιπλέον η πυριδίνη αποτελεί το θεμελιώδες δομικό κριώμα των βιοκτόνων (biocides) της πυριθειόνης, καθώς και των τεταρτοταγών αλάτων με αντιμικροβιακές ιδιότητες, που χρησιμοποιούνται στην προσωπική φροντίδα του ανθρώπου και στην βιομηχανία υφασμάτων και χρωμάτων.

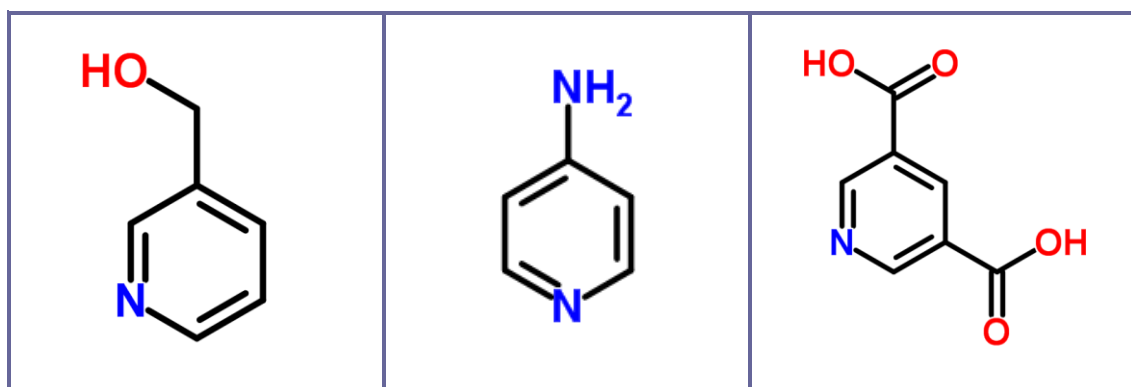
Οι ιδιότητες αυτές την καθιστούν επίσης αναντικατάστατη στις εφαρμογές καταλυτών και διαλυτών, σε δυσδιάλυτα και δυσκατέργαστα υλικά, που θα χρησιμοποιηθούν παραπέρα στην φαρμακευτική και χημική βιομηχανία, [World Health Organization (WHO), 1984]. Τα

τεταρτοταγή πυριδινικά άλατα είναι μία μεγάλη κατηγορία βαρέων κατιονικών αλάτων, με **α)**- μία αρωματική ετεροκυκλική πυριδινική ομάδα, **β)**- μία μεγάλη αλειφατική ομάδα (εξαδεκυλο-ομάδα) ενωμένη πάνω στο άζωτο της πυριδίνης και **γ)**- ένα ανόργανο αντισταθμιστικό ανιόν (συνήθως Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>).



**Εικόνα 2.1.23** Μοριακός και συντακτικός τύπος του Μονοένυδρου Χλωριούχου Εξαδεκυλοπυριδινίου (Cetylpyridinium Chloride Monohydrate).

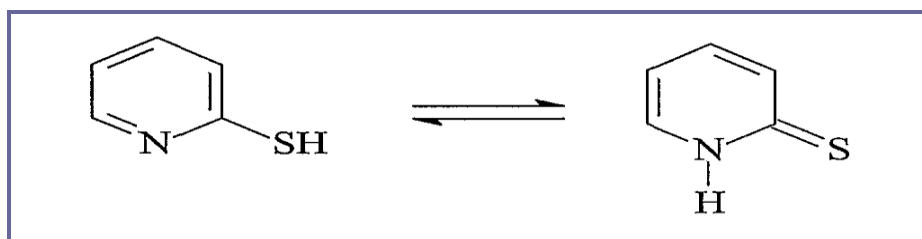
Εύκολα τροποποιούνται συνθετικά και παρέχουν πληθώρα παρεμφερών αλάτων, με εκτεταμένες χρήσεις και εφαρμογές, [Dondela B., 2000]. Έχουν μεγάλο μοριακό βάρος και συνεπώς παρέχουν εύκολα δυσδιάλυτα στο ύδωρ άλατα συζεύξεως-ιονικά ζεύγη (ion-paired) με βαρέα ανιόντα, [Hoerr C.W. and Ralston A.W., "Studies on High Molecular Weight Aliphatic Amines and Their Salts. XI. Transference Numbers of Some Primary Amine Hydrochlorides in Aqueous Solution and Their Significance in the Interpretation of the Micelle Theory", 1943].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.24** Τρία χρήσιμα παράγωγα της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος της β-Πυριδυλοκαρβινόλης (β-pyridylcarbinol), Κέντρο: Συντακτικός τύπος της 3-Αμινοπυριδίνης (3-Aminopyridine) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Δινικοτινικού Οξέος (Dinicotinic acid).

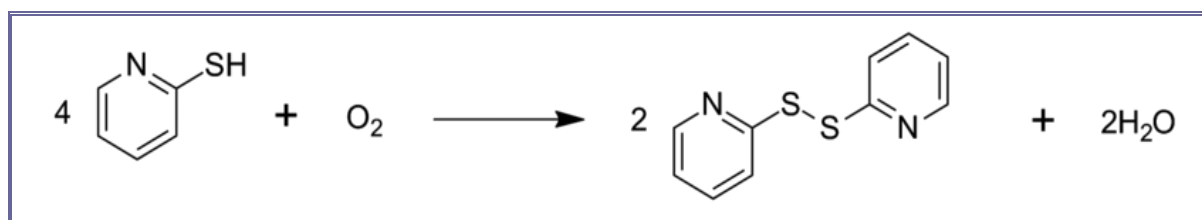
Τα δυσδιάλυτα αυτά άλατα χρησιμοποιούνται **ευρύτατα στην ποτενσιομετρία**, για την σύνθεση τέτοιων αλάτων -ηλεκτρενεργών ουσιών- οι οποίες διαλυόμενες σε βαρείς και ιξώδεις οργανικούς διαλύτες παρέχουν υγρούς ιονανταλλάκτες, που θα εισαχθούν στα εκλεκτικά ηλεκτρόδια ιόντων.

Είναι ισχυρά **τασιενεργά απορρυπαντικά** και δραστικά μικροβιοκτόνα, με ενδιαφέρουσες φυσικο-χημικές ιδιότητες και πολλαπλές βιοχημικές (μικροβιακές καλλιέργειες), βιομηχανικές (επίπλευση, έλαια, χρώματα, πλαστικά), φαρμακευτικές (μυκητοκτόνα), γεωργικές (παρασιτοκτόνα, ζηζανιοκτόνα) και κοσμετολογικές (κρέμες, γαλακτώματα) εφαρμογές, [Sliwa W., 2003].



Εικόνα 2.1.25 Το φαινόμενο της χημικής ταυτομέρειας στην 2-Μερκαπτοπυριδίνη, προς τις αντίστοιχες: θειόλη-θειόνη.

Το μονο-ένυδρο χλωριούχο εξαδεκυλο-πυριδίνιο (Hexadecylpyridinium ή Cetylpyridinium Chloride Monohydrate) είναι ένα κατιονικό αντιβακτηριακό και αντισηπτικό επιφανειοδραστικό άλας (mercocet, pionin B, pristacin, pyrisept, asept). Στερεό λευκό σώμα, οσμής πυριδίνης, μοριακού τύπου  $[C_{21}H_{38}NCl]$ , MB=339,99 g/mol και ΣΤ=80–83°C. Η κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίων (CMC) είναι 0,00012M. Αδιάλυτο στην ακετόνη, οξικό οξύ και την αιθανόλη. Εξόχως τοξικό μέχρι και θανατηφόρο στην εισπνοή και την κατάποση. Εξαιρετικά καταστροφικό των ιστών και των μεμβρανών της βλεννογόνου, του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, (target organ effect), [Madaan P., 2008]. Μεγάλης αναλυτικής, βιοχημικής και φαρμακευτικής σπουδαιότητας είναι επίσης τα παράγωγα της πυριδίνης, της β-πυριδυλοκαρβινόλης (β-pyridylcarbinol), της 3-αμινοπυριδίνης (3-Aminopyridine) και του δινικοτινικού οξέος (**Dinicotinic acid**). Τα θειο-παράγωγα της πυριδίνης είναι πολύπλευρης και εξειδικευμένης σπουδαιότητας στην αναλυτική χημεία, την ανόργανη χημεία, την βιοχημεία, την ιατρική, την γεωργία και την πτηνοτροφία, [Marvin Cohen, 1985] και [Manzanares J., et al, 1988].



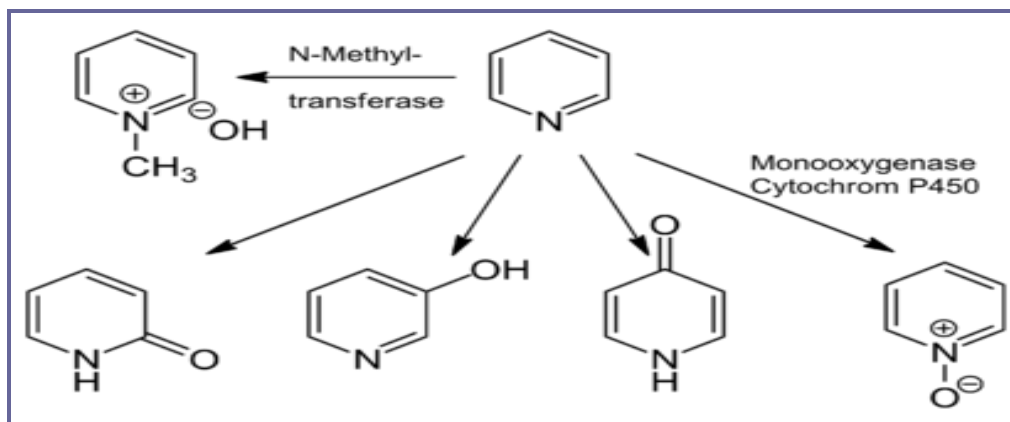
Εικόνα 2.1.26 Η 2-Μερκαπτοπυριδίνη οξειδώνεται ευκόλως σε 2,2'-Διπυριδυλο-δισουλφίδιο.

Η **2-μερκαπτοπυριδίνη** είναι ένα μόριο, το οποίο παρουσιάζει το φαινόμενο της ταυτομέρειας θειόλης-θειόνης. Είναι επίσης ισχυρό αναγωγικό σώμα οξειδούμενο λίαν ευκόλως στο σταθερό 2,2'-διπυριδυλο-δισουλφίδιο, [Räth C., et al, 1931].

### 2.1.9 ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ. ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ.

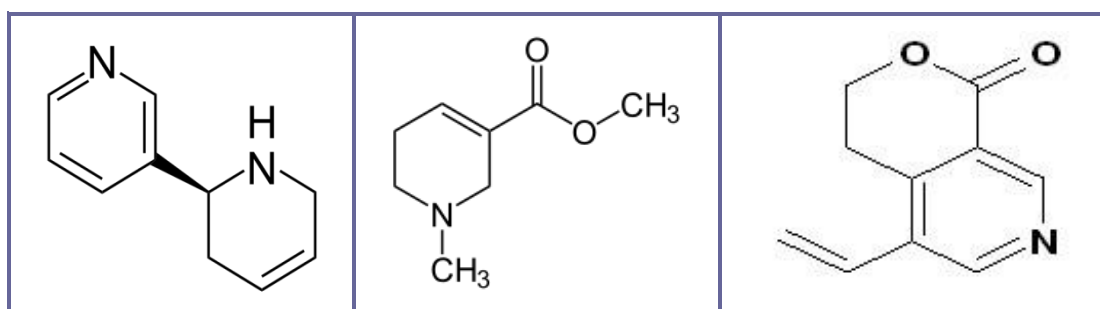
Τα κύρια προϊόντα της μεταβολισμού πυριδίνης είναι **α)**- το N-μεθυλο-πυριδίνιο υδροξείδιο (N-methylpyridiniumhydroxide), που σχηματίζεται από τις N-μεθυλο-τρανσφεράσες της πυριδίνης, **β)**- το πυριδίνη-N-οξείδιο και **γ)**- οι 2-, 3- και 4-υδροξυπυριδίνες, οι οποίες παράγονται, από τη δράση της μονο-οξυγενάσης. Στον άνθρωπο, η πυριδίνη μεταβολίζεται μόνο σε N-methylpyridiniumhydroxide, [Bonnard N., et al, 2001] και [Linde D.R., and Milne G.W.A., 1994 και 1996]. Τα μόρια της πυριδίνης αποικοδομούνται εύκολα από τα βακτηρίδια, σε αμμωνία και διοξείδιο του άνθρακα. Οι μη-υποκατεστημένοι δακτύλιοι

πυριδίνης αποικοδομούνται ταχύτερα από την πικολίνη, την λουτιδίνη, την χλωροπυριδίνη, και τις αμινοπυριδίνες και έχει δείχθει ότι μια σειρά από αποικοδομητές της πυριδίνης, οδηγούν σε υπερπαραγωγή ριβοφλαβίνης, παρουσία πυριδίνης, [Sims G.K., et al, 1986, 1989 και 1992].



**Εικόνα 2.1.27** Τα κυριότερα παράγωγα- προϊόντα, του βιοχημικού μεταβολισμού της πυριδίνης.

Η πυριδίνη είναι επιβλαβής σε περίπτωση εισπνοής, κατάποσης ή απορρόφησης μέσω του δέρματος, για ρινική προσβολή και ηπατική κίρρωση, [Aylward G., 2008] και [Baxter J.H., 1948]. Επιπτώσεις της οξείας δηλητηρίασης πυριδίνης περιλαμβάνουν ζάλη, πονοκέφαλο, έλλειψη συντονισμού (lack of coordination), ναυτία, σιελόρροια και απώλεια της όρεξης, [Pollock L.J., et al, 1943]. Έχει αναφερθεί θάνατος ατόμου, μετά από τυχαία κατάποση μισού φλιτζανιού πυριδίνης, [IARC Monographs, 1985], [Browning E., "Pyridine", In: "Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents", 1965]. Σε υψηλές δόσεις η πυριδίνη έχει ναρκωτική επίδραση, ενώ συγκεντρώσεις ατμών πάνω από 3600 ppm αποτελούν κίνδυνο για την υγεία, [Shimizu S., et al, 2005] και [Agency for Toxic Substances, 1992]. Η από του στόματος LD<sub>50</sub> σε αρουραίους είναι 891mg/kg, [Shimizu S., 2005].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.28.** Τρία μόρια φυτικής προελεύσεως, παράγωγα της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Αναβασίνης (Anabasine), Κέντρο: Συντακτικός τύπος της Αρεκολίνης (Arecoline) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Γεντιανίνης (Gentianine).

Οι αξιολογήσεις της πυριδίνης, ως πιθανού καρκινογόνου παράγοντα έδειξε ότι υπάρχουν ανεπαρκείς αποδείξεις για την καρκινογένεση της πυριδίνης, επί του ανθρώπου, αν και υπάρχουν περιορισμένες ενδείξεις καρκινογόνων επιδράσεων στα ζώα και [National Toxicology Program, 2000].

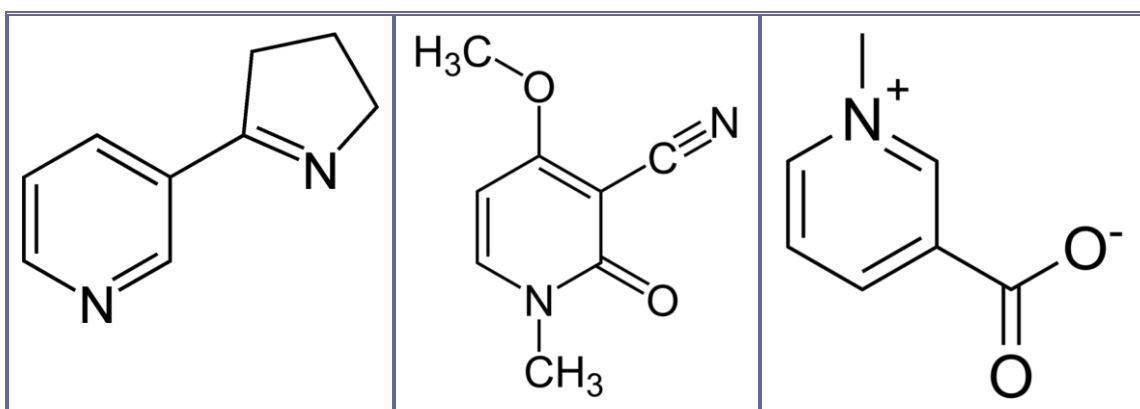


Τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι "η έκθεση ποντικών και αρουραίων σε όλα τα επίπεδα δοσολογίας πυριδίνης, μέσα σε πόσιμο νερό οδήγησε σε μείωση κινητικότητας του σπέρματος και σε αυξημένη διάρκεια οιστρικού κύκλου", [IARC, Pyridine Summary and Evaluation, 2000], [Nikula K.I., et al, 1994] και [EPA, The Ecotoxicology, 2013].

Η πυριδίνη θα μπορούσε επίσης να εμφανίσει ήσσονα νευροτοξικά, **γονιδιοτοξικά και κλαστογονικά** (clastogenic) αποτελέσματα, [Linde D.R., and Milne G.W.A., 1994 και 1996], [IARC Monographs, 1985] και [Bonnard N., et al, 2001]. Η έκθεση σε ατμόσφαιρα πυριδίνης θα οδηγήσει κανονικά στην εισπνοή της και στην απορρόφηση της, από τους πνεύμονες και τον γαστρεντερικό σωλήνα, όπου είτε παραμένει αμετάβλητη είτε μεταβολίζεται, [Jori A., et al, Ecotoxicological Profile of Pyridine, 1983].

Η ατμόσφαιρα στα εργοστάσια επεξεργασίας πετρελαίου και σχιστολίθων μπορεί να περιέχει πυριδίνη σε συγκεντρώσεις μέχρι και  $13\mu\text{g}/\text{m}^3$ , [Hawthorne S.B., et al, 1984] και [Reed R.L., 1990], ενώ επίπεδα συγκεντρώσεων μέχρι και  $53\mu\text{g}/\text{m}^3$  μετρήθηκαν στα υπόγεια ύδατα, κοντά σε περιοχές εργοστασίων αεριοποίησης άνθρακα.

Σύμφωνα με το Αμερικανικό Εθνικό Ινστιτούτο, Επαγγελματικής Ασφάλειας και Υγείας, περίπου 43.000 Αμερικανοί εργάζονται σε επαφή με πυριδίνη, [NIOSH, 1981-83], [European Commission, 2004] και [World Health Organization (WHO), 1984].

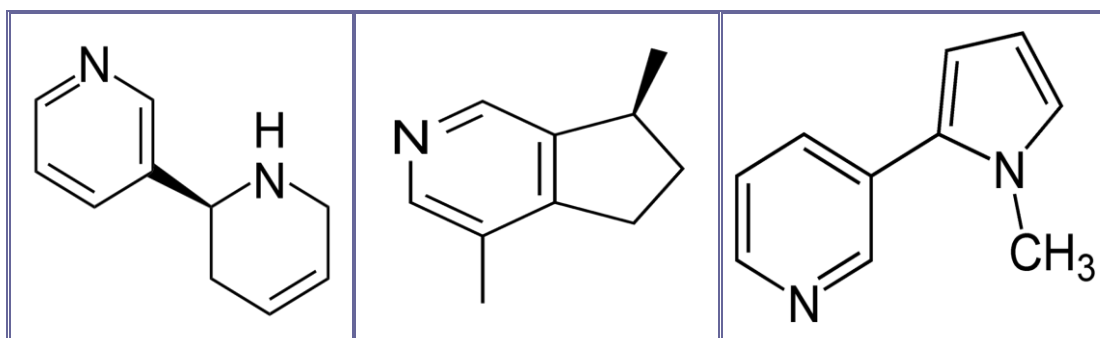


Εικόνα 2.1.29 Τρία επιπλέον μόρια φυτικής προελεύσεως, παράγωγα της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Μυοσμίνης (Myosmine), Κέντρο: Συντακτικός τύπος της Ρικινίνης (Ricinine) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Τριγονελλίνης (Trigonelline).

### 2.1.10 ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ.

Μια σημαντική συγκεντρωτική πηγή, της συστηματικής περιγραφής των φαρμακολογικών, βιοχημικών και θεραπευτικών δράσεων των διαφόρων παραγώγων του πυρρολικού και πυριδινικού πυρήνα αποτελεί το βιβλίο της Αμερικανικής Χημικής Ενώσεως [Oettingen Von W.F., 1937], το οποίο περιέχει σειρά μονογραφιών, από συναφείς επιστημονικές μελέτες. Ο μικροβιακός βιομετασχηματισμός της πυριδίνης και των παραγώγων της έχει μελετηθεί, [Shukla O.P., 1984].

Η πυριδίνη και η α-πικολίνη δεν αποικοδομούνται μέσω διαφόρων ενδιάμεσων, υδροξυλιωμένων προϊόντων, αλλά μέσω της ηλεκτρικής ή της γλουταρικής ημιαλδεύδης, [Knezevich A., et al, "Pyridine", in Taber's Cyclopedic Medical Dictionary, Ed.: Taber C.W., and Thomas C.L., 18nth Edition, p.2207, F.A. Davis Co., USA, 1997].



**Εικόνα 2.1.30** Τρία επιπλέον χημικά μόρια φυτικής προελεύσεως, παράγωγα της πυριδίνης. Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Αναταβίνης, Κέντρο: Συντακτικός τύπος της Ακτινιδίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Νικοτυρίνης.

Η μικροβιακή βιοαποικοδόμηση της πυριδίνης και α-πικολίνης, από τους μικροοργανισμούς *Pseudomonas* genera και *Nocardia* sp, χώματος αγρών, μελετήθηκε σε πειραματικές καλλιέργειες, από τους [Padoley K., et al, 2009] και η πορεία προτείνεται ως ενεργειακή πηγή άνθρακα. Έχει αναφερθεί η σύνθεση νέων πυριδινικών παραγώγων, με υποκατεστημένο πυριδινικό δακτύλιο και έχει μελετηθεί η ζιζανιοκτόνος δράση αυτών στην Γεωργία, από τους [Gangyue Li, et al, 2006].

Η σύνθεση και η βιολογική δραστηριότητα διαφόρων παραγώγων της πυριδίνης έχουν αναφερθεί από τους [Xiao-Fei Zhu, De-Qing Shi, 2011]. Ο χαρακτηρισμός αυτών έγινε με την λήψη μετρήσεων IR,  $^1\text{H}$  NMR, EI-MS, στοιχειακής ανάλυσης και περιθλάσεως ακτίνων  $-X$  μονοκρυστάλλου. Μερικά εξ' αυτών παρουσιάζουν σημαντική αντιμυκητιακή και αντιπαρασιτική δράση.

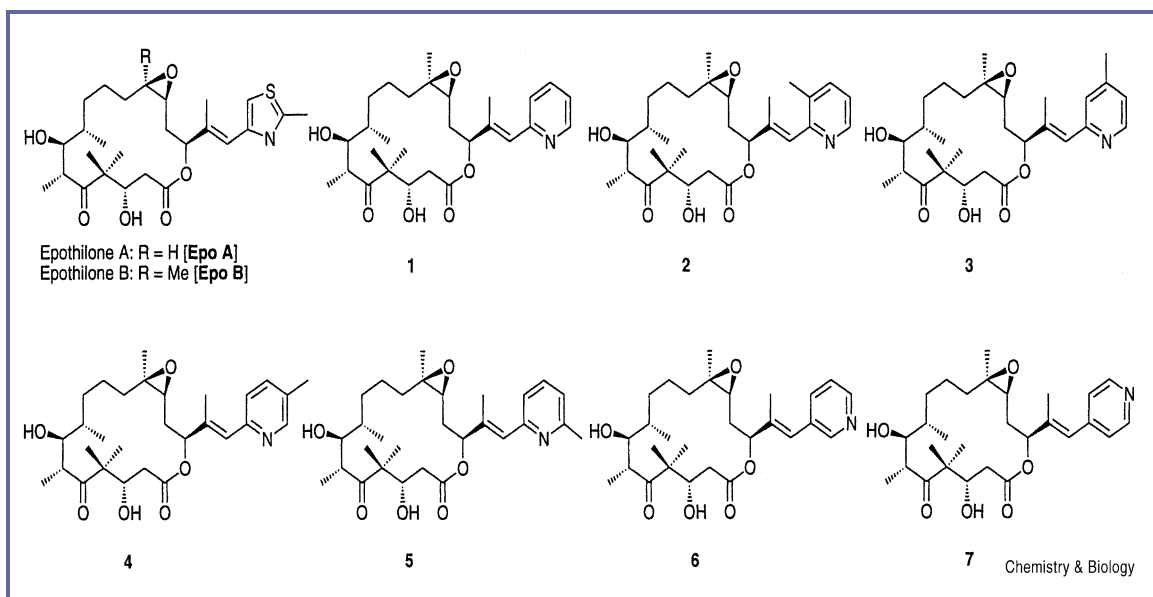
Μια εξαιρετική σε απλότητα και απόδοση μέθοδος, συνθέσεως κυανομεθυλο-παραγώγων των ιμιδαζολο-[1,2-*a*]-πυριδινών αναφέρθηκε από τους [Rajendiran C., et al, 2012], με τη χρήση του χλωρο-μυρμηκικού αιθυλεστέρα, ως αλκυλιωτικού παράγοντα.

Τα σώματα αυτά εμφανίζουν σημαντική αντιβακτηριακή, αντιική, αναλγητική, αντιπυρετική και αντιφλεγμονώδη δράση, σε σχέση με τα πυριδινικά αγχολυτικά και υπνωτικά φάρμακα, του εμπορίου Zolmidine, Zolpidem και Alpidem. Σύμπλοκα του Cu(II), με τροποποιημένες πυριδίνες- πολύ-αμιδο-αμινικά δενδρομερή- έχουν συντεθεί και έχει ερευνηθεί η τύπου-νουκλεάσης δυνατότητα των, στην γέννηση οξο-ενεργών ανιονικών ριζών, από τους, [Kao C.L., et al, 2011].

Διάφορα *trans*-σύμπλοκα του λευκοχρύσου με υδροξυμεθυλο- και καρβοξυλικά-παραγωγα της πυριδίνης έχουν συντεθεί και οι κυτταροτοξικές των ιδιότητες έχουν μελετηθεί *in vitro*, σε διάφορες κυτταρικές γραμμές καρκινικών κυττάρων MCF7, NC1H460 και SF268, απ' τους [Medina R.M., et al, 2008].

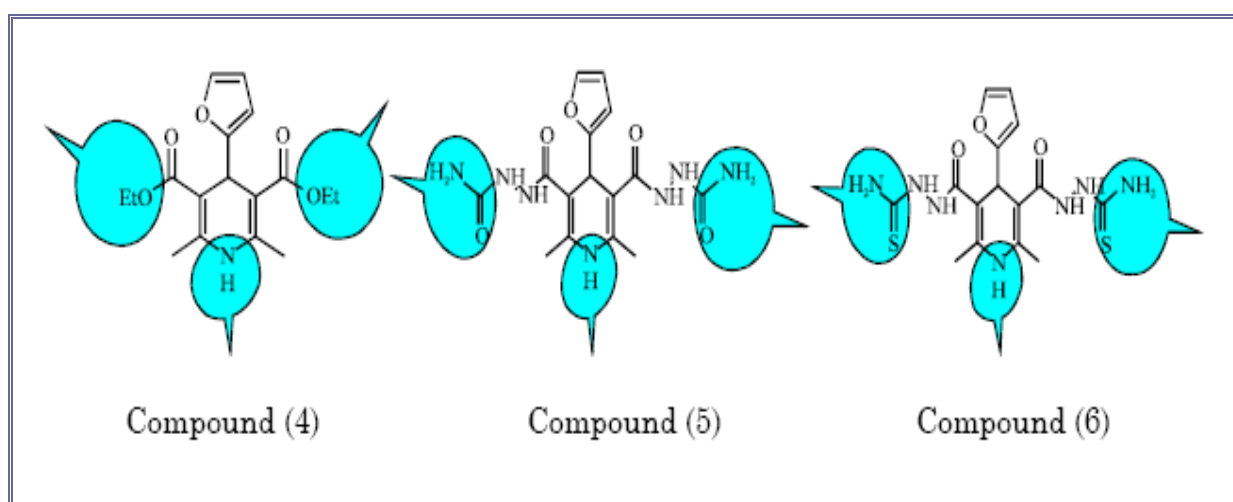
Ένας μεγάλος αριθμός αντικαρκινικών σωμάτων -παραγώγων της πυριδίνης, **οι εποθιλόνες A και B** έχουν συντεθεί, καθώς και η εκλεκτική και δυναμική χημειοθεραπευτική και φαρμακολογική δράση των, ιδιαίτερα σε φαρμακο-ανθεκτικούς όγκους έχει μελετηθεί διεξοδικά από τους [Nicolau K.C., et al, 2000].

Η χημεία και οι φαρμακολογικές ιδιότητες διαφόρων παραγώγων της **πυριдино-3-σουλφονουρίας** έχουν αναφερθεί από τον [Delarge J., 1988].



**Εικόνα 2.1.31. Molecular structures of Epothilones A and Epothilones B, and designed Pyridine Epothilones, B (1-7).**

Εμφανίζουν ανάλογες και ισχυρότερες διουρητικές ιδιότητες του τορασεμιδίου στους επίμους, όπου τόσο ο όγκος, όσο και η ποσότητα των αποβαλλομένων ηλεκτρολυτών αυξάνεται γραμμικά, με τον λογάριθμο της δοσολογίας του φαρμάκου. Η ερευνητική ομάδα των [Liu Mao Chin, et al, 1992 και 1996], του Ογκολογικού Κέντρου, του Πανεπιστημίου Yale, συνέθεσε νέα **αμινο-παράγωγα της πυριδίνης** και μελέτησε τις βιολογικές και αντικαρκινικές δράσεις αυτών. Μια νέα τάξη **ουρεΐδο-παράγωγων** της πυριδίνης έχουν μελετηθεί από τους, [Parras I.S., et al, 1992], για την αντικαρκινική τους δράση σε καλλιέργειες λευκαϊκών κυττάρων ανθρώπου και επίμους *Murinae*.



**Εικόνα 2.1.32. Τα μικτά πολυπυρηνικά, ετεροκυκλικά παράγωγα, συμπυκνώσεως της πυριδίνης και του πυρρολίου, πολυδύναμα φαρμακευτικά σκευάσματα.**

Αναφέρθηκαν τα μικτά πολυπυρηνικά, ετεροκυκλικά παράγωγα, συμπυκνώσεως της πυριδίνης και του πυρρολίου, τα οποία αποδεικνύονται σώματα ισχυρής βιολογικής και

φαρμακολογικής δράσεως. Εμφανίζουν ισχυρή αντιιική, αντικαρκινική και κυτταροτοξική δράση, έναντι συμπαγών όγκων, ανθρώπινου στήθους in vitro.

Επίσης παρουσιάζουν ισχυρή αντιβιοτική, αντιμυκητιακή, αντιυποξική, αντισχαιμική, αντιυπερλιπιδαιμική, αντιμικροβιακή, και αντιφλεγμονώδη δράση, [Idhayadhulla Akbar, et al, "Synthesis of Some New Pyrrole and Pyridine Derivatives and their Antimicrobial, Anticancer Activities", International Journal of Biological Chemistry, 7(1), 15-26, 2013].

Αναφέρθηκε η μελέτη της βιοχημικής και βιοιατρικής ενεργότητας, διαφόρων παραγώγων του πυριδινο-N-οξειδίου, από τους [Balzarini Jan, et al, 2005]. Τα σώματα αυτά εμφανίζουν αποκλειστική προστατευτική δράση κατά της HIV-επαγόμενης καταστροφής των CD4 ανθρωπίνων T-λεμφοκυττάρων, χωρίς τοξικές παρενέργειες.

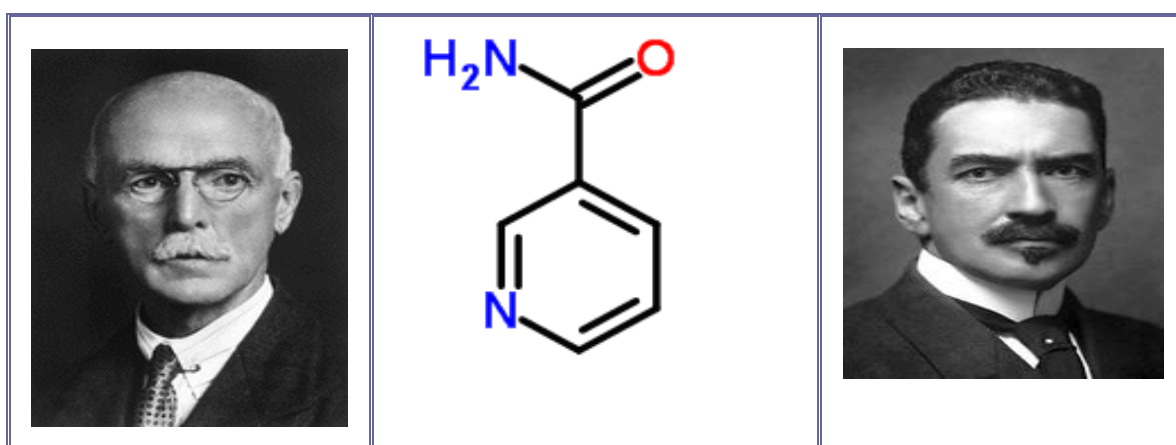
Συγκεντρωτική επιτομή των φαρμακευτικών ιδιοτήτων, των διαφόρων παραγώγων της πυριδίνης αποτελεί το άρθρο ανασκοπήσεως, "Τα Παράγωγα της Πυριδίνης, στο Φαρμακευτικό Οπλοστάσιο, με την Ευκαιρία των 150 Χρόνων, της Χημείας της Πυριδίνης", [Lukevits É., 1995], καθώς και η εργασία των [Leslie G.B., et al, 1935].

## 2.2-NICOTINAMIDE ή VITAMIN PP ή ΒΙΤΑΜΙΝΗ Β3 ή NICOTINIC ACID AMIDE ή 3-PYRIDINE-CARBOXAMIDE ή ΝΙΑCΙΝΑΜΙΔΕ ή NICOTINAMIDE, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sup>'</sup>

### 2.2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ-ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Το Νικοτινικό οξύ (νιασίνη) ανήκει στις υδατοδιαλυτές βιταμίνες Β3. Το αμίδιο του νικοτινικού οξέος (νικοτιναμίδιο, νιασιναμίδιο) εμφανίζει παρόμοια βιταμινική δράση. Το όνομα "Νιασίνη" επιλέχθηκε, προκειμένου να αποφευχθεί η συνειρμική διασύνδεση της βιταμίνης Β3 με το κάπνισμα, που οφειλόταν στη χρήση του όρου "νικοτινικό οξύ".

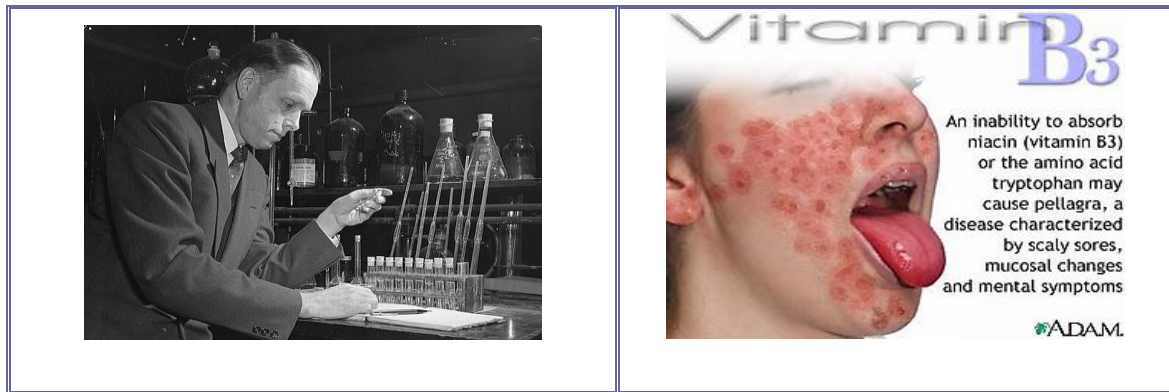
Η Νιασίνη ονομάστηκε ως βιταμίνη Β<sub>3</sub>, επειδή ήταν η τρίτη από τις βιταμίνες του συμπλέγματος Β, στη σειρά της ιστορικής τους ανακάλυψης. Περιγράφηκε για πρώτη φορά από το χημικό Hugo Weidel το 1873 στις μελέτες του για τη νικοτίνη, [Weidel H., 1873]. Η συνθετική πορεία που πρότεινε εξακολουθεί να είναι χρήσιμη: Η οξειδωση της νικοτίνης με την χρήση νιτρικού οξέος, [McElvain Samuel M., 1941].



Εικονα 2.2.1. Αριστερά: Ο Βρεττανός Sir Arthur Harden (1865-1940), Μέση: το Νικοτιναμίδιο και Δεξιά: ο Hans von Euler-Chelpin.

Ο Βρεττανός Sir Arthur Harden (1865-1940) είναι ο πρώτος που απομόνωσε και περιέγραψε την Nicotinamide Adenine Dinucleotide [NAD<sup>+</sup>], το συνένζυμο I ή συνδευδράση I με μοριακό τύπο [C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>O<sub>14</sub>P<sub>2</sub>], που εμπλέκεται σε πολλές κυτταρικές αντιδράσεις οξειδο-αναγωγής. Του απονεμήθηκε το Βραβείο Νόμπελ 1929-από κοινού με τον Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin (1873-1964), για τις εργασίες του στις ζυμώσεις των σακχάρων, στα ένζυμα και στους συμπαραγόντες των ενζύμων αυτών, καθώς και στα μόρια του νικοτινικού οξέος και του νικοτιναμιδίου, [Harden A., and Young W.J., 1906], [von Euler Hans, et al, 1936]. Το νικοτινικό οξύ και το νικοτιναμίδιο αποτελούν δομικά συστατικά του Νικοτιναμιδο-Αδενινο-Δινουκλεοτιδίου (NAD<sup>+</sup>/NADH), που αποτελεί συνένζυμο στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων, μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Αποτελούν επίσης δομικά συστατικά του φωσφορικού νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (NADP/NADPH<sub>2</sub>), το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο, ως συνένζυμο μεταφοράς υδρογόνου. **Το νικοτινικό οξύ μπορεί να συντεθεί στο συκώτι από το αμινοξύ τρυπτοφάνη.** Ωστόσο το παραγόμενο με αυτή την οδό νικοτινικό οξύ ποσοτικά δεν επαρκεί. Η νιασίνη απομονώθηκε κατά πρώτον από πίτουρο ρυζιού το 1911. Το νικοτιναμίδιο απομονώθηκε αργότερα το

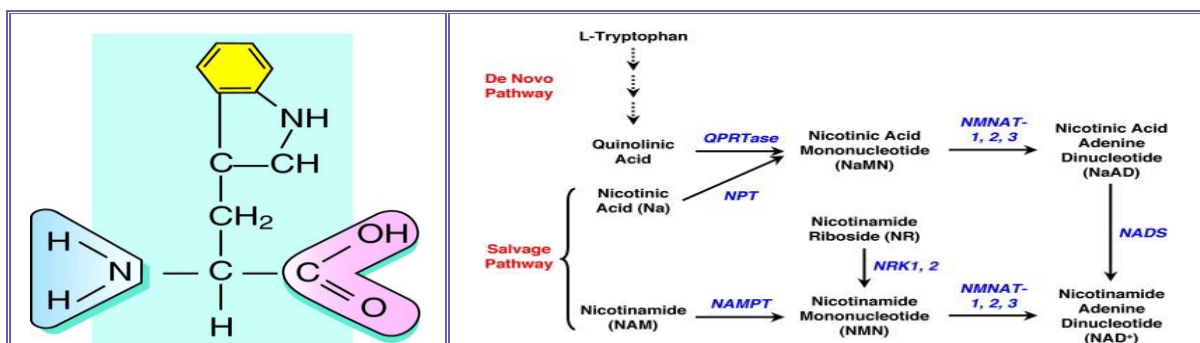
1934 από Warburg και Christian, όταν το συνένζυμο II (NADP) εκχυλίσθηκε από τα ερυθροκύτταρα ίππων, [Warburg O., and Christian W., 1934].



**Εικόνα 2.2.2.** Αριστερά: Ο Αμερικανός Βιοχημικός Conrad Arnold Elvehjem, πρώτος απομόνωσε τον αντιπελλαγρικό παράγοντα και Δεξιά: Χαρακτηριστική εμφάνιση ανθρώπου, που πάσχει από την ασθένεια Pellagra (Pellagra: Niacin, B3 Deficiency).

Η νιασίνη και το νιασιναμίδιο απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν, ύστερα από εκχύλιση τεμαχίων ήπατος ίππων, από τον βιοχημικό Conrad Arnold Elvehjem το 1937, ο οποίος αργότερα προσδιόρισε το δραστικό συστατικό, στη συνέχεια αναφέρεται ως "**Αντιπελλαγρικός παράγων**" (antipellagra-agent) ή ως "αντιμελανογλωσσικός παράγων" (antiblack-tongue -agent) ή και ως βιταμίνη PP, [Elvehjem C.A., et al, 1938].

Λίγο μετά, σε μελέτες που διεξήχθησαν σε Αλαμπάμα και Cincinnati, ο Δρ Tom Spies διαπίστωσε ότι το νικοτινικό οξύ ήταν ισχυρό φάρμακο, στη θεραπεία της πελλάγρας, [Spies T.D., et al, 1938].



**ΕΙΚΟΝΑ 2.2,3.** Αριστερά: Ο συντακτικός τύπος του αμινοξέος Θρυπτοφάνη (L-tryptophan) και Δεξιά: οι δύο βιοσυνθετικές και πολυσταδιακές πορείες συνθέσεως, τόσο του Νικοτιναμίδιου, όσο και της [NAD<sup>+</sup>] στα θηλαστικά, από την Θρυπτοφάνη. Διακρίνονται οι δύο κύριες σύνθετες, βιοχημικές πορείες: Η de novo πορεία (de novo pathway) και η πορεία διάσωσης (salvage pathway).

Ο Carpenter διαπίστωσε το 1951 ότι η νιασίνη στο καλαμπόκι είναι βιολογικά διαθέσιμο και μπορεί να αποδεσμευθεί μόνο σε αλκαλικό γάλα ασβέστου, με pH=11. Η διαδικασία αυτή, γνωστή ως **Nixtamalization** είχε χρησιμοποιηθεί από τους προϊστορικούς πολιτισμούς της Κεντρικής Αμερικής, [Carpenter K.J., and Laguna J., 1951]. Πρόσφατη δημοσίευση αναφορικά με την βιταμινική δράση των μελών της ομάδος B3, πάνω σε λιπιδικές και μη λιπιδικές βιολογικές παραμέτρους, αποτελεί το άρθρο ανασκοπήσεως, [Sanjal S., et al, 2007].

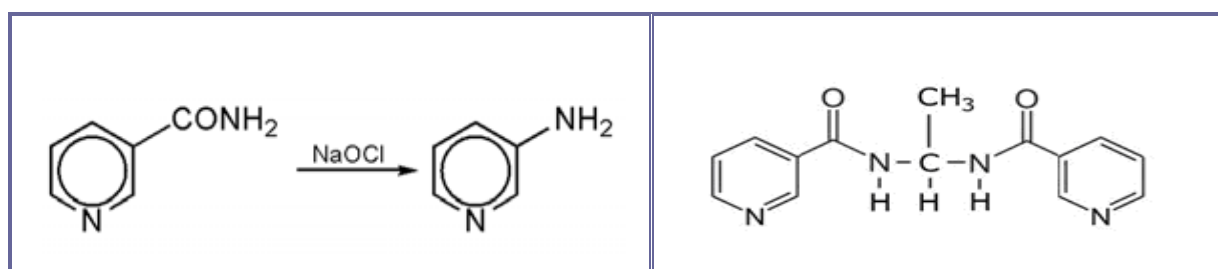
Οι λειτουργίες, τόσο του νικοτινικού οξέος, όσο και του νικοτιναμιδίου είναι, συναγωνιστικές, αλληλοεπικαλυπτόμενες και συμπληρωματικές στον έμβιο κόσμο, φυτών και ζώων, σε τέτοιο τρόπο και βαθμό, που θα μπορούσαμε να τις χαρακτηρίσουμε ανεπιφύλαχτα, ως "βίους παράλληλους". Απ'την άλλη μεριά η ευρύτατη συμμετοχή τους σε βιοσυνθετικές πορείες αναβολισμού και καταβολισμού, σε βιοχημικές και βιοϊατρικές διαδικασίες, σε ενζυματικές αντιδράσεις και σε απειράριθμες βιολογικές παρεμβάσεις, σχεδόν σε όλα τα όργανα του ανθρώπινου ιδίως οργανισμού, τόσο σε προληπτική, όσο και σε θεραπευτική αποστολή, τους δίνουν το σπάνιο δικαίωμα να θεωρηθούν, ως πολυδύναμοι παράγοντες επούλωσης και πολυδραστικές ενώσεις "κλειδιά-passe-par tout", στον έμβιο οργανισμό των θηλαστικών, κάτι που επίσης δικαιούται και άλλη βιταμίνη-C, το ασκορβικό οξύ.

Η μεγαλειώδης χημεία και βιοχημεία των δύο αυτών βιταμινικών σωμάτων, καθώς και των παραγώγων βιολογικών σωμάτων [NAM], [NADH] και [NAD<sup>+</sup>], [NADPH] και [NADP<sup>+</sup>], είναι τόσο άρρηκτα συνδεδεμένη και αλληλο-επικαλυπτόμενη, ώστε να καθίσταται σχεδόν αδύνατος ο μεταξύ τους διαχωρισμός και η κατ' ιδίαν μεμονωμένη μελέτη αυτών, σε ανεξάρτητα εδάφια, [Karrer P., und Keller H., 1939].

### 2.2.2 ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Το **Νικοτιναμίδιο ή Nicobion** [CAS 98-92-0], [C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O], έχει M.B.=122,12 και Σ.Τ.=128-131°C. Ανακρυσταλλώνεται από βενζόλιο σε άχρωμες, άοσμες και άγευστες, κρυσταλλικές βελόνες και αποστάζει στους 150-160°C υπό κενό 5x10<sup>-4</sup>mmHg. Έχει pK=3,3 (20°C) και μέγιστο απορροφήσεως, λ<sub>max</sub>(UV)=261nm. Έχει τάση ατμών=4,20x10<sup>-04</sup> mmHg (25°C) και σταθερά Henry's Law=2,90x10<sup>-12</sup> atm-m<sup>3</sup>/mole (25°C). Ο συντελεστής κατανομής στο σύστημα οκτανόλης/ύδατος είναι -0,37. Είναι ευδιάλυτο στο ύδωρ και 1gr αυτού διαλυτοποιείται σε 1ml H<sub>2</sub>O, σε 1,5ml EtOH και σε 10ml γλυκερίνης, σε 25°C. Είναι ελαφρώς διαλυτό στο χλωροφόρμιο και σχεδόν αδιάλυτο στον αιθέρα και την ακετόνη. Υδατικό διάλυμα 10% w/v εμφανίζει ουδέτερη αντίδραση. Για την διατήρηση επί μακρόν συνιστάται βαθεία ψύξη -70°C, η οποία του εξασφαλίζει σταθερότητα ενός έτους περίπου. Η κρίσιμη δόση στους επίμυες είναι LD<sub>50</sub>=1,68gr/Kgr. Σχηματίζει κρυσταλλικά άλατα με τα διάφορα οξέα.

**Αντιμετάθεση Hofmann.** Το νικοτιναμίδιο, καθώς και το ισο-νικοτιναμίδιο υφίστανται ευκόλως την αντιμετάθεση Hofmann, παρέχοντας την 3- και την 4-αμινοπυριδίνη αντιστοίχως, πράγμα που αποτελεί μία θεμελιακή πορεία παρασκευής των αμινών αυτών.



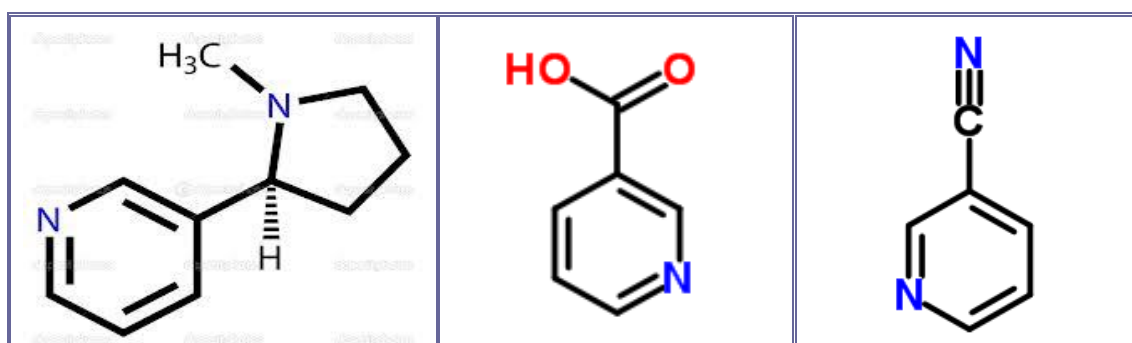
Εικόνα 2.2.4 Αριστερά: Η Αντιμετάθεση Hofmann, προς την 3-Αμινοπυριδίνη και Δεξιά: Το Μόριο του Αιθυλιδενό-N,N'-Δινικοτιναμιδίου.

Οι σταθερές σχηματισμού των **συμπλόκων ενώσεων κατιόντος υδρογόνου-νικοτιναμιδίου**, με πρωτονικούς διαλύτες ύδατος και αιθανόλης, σε μικτά διαλύματα ύδατος-αιθανόλης και ύδατος-διμεθυλοσουλφοξειδίου προσδιορίστηκαν με τη χρήση <sup>13</sup>C-NMR πειραματικών δεδομένων. Υπολογίσθηκε η ελεύθερη ενέργεια Gibbs της επιδιαλύτωσης του ατόμου-δότη (N), δηλαδή του αρωματικού ετεροατόμου του αζώτου. Διαπιστώθηκε ότι η ενέργεια Gibbs, της συνολικής επιδιαλύτωσης του μορίου του νικοτιναμιδίου είναι αντίστροφη (antibate), της ενέργειας Gibbs της επιδιαλύτωσης του πυριδινικού αζώτου. Η κατάσταση επιδιαλύτωσης (solvation), αυτού του μοριακού θραύσματος θα πρέπει να συνεκτιμάται, όταν αναλύεται η συνεισφορά των διαφόρων αντιδραστηρίων, στην θερμοδυναμική της συμπλοκοποίησης αυτής, [Sharnin V.A., et al, 2013].

### 2.2.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ

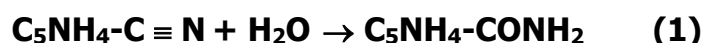
Έχουν αναπτυχθεί κατά καιρούς διάφοροι εργαστηριακές και βιομηχανικές μέθοδοι συνθέσεως του νικοτιναμιδίου, [Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6th Edition, 2003].

**1)-** Το νικοτιναμίδιο συνήθως παράγεται μέσω της εστεροποίησης του νικοτινικού οξέος με την μεθανόλη και την εν συνεχεία αμμωνιόλυση του ενδιάμεσου προϊόντος, [Osol A., et al, 1975].



Εικόνα 2.2.5 Η Νικοτίνη το Νικοτινικό Οξύ και η 3-Κυανοπυριδίνη.

**2)-** Σύνθεση μέσω της μερικής υδρόλυσης της 3-κυανοπυριδίνης, [Gasson E.J. and Hadley D.J., US 2904552, 1959].



**3)-** Εναλλακτικά παρασκευάζεται διά διαβίβασης αερίου αμμωνίας, μέσω τήγματος νικοτινικού οξέος (amidation of nicotinic acid), [Truchan A., Davidson J.B., US 2993051, to Cowles Chemical Co., 1961].

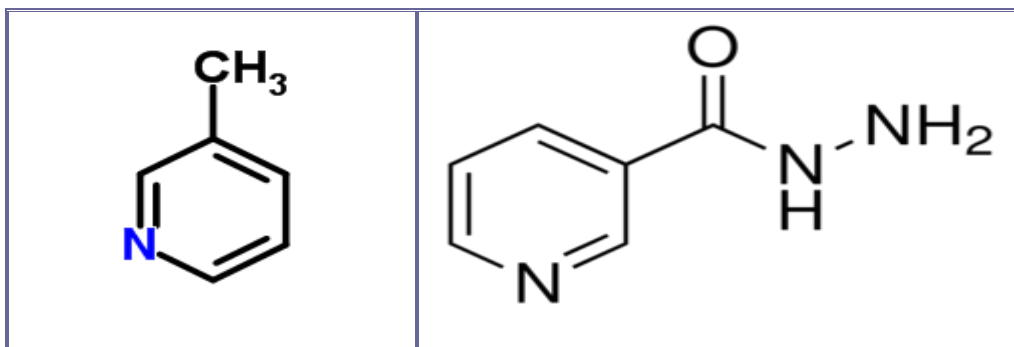
**4)-** Αναπτύχθηκε μία καταλυτική βιομηχανική μέθοδος συνθέσεως νικοτιναμιδίου, από πρώτη ύλη 2-μεθυλο-1,5-διαμινοπεντάνιο. Η αλειφατική αυτή διαμίνη μετατρέπεται κατ'άρχάς σε 3-πικολίνη, σύμφωνα με την αντίδραση,





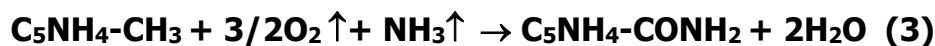
Ο αντιδραστήρας εφοδιάζεται με 4g μικτό καταλύτη 1% σε Pd/Al και 3g H-ZSM-5 54,5% πεντασίλιο (pentasil) και 45,5% υλικό στηρίξεως. Η αντίδραση διεξάγεται σε θερμοκρασία 305°C και πίεση 5 bar. Με μία ροή μάζας 0,6 g/h λαμβάνονται προϊόν 2,9% σε παραπροϊόν μεθυλο-πιπεραδίνη και 97,1% σε 3-πικολίνη. Η 3-πικολίνη στη συνέχεια, μέσω αμμωνιο-οξειδωτικής διαδικασίας, μετατρέπεται σε 3-κυανο-πυριδίνη, η οποία περαιτέρω μετασχηματίζεται μικροβιακά σε νικοτιναμίδιο, σε ποσοτικές αποδόσεις, [Armbruster Erich, et al, 1998].

**5)-** Η βιομηχανική παραγωγή του νικοτινικού οξέος και του νικοτιναμιδίου βασίζονται στις πρώτες ύλες: 5-αιθυλο-2-μεθυλο-πυριδίνη και στην: 3-μεθυλο-πυριδίνη (3-πικολίνη),

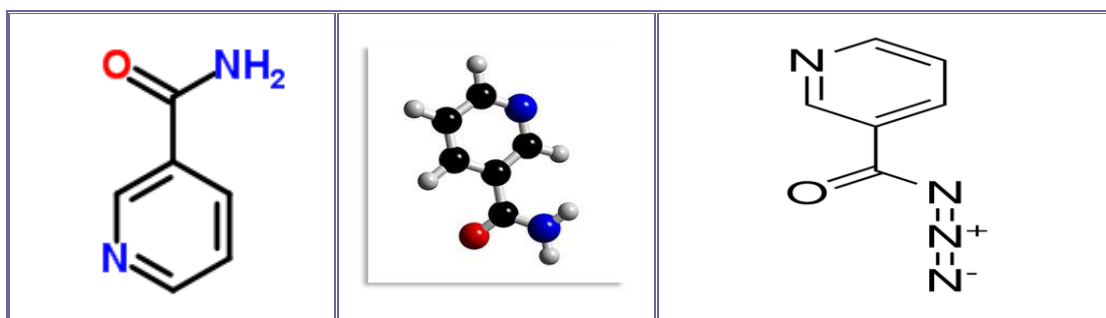


Εικόνα 2.2.6 Αριστερά: Συντακτικός τύπος της 3-Πικολίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Νικοτινικού Υδραζιδίου (Nicotinic acid hydrazide).

αντιστοίχως. Η αμμωνιο-οξείδωση των αντιδρώντων επιτυγχάνεται στην αέρια φάση, με την χρήση ετερογενών καταλυτών, σύμφωνα με την αντίδραση:



Τα οξειδία του αντιμονίου, του βαναδίου, του τιτανίου και του ουρανίου έχουν εξαιρετικώς υψηλή δραστηριότητα. Με έναν τέτοιο μικτό καταλύτη, με θερμοκρασία αντιδραστήρος 360°C και με μοριακή αναλογία μίγματος αντιδρώντων, 3-methylpyridine/ NH<sub>3</sub>/ air/ water vapour=1/6/30/6, λαμβάνεται νικοτινο-νιτρίλιο σε απόδοση 93%.

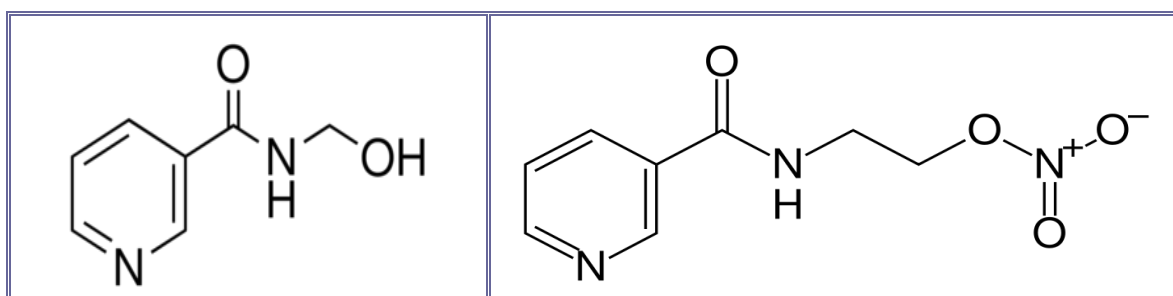


Εικόνα 2.2.7 Αριστερά: Συντακτικός τύπος του 3-Νικοτιναμιδίου, Κέντρο: Στερεοχημικός τύπος αυτού και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Νικοτινουλο-αζιδίου (3-Pyridine-carbonylazide).

Το νιτρίλιο στη συνέχεια υδρολύεται σε νικοτιναμίδιο, [Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Edition, 1980]. Αρκετά εκατομμύρια κιλά της νιασίνης παρασκευάζονται κάθε χρόνο, με πρώτη ύλη την 3-μεθυλοπυριδίνη.

## 2.2.4 ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΑΛΑΤΑ ΤΟΥ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ

Το μοριακό άλας **Νικοσκορβίνη**, ασκορβικό νικοτιναμίδιο,  $[C_{12}H_{14}N_2O_7]$ , [1987-71-9] του νικοτιναμιδίου με ασκορβικό οξύ, είναι κίτρινοι κρύσταλλοι, με  $M.B=298,26$ ,  $\Sigma.T=141-145^{\circ}C$ ,  $[\alpha]_D^{20}=+27,5$   $c=8$ . Υδατικό του διάλυμα 5% έχει  $pH\sim 4$ . Στους  $20^{\circ}C$  είναι ευδιάλυτο στο ύδωρ (40%), στα υδρομεθανολικά (10%) και στα υδροαιθανολικά (2,4%) διαλύματα, ενώ είναι δυσδιάλυτο στην ακετόνη και πρακτικώς αδιάλυτο, στο βενζόλιο και τον διαιθυλαιθέρα. Χρησιμοποιείται ως αντιακνεϊκός παράγων. Πολλές μελέτες έχουν αναφερθεί σχετικά με την δυνατότητα διαφόρων οργανισμών να χρησιμοποιούν ενώσεις παρεμφερείς προς το νικοτιναμίδιο, ως υποκατάστατο της βιταμίνης αυτής, όπως *Staphylococcus Aureus*, η ομάδα *Proteus Group*, ο *Lactobacillus Arabinoms* και ο *Leuconostoc*. Σ'αυτή την εργασία ανασκοπήσεως μελετήθηκε η βιο-διαθεσιμότητα των **N-υποκατεστημένων νικοτιναμιδίων**, καθώς και του θειο-νικοτιναμιδίου έναντι του *L. Arabinosus*, σε επίμυες και πουλερικά. Αυτά τα νικοτιναμιδικά παράγωγα έχουν μελετηθεί επίσης, ως προς την δράση τους στην χημειοθεραπεία της φυματιώσεως επίμυων, [Cots Lucille and Oleson J.J., 1951]. Συντέθηκαν οι **μικτές ενώσεις εντάξεως του Co(II), α)-** με το νικοτιναμίδιο (L) και **β)-** με το φθαλικό οξύ και χαρακτηρίστηκαν με την χρήση φασματοσκοπίας IR, αγωγιμομετρίας και θερμοσταθμικής αναλύσεως. Επιλύθηκε επίσης η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου, με την χρήση περιθλασιμέτρου ακτίνων-Χ και ο γενικός τύπος της νέας ενώσεως είναι  $[CoL_2(H_2O)_4][C_6H_4(COO)_2] \cdot 2H_2O$ . Οι κρύσταλλοι του συμπλόκου ανήκουν στο μονοκλινές σύστημα, με σταθερές κυψελίδας  $a=15,630(2)\text{\AA}$ ,  $b=7,550(2)\text{\AA}$ ,  $c=21,035(4)\text{\AA}$ ,  $\beta=100,90(5)^{\circ}$ ,  $V=2437,4(4)\text{\AA}^3$ ,  $Z=4$ , Space group  $C2/c$ . Οι δομικές μονάδες του συμπλόκου είναι **α)-** κεντροσυμμετρικά κατιόντα  $[CoL_2(H_2O)_4]^{2+}$ , **β)-** ανιόντα  $[C_6H_4(COO)_2]^{2-}$ , επί του άξονα 2 και **γ)-** κρυσταλλικά ύδατα. Τα κατιονικά σύμπλοκα διευθετούνται σε στιβάδες, εναλλασσόμενες με στιβάδες, που περιέχουν φθαλικά ανιόντα και ελεύθερα μόρια ύδατος. Αποτελεί μία κλασική περίπτωση αλληλεπιδράσεων π-π-συσσώρευσης, οι οποίες οδηγούν στον σχηματισμό διαστρωματωμένων υπερμοριακών διευθετήσεων, [Antsyshkina A.S., et al, 2009].



Εικόνα 2.2.8 Αριστερά: Συντακτικός τύπος του N-(Hydroxymethyl)-nicotinamide και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Φαρμακευτικού Σκευάσματος κατά της Στηθάγχης, Nicorandil.

Απομονώθηκαν τρία μικτά **μονο-υπεροξυδο-βαναδικά σύμπλοκα του V(V)**, με διπικολινικό οξύ, με πικολιναμίδιο, με νικοτιναμίδιο και 1,10-φαινανθρολίνη, μετά την αντίδραση τους με  $V_2O_5$  και  $H_2O_2$ , εντός μικτού διαλύτη ύδατος και μεθυλονιτριλίου ( $CH_3CN$ ). Τα νέα σύμπλοκα  $[VO(O_2) \cdot (dipic) \cdot (H_2O)] \cdot [(Hpa) \cdot (H_2O)]$ ,  $[VO(O_2) \cdot (dipic) \cdot (H_2O)] \cdot [(Hnica)]$  και  $[VO(O_2) \cdot (dipic) \cdot (H_2O)] \cdot [(Hphen) \cdot (H_2O)]$ , μελετήθηκαν με ακτίνες-Χ και με τεχνική  $^{51}V$  NMR. Τα οργανικά αντισταθμιστικά μόρια είναι πρωτονιωμένα, πάνω στο

αρωματικό άζωτο του πυρήνα και συγκρατούνται με ηλεκτροστατικές δυνάμεις φορτίου, σε δομές υπερμοριακής αρχιτεκτονικής, στις οποίες επικρατούν anion-π, lone pair-π, και π-π αλληλεπιδράσεις, καθώς και ισχυροί δεσμοί υδρογόνου, [Gyepes Róbert, et al, 2013]. Παρασκευάστηκαν τα σύμπλοκα άλατα του ψευδαργύρου, Zn(II), του γενικού τύπου **[(ZnL<sub>2</sub>X<sub>2</sub>)]**, (**L=Αντιπυρίνη, Νικοτιναμίδιο, X=Cl, Br**) κατόπιν αντιδράσεως των αλογονο-βουτυρικών αλάτων του Zn(II) αφ' ενός και των οργανικών υποκαταστατών αφ' ετέρου. Οι νέες ενώσεις χαρακτηρίστηκαν με θερμοαναλυτικές και φασματοσκοπικές μεθόδους. Η κρυσταλλική και μοριακή δομή των συμπλόκων επιλύθηκε με ανάλυση περίθλασης ακτίνων-Χ. Οι δομές αυτές αποτελούνται από διακριτά μοριακά συμπλέγματα, στα οποία κάθε άτομο Zn(II) περιβάλλεται τετραεδρικώς από δύο άτομα οξυγόνου ή αζώτου και δύο αρνητικώς φορτισμένα άτομα αλογόνου, (X=Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>). Οι αποστάσεις Zn-O (1,973Å) και (1,974Å), καθώς και οι αποστάσεις Zn-Br (2,360Å) και (2,361Å) αντιστοίχως, δεν έχουν σημαντική διαφοροποίηση, [Zeľeňák Vladimír, Main Group Metal Chemistry, 22(3), 179-184, ibid. 18(4), 211-216, 2011]. Συντέθηκε ένα νέο σύμπλοκο άλας του **Νικοτιναμιδίου με Fe(II)**, ύστερα από αντίδραση κατιόντων δισθενούς θειικού σιδήρου, με το νικοτιναμίδιο, σε υδατικό περιβάλλον. Το σύμπλοκο χαρακτηρίστηκε και ταυτοποιήθηκε με στοιχειακή ανάλυση, κυκλική βολταμετρία, φασματοσκοπία FT-IR και UV-VIS και η δομή του επιλύθηκε με ανάλυση ακτίνων-Χ. Η μοριακή σύσταση του νέου συμπλόκου αποτελείται από δύο σύμπλοκα ιοντικά συγκροτήματα του Fe(II), ένα κατιονικό και ένα ανιονικό, του τύπου {[Fe(nicotinamide)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>]<sup>+</sup>[Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>-</sup>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O}. Κρυσταλλώνεται στην P21/c ομάδα σημείου, του μονοκλινούς συστήματος, με παραμέτρους a=12,862(3), b=7,110(3), c=16,382(3)Å και β=95,79(2)°. Το νικοτιναμίδιο συμπλέκεται με το ετεροκυκλικό -N, απ' ευθείας, πάνω στο άτομο του σιδήρου, [Çakir Semiha, et al, 2006]. Συντέθηκε ένα μικτό σύμπλοκο άλας του Cu(II), α)-με το νικοτιναμίδιο και β)-με την δικετόνη: 3-βενζυλο-πεντανιο-2,4-διόνη, μοριακού τύπου [Cu(C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>·(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O)], **Bis -(3-Benzylpentane -2,4-Dionato) -Nicotinamide-Copper (II)**, με το κατιόν του Cu(II) εντεταγμένο, σε ένα περιβάλλον τετραγωνικής πυραμίδος. Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται το χηλικό σύμπλοκο [Cu(C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>], το οποίο είναι άκορεστο, από πλευράς εντάξεως και ως εκ τούτου μπορεί να δεχθεί έναν μονοσχιδή υποκαταστάτη προσθήκης, στην κορυφή της τετραγωνικής πυραμίδος, όπως το νικοτιναμίδιο. Τα μόρια της συμπλόκου ενώσεως αυτό-οργανώνονται στην στερεά φάση, μέσω ασθενών αλληλεπιδράσεων, δεσμών υδρογόνου, του τύπου αμιδίου-σε-αμίδιο, για να σχηματίσουν μονοδιάστατες πολυμερικές διαμορφώσεις. Διαφορετικοί υποκαταστάτες προσθήκης θα οδηγήσουν σε διαφορετικές αρχιτεκτονικές διαμορφώσεις της στερεάς φάσεως, [Judas Nenad and Kaitner Branko, 2006].

Συντέθηκαν τα **Tetraqua-di-(Nicotinamide)-M(II)-Saccharinates** σύμπλοκα τριών M= Co(II), Ni(II) and Zn(II) μεταλλικών κατιόντων, με υποκαταστάτη το nic=νικοτιναμίδιο και τα sac= σακχαρινικά ανιόντα, ως αντισταθμιστικά ανιόντα, του γενικού συντακτικού τύπου [M(nic)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>](sac)<sub>2</sub>. Η κρυσταλλική δομή των συμπλόκων επιλύθηκε με ανάλυση ακτίνων-Χ, σε μονοκρυστάλλους αυτών. Τα σύμπλοκα κρυσταλλώνονται στο τρικλινές σύστημα (P-1), με Z=1 και το μεταλλοκατιόν M(II) να εντάσσεται σε ένα ελαφρώς παραμορφωμένο MN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> οκταεδρικό περιβάλλον, με τέσσερα μόρια ύδατος ισημερινώς

εντεταγμένα και δύο νικοτιναμιδικά μόρια, εντεταγμένα αξονικά, με δεσμούς μετάλλου-πυριδινικού αζώτου (M-N). Τα σακχαρινικά ανιόντα αντισταθμίζουν απλώς τα θετικά φορτία και δεν συμμετέχουν στην εσωτερική σφαίρα κρυσταλλώσεως Werner. Έγιναν συσχετισμοί με συναφείς δομές της βιβλιογραφίας και σχολιάσθηκαν τα κύρια χαρακτηριστικά των φασμάτων IR, [Castellano Eduardo E., et al, 2002].

### 2.2.5 ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΟΥ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ NAD

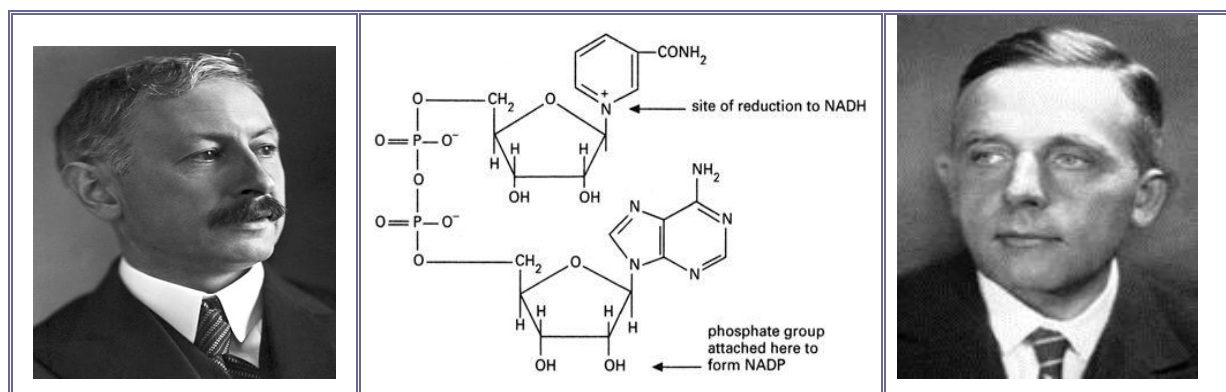
Το συνένζυμο NAD<sup>+</sup> ανακαλύφθηκε κατά πρώτον από τους Βρετανούς βιοχημικούς Arthur Harden and William John Young, το έτος 1906, [Harden A., and Young W.J., 1906] και [von Euler Hans, 1922]. Παρατήρησαν ότι μετά από ζέση και διήθηση της μαγιάς, τα εκχυλίσματα της επιτάχυναν δραματικά την αλκοολική ζύμωση, σε μη βρασθέντα εκχυλίσματα της μαγιάς αυτής. Την άγνωστη ουσία, υπεύθυνη για το φαινόμενο αυτό, απεκάλεσαν συν-ζυμωτικό παράγοντα. Μετά από κοπιώδεις και μακροχρόνιους καθαρισμούς των εκχυλισμάτων της μαγιάς ταυτοποιήθηκε, αυτός ο θερμο-ανθεκτικός παράγων, ως ένα νουκλεοτίδιο φωσφορικού σακχάρου, από τον by Hans von Euler-Chelpin, ["Fermentation of Sugars and Fermentative Enzymes", **Nobel Lecture**, Nobel Foundation, 1930] και [Euler Hans von, et al, 1939]. Το έτος 1936 ο Γερμανός επιστήμων Otto Heinrich Warburg κατέδειξε την λειτουργία του νουκλεοτιδικού συνενζύμου στην μεταφορά του υδριδίου και ταυτοποίησε την συμμετοχή του νικοτιναμιδίου στις αντιδράσεις redox, [Warburg O., and Christian W., 1936]. Το ήπαρ ως πηγή νικοτιναμιδίου ανακαλύφθηκε το 1938, όταν ο Conrad Elvehjem, απομόνωσε, από δείγματα του καθαρή την νιασίνη και απέδειξε ότι η βιταμίνη αυτή συμπεριλαμβάνει ταυτόχρονα νικοτινικό οξύ και νικοτιναμίδιο, [Elvehjem C.A., et al, 1938] και [Elvehjem C.A., et al, "Relation of Nicotinic Acid and Nicotinic Acid Amide to Canine Black Tongue", 1937]. Το 1939 ο ίδιος παρουσίασε την πρώτη ισχυρή ένδειξη ότι η νιασίνη χρησιμοποιήθηκε για την σύνθεση της NAD<sup>+</sup>, [Axelrod A.E., et al, 1939].

Στις αρχές του 1940 ο Arthur Kornberg είχε σημαντική συνεισφορά στην κατανόηση του μεταβολισμού του NAD<sup>+</sup>, όταν πρώτος διαπίστωσε την συμμετοχή των ανοργάνων πυροφωσφορικών ιόντων, στην αντιστρεπτή ενζυματική, βιοσυνθετική πορεία συνθέσεως του δι-φωσφορο-πυριδινικού-νουκλεοτιδίου, [Kornberg A., 1948]. Το έτος 1949 οι Αμερικανοί βιοχημικοί Morris Friedkin και Albert L. Lehninger απέδειξαν την διαμεσολάβηση της NADH, σε διάφορες μεταβολικές οδούς, όπως η συνύφανση του κύκλου του κιτρικού οξέος, με την σύνθεση του ATP, στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, [Friedkin M., 1949]. Το 1959 οι Jack Preiss και Philip Handler ανακάλυψαν τα ενδιάμεσα και τα ένζυμα, που συμμετέχουν στην βιοσύνθεση του [NAD<sup>+</sup>], στην de novo σύνθεσή του, η οποία ονομάστηκε πορεία Preiss-Handler, [Preiss J., and Handler P., 1958]. Οι μη οξειδο-αναγωγικές δράσεις της NAD(P) ανακαλύφθηκαν πρόσφατα, όπως η χρήση της [NAD<sup>+</sup>], ως δότης της ADP-ριβόζης, στις αντιδράσεις ADP-ριβοζιλίωσης και οι δράσεις των NAD<sup>+</sup> and NADP<sup>+</sup> μεταβολιτών στην σήμανση των κυττάρων, [Pollak N., et al, 2007]. Ο μεταβολισμός της [NAD<sup>+</sup>] είναι μία επιστημονική περιοχή, με ολοένα αυξανόμενο ερευνητικό ενδιαφέρον, τον τρέχοντα αιώνα, μετά την ανακάλυψη των NAD<sup>+</sup>-εξαρτώμενων από-

ακετυλασών, καλουμένων και σιρτουινών (Sirtuins), από τον Shinichiro Imai στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας της Μασσαχουσέττης των ΗΠΑ, [Imai S., et al, 2000].

### 2.2.6 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ

Αναφέρθηκε ότι το νικοτιναμίδιο αποτελεί έναν εξαιρετικό **προστατευτικό παράγοντα κατά της ανοσοκαταστολής**, της προκαλούμενης υπό της βλαβερής υπερϊώδους ηλιακής ακτινοβολίας και η οποία πολύ συχνά οδηγεί σε επικίνδυνες δερματικές καρκινογενέσεις. Τα περισσότερα εμπορικά αντηλιακά προστατευτικά σκευάσματα, που κυκλοφορούν αδυνατούν να λειτουργήσουν αποτρεπτικά και να προλάβουν τέτοιες δυσμενείς εξελίξεις. Έγιναν πειραματικές μετρήσεις σε ομάδες εθελοντών έναντι UV-A και UV-B ακτινοβολιών. Βρέθηκε ότι η ανοσοκαταστολή που προκαλείται από αυτές είναι περίπου τριπλάσια στους άρρενες, σε σύγκριση με τις γυναίκες. Αυτή είναι και η αιτία των πολυπληθέστερων δερματικών καρκίνων στους άρρενες και τα θανατηφόρα περιστατικά, εξ αιτίας αυτών. Ηλιακά φίλτρα που περιέχουν νικοτιναμίδιο σχεδόν μηδενίζουν τα δυσμενή φαινόμενα της δερματικής ανοσοκαταστολής, μέσω μεταβολής του ενεργειακού μεταβολισμού και των οδών της απόπτωσης, [Damian Diona L., et al, 2008].



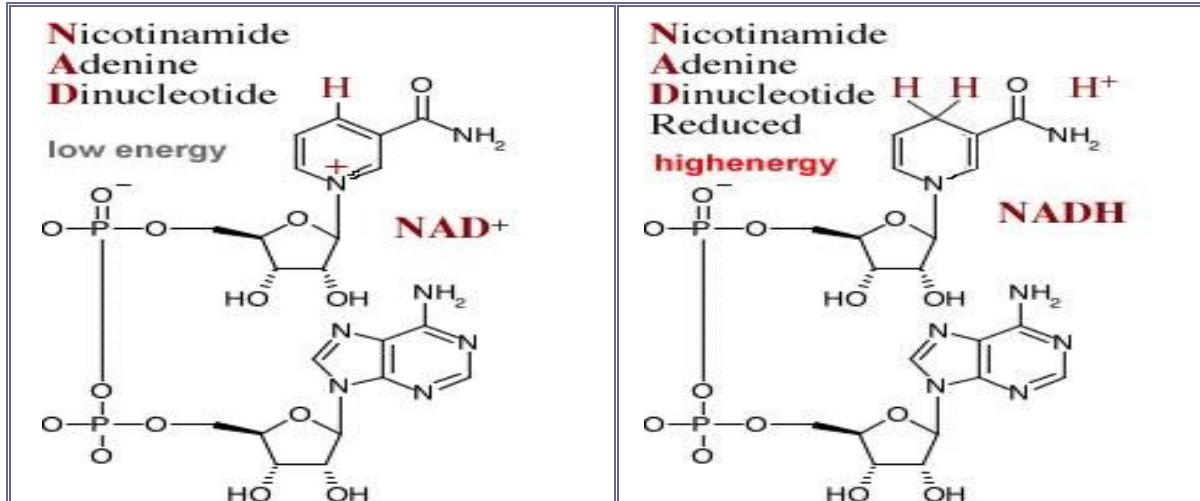
**ΕΙΚΟΝΑ 2.2.9** Αριστερά: Ο Paul Karrer (1889-1971), Βραβείο Νόμπελ Χημείας 1937, Κέντρο: Η Συντακτική Μοριακή Δομή του NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) και Δεξιά: Ο Otto Heinrich Warburg 1883-1970.

Αναφέρθηκαν οι **αντιφλεγμονώδεις δράσεις του νικοτοναμιδίου**, με πολύ ευεργετικά αποτελέσματα σε περιπτώσεις ασθενών με φλεγμονώδεις δερματοπάθειες, όπως η ακμή (Acne Vulgaris), εξ' αιτίας της καταστολής του αντιγονο-επαγόμενου λεμφοκυτταρικού μετασχηματισμού και της αναστολής της δράσεως της 3'-5'-κυκλικής- AMP- φωσφοροδιεστεράσης. Το νικοτιναμίδιο έχει επίσης αγχολυτικές ιδιότητες, καθ' όμοιον τρόπο προς τις βενζοδιαζεπίνες, ενώ δεν διαθέτει τις αγγειοδιασταλτικές, τις γαστροεντερικές, τις ηπατικές και τις υπολιπιδαιμικές δράσεις του νικοτινικού οξέος. Γι' αυτό τα σκευάσματα του δεν προκαλούν την φλόγωση και τον ερεθισμό του δέρματος, πράγμα που είναι χαρακτηριστικό του νικοτινικού οξέος. **Δόσεις μεγαλύτερες των 3gr/ημέρα γίνονται ηπατο-τοξικές**. Γενικά θεωρείται ασφαλές συμπλήρωμα διατροφής και ακίνδυνο συστατικό των ιατρικών και κοσμετολογικών σκευασμάτων, διότι σπανίως προκαλεί πλευρικές παρενέργειες, [Cosmetic Ingredient Review Expert Panel, 2005] και [Belenky P., et al, 2007]. Το νικοτιναμίδιο, γνωστό και ως νιασιναμίδιο είναι μέλος του συμπλέγματος των βιταμινών Β, ταυτοχρόνως μαζί με το νικοτινικό οξύ (νιασίνη). Τα δύο χημικά μόρια,





Εξ' άλλου ο Γερμανός φυσιολόγος και βιοχημικός Otto Heinrich Warburg (1883-1970) προσδιόρισε το ρόλο του  $\text{NAD}^+$  στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Εργαζόμενος επίσης στο πεδίο της Κυτταρικής Βιολογίας, διερεύνησε τον μεταβολισμό των όγκων και την αναπνοή των κυττάρων, ιδιαίτερα στα καρκινικά κύτταρα.



**Εικόνα 2.2.11** Η μοριακή διαμόρφωση των  $\text{NAD}^+$  και  $\text{NADH}$ . Another class of "high energy/low stability" molecules involves the reduction of certain compounds. For example, the addition of two electrons and a proton to nicotinamide adenine dinucleotide ( $\text{NAD}^+$ ) leads to the formation of the high energy/unstable molecule  $\text{NADH}$ .

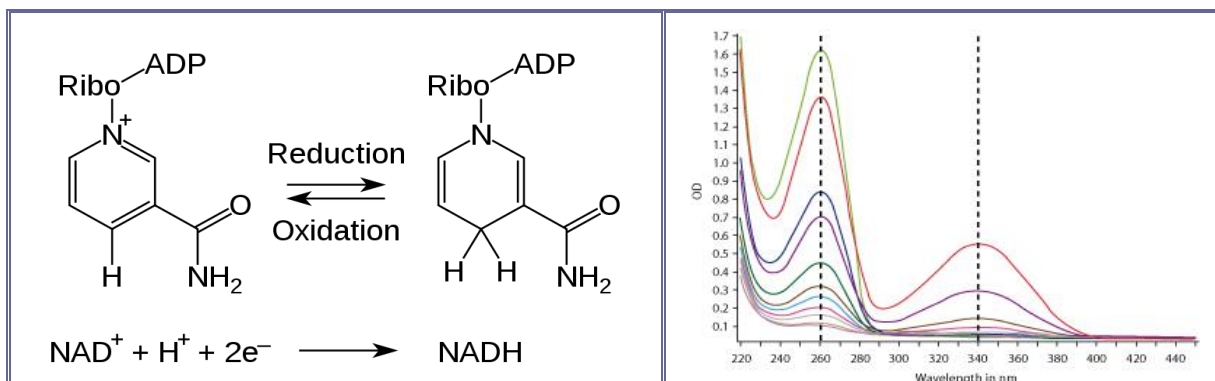
Το έτος 1931 τιμήθηκε με το Βραβείο Νόμπελ στη Φυσιολογία για την "Ανακάλυψη της Φύσης και του Τρόπου Δράσης του Αναπνευστικού Ενζύμου", [Warburg O.H., et al, "Über das Gelbe Ferment und Seine Wirkungen", Biochemische Zeitschrift, Volume 266, p. 377, 1933], [Warburg O.H., et al, "Co-Ferment Problem", Biochemie, 274, pp. 122-125, 1934], [Warburg O.H., et al, Biochemische Zeitschrift, 287, p.291, 1936] και [Warburg O.H., "On the Origin of Cancer Cells", Science, 123(3191), 309-314, 1956].

### **Φάσματα Απορροφήσεως της $\text{NAD}^+$ και της $\text{NADH}$ , στο Υπεριώδες (UV).**

Αμφότερες οι  $\text{NAD}^+$  και  $\text{NADH}$  απορροφούν ισχυρά υπεριώδη ακτινοβολία, εξ' αιτίας του μορίου της αδενίνης. Η κορυφή μέγιστης απορροφήσεως της  $\text{NAD}^+$  ευρίσκεται σε μήκος κύματος 259-260nm, με συντελεστή μοριακής απορροφήσεως  $\epsilon=16.900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Επίσης η  $\text{NADH}$  απορροφά ισχυρά, σε μήκος κύματος 339-340nm, με συντελεστή μοριακής απορροφήσεως  $\epsilon=6.220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

Αυτή η διαφορά στα μέγιστα απορροφήσεως στο φάσμα υπεριώδους των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του συνενζύμου αυτού, μας επιτρέπει να μετρήσουμε ποσοτικά τον βαθμό της ενζυμικής αλληλο-μετατροπής της  $\text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{NADH}$ , κατά την διάρκεια ενζυματικών φαινομένων και προσδιορισμών, με την φασματοσκοπική τεχνική οπτικών ινών CCD και την ταυτόχρονη μέτρηση του μεγέθους, της απορροφήσεως, τόσο στα 259nm, όσο και στα 340nm, [Warburg O.H., et al, "Ein Zweites Sauerstoffübertragendes Ferment und Sein Adsorptions Spektrum", Naturwissenschaften, 20, p. 688, 1932. *ibid*: 20, p.980, 1932]. Μπορούν επίσης με την τεχνική αυτή να ληφθούν κινητικές φασματο-φωτομετρικές καμπύλες, διαφόρων ενζυματικών συστημάτων, στα οποία συμμετέχει το σύστημα

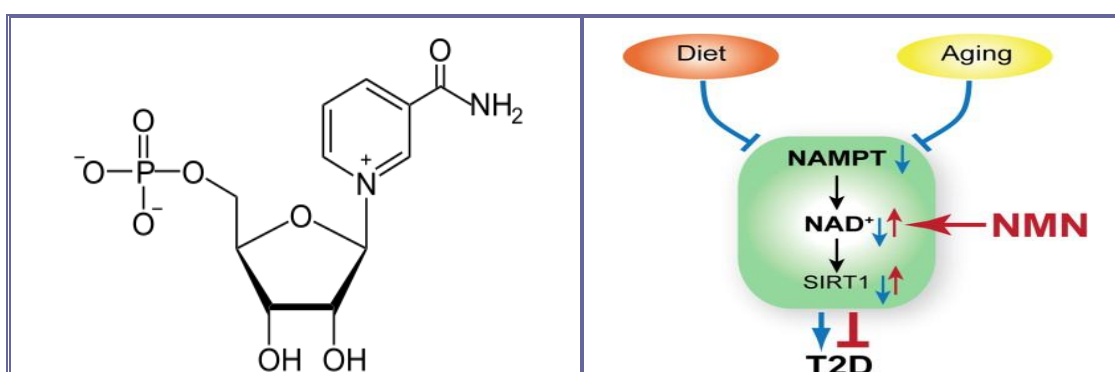
συνενζύμων  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ , με ταυτόχρονη καταγραφή και υπέρθεση τέτοιων φασμάτων, για την εξαγωγή του νόμου ταχύτητας και τον υπολογισμό των σταθερών Michaelis-Menten, των ενζυμικών αντιδράσεων. Εκτεταμένη περιγραφή της μεθοδολογίας, των αντιδραστηρίων και των πειραματικών συνθηκών, για τον αναλυτικό φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό των  $[\text{NAD}^+]$  και  $[\text{NADH}]$ , στην περιοχή UV αποτελεί το τεχνικό εγχειρίδιο, [AAT Bioquest Inc., 2012].



Εικόνα 2.2.12 Αριστερά: Ο μηχανισμός της Οξειδοαναγωγικής Αντιδράσεως  $\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH}$  και Δεξιά: Τα UV φάσματα, με Μέγιστα απορροφήσεων  $\lambda_{\text{max}}(\text{NADH})=260\text{nm}$  και  $\lambda_{\text{max}}(\text{NAD})=340\text{ nm}$ , για διάφορες συγκεντρώσεις της  $\text{NADH}$ .

Το ριβοτίδιο ή ριβοζίδιο του νικοτιναμιδίου, ή Beta-Nicotinamide Mononucleotide (NAM), CAS:1094-61-7, με χημικό τύπο:  $[\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}]$  και μοριακό βάρος=334,22 είναι ένας φωσφορικός μονοσακχαρίτης, ο οποίος απαντάται στα στελέχη της ζύμης αρτοποιίας (*Saccharomyces Cerevisiae*) και είναι ένας σημαντικός **ενδιάμεσος μεταβολίτης**, στην οδό μεταβολισμού, τόσο του νικοτινικού οξέος, όσο και του νικοτιναμιδίου.

Είναι επίσης ένα σπουδαίο ενδιάμεσο νικοτιναμιδικό παράγωγο, της χημείας και της βιοχημείας του  $[\text{NAD}^+]$ , μία ένωση κλειδί στην διαχείριση της **παθοφυσιολογίας της διατροφής**, που προκαλείται από την ηλικιακή γήρανση και από τον διαβήτη τύπου Β στους επίμυες, όπως απέδειξαν σχετικές εργαστηριακές μελέτες.



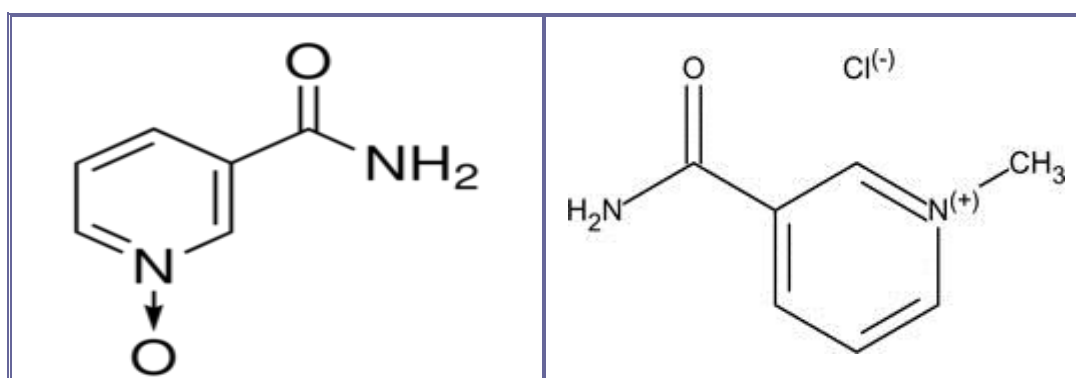
Εικόνα 2.2.13 Αριστερά: Ο Συντακτικός τύπος του NMN, (Nicotinamide-D-Ribonucleotid, ή Nicotinamide Mono-Nucleotide και Δεξιά: Η Συμμετοχή του NMN στην διαδικασία αντιμετώπισης του διαβήτη (T2D).

Το Nicotinamide Mono-Nucleotide (NMN) ενισχύει την ηπατική ευαισθησία στην ινσουλίνη και αποκαθιστά την γονιδιακή έκφραση, που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες, με την φλεγμονώδη απόκριση και κερκαδικό ρυθμό, μέσω ενεργοποίησης των SIRT1, [Yoshino Jun, et al, 2011]. Κατά την αποικοδόμηση των παραγώγων του νικοτινικού οξέος, τόσο σε



παθολογικές περιπτώσεις, όσο και παρουσία τοξικών ουσιών, όπως ο τετραχλωράνθρακας, παράγεται η λίαν τοξική ένωση Ν-μεθυλοχλωρίδιο του νικοτιναμιδίου, το οποίο προσδιορίζεται φωτομετρικά στα ανθρώπινα ούρα, [Ellinger P., and Coulson R.A., 1944]. Το παράγωγο του νικοτιναμιδίου νικοτιναμίδιο-Ν-οξειδίο με μοριακό τύπο  $C_6H_6N_2O_2$  και Μ.Β.=138,124 είναι ένα τοξικό παράγωγο, για τον ανθρώπινο οργανισμό, που ωστόσο παρουσιάζει κάποιες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Έχει σημαντικές χημικές εφαρμογές σε ήπιες, οργανικές και φαρμακευτικές συνθέσεις.

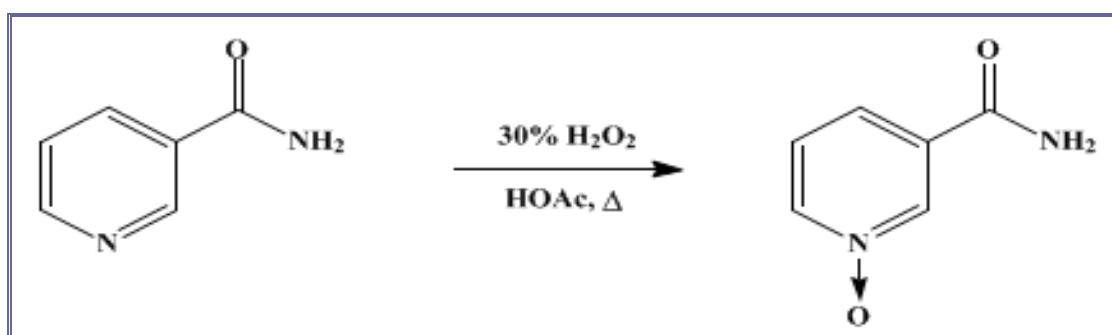
Παρασκευάζεται ευκόλως από νικοτιναμίδιο, εντός παγομόρφου οξικού οξέος, με την σταδιακή προσθήκη πυκνού  $H_2O_2$  30%, ύστερα από απόσταξη υπό κενό, σχεδόν μέχρι ξηρού, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση, [Taylor E.C., and Croveti A.J., 1963].



**Εικόνα 2.2.14** Δομή των επικινδύνων παραπροϊόντων του Νικοτιναμιδίου. Αριστερά: Συντακτικός Μοριακός τύπος του Nicotinamide-N-Oxide και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Nicotinamide-N-Methochloride.

Διάφοροι ραδιο-ευαισθητοποιητές των μεταβολιτών του νικοτιναμιδίου πιθανώς συνεισφέρουν στην παραγωγή του τοξικού νικοτιναμιδίο-οξειδίου ή 3-πυριδινοκαρβοξαμιδίου-1-οξειδίου.

Από ογκολογικές έρευνες προκύπτουν ποσοτικές σχέσεις δομής-δράσης για μικρούς μη-πεπτιδίο-ανταγωνιστές της CXCR2.



**Εικόνα 2.2.15** Η Αντίδραση Εργαστηριακής Συνθέσεως του Nicotinamide-N-Oxide ή 3-Pyridinecarboxamide-1-Oxide.

Η έκφραση του CD38 σε κυτταρικές γραμμές ανθρώπινης προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας σε HL-60, κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των νιασινικών ενώσεων και οι επιδράσεις της χορήγησης περίσσειας νικοτιναμιδίου, οδηγούν στην ουρική έκκριση του νικοτινουρικού οξέος και του νικοτιναμιδο-Ν-οξειδίου σε επίμυες, [Danilenko V.F., et al, 1979].

### 2.2.7 ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ

**Η μη υδατική ογκομέτρηση** μίγματος μονο-νατρίου άλατος της νοβοβιοσίνης και του νικοτιναμιδίου έχει αναφερθεί στην βιβλιογραφία, [Korchagin V.B., et al, 1971]. Με την χρήση **UV-φασματοσκοπίας πρώτης παραγώγου** αναπτύχθηκε μία απλή αναλυτική μέθοδος, για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό της καφεΐνης και του νικοτιναμιδίου, σε ποτά ενεργειακής τόνωσης, που διατίθενται σε κονιώδη μορφή. Τα μήκη κύματος μηδενικής τομής βρέθηκαν 273 και 261nm, για την καφεΐνη και το νικοτιναμίδιο αντιστοίχως, σε υδατικό περιβάλλον. Οι καμπύλες αναφοράς είναι ευθείες μέχρι και τα 25,4μg/mL, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση βρέθηκε <1,7% για αμφότερους τους αναλύτες. Τα όρια ανιχνεύσεως βρέθηκαν στα 0,669μg/mL καφεΐνης και στα 0,550μg/mL νικοτιναμιδίου αντιστοίχως, με συντελεστές ανακτήσεως 93,44-104,65% για την καφεΐνη και 88,89-104,26% για το νικοτιναμίδιο, [Nurhidayati Liliek Nurdiani, 2011].

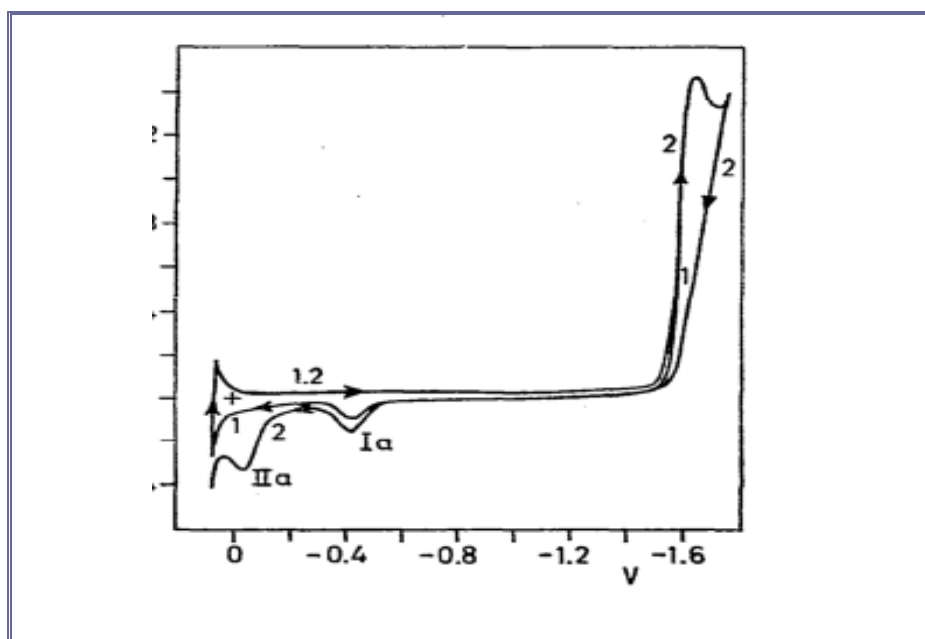
**Glassy Carbon-[VPtCl<sub>6</sub>] τροποποιημένο ηλεκτρόδιο** κατασκευάστηκε με ταυτόχρονη ηλεκτροχημική αναγωγή δύο αλάτων α)-V<sup>3+</sup> σε V<sup>2+</sup> και β)-[Pt<sup>IV</sup>Cl<sub>6</sub><sup>2-</sup>] σε [Pt<sup>II</sup>Cl<sub>6</sub><sup>2-</sup>]. Η ηλεκτροαπόθεση του δυσδιαλύτου άλατος [VPtCl<sub>6</sub>] πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας, υαλώδους γραφίτη εγένετο *in situ*. Ελήφθη ικανοποιητική ημι-αντιστρεπτή συμπεριφορά, στην περιοχή (-0,8)-(+0,1)Volts, σε φέροντα ηλεκτρολύτη KCl 0,1M, με pH=3 και για διάφορες ταχύτητες σαρώσεως. Η μορφολογική συμπεριφορά των φιλμ μελετήθηκε με τις τεχνικές EQCM, SEM, AFM, υπερύθρου, ορατής φασματοσκοπίας και χρονοαμπερομετρίας αναχαιτίσεως ροής. Τα ηλεκτρόδια χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη της ηλεκτροκαταλυτικής αναγωγής, διαλυμάτων της [NAD<sup>+</sup>], με εξαιρετική απόκριση, σε αυτό το οξειδοαναγωγικό ζεύγος, [Soundarpan Thiagarajan, et al, 2008] και [Kotkar R.M., and Srivastava A.K., Analytical Sciences, 2008].

**Τροποποιημένα Ηλεκτρόδια σύρματος Μεταλλικού Χρυσού Au**, κατασκευάστηκαν για την μελέτη της ηλεκτροχημικής οξειδωσης της ανηγμένης μορφής του συνενζύμου Νικοτιναμιδίου. Τα ηλεκτρόδια επικαλύπτονται με μονο-στρωματικά παράγωγα της φαινοθειαζίνης, όπως η Θειονίνη, το Azure C και το Azure A, ομοιοπολικά συγκρατημένα, προς αυτο-οργανωθείσες μονοστιβάδες του 3,3'-διθειο-δισ-(προπιονικού-ηλεκτρο-ιμιδουλίου), πάνω σε υπόστρωμα μεταλλικού χρυσού. Ελήφθησαν δύο οξειδο-αναγωγικές κορυφές, που αποδίδονται στους μονομερείς και διμερείς τύπους, των παραγώγων της φαινοθειαζίνης. Διαπιστώθηκε ότι οι διμερείς μορφές εμφανίζουν υψηλές ενεργότητες, όσον αφορά την ηλεκτροκαταλυτική οξειδωση της NADH. Οι σταθερές ταχύτητος που ελήφθησαν με τα τροποποιημένα ηλεκτρόδια θειονίνης, ευρέθησαν 104 φορές μεγαλύτερες, από τις αντίστοιχες με οξειδωμένα παράγωγα της φαινοθειαζίνης σε διάλυμα, καθώς επίσης και μεγαλύτερες, εξ' όλων των μέχρι σήμερα αναφερθέντων ηλεκτρο-καταλυτικών ουσιών, [Masayuki Ohtani, et al, 1997] [Kotkar R.M., et al, J. Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2008].

**Οι ενθαλπίες σχηματισμού** των συμπλόκων ενώσεων μεταξύ του νικοτιναμιδίου και του υπερχλωρικού χαλκού Cu(II), προσδιορίστηκαν σε υδραλκοολικά και διμεθυλοσουλφοξειδικά (DMSO) διαλύματα, με την τεχνική της θερμιδομετρίας. Το μέγιστο εξωθερμικό φαινόμενο παρατηρήθηκε σε διαλύτες, με μοριακά κλάσματα ~0,1M σε DMSO. Το εξωθερμικό φαινόμενο του σχηματισμού του συμπλόκου αυξάνεται, με την αύξηση της

συγκεντρώσεως της αιθανόλης. Μελετήθηκε ο ρόλος που διαδραματίζει η επιδιалύτωση (solvation) στα θερμοδυναμικά χαρακτηριστικά του σχηματισμού, της μονο-υποκατεστημένης συμπλόκου ενώσεως. Η επίδραση της σύστασης του διαλύτη επί της τιμής  $\Delta_r H^\circ$ , συσχετίζεται στενά με την αναδιалύτωση του δοτικού ατόμου του υποκαταστάτη, [Kurysheva A.S., et al, 2006] και [Kotkar R.M., et al, Supramolecular Chemistry, 2008].

Στην παρούσα **ηλεκτροχημική εργασία (CV) του νικοτιναμιδίου** διαφωτίζονται και ερμηνεύονται ηλεκτροχημικοί redox μηχανισμοί, που πραγματοποιούνται σε υδατικό και μη υδατικό περιβάλλον, για μία σειρά-ακολουθία ενώσεων, από το νικοτιναμίδιο και μέχρι το  $[NAD^+]$ , με την μελέτη των χημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα, της συμπεριφοράς των ενδιάμεσων χημικών σωματιδίων, καθώς και των φαινομένων προσρόφησης. Ελήφθησαν τα κυκλικά βολταμογράμματα (CV) και μετρήθηκαν οι ταχύτητες διμερισμού των ελευθέρων ριζών, που παράγονται στην αρχική μονο-σταδιακή αναγωγή. Η ηλεκτροχημική συμπεριφορά του συστήματος συσχετίζεται με σταθερές των δομικών χαρακτηριστικών και με παραμέτρους μοριακών τροχιακών και επιδιалύτωσης, [Santhanam K.S.V., et al, 1974] και [Santhanam K.S.V., and Elving Philip J., 1973].



Εικόνα 2.2.16 Κυκλικό βολταμόγραμμα νικοτιναμιδίου (1,27mM) σε pH 9,4 ανθρακικού ρυθμιστικού, επί ηλεκτροδίου H.M.D.E., με ταχύτητα σαρώσεως Scan rate=100mV/s. Με ρωμαϊκούς αριθμούς οι κορυφές και με αραβικούς αριθμούς δείχνονται οι σαρώσεις.

Μελετήθηκε φασματοφωτομετρικά **η φωτόλυση της κυανο-κοβαλαμίνης**, στο ορατό φάσμα, σε pH 1,0–7,0 και παρουσία του νικοτιναμιδίου. Υπολογίσθηκαν οι σταθερές ταχύτητος της δευτέρας τάξεως δι-μοριακών αυτών αντιδράσεων, στην περιοχή τιμών από  $9,50 \times 10^{-3}$  (σε pH 1,0) to  $1,25 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$  (σε pH 7,0). Οι συναρτήσεις ταχύτητος- pH profile αποκαλύπτουν μία σταδιακή αργή μείωση της ταχύτητος στην περιοχή pH 1–3, ακολουθούμενης από μία σχετικώς ταχεία μείωση, στην περιοχή pH 3–7. Η πρωτινωμένη μορφή της κυανοκοβαλαμίνης φαίνεται να είναι πλέον επιδεκτική σε φωτόλυση, σε σύγκριση με την μη-ιοντισμένη μορφή της. Η φωτόλυση της κυανοκοβαλαμίνης οδηγεί στον σχηματισμό της υδροξο-κοβαλαμίνης, στην περιοχή pH 1,0–7,0,

[Ahmad Iqbal, et al, 2003]. Μία μέθοδος **τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης ζώνης** αναπτύχθηκε, για τον ταυτόχρονο αναλυτικό προσδιορισμό των βιολογικών ενεργών πυριδινικών παραγώγων, νικοτίνης (NIC), κοτινίνης (COT), νικοτινικού οξέος (NA) και νικοτιναμιδίου (NM), με βάση έναν UV ανιχνευτή, στα 260nm. Ο διαχωρισμός των παραγώγων επιτυγχάνεται εντός τριχοειδών τηγμένης σίλικας, δραστικού μήκους 56cm, εσωτερικής διαμέτρου 50μm, υδροδυναμικής ενέσεως 10s στα 50mbar, με εφαρμοζόμενο δυναμικό πεδίου 30kV και σε θερμοκρασία 25°C. Κάτω απ' αυτές τις συνθήκες επιτυγχάνεται ο πλήρης διαχωρισμός των παραγώγων αυτών, σε χρόνο 9,4 min, με συντελεστή διαχωρισμού ( $R_s > 3,6$ ), με καλή γραμμικότητα ( $r^2 > 0,998$ ), για περιοχές συγκεντρώσεων 50–600μg/mL για την NIC, 8–160 μg/mL για το NM και 10–200 μg/mL για την COT και το NA. Η μέθοδος έχει σχετική τυπική απόκλιση <2,04%, περιοχή ανακτήσεων 96,4–101,6%, όρια ανιχνεύσεως <3,0μg/mL και ποσοτι-κοποίηση (quantitation) <10μg/mL. Η μέθοδος είναι αποτελεσματική, αξιόπιστη και απλή, για αναλύσεις ρουτίνας των αναλυτών αυτών, σε διάφορα φυσικά και τεχνητά προϊόντα μαστιχών και ταμπλετών, [Nuchtavorn Nantana and Suntornsuk Leena, 2012].

Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε -σύμφωνα με τους διεθνείς κανονισμούς- μία ευαίσθητη, εξειδικευμένη, **ακριβής και αναπαραγώγιμη μέθοδος-HPLC/MS**, για τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό, τόσο της νιασίνης (NA), όσο και του κύριου μεταβολίτη αυτής νιασιναμιδίου (NAM), καθώς και του νικοτινουρικού οξέος (NUR) στο ανθρώπινο πλάσμα, χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο κινολίνη-3-καρβοξυλικό οξύ, ως εσωτερικό πρότυπο. Όλοι οι αναλύτες και το εσωτερικό πρότυπο διαχωρίζονται από το οξινισθέν πλάσμα, με εκχύλιση στερεής φάσης. Ακολουθώντας, τα εκχυλίσματα αναλύονται με HPLC/MS, με τη χρήση θετικού ηλεκτροψεκασμού ιονισμού (ESI) και με παρακολούθηση του επιλεγμένου ιόντος (SIM). Ο συνολικός χρόνος λειτουργίας είναι 7λεπτά μεταξύ των ενέσεων. Η ανάλυση έχει κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης τα 50,0ng/mL, για κάθε αναλύτη, όταν χρησιμοποιείται 1mL πλάσματος.

Οι καμπύλες βαθμονόμησης είναι γραμμικές στην περιοχή μετρήσεων 50,0 έως 750ng/ml πλάσματος. Η συνολική ακρίβεια και ακρίβεια για όλες τις συγκεντρώσεις των ελέγχων ποιότητας και των προτύπων είναι καλύτερη από 15%. Δεν υπήρξαν ενδείξεις για πιθανή αστάθεια της νιασίνης, του νιασιναμιδίου και του νικοτινουρικού οξέος, στο διατηρημένο πλάσμα (-20°C), στον διαλύτη εκχύλισης ή μετά από επανειλημμένους κύκλους απόψυξης/κατάψυξης. Αστάθεια δειγμάτων παρατηρήθηκε στο πλήρες αίμα και στο πλάσμα σε θερμοκρασία δωματίου. Η ανάκτηση της μεθόδου εκχύλισης κυμαινόταν στα 86-89% για τους τρεις αναλύτες, [Pfuhl P., et al, 2005].

Ο νικοτινικός μυριστυλ-εστέρας (Nia-114) είναι ένα εστερικό προ-φάρμακο, που εισάγεται για την εφαρμογή του νικοτινικού οξέος (NIC) στο δέρμα, στην πρόληψη της ακτινικής κεράτωσης και της μετεξέλιξης της σε καρκίνο του δέρματος. Για να διευκολυνθούν οι δερματικές μελέτες του Nia-114 αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μία νέα μέθοδος **υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας** (LC-MS/MS), για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό της Nia-114, του NIC και του νικοτιναμιδίου (NAM) στο πλάσμα κουνελιών, χρησιμοποιώντας την μεθυλο-αιθυλο-κετόνη (MEK), ως διαλύτη αποπρωτεΐνωσης. Το NAM είναι ο κύριος μεταβολίτης του NIC, το οποίο επίσης αναμένεται να έχει χημειο-προστα-

τευτικές ιδιότητες. Οι τρεις αναλύτες διαχωρίστηκαν χρωματογραφικά χρησιμοποιώντας μία Cyano-Spherisorb στήλη, υπό ισοκρατικές συνθήκες και ανιχνεύθηκαν με παρακολούθηση πολλαπλής αντίδρασης (MRM), με διάταξη ιονισμού θετικού ηλεκτροψεκασμού και με χρόνο σάρωσης 9 λεπτά. Η μέθοδος χρησιμοποιεί όγκο δείγματος πλάσματος 0,2ml και ραδιοεπισημασμένες μορφές D4 του κάθε αναλύτη, ως εσωτερικά πρότυπα. Η μέθοδος είναι γραμμική σε περιοχές συγκέντρωσης 2-1000, 8-1000, και 75 έως 1000ng/ml, για τον Nia-114, το NIC και το NAM, αντίστοιχα. Η μέση ακρίβεια και επαναληψιμότητα αναλύσεων κυμαίνονται στην περιοχή +/-15%, για όλους τους αναλύτες σε χαμηλά, μέσα και υψηλά επίπεδα προτύπων ελέγχου. Η σχετικά υψηλή τιμή για το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ) της NAM αποδείχθηκε ότι οφείλεται στο υψηλό επίπεδο της ενδογενούς NAM, στο πλάσμα κουνελιού (περίπου 350ng/ml).

Τα ενδογενή επίπεδα NIC και NAM στο πλάσμα ανθρώπου, σκύλου, αρουραίου και ποντικού προσδιορίστηκαν επίσης και οι μέσες τιμές κυμαίνονται από <2ng/ml NIC και 38,3ng/ml σε ανθρώπινο NAM, έως 233ng/ml NIC και 622ng/ml NAM στο ποντίκι. Το Nia-114 ήταν γενικά ασταθές στο πλάσμα κουνελιού, όπως αποδεικνύεται από την απώλεια του 44-50% σε θερμοκρασία δωματίου στις 2 ώρες και απώλεια 64-70% κατά την αποθήκευση στους -20°C για 1 εβδομάδα, ενώ ήταν σταθερό (<7% απώλεια) κατά την αποθήκευση στους -80°C για 1 μήνα, [Catz P., et al, 2005] και [Yue Bingfang, et al, 2010].

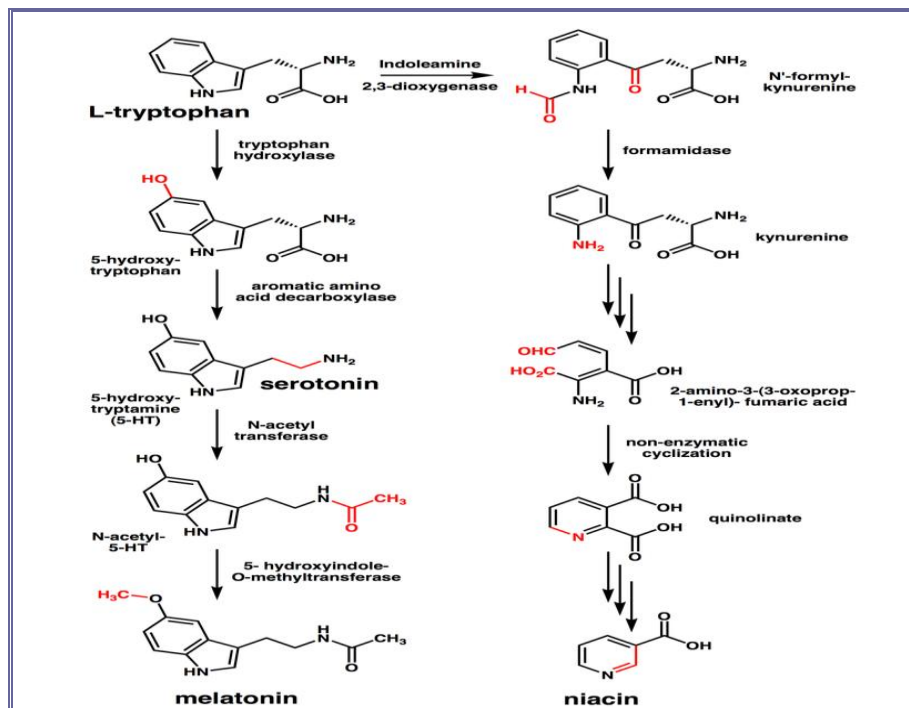
### 2.2.8 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ Β3

Το νικοτινικό οξύ και το νικοτιναμίδιο είναι οι δύο διαφορετικές μορφές, που συνεισφέρουν στην **"δραστηκότητα της νιασίνης"**, δηλαδή της βιταμίνης Β3. Το νικοτιναμίδιο αποτελεί τμήμα των συνενζύμων [NAD<sup>+</sup>] και [NADP<sup>+</sup>], που βρίσκονται σε αφθονία στη μαγιά, στα πουλερικά, στο κρέας και στο ήπαρ. Τα περισσότερα [NAD<sup>+</sup>]-εξαρτώμενα ένζυμα παίρνουν μέρος σε καταβολικές αντιδράσεις, ενώ τα [NADP<sup>+</sup>]-εξαρτώμενα ένζυμα, σε αναβολικές βιοσυνθετικές αντιδράσεις, [Euler Hans von, 1938 και 1939]. Τα συνένζυμα αυτά υδρολύονται στον εντερικό αυλό και απορροφώνται εύκολα, τόσο το νικοτινικό οξύ όσο και το νικοτιναμίδιο, απ' όπου μεταφέρονται στο πλάσμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

Το νικοτινικό οξύ και το νικοτιναμίδιο μετατρέπονται σε [NAD<sup>+</sup>] και [NADP<sup>+</sup>] στα κύτταρα του αίματος, στον εγκέφαλο και στο ήπαρ, [Goodwin Trevor Walworth, 1963]. Το νικοτιναμίδιο μετατρέπεται εύκολα σε νικοτινικό οξύ, ενώ δεν είναι εφικτή η αντίθετη μετατροπή. Περίπου τα 2/3 των διαιτητικών απαιτήσεων των ενηλίκων σε νικοτινικό οξύ προέρχονται από τον μεταβολισμό της τρυπτοφάνης. Γι' αυτό και οι ημερήσιες διαιτητικές απαιτήσεις για νικοτινικό οξύ εξαρτώνται από την πρόσληψη τρυπτοφάνης. 60 mg τρυπτοφάνης απαιτούνται για τη σύνθεση 1 mg νιασίνης.

Για το λόγο αυτό, το νικοτινικό οξύ έχει το χαρακτήρα βιταμίνης, είναι δηλαδή απαραίτητη η πρόσληψή του με τη διατροφή. Περιέχεται στο κρέας, τα ψαρικά, τα γαλακτοκομικά, τα δημητριακά ολικής άλεσης και στα πράσινα χορταρικά. Καταστρέφεται εύκολα με το μαγείρεμα. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη νιασίνης ανέρχεται σε 18 mg για τους άνδρες και 13 mg για τις γυναίκες, [Bandier Erik, 1941]. Το ήπαρ μπορεί να συνθέσει την νιασίνη από τον μεταβολισμό του απαραίτητου αμινοξέος τρυπτοφάνη, απαιτώντας 60mg της τρυπτοφάνης για να προκύψει 1mg νιασίνης. Ο πενταμελής αρωματικός

ετεροκυκλικός δακτύλιος διασπάται και αναδιατάσσεται με την αλφα αμινομάδα της τρυπτοφάνης, καταλήγοντας στο εξαμελές αρωματικό ετεροκυκλικό νικοτινικό οξύ (νιασίνη). Για την περαιτέρω βιο-σύνθεση του NAD, η ριβοφλαβίνη, η βιταμίνη B<sub>6</sub> και ο σιδήρος είναι απαραίτητες χημικές μορφές, σε ορισμένες από τις αντιδράσεις, που εμπλέκονται στη μετατροπή της τρυπτοφάνης, [Jacobson Elaine L., 2000-2013].



Εικόνα 2.2.17 Από τον Βιο-Μεταβολισμό της Θρυπτοφάνης παράγονται εκτός από Σερετονίνη και Μελατονίνη και το Νικοτινικό οξύ.

Διαιτητική έλλειψη της βιταμίνης B<sub>3</sub> μπορεί να παρατηρηθεί σε περιπτώσεις υποσιτισμού και αλκοολισμού. Στην κύηση αυξάνουν οι ανάγκες σε νιασίνη. Μια ισορροπημένη διατροφή περιέχει, συνήθως, το ποσό αυτό της βιταμίνης και δεν απαιτείται εξωγενής χορήγησή της.

Η έλλειψη νικοτινικού οξέος προκαλεί την νόσο πελλάγρα. Η νόσος εμφανίζεται κυρίως σε άτομα που διατρέφονται κατά προτίμηση με αραβόσιτο.

Και τούτο διότι οι ουσίες που περιέχονται στο καλαμπόκι μπορούν να αναστείλουν την ενδογενή οδό σύνθεσης και να προκαλέσουν συμπτωματολογία στέρησης, σε άτομα που το καλαμπόκι αποτελεί τη βάση για τη διατροφή τους. Χαρακτηρίζεται από νευρολογικά συμπτώματα, όπως οι **ψευδαισθήσεις** και το **παραλήρημα**, η **διάρροια**, η **βλεννογονίτιδα** και οι **δερματικές βλάβες** με φαιά χροιά, που παρατηρούνται στις περιοχές του δέρματος, που εκτίθενται στο φως.

Το νικοτινικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί και ως φάρμακο για την αντιμετώπιση της **υπερχοληστερολαιμίας**, σε δόσεις μεγαλύτερες της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης. Στις δόσεις αυτές μπορεί να προκαλέσει αγγειοδιαστολή, με αποτέλεσμα την εμφάνιση **υπότασης**, **ερυθρότητας** και **εξάψεων**. **Πελλάγρα** εμφανίζεται επίσης δευτεροπαθώς στο καρκινοειδές σύνδρομο και την νόσο του **Hartnup**, [Haurowitz Felix, 1959] και [Hathcock John N., 2004].

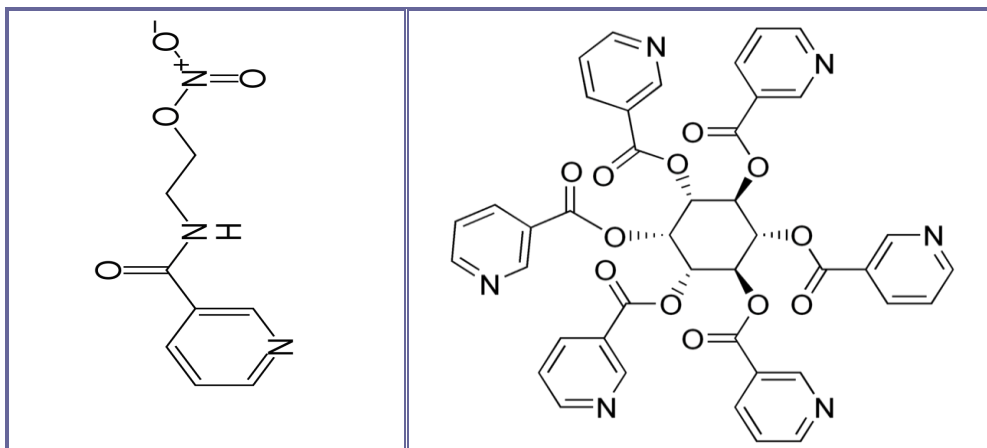
## 2.2.9 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΟΥ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΟΥ ΝΙΚΟΤΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Το Nicomide είναι ένα **αντιακνεϊκό θεραπευτικό σκεύασμα**, που διατίθεται σε μορφή τοπικής κρέμας, τοπικής γέλης και βιταμινικού συμπληρώματος. Διατίθεται και σε ταμπλέτες, μόνο κατόπιν ιατρικής συνταγής. Ως δραστικά συστατικά περιέχουν νικοτιναμίδιο 4%, ψευδάργυρο, χαλκό και φολικό οξύ. Δερματολογικές μελέτες αποκαλύπτουν ότι τα σκευάσματα αυτά μειώνουν την τοπική φλεγμονή του δέρματος, μειώνοντας έτσι την ακμή, [DUSA Pharmaceuticals Inc., 2013]. Στην νευροεπιστήμη οι αναστολείς της ιστονικής διακετυλάσης (histone deacetylase, HDAC) αυξάνουν την ακετυλίωση της ιστόνης και προάγουν τόσο την μνήμη, όσο και την συναπτική πλαστικότητα, δηλαδή την δυνατότητα της σύνδεσης, ή της σύναψης, μεταξύ δύο νευρώνων. Μελετήθηκε στους επίμυες 3xTg-AD η αποτελεσματικότητα του νικοτιναμιδίου, ενός ανταγωνιστικού αναστολέα και ενεργοποιητή των σιρτουίνων (activator of sirtuins) ή τάξεως III των NAD<sup>+</sup>-εξαρτώμενων HDAC. Διαπιστώθηκε ότι το νικοτιναμίδιο είναι ένας δραστικός παράγων στην αποκατάσταση των ελλειμάτων αντίληψης, που σχετίζονται με **την παθολογία Alzheimer**. Το νικοτιναμίδιο εκλεκτικά μειώνει μία εξειδικευμένη φωσφορική μορφή των tau (Thr231), η οποία σχετίζεται με τον από-πολυμερισμό των μικροσωληνίσκων (microtubule depolymerization), κατά τρόπον ανάλογο με την αναστολή των SirT1. Παράλληλα αυξάνει δραματικά την ακετυλιωμένη α-τιουμπουλίνη (alpha-tubulin), μία σφαιρική πρωτεΐνη, η οποία είναι πρωτογενές υπόστρωμα των SirT2 και MAP2c, που αμφότερες σχετίζονται άμεσα με την ηυξημένη σταθερότητα των μικροσωληνίσκων, [Green K.N., et al, 2008].

Τα μέλη της βιταμινικής ομάδας B3, μαζί με τα αντίστοιχα συνένζυμα της NADH/NAD και NADPH/NADP χρησιμοποιούνται από μεγάλη σειρά ενζύμων, σε πολυάριθμες κυτταρικές λειτουργίες, όπως **1)-** Ο ενεργειακός μεταβολισμός, **2)-** Οι μιτοχονδριακές λειτουργίες, **3)-** Η ομοιοστασία ασβεστίου, **4)-** οξειδωτικό στρες, **5)-** γονιδιακή έκφραση, **6)-** ανοσολογικές λειτουργίες, **7)-** γήρανση και **8)-** κυτταρικός θάνατος. Το νικοτιναμίδιο είναι ένας αποτελεσματικός **δερματολογικός λευκαντής**, σε τοπικές εφαρμογές. Δρα επίσης ως χημειο- και ραδιο-ευαίσθητοποιητικός παράγων, προκαλώντας αύξηση της ροής του αίματος στους όγκους, μειώνοντας ως εκ τούτου την υποξία του όγκου.

Η υποξία αποτελεί αρνητικό προγνωστικό δείκτη, για ακτινοθεραπεία, για χημειοθεραπεία και για χειρουργική επέμβαση και προδιαγράφει έναν επιθετικό και μεταστατικό φαινότυπο. Παρεμποδίζει επίσης τις πολύ-(ADP-ριβοζο)-πολυμεράσες (PARP-1), ένζυμα που εμπλέκονται στην επανασύνδεση των θραυσμάτων των κλώνων του DNA, που προκαλούνται υπό των ακτινοβολιών ή της χημειοθεραπείας. Τα PARP-1 φαίνεται ότι αποτελούν κύριο στόχο για τον τριπλώς αρνητικό μεταστατικό καρκίνο του μαστού (triple-negative breast cancer, TNBC), διότι τα κύτταρα είναι ευαίσθητα στην αναστολή λειτουργίας των PARP-1. Το νικοτιναμίδιο σε συνδυασμό με το ασκορβικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί σε ενδοφλέβιες **θεραπίες καρκίνων**, διαφόρων ασθενών, [Euler Hans von, et al, 1945] και [Vaupel Peter and Harrison Louis, 2004] και [Troll Walter, 1993]. Η ταυτόχρονη μόλυνση, **α)-** με το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης (M.tuberculosis) και **β)-** με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) είναι υπεύθυνη για το 1/3 όλων των

θανάτων λόγω του επίκτητου συνδρόμου ανοσο-ανεπάρκειας. Περισσότεροι από το 99% των περιπτώσεων αυτών συμβαίνουν στον αναπτυσσόμενο κόσμο, λόγω περιορισμένων κέντρων επείγουσας αντιμετώπισης, των περιστατικών αυτών. Φαρμακευτικοί παράγοντες με ταυτόχρονη αντιμικροβιακή δράση, έναντι αμφοτέρων των παθήσεων είναι σπάνιοι και ασυνήθεις. Στην παρούσα εργασία το νικοτιναμίδιο προτείνεται ως αποτελεσματικό αντιμικροβιακό μέσον, εναντίον των παθήσεων αυτών, [Murray Michael F., 2003].



**Εικόνα 2.2.18** Αριστερά: Συντακτικός τύπος του φαρμάκου Nicorandil και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του βιταμινικού παράγοντα Inositol nicotinate.

Το Nicorandil, είναι ένα φάρμακο που έχει εγκριθεί για τη **θεραπεία της ισχαιμικής καρδιοπάθειας**, πιστεύεται ότι έχει διπλές ιδιότητες. Ο μηχανισμός του φαρμάκου, με την επιλεκτική ενεργοποίηση της  $K^+$  ATP κανάλια, του σαρκιληματικού και του μιτοχονδριακού επιπέδου, επιτρέπει την στεφανιαία και περιφερική αγγειοδιαστολή, με επακόλουθη μείωση της προφόρτισης και τα μεταφορτία. Δεύτερον, λόγω του ρόλου  $K^+$  ATP κανάλια ισχαιμική προρύθμιση, στο φάρμακο Nicorandil έχει αποδοθεί καρδιοπροστατευτική δράση. Το γνωστό παράγωγο του νικοτινικού οξέος εξα-νικοτινική-ινοσιτόλη (cyclohexane-1,2,3,4,5,6-hexayl-hexa-nicotinate), με M.B.=810,72 g/mol και μοριακό τύπο  $[C_{42}H_{30}N_6O_{12}]$  αποτελεί επίσης έναν βιταμινικό παράγοντα της ομάδος Β3, ο οποίος έχει χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο κατά της υπερλιπιδαιμίας. **Είναι αγγειο-διασταλτικό** χωρίς τις φλογιστικές ιδιότητες του ίδιου του νικοτινικού οξέος (No-Flush Niacin) και έχει χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση προβλημάτων κυκλοφορίας του αίματος (**συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια**), όπως οι πόνοι βαδίσσεως, λόγω πτωχής αιματώσεως των άκρων (**διαλείπουσα χλωρότητα**), μεταβολές του δέρματος λόγω λιμνάσεως του αίματος (**δερματίτιδα στάσης**), όταν οι φλέβες λειτουργούν αναποτελεσματικά στη επαναφορά του αίματος στην καρδιά (**κίρσοι**), στένωση των αιμοφόρων αγγείων, πράγμα που οδηγεί σε κρύα δάκτυλα ποδών και χεριών (**ασθένεια Raynaud's**) και προβλήματα ροής αίματος στον εγκέφαλο (**αγγειακή εγκεφαλική νόσος**).

Η νικοτινική ινοσιτόλη έχει επίσης χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση της **α)- υψηλής χοληστερόλης, β)- υψηλής πίεσης του αίματος, γ)- προβλήματα αυπνίας (insomnia), δ)- ημικρανίες** που συνδέονται με την αθηροσκλήρυνση των αρτηριών (atherosclerosis), **ε)- σκληροδερμία, στ)- ακμή, ζ)- δερματίτις, η)- ψωρίασις, θ)- φλεγμονή της γλώσσης** (απολεπιστική γλωσσίτιδα, exfoliative glossitis), **ι)- σύνδρομο**



**ανήσυχων ποδών** (restless leg syndrome), **κ)-** της **σχιζοφρένειας** και **λ)-** άλλων **διανοητικών παθήσεων**, [Marsh M.M., and Hilty W.W., 1950] και [Crouse J.R., 1996] και [Harris Robert S., and Thimann Kenneth V., 1944]. Αναφέρθηκε η μελέτη της επίδρασης του νιασιναμιδίου στην μείωση της **δερματικής υπερμελάγχρωσης** και στην καταστολή της μεταφοράς των μελανινο-σφαιρίων. Το νιασιναμίδιο έδωσε 35-68% αναστολή της μεταφοράς μελανινοσφαιρίων στην κοινή καλλιέργεια αναφοράς και μειωμένη δερματική μελάγχρωση στο πρότυπο PREP. Σε κλινικές μελέτες επί 18 ανθρώπων εθελοντών με υπερχρωσία, το νιασιναμίδιο επέφερε σημαντική μείωση της υπερμελάγχρωσης και αυξημένη ελαφρότητα του δέρματος, σε σύγκριση με τον ουδέτερο φορέα, μετά από εφαρμογή τεσσάρων εβδομάδων μόνον. Χρησιμοποιήθηκε σκεύασμα 2% νικοτιναμιδίου+αντηλιακού συστατικού. Τα στοιχεία δείχνουν ότι το νιασιναμίδιο είναι μια αποτελεσματική ένωση λεύκανσης του δέρματος και λειτουργεί αναστέλλοντας την μεταφορά των μελανινοσφαιρίων, από τα μελανοκύτταρα στα κερατινοκύτταρα, [Hakozaki T., et al, 2002]. Το νικοτιναμίδιο, της βιταμινικής ομάδος Β3 έχει αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι ευρείας κλίμακος μικροοργανισμών, που κυμαίνονται από ιούς, μέχρι και παρασιτικά πρωτόζωα. Ωστόσο, ο τρόπος λειτουργίας αυτής της αντιμικροβιακής δραστηριότητας είναι άγνωστος. Σ' αυτή την εργασία διερευνήθηκε *in vitro* η **αντιλειψμανιακή-τρυπανοσιδική δράση της νικοτιναμιδης**, έναντι του **Trypanosoma Brucei**, ο αιτιολογικός παράγοντας, που προκαλεί την αφρικανική τρυπανοσωμίαση. Επώαση τρυπανοσωμάτων με το νικοτιναμίδιο προκαλεί καταστροφικά ελαττώματα στην ενδοκυτταρική κυκλοφορία, στη διάρρηξη του λυσοσώματος, στην απώλεια της κυτταρικής κίνησης και τελικά, στον κυτταρικό θάνατο. Στα ίδια επίπεδα συγκεντρώσεων δεν υπήρξε καμία επίδραση σε γραμμές κυτταρικών καλλιέργειών θηλαστικών. Οι επιπτώσεις στην ενδοκυττάρωση και στην κυκλοφορία κυστιδίων ήταν ορατές μέσα σε 3 ώρες και μπορεί να αποδοθεί στην αναστολή της δραστηριότητας της πρωτεάσης της λυσοσωμικής καθεψίνης, τύπου-B.

Η ανασταλτική δράση του νικοτινα-μιδίου επιβεβαιώθηκε, ύστερα από άμεση δοκιμασία δραστηριότητας της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης, τύπου καθεψίνης-B. Τα συγκεντρωτικά πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν ότι η αναστολή της λυσοσωματικής πρωτεάσης τύπου καθεψίνης-B μπλοκάρει την ενδοκυττάρωση και προκαλεί κυτταρικό θάνατο. Επιπλέον, αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν για πρώτη φορά, το ανασταλτικό αποτέλεσμα του νικοτιναμιδίου σε μια πρωτεάση, [Unciti-Broceta J.D., et al, 2013].

**Ακμή Vulgaris και την Ακμή Rosacea.** Οι διάφορες δερματικές διαταραχές από κάποια φλεγμονώδη ουσία, συχνά αντιμετωπίζονται με στεροειδή ή/και αντιβιοτικά. Εντούτοις, η μακρόχρονη χρήση αυτών των ουσιών έχει τα μειονεκτήματα: τα στεροειδή μπορούν να προκαλέσουν τις πολυάριθμες σοβαρές παρενέργειες όπως η υπέρταση, η καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος, και η οστεοπόρωση, και η κατάχρηση των ποσιμων αντιβιοτικών συμβάλει στην ανάπτυξη της βακτηριακής αντίστασης, καθώς επίσης και σε έναν πλήθος ενοχλητικών παρενεργειών όπως η διάρροια, οι μολύνσεις ζύμωσης και η φωτοευαισθησία. Κατά συνέπεια έχουν ερευνηθεί εναλλακτικές πόσιμες χορηγήσεις, όπως τα σκευάσματα νικοτιναμιδίου. Κατά τη διάρκεια των προηγούμενων 50 ετών, πολλές κλινικές αναφορές έχουν επιβεβαιώσει ότι το νικοτιναμίδιο είναι ένας ευεργετικός παράγων,

στην αντιμετώπιση ποικίλων φλεγμονωδών παθήσεων. Εξ' άλλου η εξαιρετική φαρμακευτική του ασφάλεια, στις θεραπευτικές χορηγήσεις του, το καθιστά μια ενδεχομένως ιδανική μακροπρόθεσμη στοματική θεραπεία, για τους ασθενείς με δερματικές φλεγμονές.

Πρόσφατη μεγάλη μελέτη αξιολογεί τα θεραπευτικά αποτελέσματα του νικοτιναμιδίου στη **θεραπεία της ακμής** και επιβαβαιώνει τα οφέλη χορήγησης ποσίου νικοτιναμιδίου, ως εναλλακτική προσέγγιση στη αντιμετώπιση των φλεγμονωδών τραυμάτων, που προκαλούνται με την ακμή **Vulgaris** και την ακμή **Rosacea**. Στο άρθρο αυτό γίνεται ανασκόπηση των σχετικών δημοσιεύσεων, στη διάρκεια των τελευταίων 50 ετών, που τεκμηριώνουν την κλινική χρησιμότητα και την ασφάλεια των ποσίων και τοπικών σκευασμάτων νικοτιναμιδίου, στην ασφαλή αντιμετώπιση διαφόρων φλεγμο-νωδών δερματικών περιστατικών, [Niren N.M., 2006].

## 2.2.10 ΒΙΤΑΜΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Β3

**Περιγραφή-Δράση.** Με τον όρο **νιασίνη** ή **βιταμίνη Β3** εννοούνται μίγματα δύο συγγενικών συστατικών, του νικοτινικού ή νιασινικού οξέος και του νικοτιναμιδίου ή νιασιναμιδίου. Η νιασίνη είναι υδατοδιαλυτή βιταμίνη και συντίθεται στο σώμα, από το απαραίτητο αμινοξύ τρυπτοφάνη. Παρότι το νικοτινικό οξύ και το νικοτιναμίδιο έχουν παρόμοια δράση, σε ότι αφορά την βιταμινική τους δράση, το νικοτινικό οξύ είναι τοξικό και δρα στον οργανισμό με την *in vivo* μετατροπή του σε νικοτιναμίδιο.

**Πίνακας 2.2.1 Οι κυριότερες πηγές της Βιταμίνης Β3, στα διάφορα τρόφιμα.**

<b>Ζωικά προϊόντα</b>	<b>Φρούτα και λαχανικά</b>	<b>Σπόροι -Μύκητες</b>
Ήπαρ και Νεφρά (9,3)	Φυλλώδη Λαχανικά	Ξηροί Καρποί
Κοτόπουλο άπαχο (7,3)	Μπρόκολο (0,8)	Δημητριακά εμπλουτισμένα, ΠΟΑ (20-27)
Γαλοπούλα άπαχο κρέας (5,8)	Φακές (2,1)	Αράπικα φυστίκια (3,8)
Βοδινό Κρέας άπαχο (3,1)	Γίγαντες (1,8)	Ζυμαρικά εμπλουτισμένα (2,3)
Τόνος (11,30)	Ντομάτες	Όσπρια, Όρυζα (18,5)
Σολωμός (8,5)	Καρότα	Σπόροι Saltbush
Γάλα, Γαλακτοκομικά	Γλυκοπατάτες	Μανιτάρια
Αυγά	Σπαράγγι, Αβοκάντο	Μαγιά Μπύρας

(ΠΟΑ: Προϊόντα Ολικής Αλέσεως), (Περιεκτικότητες: σε mg/100g)

Εξήντα μόρια τρυπτοφάνης χρειάζονται για να σχηματιστεί ένα μόριο νιασίνης, με εξαίρεση τις εγκύους, όπου η μετατροπή είναι δύο φορές πιο αποτελεσματική. Η μετατροπή της τρυπτοφάνης σε νιασίνη απαιτεί επίσης την παρουσία και άλλων θρεπτικών συστατικών, όπως θειαμίνης (B1), πυριδοξίνης (B6) και βιοτίνης. Η νιασίνη συμμετέχει στο σχηματισμό δύο συνενζύμων στο σώμα, του NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) και του NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate). Αυτά τα συνένζυμα εμπλέκονται, όπως και τα συνένζυμα που συντίθενται από θειαμίνη και ριβοφλαβίνη, στην απελευθέρωση ενέργειας από την τροφή. Η έλλειψη νιασίνης προκαλεί την ασθένεια πελλάγρα.

**Σταθερότητα- Απαιτήσεις.** Η νιασίνη είναι μια από τις πιο σταθερές βιταμίνες Β και δεν επηρεάζεται από το ηλιακό φως, τον αέρα ή το αλκαλικό περιβάλλον. Η μόνη σημαντική απώλεια νιασίνης παρατηρείται με το μαγείρεμα. Ανώτερο ασφαλές επίπεδο για ημερήσιο συμπλήρωμα: νικοτιναμίδιο: 450mg, νικοτινικό οξύ: 150mg. Συνιστώμενη Ημερήσια Δόση (Recommended Daily Allowance, RDA) = 18mg.

**Έλλειψη.** Τα συμπτώματα μικρής έλλειψης νιασίνης είναι η κόπωση, η κατάθλιψη και η απώλεια μνήμης. Σοβαρή έλλειψη νιασίνης οδηγεί σε πελλάγρα, η οποία χαρακτηρίζεται από διάρροια, δερματίτιδα και διανοητική ανεπάρκεια (άνοια). Η έλλειψη νιασίνης είναι συνήθης σε πληθυσμούς που καταναλώνουν πολύ αραβόσιτο επειδή η νιασίνη στον αραβόσιτο (και σε άλλα δημητριακά) βρίσκεται σε τέτοια μορφή (συνδεδεμένη σε κάποιο συστατικό) που την καθιστά μη διαθέσιμη για το σώμα. Ο αραβόσιτος είναι επιπλέον μια σχετικά φτωχή πηγή τρυπτοφάνης.

### 2.2.11 ΩΦΕΛΕΙΕΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΩΝ ΝΙΑΣΙΝΗΣ

**Αλκοολικοί:** Είναι σύνηθες οι αλκοολικοί να εμφανίζουν έλλειψη νιασίνης και συχνά απαιτείται να λαμβάνουν ένα συμπλήρωμα με νιασίνη, κατά προτίμηση μαζί με άλλα μέλη του συμπλέγματος βιταμινών Β. **Υψηλή Χοληστερίνη:** Η νιασίνη (ως νικοτινικό οξύ) έχει χρησιμοποιηθεί με πολύ καλά αποτελέσματα στη μείωση της χοληστερίνης. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεγάλες δόσεις νιασίνης (συνήθως γραμμαρίων ανά ημέρα) γι' αυτό το σκοπό, μόνο όμως κάτω από πλήρη ιατρική παρακολούθηση, [Sanyal S., et al, 2007].

Μόνο το νικοτινικό οξύ (όχι το νικοτιναμίδιο) μπορεί να μειώσει τα επίπεδα των λιπών στο αίμα. **Πνευματική Υγεία:** Έχει προταθεί η χορήγηση υψηλών δόσεων νιασίνης σε περιπτώσεις σχιζοφρενών και παρόλο που οι πληροφορίες από αυτό το πεδίο είναι αντικρουόμενες, υπάρχουν αναφορές για σημαντικά αποτελέσματα. **Αρθρίτιδα:** Η χορήγηση νιασίνης (ως νικοτιναμίδιο) μπορεί να ωφελήσει σε περιπτώσεις οστεοαρθρίτιδας και άλλων επίπονων παθήσεων των αρθρώσεων, [Mason Pamela, 1995].

### 2.2.12 ΑΣΦΑΛΕΙΑ- ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

Πολύ υψηλές δόσεις νικοτινικού οξέος (3-6g την ημέρα) μπορεί να προκαλέσουν αλλαγές στη δομή του ήπατος, με την βραδείας αποδέσμευσης μορφή της βιταμίνης να είναι πιο πιθανό και να ενοχοποιείται γι' αυτό. Τα δεδομένα περί ασφάλειας για το νικοτιναμίδιο διαβεβαιώνουν ότι, αυτή η μορφή νιασίνης μπορεί να ληφθεί σε υψηλότερα επίπεδα, με συμπλήρωμα από το νικοτινικό οξύ. Σε δόσεις υψηλότερες των 20mg, το νικοτινικό οξύ, αλλά όχι το νικοτιναμίδιο, μπορεί να προκαλέσει διαστολή των αιμοφόρων αγγείων στο δέρμα και συνεπώς **ερυθρότητα**.

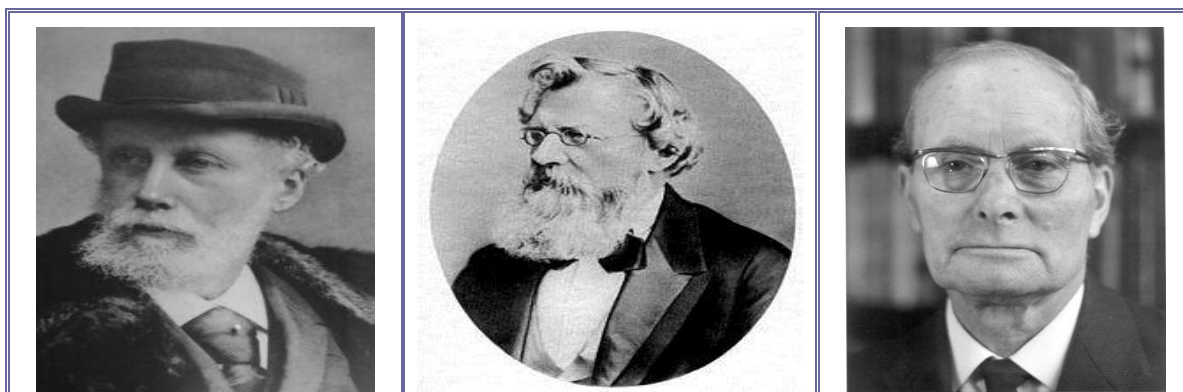
Αυτό συνήθως εξαφανίζεται μετά από μερικές μέρες συνεχούς χορήγησης, ενώ εμφανίζεται σε πολύ μικρότερο βαθμό αν λαμβάνεται μαζί με το φαγητό. Δεν πρέπει να λαμβάνονται συμπληρώματα με νικοτινικό οξύ από άτομα που υποφέρουν από: **Ποδάγρα** (ουρική αρθρίτιδα-εναπόθεση κρυστάλλων ουρικού οξέος στις αρθρώσεις), **Διαβήτη**, **Έλκη στομάχου** και **Παθήσεις του ήπατος**. Οι κύριες πηγές νιασίνης στη διατροφή είναι το κρέας και τα προϊόντα κρέατος, οι πατάτες, το ψωμί και τα εμπλουτισμένα δημητριακά, [Thorne Research, 2002 ].

## 2.3-ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗ ή 1,4-PIPERAZINE ή PIPERAZIDINE ή HEXA-HYDROPYRAZINE ή DIETHYLENEDIAMINE, C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>

### 2.3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

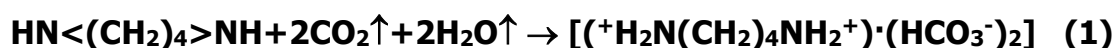
Οι πιπεραζίνες πήραν αρχικά την ονομασία τους, λόγω της χημικής ομοιότητας των, με την πιπεριδίνη, ένα μοριακό τμήμα της δομής της πιπερίνης, βασικού συστατικού του φυτού μαύρο πιπέρι (*Piper Nigrum*), ενώ αργότερα αποδείχτηκε ότι οι πιπεραζίνες δεν παράγονται και δεν ανευρίσκονται στο γένος *Piper*. Η διαιθυλενοδιαμίνη είναι της πιπεριδίνης η αντίστοιχη αζίνη, απ' την σύμπτυξη των οποίων προέρχεται και η καταχρηστική ονομασία της πιπεραζίνης, [Rodd E.H., 1959]. Οι διάφορες πιπεραζίνες ανήκουν στην μεγάλη χημική οικογένεια των πυραζινών [C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>], απ' τις οποίες λαμβάνονται με κατάλληλη αναγωγή. Η πιπεραζίνη είναι μία λευκή, κρυσταλλική και υγροσκοπική, ετεροκυκλική διαζωτούχος, μη αρωματική ένωση, που αποτελείται από έναν εξαμελή δακτύλιο, ο οποίος περιέχει τέσσερα άτομα άνθρακα και δυο άτομα αζώτου, σε θέσεις 1 και 4.

Στη φύση απαντά στη μορφή μικρών υγροσκοπικών, διαρρεόντων κρυστάλλων με αλατούχα γεύση, [Patai Saul, 1968]. Η πιπεραζίνη είναι αθρόα διαλυτή στην αιθυλενογλυκόλη και στο ύδωρ, αλλά αδιάλυτη στον διαιθυλικό αιθέρα. Είναι μια ισχυρή βάση, με pK<sub>b,1</sub>=4,22 (ή 4,19) και pK<sub>b,2</sub>=8,67 και το pH ενός υδατικού διαλύματος αυτής 10% κυμαίνεται στην περιοχή 10,8-11,8.



Εικόνα 2.3.1 Οι Πρώτοι Χημικοί Επιστήμονες, που Ενασχολήθηκαν, Παρασκεύασαν Συνθετικά και Απομόνωσαν την Πιπεραζίνη. Αριστερά: Ladenburg Albert Γερμανός Mannheim, 1842-1911, Κέντρο: August Wilhelm von Hofmann, Giessen, 1818-1892 και Δεξιά: Frederick George Mann London, 1897-1982.

Η πιπεραζίνη αλληλεπιδρά έντονα με την ατμόσφαιρα, διότι απορροφά εύκολα ύδωρ και διοξείδιο του άνθρακα από τον ατμοσφαιρικό αέρα, μετατρέπόμενη ταχέως, με έκλυση λευκών καπνών, στο διπλό κρυσταλλικό όξινο ανθρακικό άλας αυτής, με Σ.Τ.= 162-165°C.

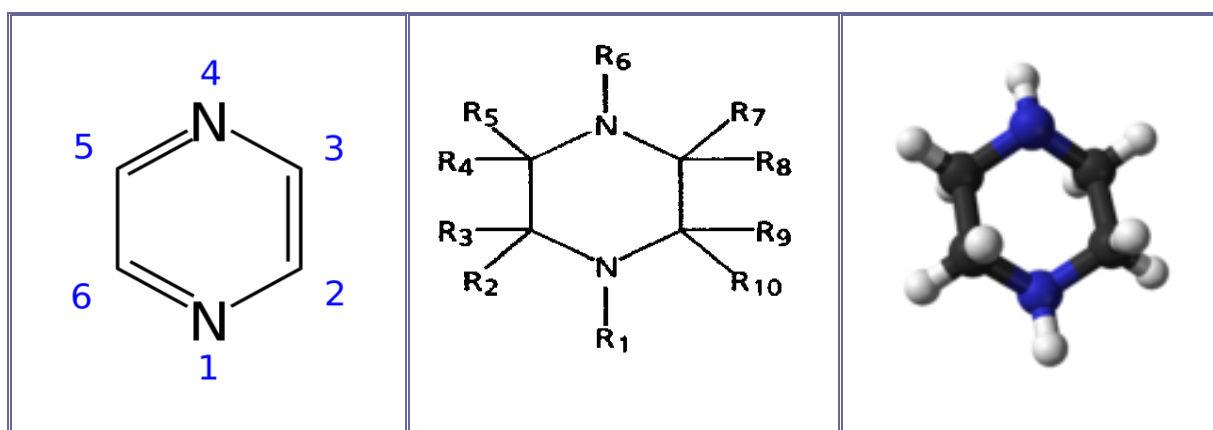


Γι' αυτό τα υάλινα δοχεία-περιέκτες, στα οποία αποθηκεύεται η πιπεραζίνη και τα περισσότερα άλατα της πρέπει να σφραγίζονται ερμητικώς, κατά την άφεση προς μακρά παραμονή, με πολλά στρώματα παραφίλμ. Η ελεύθερη βάση παρέχει ευκόλως διπλά άλατα, με όλα τα μετρίως ισχυρά και τα λίαν ισχυρά, οργανικά και ανόργανα οξέα, οπότε λαμβάνονται σταθερά, κρυσταλλικά και μερικώς υγροσκοπικά σώματα. Καθιζάνει ποσοτικά

με τα συνήθη αντιδραστήρια, καταβύ-θισης και ταυτοποίησης των αλκαλοειδών. Η πυραζίνη [ $C_4H_4N_2$ ] είναι το ετεροκυκλικό αρωματικό οξειδωμένο ανάλογο της πιπεραζίνης [ $C_4H_{10}N_2$ ], απ' την οποία διαφέρει κατά έξι άτομα υδρογόνου, [von Stoehr C., 1893] και [von Stoehr C., 1895]. Η πυραζίνη μπορεί να θεωρηθεί ως μία μητρική χημική ένωση της πιπεραζίνης, αφού παράγεται από εκείνη σε υψηλή απόδοση, δι' αναγωγής με μεταλλικό νάτριο, [Wolff Ludwig, "Über das Pyrazin", Berichte, 26(1), pp. 721–725, 1893] και [Wolff Ludwig, "Synthese des Pyrazins", Berichte, 26(2), pp. 1830–1833, 1893].

Τα μόρια τόσο της πυραζίνης, όσο και της πιπεραζίνης διαθέτουν μοριακή συμμετρία και αμφότερες ανήκουν στην ομάδα σημείου  $D_{2h}$ . Η πυραζίνη και τα παράγωγα αυτής όπως η φαιναζίνη, η σουλφοχλωροπυριδαζίνη, η πυραζινη-2-αμιδοξίμη, η πυραζινη-2-θειοκαρβοξαμίδιο και πολλά άλλα, ως γνωστόν είναι γνωστά για τις αντικαρκινικές, αντιβιοτικές, διουρητικές και φαρμακευτικές των ιδιότητες, [Quin Louis D., 2010]. Η πυραζίνη είναι λιγότερο βασική από την πυριδίνη, την πυριδαζίνη και την πυριμιδίνη, [Eicher Theophil, 2003]. Η πιπεραζίνη είναι επίσης γνωστή και με το όνομα δισπερμίνη και το άλας της με κινικό οξύ (quinic acid), έχει χρησιμοποιηθεί με τα εμπορικά ονόματα ουρόλη (Urol) και σιδονάλη (Sidonal).

Η διυδροξυ-πιπεραζίνη παράγεται από τον πολυμερισμό της αμινοα-κεταλδευδης, με ψυχρό υδροβρωμικό οξύ και προσο-μοιάζει με την πιπεραζίνη, στην σημαντική των ιδιότητα, ότι και αμφότερες είναι αποτελεσματικοί διαλύτες του **ουρικού οξέος**. Το τρυγικό άλας της διμεθυλο-πιπεραζίνης γνωστό με το όνομα λυσετόλη (Lysetol) δεν είναι δηλητηριώδες, ούτε υγροσκοπικό. Οι ενώσεις της πιπεραζίνης χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο ως ανθελμινθικά, στις περιπτώσεις της οξουουριάσεως (**oxyuriasis**) και της ασκαριάσεως (**ascariasis**), [Standen O.D., 1955] και [Hoekenga M.T., 1956].



**Εικόνα 2.3.2** Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Πιπεραζίνης, Κέντρο: Συντακτικός τύπος των Δεκα-υποκατεστημένων Πιπεραζινών και Δεξιά: Το Μοριακό Παραστατικό Μοντέλο της Πιπεραζίνης.

Η τετραμεθυλοπυραζίνη, γνωστή και ως **λιγκουστραζίνη** (ligustrazine) έχει αναφερθεί ως συλλέκτης ανιονικών ριζών υπεροξειδίου, ως αναστολέας της παραγωγής νιτροξειδίου στα ανθρώπινα πολυμορφικά πυρηνικά λευκοκύτταρα και είναι το κύριο συστατικό των βοτάνων της παραδοσιακής Κινεζικής ιατρικής. Αν και τα προαναφερθέντα παρεμφερή μόρια και πολλά άλλα πιπεραζινικά παράγωγα εμφανίζονται αυτοφυή εις την φύση, εν τούτοις η ίδια η 1,4-πιπεραζίνη παράγεται κυρίως συνθετικά, [Robins R.K., 1967].

### 2.3.2 ΦΥΣΙΚΕΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Γενικότερα οι πιπεραζίνες είναι μια ευρεία ομάδα οργανικών χημικών ενώσεων, που αποτελούνται από έναν εξαμελή δακτύλιο, ο οποίος περιέχει δύο άτομα αζώτου, που βρίσκονται στις θέσεις 1 και 4 του δακτυλίου. Κοινό χαρακτηριστικό τους, από χημική άποψη, το ότι περιέχουν τη λειτουργική ομάδα της πιπεραζίνης και είναι ισχυρές βάσεις, [Lawrence Stephen A., 2004]. Οι πιπεραζίνες εμφανίζονται ως μικροί αλκαλικοί, υγροποιούμενοι κρύσταλλοι με αλμυρή γεύση. Είναι μία ευρεία κατηγορία χημικών ενώσεων με πολλές σημαντικές φαρμακολογικές ιδιότητες, οι οποίες περιλαμβάνουν έναν πυρήνα πιπεραζίνης, ως λειτουργική ομάδα, [Hoerr C.W., et al, JACS, 65, 328-329, 1943]. Εύκολα απορροφούν υγρασία και διοξείδιο του άνθρακα από τον ατμοσφαιρικό αέρα, μετατρέπόμενες σε όξινα ανθρακικά ή ουδέτερα ανθρακικά άλατα. Η δομή της πιπεραζίνης προσομοιάζει με αυτήν της πιπεριδίνης. Προτιμά την διαμόρφωση **ανακλίνδρου**, με μήκη δεσμών C-C=154,0pm και C-N=146,7pm και με γωνίες δεσμών, C-C-N=110° και C-N-C=109°. Οι δεσμοί N-H λαμβάνουν την ισημερινή διάταξη, πράγμα που συμβαίνει και με τις N-αλκυλο- και N,N-διαλκυλο-πιπεραζίνες. Η ελεύθερη ενθαλπία ενεργοποίησης της αναστροφής του δακτυλίου είναι 43,1 kJ/mol, ενώ της πιπεριδίνης 43,5, της 1-μεθυλοπιπεραζίνης 48,1 και της 1-μεθυλοπιπεριδίνης 49,8 kJ/mol, [Aroney M., 1960]. Τα πρωτόνια στο φάσμα <sup>1</sup>H-NMR εμφανίζονται στα δ=2,84ppm και τα άτομα άνθρακος στο φάσμα <sup>13</sup>C-NMR εμφανίζονται στα δ =47,9ppm, εντός διαλύτη CDCl<sub>3</sub>. Η διαφορά των χημικών μετατοπίσεων μεταξύ των ισημερινών και αξονικών πρωτονίων είναι 0,16 ppm. Η δευτεροταγής αυτή διαμίνη είναι ισχυρότερη (pKa=9,80) βάση της πυραζίνης (pKa=0,37) και ασθενέστερη βάση της πιπεριδίνης (pKa=11,22), λόγω επαγωγικού φαινομένου του δευτέρου ετεροατόμου, [Eicher Theophil, 2003].

**Πίνακας 2.3.1 Διάφορες σταθερές της πιπεραζίνης.**

Data are given for the standard state, 25°C and 100 kPa			
CAS number	110-85-0	Molecular formula	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>
PubChem	4837	Molar mass	86,14 g mol <sup>-1</sup>
ChemSpider	13835459	Melting point	106°C, 379 K, 223°F
Pharmacology	Protein binding 60-70%	Boiling point	146°C
Acidity (pKa <sub>1</sub> , pKa <sub>2</sub> )	5,68 και 9,82.		

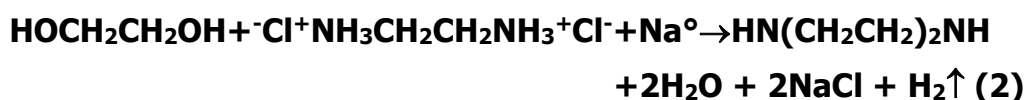
Η πιπεραζίνη ή διαιθυλενοδιαμίνη είναι ένα φυσικό ή και συνθετικό προϊόν, μία ισχυρή δισόξινη βάση, με πολυτιμότερη βιολογική ιδιότητα την αθρόα διαλυτοποίηση in vivo και in vitro του δυσδιαλύτου, εντός των βιολογικών υγρών ουρικού οξέος, παρέχοντας ένα **εξόχως ευδιάλυτο άλας, του ουρικού οξέος**, [Hoerr C.W., Journal of Organic Chemistry, 9(2), 201-210, 1944]. Γι'αυτό και κατά καιρούς χρησιμοποιήθηκε στην ιατρική, στην ουρική αρθρίτιδα, ως διαλύτης απομάκρυνσης και μαζικής απέκκρισης του ουρικού οξέος, απ' τον οργανισμό του ανθρώπου. Αυτόν τον χαρακτήρα διαθέτουν κατά το μάλλον ή ήττον αρκετές βιογενείς και ισχυρώς βασικές πολυαμίνες, [Goodbody Woodcock F., 1896]. Η λυσετόλη, η λυσιδίνη και η σιδονάλη είναι ενώσεις με παρόμοια δράση. Όμως οι δραστηρές φυσιολογικές ή τοξικές ιδιότητες των ουσιών αυτών, αποτελούν αποτρεπτική αιτία στις θεραπευτικές εφαρμογές των. Ψυχρό υδατικό διάλυμα πιπεραζίνης διαλυτοποιεί 12 φορές μεγαλύτερη ποσότητα ουρικού οξέος από ισομοριακές ποσότητες ανθρακικού

λιθίου και υπό τις ίδιες πειραματικές συνθήκες, το παραγόμενο άλας ουρικό-πιπεραζίνιο έχει επταπλάσια διαλυτότητα από το ουρικό λίθιο, [Aboulker P., 1967]. Σχηματίζει επίσης ευδιάλυτη μοριακή ένωση με την θεοφυλλίνη. Η πιπεραζίνη είναι μία χημική ένωση, που εμφανίζεται υπό τη μορφή αχρώμων, υγροσκοπικών, διαφανών, βελονοειδών κρυστάλλων, οι οποίοι απορροφούν αθρόα διοξείδιο του άνθρακα και ύδωρ, απ' την ατμόσφαιρα, [Lednicer Daniel et al, 1980]. Είναι αθρόα διαλυτή στο ύδωρ, στην γλυκερίνη, στην αιθυλενογλυκόλη και στις γλυκόλες γενικότερα. Σε 2 ml αιθανόλης 95% διαλυτοποιείται 1 gram πιπεραζίνης. Πρακτικώς είναι αδιάλυτη στους αιθέρες. Υδατικό διάλυμα πιπεραζίνης 10% παρουσιάζει pH=10,8-11,8, [Hoerr C.W., et al, JACS, 65, 328-329, 1943]. Γενικότερα διαπιστώνεται ότι πολυάριθμα παράγωγα των πιπεραζινών διαθέτουν σημαντικές και χρήσιμες φαρμακολογικές ιδιότητες.

### 2.3.3 ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ

Η αλληλεπίδραση του διχλωρο- ή διβρωμο-αιθανίου με αμμωνία (αλκαλική υδρόλυση, αμμωνιόλυση) μελετήθηκε από τον von August Wilhelm Hofmann, ο οποίος απομόνωσε την αιθυλενοδιαμίνη και την πιπεραζίνη, κατά κύριο λόγο και έναν αριθμό αλειφατικών και αλεικυκλικών πολυαμινών, ως παραπροϊόντων. Ο Hofmann έδειξε επίσης ότι η πλήρης κλασματική απόσταξη του μίγματος αυτού έδωσε τις παρακάτω χημικές ενώσεις, μερικές εκ των οποίων ελήφθησαν σε καθαρή κατάσταση και ταυτοποιήθηκαν, στη μορφή των υδροχλωρικών αλάτων, ή στη μορφή των χλωριο-πλατινικών και χλωριο-χρυσικών αλάτων τους, **α)**- Η αιθυλενοδιαμίνη ΣΖ=117-121°C, **β)**- η διαιθυλενοδιαμίνη C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub> με ΣΖ=145-146°C, **γ)**- η διαιθυλενο-τριαμίνη C<sub>4</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub> με ΣΖ=208°C, **δ)**- η τριαιθυλενοτριαμίνη C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub> με ΣΖ=216°C και **ε)**- η τριαιθυλενο-τετραμίνη C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>, ΣΖ=280°C, [Hofmann A.W., 1862] και [Hofmann A.W, 1871].

**1)**-Παρασκευάζεται εργαστηριακά, από τη δράση μεταλλικού νατρίου, επί του δις-υδροχλωρικού άλατος της αιθυλενοδιαμίνης, εντός αιθυλενογλυκόλης,



**2)**-Παρασκευάζεται επίσης εργαστηριακά, από την αναγωγή της πυραζίνης, με μεταλλικό νάτριο, εντός απόλυτης αιθανόλης, [Lednicer Daniel et al, 1980] και [Lunn George, 1987].



**3)**- Απομονώνεται επίσης εργαστηριακά η πιπεραζίνη, μέσω της ξηράς απόσταξης της υδροχλωρικής αιθυλενοδιαμίνης, οπότε στα εμπυρευματικά αέρια προϊόντα της αποστάξεως λαμβάνεται, μαζί με άλλα παραπροϊόντα η πιπεραζίνη, [Ladenburg A., 1888], [Cloeze S., 1853].



**4)**-Η πιπεραζίνη παράγεται σήμερα βιομηχανικά, ως ένα συμποϊόν κατά την εναμμωνίωση του 1,2-διχλωροαιθανίου, ή του 1,2-διβρωμοαιθανίου ή της αιθανολαμίνης, με αιθανολικό

διάλυμα αμμωνίας ή ανιλίνης. Αυτές είναι οι μόνες πορείες για την σύνθεση των εμπορικά διαθέσιμων προϊόντων πιπεραζίνης.



Η πιπεραζίνη διαχωρίζεται με κλασματική απόσταξη από το μικτό προϊόν της αντιδράσεως, το οποίο περιέχει αιθυλενοδιαμίνη, διαιθυλενοτριαμίνη και άλλες παρεμφερείς αλειφατικές και αλεικυκλικές διαμίνες αυτού του τύπου, [Mann Frederick George, Journal of the Chemical Society, Paper Number: 107, pp 461-466, 1934].

**5)**-Βιομηχανικά επίσης επιτυγχάνεται η καταλυτική κυκλοποίηση των αλειφατικών διαμινών κατάλληλης δομής, με την εν θερμώ χρήση του καταλύτη Raney Nickel. Με την μέθοδο αυτήν η αιθυλενοδιαμίνη και η διαιθυλενοτριαμίνη  $[\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_2]$  μετατρέπονται στην πιπεραζίνη, στους 150°C, [Martin W.B., 1948] και [Hoerr C.W., et al, Journal of Organic Chemistry, 9(2), 201-210, 1944]. Έχει αναφερθεί επίσης η σύνθεση της πιπεραζίνης, από την συμπύκνωση αζιριδινών, [Dick C.R., 1967] και [Kyrides Lucas P., 1941].

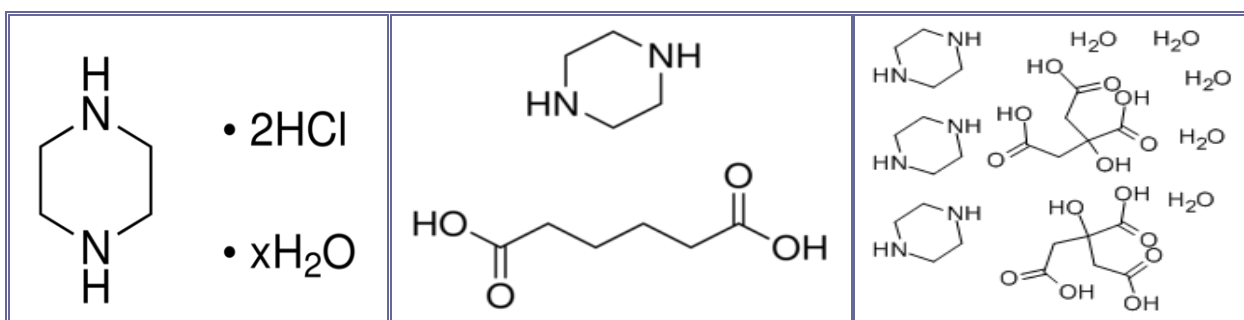


Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη υψηλού σημείου ζέσεως και της θερμοκρασίας είναι αποφασιστικής σημασίας, τόσο στις αποδόσεις της πιπεραζίνης, όσο και στην αποφυγή σχηματισμού ανεπιθύμητων παραπροϊόντων, όπως οι υψηλού σημείου ζέσεως πολυακυλενο-πολυαμίνες, [Gresham William F., 1949].

### 2.3.4 ΔΙΑΦΟΡΑ ΧΡΗΣΙΜΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ

Καταχωρείται στο εδάφιο αυτό μία σειρά πρωτογενών και θεμελιακών παραγώγων της πιπεραζίνης, με πολυάριθμες εφαρμογές σε ευρύτατες περιοχές της Επιστήμης και της Τεχνολογίας, [Pollard C.B., et al, JACS, 56(8), 1759–1760, 1934] και [Pollard C.B., et al, JACS, 56(1), 150–150, 1934].

**Εξαένυδρη Πιπεραζίνη.** Μια σταθερή μορφή, στην οποία η πιπεραζίνη είναι συνήθως βιομηχανικά και εμπορικά διαθέσιμη είναι η  $[\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_2\text{6H}_2\text{O}]$ , η οποία τήκεται στους 43-44°C και ζέει στους 125-130°C. Έχει CAS No: 142-63-2 και μοριακό βάρος=194,23. Είναι αθρόα διαλυτή στο ύδωρ και την αιθανόλη και ελαφρώς διαλυτή στον διαιθυλαιθέρα. Κρυσταλώνεται από απόλυτη αιθανόλη σε άχρωμους, υαλώδεις και υγροσκοπικούς κρυστάλλους, διαρρέοντες στην ατμόσφαιρα.



Εικόνα 2.3.3 Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Δις-υδροχλωρικής Πιπεραζίνης, Κέντρο: Συντακτικός τύπος της Αδипικής Πιπεραζίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Πενταένυδρης Δικιτρικής Τριπιπεραζίνης.



Έχει ισχυρές ανθελμινθικές ιδιότητες και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της μερικής εντερικής απόφραξης, από τον κοινό εντερικό σκώληκα, μια κατάσταση που κατά κύριο λόγο συμβαίνει σε παιδιά. Ένα υδατικό διάλυμα αυτής 5% είναι διαυγές και άχρωμο και εμφανίζει pH στην περιοχή 10,5- 12,0. Τα εμπορικά και φαρμακευτικά σκευάσματα, που διατίθενται ως πρώτες ύλες θα πρέπει να έχουν περιεκτικότητες σε ενεργή ουσία, μεταξύ 98,0 και 101,0% w/w και να καταλείπουν θειϊκή τέφρα όχι περισσότερο από 0,1% w/w. Η πιπεραζίνη (Anatensol, Antiren) χορηγούμενη από του στόματος, στα θηλαστικά και τον άνθρωπο, απορροφάται από τον γαστρεντερικό σωλήνα και η τοξικότητα, για υπερβολικές δόσεις ανέρχεται σε: LD<sub>50</sub>=5g/kg.

**Υδροχλωρική Πιπεραζίνη**, (δισ-υδροχλωρική διαιθυλενοδιαμίνη ή τετραμισόλη ή και διχλωρίδιο του πιπεραζίνιου, ascarex D, dowzene DHC). Έχει μοριακό τύπο [C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>] ή [C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>·2HCl] και CAS No: 142-64-3. Η δισ-υδροχλωρική πιπεραζίνη είναι ένα μη δηλητηριώδες, χιονόλευκο κρυσταλλικό, υγροσκοπικό στερεό, με γεύση χλωριούχου αμμωνίου, λίαν ευδιάλυτο στο ύδωρ (Solubility=41% στους 20°C) και πρακτικά αδιάλυτο στην αιθανόλη και τον διαιθυλαιθέρα. Έχει μοριακό βάρος=159,08, σημείο τήξεως=335-340°C, σημείο ανάφλεξης= 49,7°C, πυκνότητα d=1,92g/cm<sup>3</sup>, δείκτη διαθλάσεως=1,446/113°C και μέγιστη απορρόφηση loge=3,7 στα 196nm. Ανακρυσταλλώνεται από ζέουσα αιθανόλη, προς συσσωματώματα υπόλευκων κρυσταλλικών νιφάδων, ή προς άχρωμους, διαφανείς βελονοειδείς κρυστάλλους. Ένα υδατικό διάλυμα του άλατος αυτού 5%, είναι καθαρό και διαυγές και παρουσιάζει pH στην περιοχή μεταξύ 3,0 και 3,4. Οι καθαρότητες των εμπορικών χημικών προϊόντων κυμαίνονται στην περιοχή μεταξύ 98,5 και 100,5% w/w, το περιεχόμενο ύδωρ δεν πρέπει να υπερβαίνει το 1,5% w/w, ενώ το υπόλειμμα καύσης δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,1% w/w. Η καθαρότητα των φαρμακευτικών προϊόντων ελέγχεται χρωματογραφικά, σταθμικά και ογκομετρικά, σε μη υδατικούς διαλύτες. Χρησιμοποιείται στα φαρμακευτικά σκευάσματα ως αποτελεσματικό ανθελμινθικό φάρμακο (**wormer**), είτε στο πόσιμο ύδωρ ή στην τροφή, για τον έλεγχο των κυλινδρικών σκωλήκων στα πουλικά, στους χοίρους και στα άλογα. Επίσης και για τον έλεγχο, των οζωδών σκωλήκων σε χοίρους και των μικρών σκωλήκων (**strongyles**) στους ίππους, [Cushny Arthur Robertson, 1926].

**Αδипική Πιπεραζίνη**, (piperazine adipate, piperazine hexanedioate, hexahydro-1,4-diazine adipate (1:1). CAS- Number: 142-88-1. Έχει μοριακό τύπο [C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>], ή [(C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>)·(C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>)], μοριακό βάρος=232,28 και σημείο τήξης= περίπου 250°C. Η αδипική πιπεραζίνη είναι μία άοσμη, υγροσκοπική και άχρωμη κρυσταλλική ουσία, ή λευκή κρυσταλλική κόνις, με ελαφρώς όξινη γεύση. Ένα υδατικό διάλυμα αυτής 5% είναι διαυγές και άχρωμο και εμφανίζει pH= 5,0-6,0. Η καθαρότητα των φαρμακευτικών σκευασμάτων ελέγχεται χρωματογραφικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν όχι λιγότερο από 98,0% και όχι περισσότερο από 101,0%, της ενεργής ουσίας, με βάση το ξηρό υπόλειμμα της ουσίας, ενώ η περιεκτικότητα του ύδατος εφυδατώσεως δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,5% w/w. Το υπόλειμμα κατά την πύρωση δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,1% w/w. Είναι ένωση αθρόα διαλυτή στο ύδωρ (~750 g/l) και πρακτικά αδιάλυτη στην απόλυτη αιθανόλη και τον αιθέρα. Έχει ισχυρές ανθελμινθικές ιδιότητες και χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση της ασκαρίασης, προκαλούμενης υπό των **roundworms** και της οξουρίασης, προκαλού-

μενης υπό των **pinworms**. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στην θεραπεία της μερικής εντερικής δυσφορίας και στόμωσης, προκαλούμενης υπό των ελμίνθων **acaris worms**, που εμφανίζεται συνηθέστερα στα παιδιά. Παρεμποδίζει τον μυϊκό τόνο και την μυϊκή απόκριση των ελμίνθων, οι οποίες με τον τρόπο αυτόν παραλύουν, εκδιώκονται και τελικά αφοδεύονται στα κόπρανα. Χρησιμοποιείται επίσης ως ανθελμινθικό στην κτηνοτροφία, εναντίον των εντερικών λοιμώξεων, εκ των νηματωδών, που προσβάλλουν τα ζώα των αγροκτημάτων, [Cushny Arthur Robertson, 1926].

**Κιτρική Πιπεραζίνη Μονοένυδρη**, (Piperazine Citrate, antepar, parazine, tri Piperazine dicitrate, ascarex syrup, exelmin, antoban). Merck Index Number: 7464, CAS Number: 144-29-6. Λευκή ή σχεδόν λευκή κοκκώδης σκόνη, σχεδόν άοσμη, αθρόα διαλυτή στο ύδωρ και πρακτικά αδιάλυτη στην αιθανόλη και τον αιθέρα. Έχει μοριακό βάρος=642,7 και μοριακό τύπο  $[C_{24}H_{46}N_6O_{14} \cdot (H_2O)]$ , ή  $[(C_4H_{10}N_2)_3 \cdot (C_6H_8O_7)_2 \cdot (H_2O)]$ . Έχει σημείο τήξεως= 183-187°C, σημείο ζέσεως=812,2°C σε 760 mmHg και σημείο ανάφλεξης= 445°C. Η περιεκτικότητα του καθαρού σκευάσματος σε ενεργή ουσία πρέπει να κυμαίνεται στην περιοχή 98,0-100,5% v/v, ενώ του περιεχομένου ύδατος δεν πρέπει να υπερβαίνει το 12% w/w. Ένα υδατικό διάλυμα 5% είναι διαυγές και άχρωμο και έχει pH=5,0-6,0. Είναι ισχυρό ανθελμινθικό σώμα. Ενδείκνυται ως εναλλακτική φαρμακευτική θεραπεία για την ασκαρίαση (**ascariasis**), που προκαλείται από σκώληκα και για την **enterobiasis**, που προκαλείται από παράσιτο των εντέρων. Επίσης είναι γνωστή η δράση της κιτροσαλικυλικής πιπεραζίνης, στην θεραπεία της παθολογικής προδιάθεσης της **ουρολιθιάσεως**, [Bonelli M., 1954].

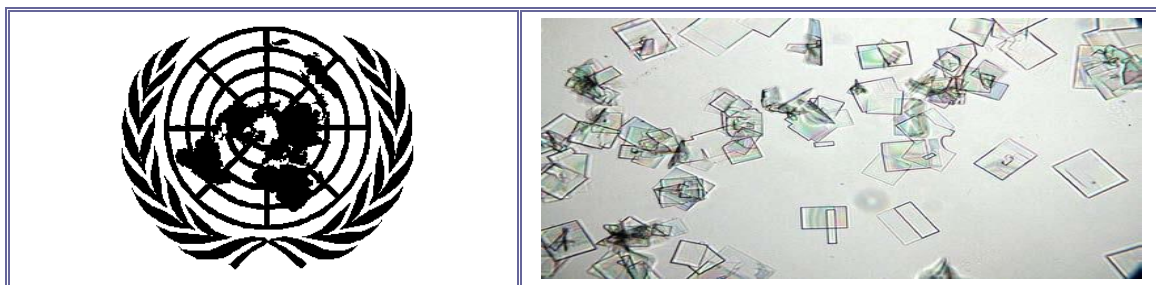
**Η Κινική Πιπεραζίνη ή Σιδονάλη**, (Piperazine Quinate, Sidonal) έχει μοριακό τύπο  $[C_{18}H_{34}O_{12}N_2]$  ή  $[(C_4H_{10}N_2) \cdot (C_7H_{12}O_6)_2]$  και μοριακό βάρος=470,48. Παρασκευάζεται με αντίδραση στη στερεή φάση ενός mol πιπεραζίνης με δύο mol κινικού οξέος (Quinic acid), σε θερμοκρασία τήξεως αυτών για 10 λεπτά, ή με διάλυση των στοιχειομετρικών αυτών ποσοτήτων, στον μικρότερο όγκο ύδατος, στη συμπύκνωση του προκύπτοντος διαλύματος επί υδρολούτρου, στην απομάκρυνση του εναπομένου ύδατος, με συνεχείς προσθήκες και-εξατμίσεις απολύτου αιθανόλης και με την τελική ξήρανση του προϊόντος, υπό κενό. Σχηματίζει λευκό μικροκρυσταλλικό άλας, ευχάριστης και ελαφρώς υπόξινης γεύσεως και με Σ.Τ.=168 έως 171°C. Είναι αθρόα ευδιάλυτο στο ύδωρ και την αιθανόλη. Έχει χρησιμοποιηθεί ως φαρμακευτικό σκεύασμα κατά της **ουρικής προδιάθεσης** και της **ρευματοειδούς αρθρίτιδας**, χορηγούμενο σε δισκία του 1,5g ενεργού συστατικού και επί έξι φορές ημερησίως, [Cushny Arthur Robertson, 1926].

**Η Φωσφορική Πιπεραζίνη** ή οξυκλοζανίδη, CAS No: 18534-18-4, είναι ένα βιομηχανικό συνθετικό υλικό, διαθέσιμο στη μορφή λευκής κρυσταλλικής κόνεως, με μοριακό τύπο  $[(C_4H_{10}N_2) \cdot (H_3PO_4) \cdot (H_2O)]$  και M.B=202,15. Είναι κι' αυτή ένα σχεδόν άοσμο, ανθελμινθικό φάρμακο, με ελαφρώς όξινη γεύση, που χρησιμοποιείται για την αποτελεσματική εξάλειψη τριχινών και ασκαριδών (**οξουρίαση**), από το πεπτικό εντερικό σύστημα των παιδών. Έχει μικρή διαλυτότητα στο ύδωρ και είναι πρακτικά αδιάλυτη στην αιθανόλη. Το pH υδατικών διαλυμάτων αυτής 1%, κυμαίνεται στην περιοχή 6,0 και 6,5. Η περιεκτικότητα σε ύδωρ πρέπει να κυμαίνεται στα επίπεδα του 8,0% και 9,5% w/w και της δραστικής ουσίας στην περιοχή 98,5 και 100,5% w/w. Απομονώθηκαν επίσης με σολβοθερμική σύνθεση τα

παρεμφερή φωσφορικά άλατα της πιπεραζίνης  $[C_4H_{12}N_2(H_2PO_4)_2]$  και  $[C_4H_{12}N_2(HPO_4) \cdot H_2O]$  και μελετήθηκαν με  $^{31}P$  CP/MAS NMR, με θερμικές μετρήσεις και με επίλυση της δομής με περίθλαση ακτίνων  $-X$ . Τα μίγματα των αντιδράσεων, περιοχής pH 1,6–8,4 διατηρήθηκαν στους 20–180°C, για 5 ημέρες, μέχρις εμφανίσεως μικρών διαφανών κρυστάλλων. Το πρώτο άλας κρυσταλλώνεται στο τρικλινές σύστημα. Μελετήθηκε επίσης η υδροθερμική σταθερότητα των αλάτων αυτών, [Jensen Torben R. , 2007].

**1,4-Δινιτρωδοπιπεραζίνη**, (N,N'- Dinitroso-piperazine, Piperazine- 1,4- dinitroso), Chem. Spider ID= 8488, CAS Registry Number=140-79-4, EINECS=205-434-6. Με μοριακό τύπο:  $[C_4H_8N_4O_2]$ , με μοριακό βάρος=144,132g/mol, με σημείο τήξεως=208-210°C, με σημείο ζέσεως= 406,1°C στα 760mmHg, με σημείο ανάφλεξης=199,4°C και με πυκνότητα=1,53g/cm<sup>3</sup>. Μερικές χαρακτηριστικές φυσικοχημικές ιδιότητες της 1,4-Δινιτρωδοπιπεραζίνης: Molar Volume=93,841cm<sup>3</sup>, Surface Tension=71,719dyne/cm, Enthalpy of Vaporization=63,218 kJ/mol, Density= 1,536g/cm<sup>3</sup>, Polarizability=13,538x10<sup>-24</sup>cm<sup>3</sup>, Index of Refraction=1,648, Molar Refractivity =34,151cm<sup>3</sup>, Polar Surface Area=65,34Å<sup>2</sup>,  $\Delta_f H^\circ_{solid}$  =93 ± 2 kJ/mol. Είναι στερεό κρυσταλλικό, ασθενώς υποκίτρινης χροιάς, με τάση ατμών=0,00019mmHg και θερμοκρασία διατήρησης=-20°C (συνθήκες κατάψυξης και αδρανής ατμόσφαιρα). Είναι μία αλεικυκλική-ετεροκυκλική **νευροτοξίνη**, ένα **ύποπτο καρκινογόνο**, με αναπαραγωγίμα πειραματικά δεδομένα τερατογενικών και νεοπλασματικών αποτελεσμάτων (carcinogenic, neoplastigenic, tumorigenic, and teratogenic data). Δηλητήριο όταν λαμβάνεται δι' αναπνοής, καταπόσεως, υποδορείως, και ενδοπεριτοναϊκώς. Όταν θερμαίνεται πλησίον του σημείου τήξεως διασπάται υπό έκλυση ατμών οξειδίων του αζώτου NO<sub>x</sub>. Αναφέρθηκε ο πολαρογραφικός και βολταμμετρικός αναλυτικός προσδιορισμός της N,N'-δινιτρωδοπιπεραζίνης, στην περιοχή συγκεντρώσεων 1x10<sup>-3</sup> -1x10<sup>-7</sup>mol/l. Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε υδατικά δείγματα της καρκινογόνου ουσίας, μετά την καθιερωμένη οξειδοαναγωγική μέθοδο καταστροφής, της με υπερμαγγανικό κάλιο, [Barek Jiri, et al, 1991].

**Δις-(Τετραχλωρο-υδραργυρική)-Πιπεραζίνη** είναι ένα κρυσταλλικό άλας, με μοριακό τύπο  $[(C_4H_{12}N_2^{2+}) \cdot (HgCl_4^{2-})]$ , ή  $[(C_4H_{10}N_2) \cdot (2HCl) \cdot (HgCl_2)]$  και μοριακό βάρος=430,54. Είναι μετρίως διαλυτή σε ζέον ύδωρ, απ' όπου επανακρυσταλλώνεται με ψύξη.

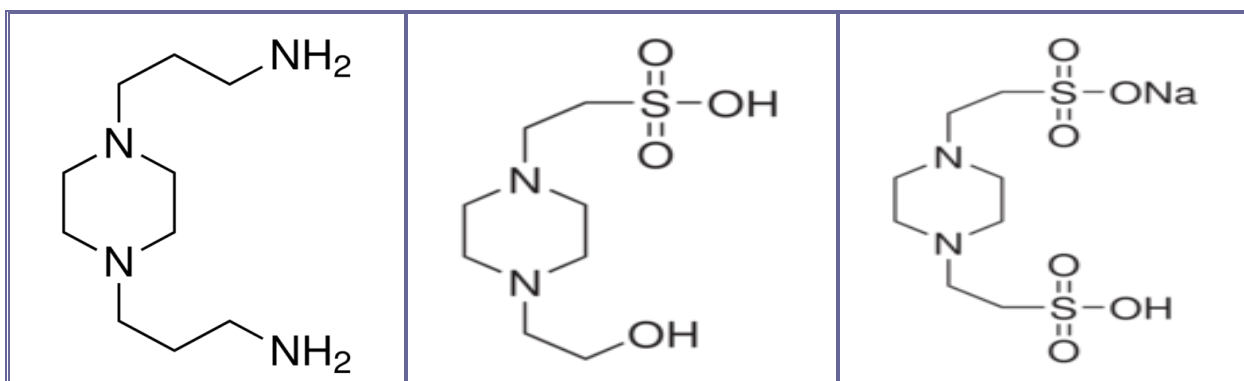


Εικόνα 2.3.4 Αριστερά: United Nations Office on Drugs and Crime, United Nations, New York, 2013 και Δεξιά: Μικροκρυσταλλική δοκιμή ταυτοποίησης της πιπεραζίνης. Η Μορφολογία των διαφανών επιπέδων τετραγωνικών πλακών, της Δις-(Τετραχλωρο-υδραργυρικής)-Πιπεραζίνης, στο Στερεοσκόπιο.

Είναι αδιάλυτη στην αιθανόλη και στον διαιθυλαιθέρα. Κρυσταλλώνεται σε βελόνες ή πλακίδια, ανάλογα με τον διαλύτη ανακρυστάλλωσης. Στο παραπάνω Σχήμα φαίνεται η

μορφολογία τέτοιων διαφανών επίπεδων τετραγωνικών πλακών, [United Nations Office on Drugs and Crime, 2013-300].

**Δις-(Εξαχλωρο-Λευκοχρυσική)-Πιπεραζίνη** είναι ένα κρυσταλλικό άλας, με μοριακό τύπο  $[(C_4H_{12}N_2^{2+}) \cdot (PtCl_6^{2-})]$ , ή  $[(C_4H_{10}N_2) \cdot (H_2PtCl_6)]$  και M.B.=495,94. Είναι δυσδιάλυτη στο ψυχρό ύδωρ και πρακτικά αδιάλυτη στην αιθανόλη, στην ακετόνη και στον αιθέρα. Είναι μετρίως διαλυτή στο ζέον ύδωρ, απ' όπου ανακρυσταλλώνεται σε χρυσοκίτρινες βελόνες. Η καταβύθιση αυτή αποτελεί μέθοδο, τόσο χημικής ταυτοποίησης, όσο και σταθμικού ποσοτικού προσδιορισμού της πιπεραζίνης, σε φαρμακευτικά σκευάσματα και διάφορα δείγματα, όταν δεν συνυπάρχει άλλη αμίνη. Το ίζημα διηθείται μέσω χάρτινου ηθμού Whatmann 42, εκπλύνεται με ψυχρό ύδωρ, ξηραίνεται, εισάγεται εντός προζυγισθέντος χωνευτηρίου πορσελάνης, καίγεται αργά στην αρχή και πυρώνεται τελικώς μέχρις σταθερού βάρους. Το απομένον ίζημα είναι καθαρός μεταλλικός λευκό-χρυσος, Pt°. Απ'τα ληφθέντα σταθμικά αποτελέσματα με κατάλληλους υπολογισμούς εξάγεται η χημική ταυτότητα ή η καθαρότητα της αγνώστου αμίνης, [Mann Frederick G., 1934] και [Mann Frederick G., 1960].



Εικόνα 2.3.5 Αριστερά: Συντακτικός τύπος της 1,4-Bis-(3-Aminopropyl)-Piperazine, Κέντρο: Συντακτικός τύπος της 2-[4-(2-Hydroxyethyl)-Piperazin-1-yl]-Ethane-Sulfonic acid (HEPES) και Δεξιά : Συντακτικός τύπος της 1,4-Piperazine-Diethane-Sulfonic acid, Monosodium Salt ή PIPES.

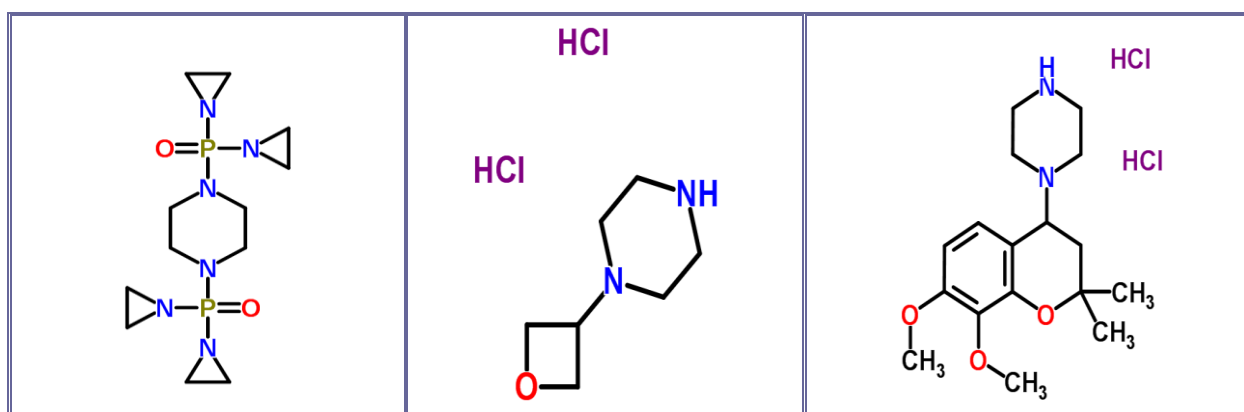
**Οι "GOOD's BUFFERS" ρυθμιστικοί παράγοντες** αναφέρονται σε μια μεγάλη οικογένεια αμφολυτικών (zwitterionic) ρυθμιστικών χημικών ενώσεων, που περιγράφησαν και προτάθηκαν στην έρευνα, απ' τους Norman Good et al. Διαθέτουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, που τα καθιστούν μοναδικά στην βιοχημεία, στην βιολογία, στην ανόργανη χημεία, στην αναλυτική χημεία, στην γαλβανοχημεία και στην φυσικοχημεία. **α)**- pKa τιμές στην περιοχή 6,0 έως 8,0, **β)**- υψηλή διαλυτότητα στο ύδωρ και τους συνήθεις διαλύτες, **γ)**- μηδαμινή τοξικότητα, **δ)**- ασήμαντες αλληλεπιδράσεις με τις βιοχημικές και ενζυματικές αντιδράσεις, **ε)**- χαμηλές οπτικές απορροφήσεις στην περιοχή 240nm έως 700nm, **στ)**- σταθερότητα και αδράνεια σε υδρολυτικές ή ενζυματικές επιδράσεις, **ζ)**- ασήμαντες επιδράσεις στις μεταβολές συγκεντρώσεων και θερμοκρασιών, **η)**- περιορισμένα ηλεκτρολυτικά φαινόμενα στις μεταβολές της συγκεντρώσεως και της ιονικής ισχύος των διαλυμάτων, **θ)**- περιορισμένες έως ασήμαντες συμπλεκτικές αλληλεπιδράσεις με διάφορα μεταλλο-κατίοντα, **ι)**- ασήμαντες αποκρίσεις σε ηλεκτροχημικές και οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις των συστημάτων και **κ)**- περιορισμένη διαπερατότητα έναντι των βιολογικών μεμβρανών. Μεταξύ των ρυθμιστικών αυτών ουσιών συγκατα-

λέγονται και τα 1,4-δισ-(υποκατεστημένα) παράγωγα της πιπεραζίνης HEPES (pKa=7,5 στους 25°C) και PIPES (pKa=6,76 στους 25°C), που είναι αποτελεσματικοί και σταθεροί ρυθμιστικοί παράγοντες οξύτητας (pH), με τιμές pKa στην περιοχή των φυσιολογικών τιμών των βιολογικών υγρών και των εμβίων θηλαστικών, πράγμα που τα καθιστά πολύτιμα εργαλεία στις διάφορες βιοχημικές και βιοϊατρικές μελέτες των κυτταρικών καλλιεργειών, [Good Norman E., et al, 1966].

### 2.3.5 ΔΙΑΦΟΡΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ

Παρατίθεται μια σειρά παραγώγων της πυριδίνης τα οποία αποτελούν πρόδρομες χημικές ουσίες, για την περαιτέρω σύνθεση και απομόνωση λίαν χρησίμων χημικών ενώσεων, στην βιοχημεία, στην φαρμακευτική χημεία, στην αντιμετώπιση διαφόρων μορφών του καρκίνου, στην γεωργική φαρμακολογία και στην σύνθεση βιολογικώς ενεργών μορίων, [Kitchen L.J., et al, 1947].

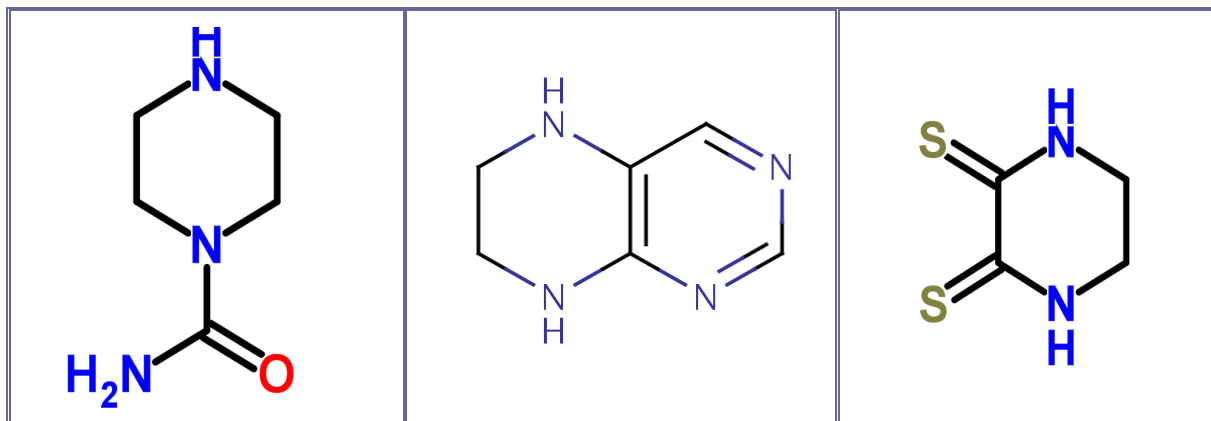
**Η 1,4-Δισ-[Δισ-(Αζιριδινη-1-Υλιο)-Φωσφορυλο]-Πιπεραζίνη** είναι μία χημική ένωση, που έχει μοριακό τύπο [C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>], CAS No=738-99-8, M.B.=346,36, πυκνότητα=1,55g/cm<sup>3</sup>, σημείο αναφλέξεως=277,4°C, σημείο ζέσεως=535,1°C at 760 mmHg, τάση ατμών= 1,58×10<sup>-11</sup> mmHg at 25°C, πολωσιμότητα=33,36×10<sup>-24</sup> cm<sup>3</sup>, επιφανειακή τάση=78dyne/cm, ενθαλπία εξατμίσεως=81,15kJ/mol, δείκτη διαθλάσεως= 1,677 και μοριακό όγκο= 223,3cm<sup>3</sup>. Χρησιμοποιείται ως οργανικό ενδιάμεσο, στη σύνθεση συμπλόκων ενώσεων και φαρμακευτικών σκευασμάτων και είναι δηλητήριο στην κατάποση, στις ενδοπεριτονεϊκές και υποδερμικές εφαρμογές. Διασπάται κατά την θέρμανση σε πολύ τοξικά αέρια, του τύπου PO<sub>x</sub> και NO<sub>x</sub>, [Mann Frederick G., 2009].



**Εικόνα 2.3.6** Αριστερά: Συντακτικός τύπος της 1,4-Bis-[bis-(aziridin-1-yl)-phosphoryl]-piperazine, Κέντρο: Συντακτικός τύπος της 1-(Oxetan-3-yl)-piperazine dihydrochloride και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της 1-(7,8- Dimethoxy- 2,2-dimethyl- 3,4-dihydro- 2H-chromen- 4-yl)-piperazine (HCl)<sub>2</sub>.

**1-Piperazinecarboxamide**, με CAS No=84501-64-4, έχει μοριακό τύπο [C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O], μοριακό βάρος=129,160 και σημείο τήξεως=219,2-222,8°F. Κύρια παράγωγα του σώματος αυτού οι διαιθυλο-καρβαμαζίνες, με τεράστιες χρήσεις και εφαρμογές στην ενζυματική χημεία και την θεραπεία διαφόρων παθήσεων. Εκτεταμένες είναι επίσης οι εφαρμογές του στην παρασκευή πολυμερικών μεμβρανών, διαφόρων εφαρμογών ιονανταλλαγής. Η ταχεία ανάπτυξη των καρβοξαμιδίων της πιπεριδίνης και της πιπεραζίνης, καθώς και των παραγώγων αυτών, έχει προέλθει από το γεγονός ότι είναι εκλεκτικοί αντιθρομβωτικοί

παράγοντες, ανταγωνιστές της σερετονίνης και ισχυροί αναστολείς της κινάσης στο αναπλαστικό λέμφωμα (ALK), [Arai Isao, 2003] και [Bryan M.C., et al, 2012]. Οι πτεριδίνες είναι μια κατηγορία πολυκυκλικών αρωματικών ενώσεων, που περιέχουν ένα μόριο πυριμιδίνης συγχωνευμένο με ένα δακτύλιο πυραζίνης, προς σχηματισμό Πυριμιδο-(4,5-b)-Πυραζίνης.



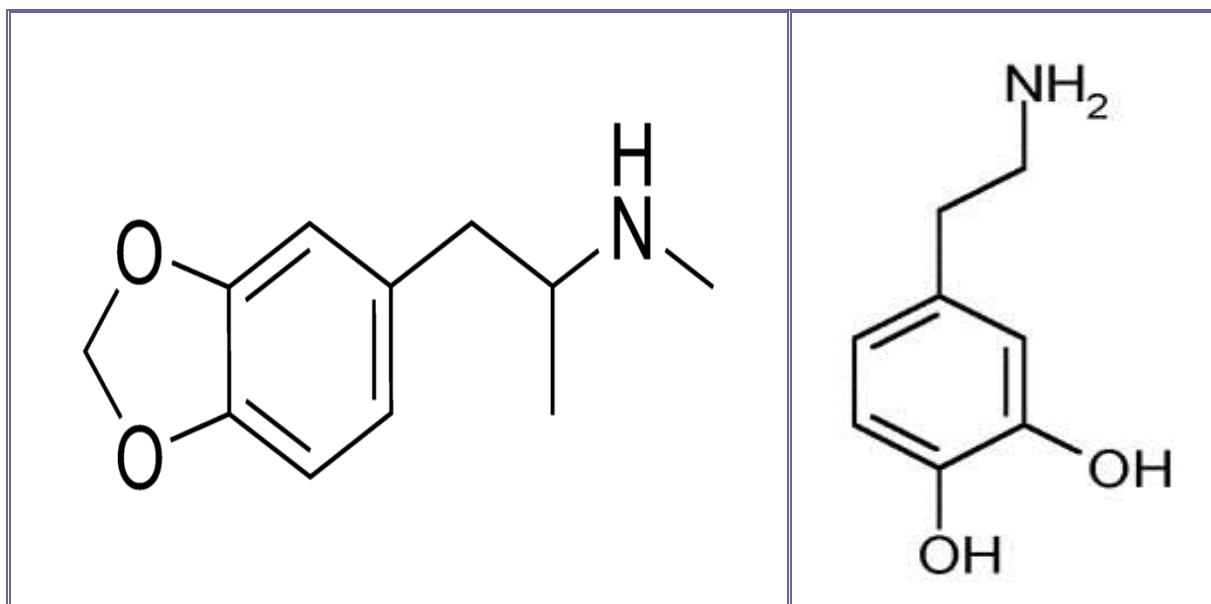
Εικόνα 2.3.7 Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Πιπεραζινο-1-Καρβοξαμιδίου, Κέντρο: Συντακτικός τύπος της 5,6,7,8-Τετραϋδρο-Πτεριδίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Πιπεραζίνης-3,2-Διθειόνης,  $C_4H_6N_2S_2$ , M.B.=146,233.

Η Τετραϋδροπτεριδίνη είναι ένα μέλος της κατηγορίας των πτεριδινών και συμμετέχει σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, που καταλύονται από το ένζυμο νιτρο-αναγωγάση (dihydropteridine reductase) και ενώ η ίδια οξειδώνεται σε Δι-υδροπτεριδίνη, η NAD ανάγεται ποσοτικά σε NADH, [Mann Frederick G., 2009].

### 2.3.6 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ

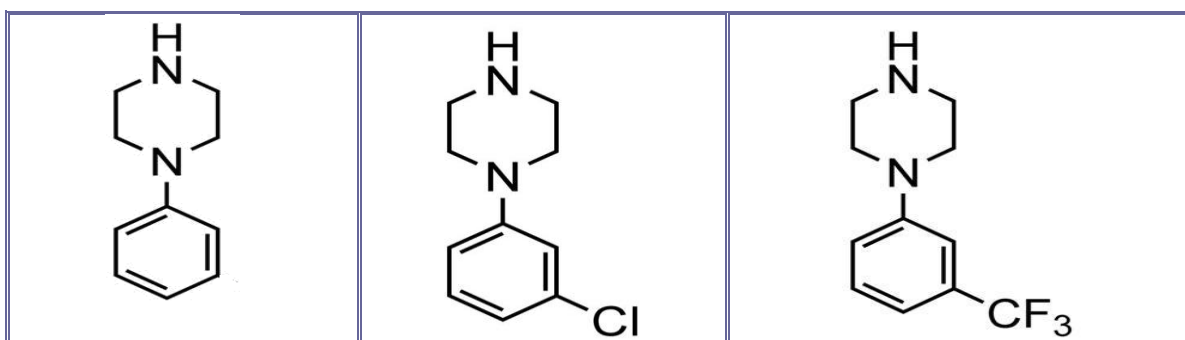
Η Πιπεραζίνη, ως Οxygan εισήχθη αρχικά ως ανθελμινθικό φάρμακο, το 1953. Ένας μεγάλος αριθμός πιπεραζινικών αλάτων και ενώσεων εμφανίζουν ισχυρή ανθελμινθική δράση. Ο τρόπος δράσης τους επικεντρώνεται γενικά στην παράλυση των παρασίτων ελμίνθων, η οποία επιτρέπει στο σώμα των θηλαστικών να αποβάλλουν τον εισβολέα οργανισμό, απ' τον εντερικό σωλήνα. Η πιπεραζίνη βιομετασχηματίζεται, εντός του οργανισμού και το 25% περίπου μεταβολίζεται στο ήπαρ. Επιφέρει δέσμευση πρωτεϊνών: 60-70%. Τα διάφορα νιτροδο-παράγωγα της πιπεραζίνης, εντός του γαστρικού υγρού σχηματίζουν την N-μονο-νιτροδο-πιπεραζίνη (MNPz), η οποία στη συνέχεια μεταβολίζεται σε N-νιτροζο-3-υδροξυπυρρολιδίνη (NHPYR). Εκ των διαφόρων μορφών δοσολογίας διακρίνεται το διάλυμα Vermidol: σε πόσιμες σταγόνες σιρωπιώδους υγρού. Εκτεταμένη μελέτη ανασκόπησης των φαρμακολογικών ιδιοτήτων της πιπεραζίνης, επί των μαλακών, των καρδιακών και των σκελετικών μυών, των θηλαστικών, αποτελεί το άρθρο [Mason P.A., 1972]. Τα νευρομυϊκά αποτελέσματα προκαλούνται πιθανά με τον αποκλεισμό της ακετυλοχολίνης, στις νευρομυϊκές συνδέσεις. Αυτή η δράση προκύπτει από τα αποτελέσματα των ανταγωνιστών, πάνω στον ανασταλτικό υποδοχέα GABA (6α-αμινοβουτυρικό οξύ). Η επιλεκτικότητά της για τους παρασιτικούς σκώληκες βασίζεται στο γεγονός ότι τα σπονδυλωτά χρησιμοποιούν μόνο GABA στο ΚΝΣ, ενώ οι αντίστοιχοι υποδοχείς GABA των παρασιτικών σκωλήκων έχουν ένα διαφορετικό ισότυπο, από εκείνο

των σπονδυλωτών. Τα ανθελμινθικά φαρμακευτικά σκευάσματα περιέχουν κυρίως ένυδρη πιπεραζίνη, καθώς και το κιτρικό άλας αυτής, για την εκδίωξη ή την θανάτωση παρασιτικών ζουφίων του γαστροεντερικού συστήματος. Οι πιπεραζίνες και πολλά παράγωγα προϊόντα χρησιμοποιούνται ως αντιψυχωτικά, αντιρρευματικά, αντιστηθαγικά, αντικαταθλιπτικά, αναζωογονητικά, αντισταμινικά, ουρολογικά, ανθελμινθικά και ως πολλά άλλα γεωργικά φυτοφάρμακα, κτηνιατρικά ανθελμινθικά και διάφορα παρασιτοκτόνα και εντομοκτόνα φάρμακα.



Εικόνα 2.3.8 Αριστερά: Συντακτικός τύπος της (Ecstasy ή MDMA) ή Βενζο-[d]-[1,3]-διοξολ-5-υλο)-N-μεθυλο-προπαν-2-αμίνης, με ψυχοδραστική δόση: 75-125mg. Δεξιά: Συντακτικός τύπος της (Ντοπαμίνης), ή 4-(2-Αμινοαιθυλο)-βενζολο-1,2-διόλης.

Την τελευταία μάλιστα δεκαετία γίνονται έρευνες, με βάση τις πιπεραζίνες, που στοχεύουν σε μια νέα κατηγορία συνθετικών ευφραντικών δισκίων (χαπιών), για την ψυχαγωγία, την διασκέδαση και την ευφορία, σε αντικατάσταση της μεγάλης κατηγορίας των αμφεταμινών του τύπου "**Ecstasy**".



Εικόνα 2.3.9 Αριστερά: Συντακτικός τύπος της (BZP) ή 1-Βενζυλο-πιπεραζίνης, με συνήθη ψυχοδραστική δόση 70-150mg. Κέντρο: Συντακτικός τύπος της (MCPP) ή 1-(3-Χλωροφαινυλο)-πιπεραζίνης, με συνήθη ψυχοδραστική δόση 90-110mg και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της (TFMPP) ή 3-Τριφθορο-μεθυλο-φαινυλο-πιπεραζίνης, με ψυχοδραστική δόση 25-100mg.

Όλα τα φάρμακα αυτά περιέχουν τον πιπεραζινικό δακτύλιο, ως ένα τμήμα της μοριακής δομής των. Στην παραπάνω εικόνα παρατίθενται οι συντακτικοί μοριακοί τύποι, τριών ψυχοδραστικών χημικών ενώσεων: **α)**- του πρωτογενούς πιπεραζινικού ψυχοδραστικού

παραγώγου, 1-βενζυλοπιπεραζίνης (BZP), **β**- του διοξυμεθαμφεταμινικού αντικαταθλιπτικού παραγώγου βενζο-[d]-[1,3]-διοξολ-5-υλ)-N-μεθυλοπροπαν-2-αμίνης, (MDMA, Ecstasy) και της **γ**-κατεχολαμινικής, μονοαμινικής ορμόνης 4-(2-aminoethyl)-benzene-1,2-diol, (νευροδιαβιβαστής ντοπαμίνη), για την συγκριτική ανάγνωση πιθανών μοριακών συσχετίσεων. Μια ομάδα ενώσεων που αποτελείται από παράγωγα πιπεραζίνης έχουν αναπτυχθεί και διατίθενται ως ψυχοδραστικά παραισθησιογόνα, με αντιλαταθλιπτικές και τονωτικές ιδιότητες. Αν και έχουν καθαρά χημική συνθετική προέλευση, εν τούτοις αποκαλούνται "**φυτικά ψυχοτρόπα**" και χορηγούνται σε κάψουλες και δισκία ελκυστικής διακόσμησης. Τα ευχάριστα συναισθήματα της διέγερσης, ευφορίας, εγρήγορσης και ευεξίας, συνήθως διαδέχονται οι παρενέργειες όπως, έμετος, πόνος στο στομάχι, σπασμοί, ανωμαλίες στον καρδιακό ρυθμό, διάρροια και αλλεργικές αντιδράσεις.

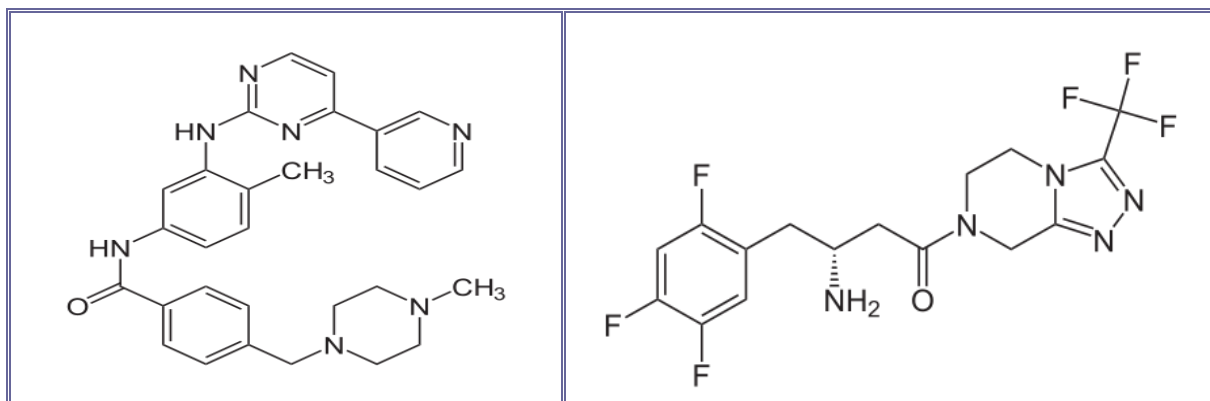
**Πίνακας 2.3.2: Τα κυριότερα φαρμακευτικά σκευάσματα, που περιέχουν τον πιπεραζινικό δακτύλιο, όπως είναι γνωστά με τα εμπορικά τους ονόματα.**

Αντιστηθαγγικά (Antianginals)	Ranolazine, Trimetazidine
Αντικαταθλιπτικά (Antidepressants)	Amoxapine, Befuraline, Buspirone, Flesinoxan, Gepirone, Ipsapirone, Nefazodone, Piberaline, Tansospirone, Trazodone, Vilazodone, Zalospirone
Αντιισταμινικά (Antihistamines)	Bucizine, Meclozine, Cinnarizine, Cyclizine, Hydroxyzine, Cetirizine, Levocetirizine, Niaprazine.
Αντιψυχωτικά (Antipsychotics)	Typical, Fluphenazine, Perphenazine, Trifluoperazine, Prochlorperazine, Thiothixene, Flupentixol, Zuclopendixol, Atypical, Amperozide, Aripiprazole, Lurasidone, Clozapine, Olanzapine, Perospirone, Ziprasidone
Αναζωογονητικά φάρμακα (Recreational Drugs)	4-Bromo-2,5-dimethoxy-1-benzylpiperazine (2C-B-BZP), 1-benzylpiperazine (BZP), <u>2,3-Dichlorophenylpiperazine</u> (DCPP), 1,4-Dibenzylpiperazine (DBZP), 4-Methyl-1-benzylpiperazine (MBZP), 3-Chlorophenylpiperazine (mCPP), 4-Fluorophenylpiperazine (pFPP), 3-Trifluoromethylphenylpiperazine (TFMPP).
Ουρολογικά (Urologicals)	Sildenafil, Vardenafil
Διάφορα (Others)	6-Nitroquipazine, Antrafenine, Fipexide, Imatinib, Piperazine (itself), Quipazine

Η πλειοψηφία των ψυχοτροπικών αντικαταθλιπτικών ναρκωτικών έχει μια ιστορία ιατρικής χρήσης. Ωστόσο οι κάψουλες και τα δισκία που περιέχουν αυτές τις ουσίες, διατίθενται στην αγορά ημι-παράνομα, ως "χάπια φτιαξίματος" χρησιμοποιούνται ευρέως σε πολλές χώρες, προκαλώντας ελέγχους, ως προς την ασφάλειά τους και οδηγούν σε έρευνες και δημόσιες συζητήσεις, για την επιστημονική και νομοθετική αντιμετώπισή των. Τα συμπτώματα της υπερδοσολογίας περιλαμβάνουν κόπωση των μυών, επιληπτικές κρίσεις και δυσκολία στην αναπνοή, [de Boer D., et al, 2001]. **Η Σιταγλιπτίνη** με την εμπορική ονομασία Januvia, με μοριακό τύπο  $[C_{16}H_{15}F_6N_5O]$  και μοριακό βάρος=407,314 g/mol -στη μορφή του φωσφορικού της άλατος- χορηγείται ως αντι-υπεργλυκαιμικό-αντιδιαβητικό φάρμακο, της τάξης των διπεπτιδυλο- αναστολέων (DPP-4) της πεπτιδάσης-4. Αυτό το ενζυμο-παρεμποδιστικό φάρμακο, από μόνο του, ή με συνδυασμό άλλων συνεργικών ποσίων φαρμάκων, εφαρμόζεται στην αγωγή κατά του **διαβήτη τύπου Mellitus-2**. Τα κύρια βιοϊατρικά χαρακτηριστικά της είναι, βιοδιαθεσιμότητα 87%, πρωτεϊνική σύνδεση 38%, χρόνος ημίσειας ζωής 8 έως 14 ώρες και νεφρική απέκκριση (80%). Η ουσία

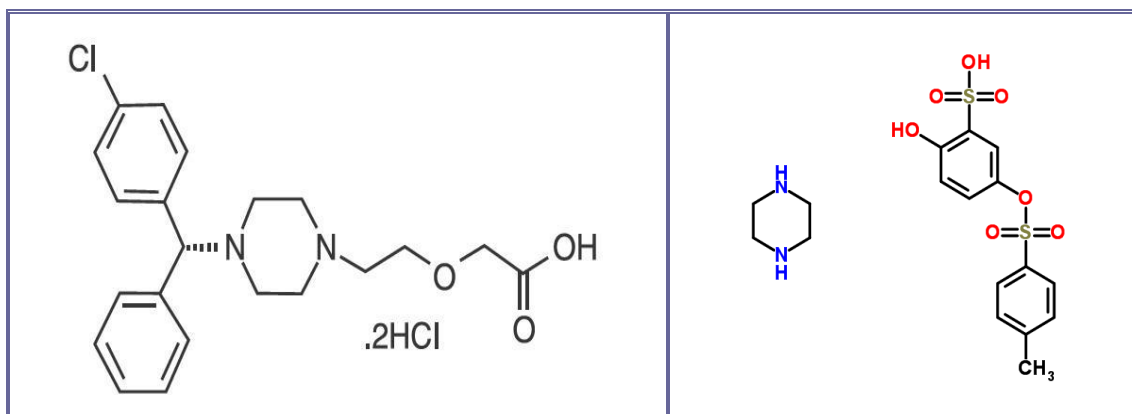


διακρίνεται για τις πολύ λιγότερες παρενέργειες που έχει, κατά την ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, [Herman G.A., et al, 2005]. Η **Ιματινιβή** (Imatinib, INN) ή 4-[(4-Methyl-Piperazin-1-yl)- Methyl]-N-(4-Methyl-3-{[4- (Pyridin-3-yl)- Pyrimidin-2-yl]- Amino}-Phenyl)-Benzamide έχει μοριακό τύπο  $[C_{29}H_{31}N_7O]$  και μοριακό βάρος= 493,603g/mol. Διατίθεται απ' την Novartis και χρησιμοποιείται στην στοχευμένη θεραπεία πολλαπλών μορφών καρκίνου και ιδίως της **χρόνιας μυελογενούς λευκαϊμίας**, ως ένας αναστολέας της τυροσινικής-κινάσης (BCR-Abl), εμποδίζοντας στην άμεση γειτονία του καρκίνου, την φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών και την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και προκαλώντας τον κυτταρικό τους θάνατο, μέσω απόπτωσης, [Novartis Pharma AG, 2003].



Εικόνα 2.3.10 Αριστερά: Το Αντικαρκινικό φάρμακο Imatinib, κατά της χρόνιας μυελογενούς λευκαϊμίας και Δεξιά: Το Αντιυπεργλυκαιμικό και αντιδιαβητικό φάρμακο Sitagliptin.

Η **Διυδροχλωρική λεβοκετριζίνη, XOZAL**, ή διυδροχλωρικό (R)-[2-[4-[(4-χλωροφαινυλο)- φαινυλομεθυλο]-1-πιπεραζινυλο]αιθοξυ]-οξικό οξύ, με CAS No=130018 -87-0, με μοριακό τύπο  $[C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3]$ , ή  $[C_{21}H_{25}Cl_3N_2O_3 \cdot 2HCl]$  και με μοριακό βάρος= 461,81 είναι μία λευκή κρυσταλλική σκόνη, με θεραπευτική χρήση, ως αντιβακτηριακός και **αντι-μολυσματικός** παράγων. Είναι ευδιάλυτη στο ύδωρ (23mg/mL) και την μεθανόλη.

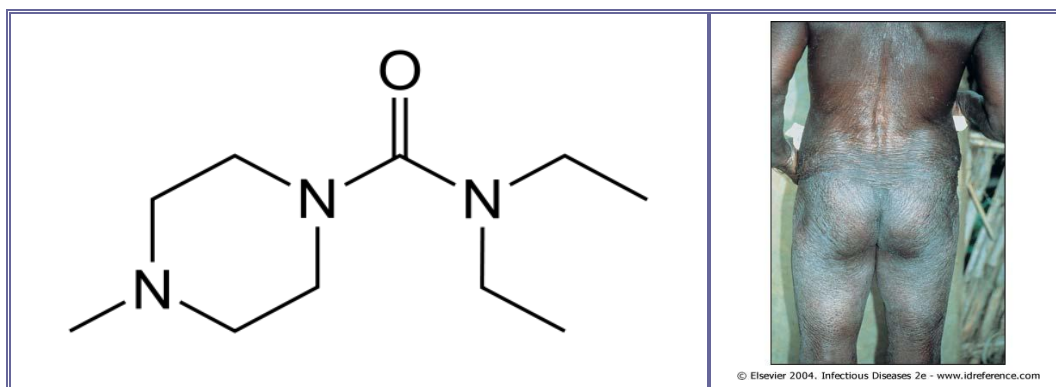


Εικόνα 2.3.11 Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Διυδροχλωρικής Λεβοκετριζίνης (Xozal) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της αντιλιπαιμικής Σουλφοσυλικής Πιπεραζίνης, (Mimetran).

Η δι-υδροχλωρική λεβοκετριζίνη είναι το (R)-εναντιομερές της ρακεμικής υδροχλωρικής κετριζίνης, ενός χημικού φαρμακευτικού σκευάσματος με αντισταμινικές ιδιότητες. Είναι το ενεργό συστατικό του εμπορικού σκευάσματος **Xozal**, που χορηγείται σε δισκία ή πόσιμο διάλυμα. Είναι ένα τρίτης γενεάς, μη εθιστικό αντισταμινικό, προερχόμενο από το (R)- ενεργό εναντιομερές της κετριζίνης. Είναι ένα μη καταπραυντικό αντισταμινικό και

ένας αναστολέας των H1-υποδοχέων της ισταμίνης, με υψηλή βιοδιαθεσιμότητα και υψηλή συγγένεια για και την πληρότητα του υποδοχέα H1. Δεν παρεμποδίζει πρακτικά την απελευθέρωση της ισταμίνης από τα μυικά κύτταρα (mast cells) αλλά την παρεμποδίζει από τη προσκόληση της πάνω στους υποδοχείς αυτής.

Στη συνέχεια αυτό παρεμποδίζει την απελευθέρωση άλλων αλλεργικών χημικών ουσιών, την αύξηση της παροχής του αίματος στην περιοχή και εξασφαλίζει ανακούφιση απ' τα συμπτώματα του Hayfever. Δεν εισέρχεται στον εγκέφαλο σε σημαντικές ποσότητες και συνεπώς δεν προκαλεί ζάλη. Φαίνεται ότι αναστέλλει και το άσθμα, ενώ ως παρενέργειες αναφέρονται η υπνηλία και η αίσθηση κοπώσεως σε μικρό βαθμό. Είναι **πολύ τοξικό σώμα για τους υδρόβιους οργανισμούς** και μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον, [Han Zhengxu, et al, 2003].

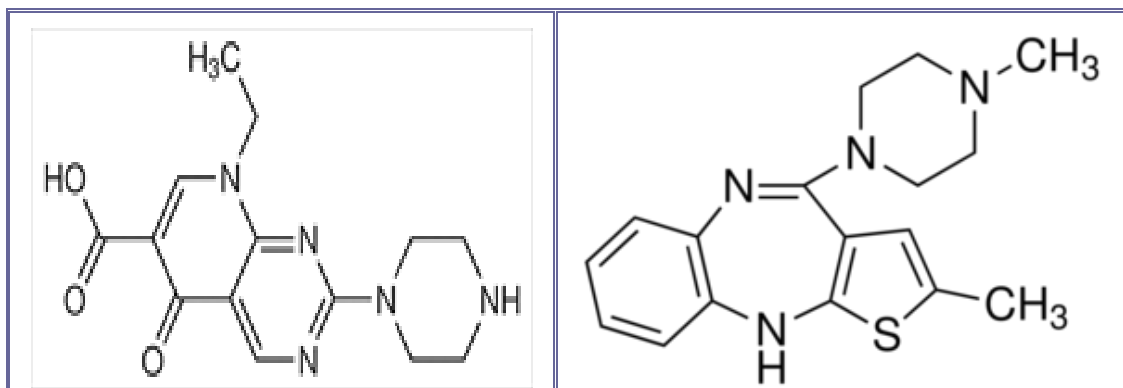


Εικόνα 2.3.12 Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Ισχυρού και Εκλεκτικού, Αντιπαρασιτικού, Αθελμινθικού, Αντιπαρασιτικού Φαρμάκου Diethylcarbamazine, κατά της Φιλαρίασης, Δεξιά: Η Κλινική Εικόνα της Πάθησης Φιλαρίασης.

**Διαθουλοκαρβαμαζίνη**, (N,N-diethyl-4-methyl-1-piperazine carboxamide), Diethylcarbamazine. Συνθετική οργανική ένωση, η οποία στη μορφή του κιτρικού άλατος είναι ένα εξόχως εξειδικευμένο ανθελμινθικό και αντιπαρασιτικό φάρμακο, κατά των Φιλαριάσεων. Είναι ομάδα νοσημάτων οφειλόμενα σε νηματώδεις σκώληκες της τάξης Filarioidea, εκ των οποίων 7 στελέχη ευθύνονται για τις ανθρώπινες λοιμώξεις. Εμφανίζουν συνήθως: **α)**- Ογκοκερκίαση, με κλινική εικόνα το ογκοκέρκωμα, τον έντονο κνησμό, τον τοπικό πόνο, την υδροκήλη και τους διογκωμένους λεμφαδένες, **β)**- διάφορες δερματικές εκδηλώσεις: Δέρμα δίκην σαύρας, δέρμα δίκην λεοπάρδαλης και **γ)**- Ιρίτιδα: Διήθηση του κερατοειδή από μικροφιλάριας, μείωση της όρασης και τύφλωση. Η διάγνωση εκτελείται με την ανεύρεση ωρίμων σκωλήκων στα ογκοκερκώματα και την απομόνωση μικροφιλαριών στο δέρμα. Χορήγηση 50mg διεθουλκαρβαμαζίνης προκαλεί έντονη δερματική αντίδραση στους πάσχοντες, παρόμοια ορονοσίας, [Terhell A.J., et al, 2003].

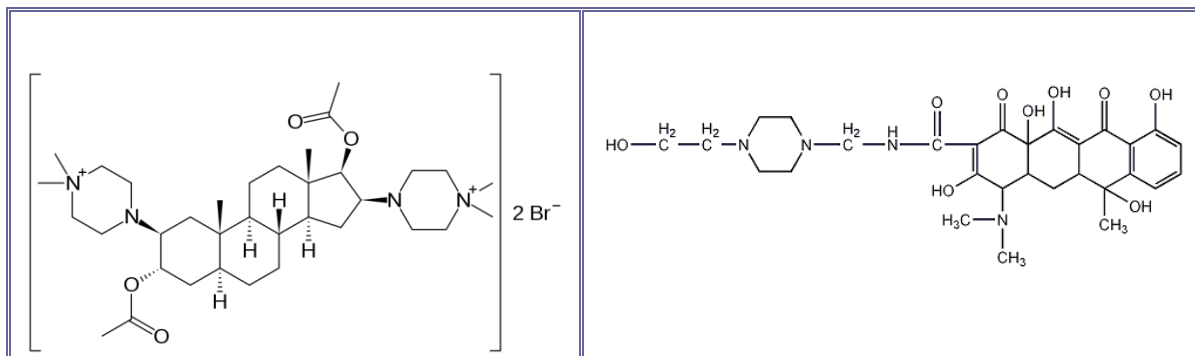
**Το Πιπεμιδικό Οξύ**, με μοριακό τύπο  $[C_{14}H_{17}N_5O_3]$  και  $M.B=303.32$  g/mol, ανήκει στην τάξη των αντιβακτηριακών πυριδο-πυριμιδινών, δεικνύει μια επικάλυψη στον μηχανισμό της φαρμακολογικής της δράσης, με ανάλογες κινολόνες που περιέχουν τον δακτύλιο της πυριδόνης. **Αντιφλεγμονώδες φάρμακο** του ουροποιητικού συστήματος, σε περιπτώσεις χρόνιων επιπλοκών από τα βακτήρια E. Coli, Proteus, Klebsiela, Pseudomonas Aeruginosa, Enterobacter, Citrobacter και Staphylococcus. Ενδείκνυται επίσης στην αντιμετώπιση των βακιλλογενών περιπτώσεων εντερίτιδος και δυσεντερίας. Πιστεύεται ότι

το πιπεμιδικό οξύ είναι ένας αναστολέας της DNA γυράσης (gyrase) και εμφανίζει ισχυρή αντιβακτηριακή δράση, παρουσία ορρού, πλάσματος, ερυθρών αιμοσφαιρίων και ηπαρίνης, σε ευρεία περιοχή οξύτητας, pH 5-9.



Εικόνα 2.3.13 Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Πιπεμιδικού Οξέος και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Ολανζαπίνης.

**Η Ολανζαπίνη**, (εμπορική ονομασία Zyprexa ή σε συνδυασμό με φλουοξετίνη Symbax) είναι ένα άτυπο **αντιψυχωσικό** φάρμακο, που εγκρίθηκε από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), για τη θεραπεία της σχιζοφρένειας και της διπολικής διαταραχής. Η ολανζαπίνη είναι δομικά παρόμοια με την κλοζαπίνη, αλλά κατατάσσεται στις θειενοβενζοδιαζεπίνες (thienobenzodiazepine). Τα συνθετικά σκευάσματα της ολανζαπίνης παρασκευάζονται και διατίθενται στο εμπόριο από την φαρμακευτική εταιρεία Eli Lilly Company.



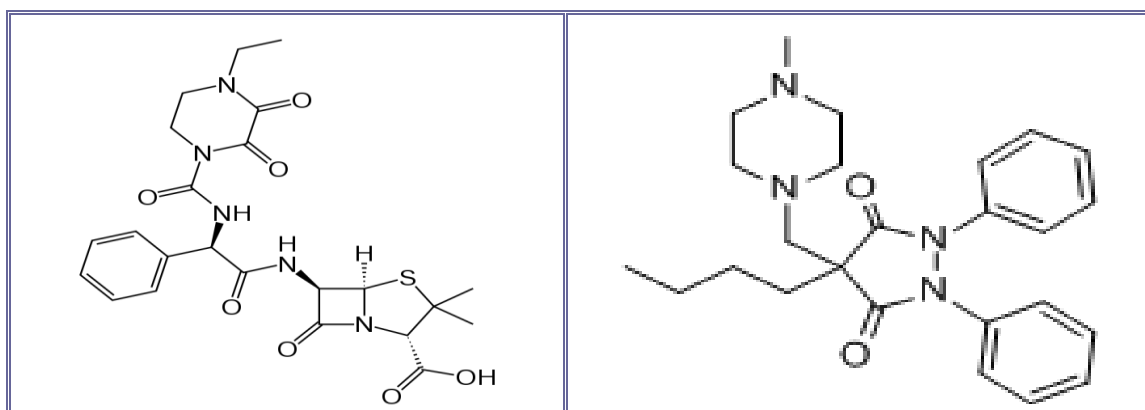
Εικόνα 2.3.14 Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Βρωμιούχου Πιπεκουρονίου και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Πιπακυκλίνης.

**Το Βρωμιούχο Πιπεκουρόνιο** (Arduan) όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα είναι ένα **ισχυρό νευρομυχαλαρωτικό** φάρμακο μακράς διάρκειας >90 minutes, κατάλληλο για πολύωρες χειρουργικές επεμβάσεις. Είναι ένας νικοτινικός ανταγωνιστής των ακετυλοχολινικών υποδοχέων και επιδρά μετά πάροδο 3 λεπτών, χορηγούμενο σε δόσεις της περιοχής 70- 100micrograms/kg, [Larijani G.E., et al, 1989].

**Η Πιπακυκλίνη** είναι ένα **ημι-συνθετικό αντιβιοτικό** μόριο, παράγωγο της τετρακυκλίνης, που χρησιμοποιείται σε παρεντερικές αντιβακτηριακές θεραπευτικές παρεμβάσεις και σε αγωγή φλεγμονωδών διαταραχών του δέρματος. Η εισαγωγή του μορίου της πιπεραζίνης βελτιώνει σημαντικά την βιοδιαθεσιμότητα, για το φάσμα δράσεως των τετρακυκλινών.

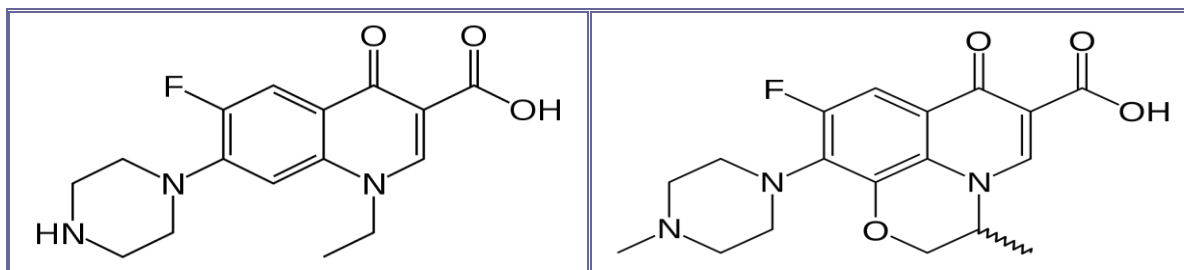
**Η Πιπερακιλλίνη** ανήκει στην τάξη των ουρειδο-πενικιλινών και είναι ένα **αντιβιοτικό ευρέως φάσματος**, τύπου β-λακτάμης, χρησιμοποιούμενο συνήθως με έναν αναστολέα της β-λακταμάσης, κυρίως ως σύστημα πιπερακιλλίνης-ταζοβακτάμης. Δεν απορροφάται στοματικά και γι'αυτό χορηγείται ενδοφλέβια ή ενδομυϊκά, εξασφαλίζοντας ισχυρή αντιβακτηριακή προστασία, [Lau W., et al., 2006].

**Η Πιπεμπουζόνη** (CAS Number: 27315-91-9) ή 4-Βουτυλο-4-((4-Μεθυλ-1-Πιπεραζινυλο)-Μεθυλο)-1,2- Διφαινυλ-3,5- Πυραζολιδινη- Διόνη, μοριακού τύπου:  $[C_{25}H_{32}N_4O_2]$ , Μ.Β.= 420,55 και Σ.Τ.=129°C. Έχει ειδικό βάρος=1,157g/cm<sup>3</sup>, Σ.Ζ.=530,6°C/760 mmHg, Δείκτη διάθλασης=1,583, Σημείο ανάφλεξης=208°C και τάση ατμών=2,43x10<sup>-11</sup>mmHg στους 25°C. Ανακρυσταλλώνεται από ισοπροπυλική αλκοόλη και αποτελεί φαρμακευτική πρώτη ύλη, για **μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη**, αντιπυρετικά και αναλγητικά σκευάσματα.



**Εικόνα 2.3.15** Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Πιπερακιλλίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Πιπεμπουζόνης.

**Οι Νορφλοξασίνες** είναι ισχυρά αντιβιοτικά φάρμακα, με αποτελεσματικότητα στην επιλεκτική εντερική απολύμανση με νορφλοξασίνη στην πρόληψη των βακτηριακών λοιμώξεων, βακτηριαιμίας, βακτηριακής περιτονίτιδος και των λοιμώξεων του ουροποιητικού, από αερόβια gram-αρνητικών βακίλλων, σε κίρρωτικούς ασθενείς, με γαστρεντερική αιμορραγία, [Soriano G., et al, 1992].



**Εικόνα 2.3.16** Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Νορφλοξασίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Οφλοξασίνης.

**Η Οφλοξασίνη** (Floxin) περιορίζεται στην αντιμετώπιση των αποδεδειγμένων σοβαρών και απειλητικών για τη ζωή **βακτηριακών λοιμώξεων** του ενήλικου πληθυσμού, όπως: οξεία βακτηριακή βρογχίτιδα, πνευμονία, λοιμώξεις του δέρματος, μη-γονοκοκκική ουρηθρίτιδα, τραχηλίτιδα και κυστίτιδα, οξεία φλεγμονώδης νόσος της πυέλου, περίπλοκες λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, (προστατίτιδα), μικτές λοιμώξεις

της ουρήθρας και του τραχήλου της μήτρας. Η οφλοξακίνη δεν έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στη θεραπεία της σύφιλης, [Ortho-McNeil-Janssen Pharmaceuticals, 2008].

### 2.3.7 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΟΡΓΑΝΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ

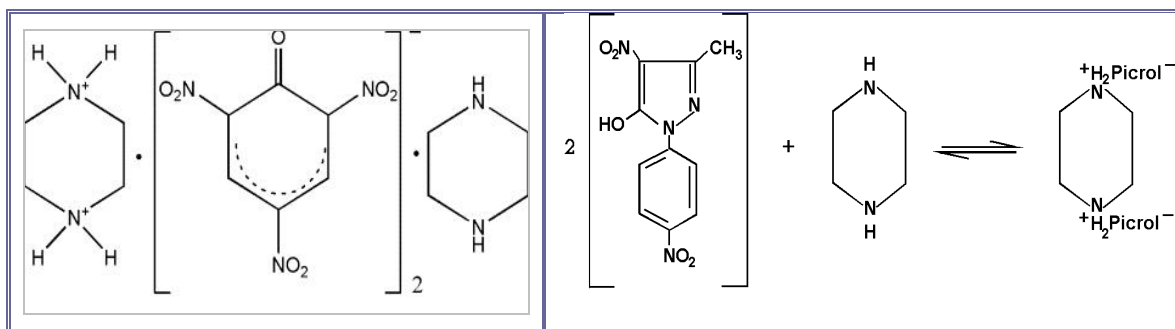
**Ηλεκτροκαταλυτική Αναγωγή.** Η πυραζίνη ανάγεται σε πιπεραζίνη ηλεκτροκαταλυτικά, πάνω σε μονοκρυσταλλικά μεταλλικά ηλεκτρόδια της ομάδος του χρυσού, Cu(111), Ag(111) και Au(111), σε ουδέτερο υδατικό περιβάλλον. Η ηλεκτροχημική αναγωγή πραγματοποιείται ευκολότερα και σε θετικότερα δυναμικά, σε σχέση από την αντίστοιχη της πυριδίνης και αυτό ερμηνεύεται από το γεγονός ότι η πυραζίνη διαθέτει χαμηλότερης ενέργειας κενά τροχιακά και ηυξημένη ηλεκτρονιακή συγγένεια, σε σύγκριση με την πυριδίνη. Εξ'άλλου η εξειδικευμένη αλληλεπίδραση του ύδατος με τα ηλεκτρόδια μονοκρυστάλλων, είναι υπεύθυνη για την ήπια ηλεκτροχημική-ηλεκτροκαταλυτική αναγωγή τέτοιων οργανικών μορίων, [Lazarescu V., et al, 2000].

**Σταθμική Μέθοδος Πικρικής Πιπεραζίνης,** (Piperazine-2,4,6-trinitrophenol, NSC99824, NSC-99824, 6091-39-0), έχει μοριακό τύπο:  $[C_{10}H_{13}N_5O_7]$  ή  $[(C_4H_{10}N_2) \cdot (C_6H_3N_3O_7)]$  και Μ. Β.=315,239. Η αντίδραση καταβύθισης της πιπεραζίνης με πικρικό και πικρολονικό οξύ είναι πλήρης και ποσοτική και γι'αυτό αμφότερα τα αντιδραστήρια αυτά χρησιμοποιούνται στον ποσοτικό σταθμικό προσδιορισμό αυτής. Παράγονται κίτρινα, μικρο-κρυσταλλικά ιζήματα, δυσδιάλυτα στο ύδωρ και ελαφρώς διαλυτά στην ψυχρή αιθανόλη. Εκπλύνονται και ξηραίνονται ευκόλως. Διαλύονται 0,20g δείγματος αδιπικής πιπεραζίνης σε 4ml θειικού οξέος 0,5mol/l και αραιώνονται με 10ml ύδατος. Εντός αυτού εισάγονται 100ml υδατικού διαλύματος τρινιτρο-φαινόλης 7g/l και το μίγμα θερμαίνεται σε υδρόλουτρο για 15'. Αφήνεται σε παραμονή και ψύξη για μίαν ώρα. Διηθείται μέσω προζυγισθέντος ηθμού G3, εκπλύνεται με το αντιδραστήριο καταβύθισης (10ml κάθε φορά), μέχρις αρνητικής θειικών ανιόντων. Τελικά εκπλύνεται τρις, με 10ml κάθε φορά απόλυτης και ψυχρής αιθανόλης και ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους στους 105°C. 1g εκ του ιζήματος αυτού είναι ισοδύναμο με 426,8mg αδιπικής πιπεραζίνης  $[(C_4H_{10}N_2) \cdot (C_6H_3N_3O_7)]$ .

**Σταθμική Μέθοδος Πικρολονικής Πιπεραζίνης,** Bis-[3-methyl-4-nitro-1-p-nitrophenyl-5-pyrazolone]-piperazine,  $[C_{10}H_8N_4O_5]$ , Μ.Β.=264,19. Το δυσδιάλυτο άλας της πιπεραζίνης με το οξύ αυτό συντέθηκε, ταυτοποιήθηκε και αναφέρθηκε στην βιβλιογραφία για πρώτη φορά, στην εργασία αυτήν. Έχει μοριακό τύπο  $[C_{24}H_{26}N_{10}O_{10}]$  ή  $[(C_{10}H_8N_4O_5)_2 \cdot (C_4H_{10}N_2)]$ , Μ.Β.=614,52 και Σ.Τ.=164,5°C. Είναι πρακτικά αδιάλυτο στο ψυχρό ύδωρ και τον αιθέρα. Διαλύεται ελαφρώς στην αιθανόλη, την ακετόνη και είναι μετρίως διαλυτό στην μεθανόλη. Αναπτύχθηκε μία σταθμική και μία φωτομετρική μέθοδος αναλυτικού προσδιορισμού της πιπεραζίνης σε διαλυτά δείγματα α)-της ελεύθερης βάσεως, β)-των διαλυτών αλάτων και γ)- των φαρμάκων αυτής, όπως το Oxycan.

Αμφότερες οι μέθοδοι βασίζονται στο 1/2 δυσδιάλυτο καναρινί-κίτρινο άλας της πιπεραζίνης με το πικρολονικό οξύ, σε περιβάλλον αραιού θειικού οξέος και παρουσιάζουν γραμμικότητα στην περιοχή:  $9,5 \times 10^{-6}$  -  $5,2 \times 10^{-5}$  mol/l πικρολονικών. Έχουν ικανοποιητικά επίπεδα σχετικού σφάλματος 1,2% και 1,7% αντιστοίχως και αποτελούν βελτίωση της

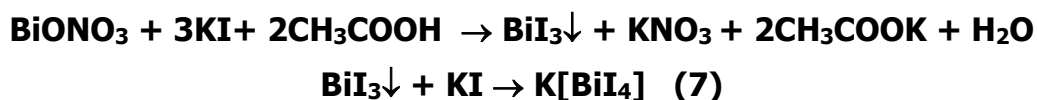
παλαιότερης σταθμικής μεθόδου με πικρικό οξύ, ως προς την ακρίβεια, την ευαισθησία και την εκλεκτικότητα.



Εικόνα 2.3.17 Η Πικρική και η Πικρολονική Πιπεραζίνη.

Οι δύο σταθμικές μέθοδοι έχουν ικανοποιητικό βαθμό συσχέτισης,  $r=0,998$ . Το άλας πικρολονικό πιπεραζίνιο έχει συντελεστή μοριακής απορρόφησης  $\epsilon_{\max}=18.770 \text{ l/mol}\cdot\text{cm}$  για μήκος κύματος  $\lambda_{\max}=342\text{--}345\text{nm}$ . Απομονώθηκαν εργαστηριακά τα άλατα πικρολονική τριαιθανολαμίνη και δις-οξική-πιπεραζίνη και ταυτοποιήθηκαν με τις αναφερθείσες μεθόδους, [Prodromidis M.I., Veltsistas P.G., 1994].

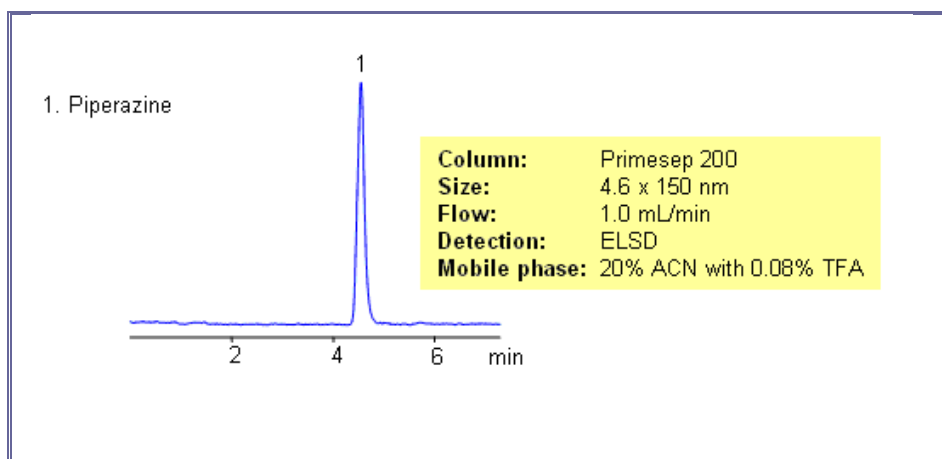
**N,N-Δις-(Τετραϊώδο-Βισμούθιο)-Πιπεραζίνη** αποτελεί και ασφαλή μέθοδο ταυτοποίησης της Πιπεραζίνης, στα ανθρώπινα ούρα. Από ελαφρώς οξινισθέντα με HCl ή με CH<sub>3</sub>COOH διαλύματα, της ελεύθερης βάσεως της πιπεραζίνης και με προσθήκη πορτοκαλλόχρωμου διαλύματος του άλατος K[BiI<sub>4</sub>], λαμβάνει χώρα αθρόα αποβολή και καταβύθιση λεπτο-κρυσταλλικού, δυσδιαλύτου ιζήματος, χρώματος άλικου ερυθρού (scarlet-red), του διπλού άλατος της πιπεραζίνης και των τετρα-ιοδοβισμούθικών ανιόντων (1/2), με μοριακό τύπο [(C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>)·(HBiI<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] και M.B.=1521,13. Σχηματίζει μικροσκοπικές ράβδους ή τετραγωνικές πλάκες και είναι πρακτικά αδιάλυτο στο ύδωρ, το υδροχλωρικό οξύ, την αιθανόλη και τον αιθέρα.



**Παρασκευή του εκλεκτικού αντιδραστήριου:** Παρασκευάζονται δύο ανεξάρτητα διαλύματα: **A-** Διαλύονται 8g KI σε 20ml απ.ύδατος, **B-** 0,85g BiONO<sub>3</sub> διαλύονται σε μικτό διαλύτη CH<sub>3</sub>COOH glacial/H<sub>2</sub>O (10ml/40ml). Το διάλυμα A εισάγεται αργά και υπό ανάδευση στο διάλυμα B, οπότε αρχικά αποβάλλεται μέλαν τριωδιούχο βισμούθιο. Το ίζημα σταδιακά διαλυτοποιείται προς βαθύ πορτοκαλλέρυθρο διάλυμα, λόγω συμπλοκοποίησης, σύμφωνα με τις δύο παραπάνω αντιδράσεις. Η αντίδραση καθιζήσεως αυτών των αλάτων-ιονικών ζευγών είναι μία από τις πλέον χαρακτηριστικές αντιδράσεις της πιπεραζίνης, των υπολοίπων βιογενικών αμινών, καθώς και όλων των αλκαλοειδών βάσεων, με βάση το σημείο τήξεως των τετραϊώδοβισμούθικών αλάτων των πολυαμινών αυτών, δεδομένου ότι αυτό αποτελεί χαρακτηριστική σταθερά για κάθε μία απ' τις αμίνες αυτές. Με την αντίδραση αυτή ανιχνεύεται η παρουσία της πιπεραζίνης στα ανθρώπινα ούρα, [Berisso Benjamin, 1962]. Οι Σταθερές Ιονισμού pK<sub>a</sub> των συζυγών οξέων, μερικών πιπεραζινών έχουν μελετηθεί με την μέθοδο των ποτενσιομετρικών ογκομετρήσεων, σε

θερμοκρασίες 298, 303, 313 και 323°K. Υπολογίσθηκαν τα θερμοδυναμικά μεγέθη  $\Delta H^\circ$  and  $\Delta S^\circ$ , για τις πορείες διαστάσεως, με την χρήση της εξίσωσης van't Hoff. Προτείνεται μία συσχέτιση της μεταβολής των  $pK_a$ , συναρτήσει της προσθήκης διαφόρων ομάδων υποκαταστατών, στο βασικό μόριο της πιπεραζίνης, [Khalili Farhad, et al, 2009].

**Σταθμική Μέθοδος Δινιτρωδοπιπεραζίνης.** Ποσότητας του αγνώστου δείγματος πιπεραζίνης 200mg, διαλυτοποιείται εντός 5mL υδροχλωρικού οξέος 3N και εντός αυτού εισάγεται αργά και στάγδην 1mL διαλύματος νιτρώδους νατρίου (1 προς 2), υπό συνεχή ανάδευση. Το σύστημα ψύχεται εντός παγολούτρου επί 15 minutes και η ανάδευση συνεχίζεται, οπότε σταδιακά αποχωρίζεται υποκίτρινο κρυσταλλικό ίζημα. Μετά την συμπλήρωση της καταβύθισης το ίζημα διηθείται μέσω προζυγισθέντος, πορώδους ηθμού πορσελάνης Gooch No 3, εκπλύνεται με 10mL ψυχρού ύδατος (τρεις) και ξηραίνεται εντός πυριαντηρίου στους 105°C, επί μίαν ώρα, μέχρι σταθερού βάρους. Η ληφθείσα N,N-dinitroso-piperazine τήκεται στην περιοχή 156° έως 160°C. Μία μέθοδος HPLC αναπτύχθηκε, για την ταυτόχρονη ανάλυση των N-νιτρωδο- και N,N'-δινιτρωδο-πιπεραζινικών παραγώγων.

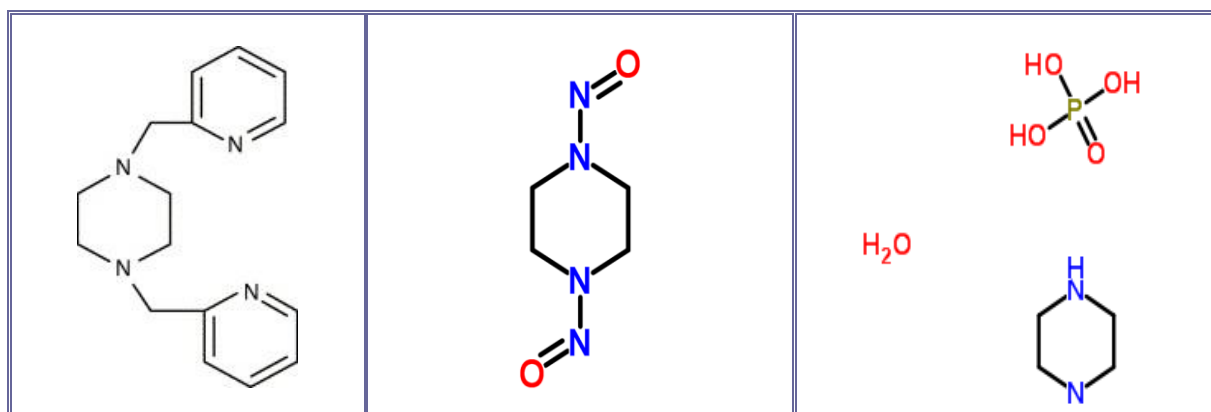


**Εικόνα 2.3.18** Χρωματογράφημα κατακράτησης της πιπεραζίνης, μέσω της στήλης Primesep Column 200, της SIELC Technologies .

Εφαρμόσθηκε στον **αναλυτικό προσδιορισμό αυτών των τοξικών ουσιών**, που σχηματίζονται in vitro στον σίελο του ανθρώπου και in vivo στον στόμαχο των επίμυων, [Rao G.S., 1977] και [Walters C.L., et al "Separation and Detection of Volatile and Non-Volatile N-Nitrosamines", Analyst, 1970] και [Walters C.L., et al, "Determination of a Non Volatile N-Nitrosamine on a Food Matrix", Analyst, 1978] και [Ruddell W.S.J., et al, "Gastric-Juice Nitrite: A Risk Factor for Cancer in the Hypochlorhydric Stomach", The Lancet, 1976]. Από την SIELC Technologies αναπτύχθηκε και προτάθηκε μία νέα χρωματογραφική ασθενώς κατιονανταλλακτική στήλη, Primesep Column 200, κατάλληλη για αποτελεσματικές, χρωματογραφικές μεθόδους, αναστροφής φάσεως, αναλυτικού προσδιορισμού ελεύθερης πιπεραζίνης και άλλων υδροφιλικών οργανικών ενώσεων, σε βιολογικά υγρά, σε απόβλητα υγρά, σε μίγματα αντιδράσεων και σε διάφορα σκευάσματα, [SIELC Technologies, 2012]. Αναπτύχθηκε και προτάθηκε μία **χρωματογραφική μέθοδος (HPLC-MS)**, για τον επιτυχή αναλυτικό διαχωρισμό και προσδιορισμό της πιπεραζίνης και μερικών ψυχοτρόπων, διεργεργετικών φαρμακευτικών παραγώγων της (legal

high), όπως 1-benzyl-piperazine (BZP), 1-(3-chloro-phenyl)-piperazine (mCPP), N-(3-methyl-benzyl)-piperazine (MeBP), 1-(2-methoxy-phenyl)-piperazine (MeOPP), 1-methyl-3-phenyl-piperazine (MeP) and 1-(3-trifluoro-methyl-phenyl)-piperazine (TFMPP). Η μέθοδος λειτουργεί ικανοποιητικά με σφάλμα ακρίβειας και επαναληπτικότητας κάτω του 4%, για την κατώτερη γραμμική περιοχή λειτουργίας της και των ορίων ποσοτικοποίησης αυτής (LOQ), από 0,125mg/ml, μέχρι 0,5mg/ml, [Byrska Bogumila, et al, 2010]. **Αναπτύχθηκε μια πρόσφατη Χρωματογραφική Μέθοδος** HPLC-UV, αναλυτικού προσδιορισμού ελεύθερης πιπεραζίνης, που βασίζεται στην σύνθεση ενός σταθερού φθορίζοντος παραγώγου αυτής, με τη χρήση της ουσίας 4-chloro-7-nitrobenzofuran, για τον προσδιορισμό μικροποσοτήτων πιπεραζίνης, σε φαρμακευτικά σκευάσματα. Η αντίδραση είναι στοιχειομετρική, ήπια και ποσοτική, χωρίς παρεμποδίσεις, από διάφορα έκδοχα. Η μέθοδος παρουσιάζει ικανοποιητική ακρίβεια, ευαισθησία, επαναληπτικότητα, γραμμικότητα και σταθερότητα, στην περιοχή 30 έως 350 ppm πιπεραζίνης, [Navaneeswari R., et al, "Analytical Method for Piperazine in an Active Pharmaceutical Ingredient Using Chemical Derivatization and HPLC-UV", 2012]. Και διάφοροι άλλες ενόργανες μέθοδοι έχουν εισαχθεί στην βιβλιογραφία, για τον ποσοτικό προσδιορισμό της πιπεραζίνης, [McLean J.D., 1971] και [Mohn L.J., 1965].

**Ογκομετρικές Μέθοδοι σε μη Υδατικό Περιβάλλον.** Για τον αναλυτικό προσδιορισμό της καθαρότητας ενός φαρμακευτικού σκευάσματος κιτρικής πιπεραζίνης, ποσότητας 200mg του αγνώστου δείγματος, διαλυτοποιείται εντός 100ml παγομόρφου οξικού οξέος και θερμαίνεται ελαφρώς μέχρις πλήρους διαλυτοποίησεως. Εισάγονται 5 σταγόνες δείκτη κρυσταλλικού ιώδους (crystal violet) και ογκομετρούμε με πρότυπο διάλυμα 0,10N υπερχλωρικού οξέος. Εκτελείται οπωσδήποτε και τυφλός προσδιορισμός, για τις κατάλληλες διορθώσεις. Κάθε ml προτύπου οξέος 0,10N ισοδυναμεί με 10,71mg of  $[(C_4H_{10}N_2)_3 \cdot 2C_6H_8O_7]$ .



**Εικόνα 2.3.19 Τα μόρια της Bis(2-pyridylmethyl)-1,4-piperazine, της 1,4-Dinitrosopiperazine και της Piperazine phosphate.**

Παρεμφερής είναι ο μη-υδατικός ογκομετρικός προσδιορισμός της πιπεραζίνης σε διαλύματα CH<sub>3</sub>COOH glacial, που περιέχουν 1,1,4,4-tetramethyl-piperazinium diiodide, θειαμίνη και πυριδοξίνη, με τιτλοδότη πρότυπο διάλυμα υπερχλωρικού οξέος και με δείκτες 1-naphtholbenzein ή πράσινο της βρωμοφαινόλης, [Kondos G.C., 1977], [European Pharmacopoeia, 1985] και [British Pharmacopoeia, 1980]. Επίσης έχει αναφερθεί και ο

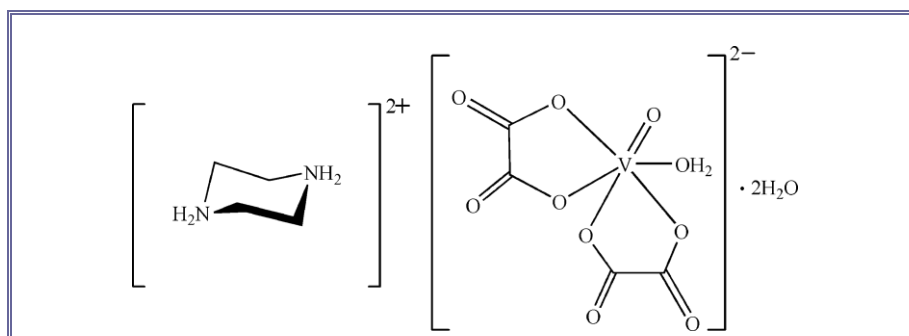


σταθμικός προσδιορισμός της πιπεραζίνης, στη μορφή της διακετυλο-πιπεραζίνης, [Pharmacopoeia of Japan, 1971] και [United States Pharmacopoeia XXIII, 1995]. **Τρία σύμπλοκα της πιπεραζίνης με τα δύο Αλατα του Υδραργύρου (II)**,  $Hg(CF_3)_2$ ,  $Hg(SCN)_2$ , συντέθηκαν από υδρο-αλκοολικά διαλύματα σε μορφή μονο-κρυστάλλων. Η δομή αυτών των αλάτων διαλευκάνθηκε με ανάλυση περίθλασης ακτίνων-Χ, α)-  $[Hg(CF_3)_2 \cdot (Pip)]$  (monoclinic, C2/c), β)-  $[Hg(SCN)_2 \cdot (Pip)]$  (tetragonal,  $P4_2/n$ cm) και  $[(Hg(SCN)_2)_2 \cdot (Pip)]$  (triclinic). Δημιουργούνται αλυσσίδες zig-zag, με γέφυρες τα μόρια της πιπεραζίνης, [Nolte Matthias, et al, 2005]. Ένα νέο Διπυρηνικό Σύμπλοκο άλας παρασκευάστηκε με την αντίδραση του υποκαταστάτη **Bis(2-pyridylmethyl)-1,4- piperazine, με τριχλωριούχο σίδηρο  $[Fe(OH)_6]Cl_3$** , μέσα σε ακετονιτρίλιο. Η ένωση χαρακτηρίστηκε φασματοσκοπικά, ηλεκτροχημικά και με ανάλυση ακτίνων-Χ. Μελετήθηκε η καταλυτική δράση του συμπλόκου αυτού πάνω στην οξειδωτική μετατροπή του κυκλοεξανίου, με το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα προϊόντα ταυτοποιήθηκαν με αέρια χρωματογραφία. Ελήφθησαν συνολικές αποδόσεις μετατροπής 19,2% και η καταλυτική δράση του συμπλόκου αποδόθηκε σε βιομιμητική λειτουργία, ανάλογη της μονο-οξυγεννάσης του μεθανίου, [Esmelindro Maria Carolina, et al, 2005].

**Φωτομετρικός Προσδιορισμός.** Αναφέρθηκε ο φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της ελεύθερης πιπεραζίνης, με βάση τον σχηματισμό του εγχρώμου συμπλόκου άλατος αυτής, με το άλας Reinecke σε ουδέτερη, ή ελαφρώς όξινη περιοχή. Το δυσδιάλυτο σύμπλοκο φυγοκεντρείται, διαλυτοποιείται σε ακετόνη και φωτομετρείται στα 530nm. Η μέθοδος είναι ακριβής και εμφανίζει γραμμικότητα στην περιοχή 25mg έως 500mg πιπεραζίνης. Με την μέθοδο αυτή αναλύονται δείγματα πιπεραζίνης σε εκχυλίσματα βιολογικών σκευασμάτων, εντός τριχλωρο-οξικού οξέος, [Sasi P.K., 1976]. Μία ευαίσθητη και ταχεία μέθοδος **φασματοφωτομετρικού προσδιορισμού πιπεραζίνης** σε φαρμακευτικά σκευάσματα αναπτύχθηκε, με βάση την αντίδραση αλκαλικών υδατικών διαλυμάτων αυτής, με τις 2,3,5,6-τετραχλωρο- και 2,3,5,6-τετραβρωμο-βενζοκινόνες, σε χλωροφορμικό διαλύτη και με μέγιστο απορροφήσεως στα 575nm. Τα σύμπλοκα μεταφοράς φορτίου αναπτύσσονται εντός 15' και παραμένουν σταθερά για 36 ώρες. Η γραμμική κατά Beer περιοχή είναι 7 έως 70  $\mu\text{g/ml}$  πιπεραζίνης και η ευαισθησία Sandell 0,076 to 0,078  $\mu\text{g/cm}^2$ . Τα αναλυτικά αποτελέσματα είναι σε ικανοποιητική συμφωνία, με τα αντίστοιχα της Βρετανικής Φαρμακοποιείας. Παρεμποδίζουν ισχυρά η πιπεριδίνη και Ν-μεθυλο-πιπεραζίνη. Η μέθοδος δεν εμφανίζει σοβαρές παρεμποδίσεις από την πυριδίνη, πυραζίνη, 2,5-διμεθυλοπιπεραζίνη, τριαιθανολαμίνη και αιθυλενοδιαμίνη, σε περιοχές περιόσεως αυτών 5-30%, [Muralikrishna U., 1984]. **Αναπτύχθηκε Φασματοφωτομετρική Μέθοδος** αναλυτικού προσδιορισμού της πιπεραζίνης, σε φαρμακευτικά σκευάσματα πόσιμης κιτρικής πιπεραζίνης (σιρόπια). Η μέθοδος βασίζεται στην αντίδραση σχηματισμού του υδατοδιαλυτού, μοριακού συμπλόκου της πιπεραζίνης με το κυανού της βρωμοθυμόλης. Το σύμπλοκο εκχυλίζεται ποσοτικά με χλωροφόρμιο και φωτομετρείται. Η μέθοδος είναι ακριβής και ταχεία, αφού απαιτεί μόνον 15' σε σύγκριση με την επίσημη αναλυτική μέθοδο της USP, η οποία απαιτεί 5 ώρες, [Gupta Das V., 1976]. Μία **Συμπλοκομετρική Μέθοδος** προσδιορισμού της πιπεραζίνης, στη μορφή των θειοκυανιούχων συμπλόκων του χρωμίου ( $Cr^{3+}$ ), έχει αναφερθεί στην βιβλιογραφία, [Ganescu I.,

1970]. Αναπτύχθηκε νέα **Ποτενσιομετρική Μέθοδος** αναλυτικού προσδιορισμού πικρολονικών ανιόντων, κατιόντων ασβεστίου και ελεύθερης πιπεραζίνης. Κατασκευάστηκε ένα εκλεκτικό ηλεκτρόδιο πικρολονικών ανιόντων υγρού ιονανταλλάκτη, με βάση την ηλεκτρενεργή ουσία tris(phenanthroline)-Fe(II)- picrolonate salt, το άλας της φερροΐνης με πικρολονικά ανιόντα, σε διάλυμα εντός 2-νιτροτολουολίου και με βάση την υδρόφοβη μεμβράνη Teflon GVHP της Millipore. Το ηλεκτρόδιο αποκρίνεται γραμμικά στα πικρολονικά ιόντα στην περιοχή συγκεντρώσεων  $2 \times 10^{-5}$  έως  $1 \times 10^{-2}$  mol/l και σε περιοχή οξύτητας pH 3-10, με μόνες παρεμποδίσεις τα πικρικά, τα 4-νιτροφαινολικά, τα 3,5- δινιτροσαλικυλικά και τα 2,4-δινιτροφαινολικά ανιόντα. Αναπτύχθηκε επίσης μία έμμεση μέθοδος προσδιορισμού κατιόντων Ca(II) στις περιοχές 4-24 και 50-90mg/l και μία έμμεση μέθοδος προσδιορισμού πιπεραζίνης, στις περιοχές 1-10 και 13-20mg. Προσδιορίστηκαν αναλυτικά αυτά τα ενεργά συστατικά, σε διάφορα φαρμακευτικά προϊόντα και σε ορούς αίματος, με μέσο σχετικό σφάλμα 1,2% και σχετική τυπική απόκλιση 0,1%, [Veltsistas P.G., et al, 1994].

**Βαναδικά και Πολυβαναδικά Σύμπλοκα της Βιβλιογραφίας.** Θεωρούμε σκόπιμο να παραθέσουμε στο εδάφιο αυτό τις βιβλιογραφικές εργασίες, που αναφέρονται στην σύνθεση, στον χαρακτηρισμό και στην ταυτοποίηση μονο- και διπυρηνικών συμπλόκων ενώσεων της οικογενείας των πυραζινών-πιπεραζινών, με διάφορα μεταλλικά στοιχεία μεταπτώσεως και οπωσδήποτε με πολύ-βαναδικές ομάδες, αφού ανάλογες ομάδες βαναδίου εντάσσονται και στα σύμπλοκα άλατα, που παρουσιάζει η παρούσα διατριβή



**Εικόνα 2.3.20 Ο Συντακτικός τύπος της Διένυδρης Δις-(Οξαλατο)-μονο-(Υδατο)-Οξοβαναδική Πιπεραζίνης.**

Έχει αναφερθεί η ήπια υδροθερμική σύνθεση, στους 170°C και υπό αυτογενή πίεση, δύο νέων συμπλόκων του Νικελίου  $[\text{Ni}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2)(\text{V}_4\text{O}_{12})(\text{H}_2\text{O})_2]$  και  $[\text{Ni}_3(\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2)_3(\text{V}_8\text{O}_{23})]$ , με πυραζίνη και πολυβαναδικές τετραεδρικές ομάδες (cluster),  $(\text{V}_4\text{O}_{12}^{4-})$  και  $(\text{V}_8\text{O}_{23}^{6-})$ , ως αντισταθμιστικά ανιόντα. Έγιναν θερμικές, φασματοσκοπικές, μαγνητικές και κρυσταλλογραφικές μελέτες των συμπλόκων αυτών, καθώς και μετρήσεις Diffuse Reflectance. Αμφότερα τα σύμπλοκα κρυσταλλώνονται στην P-1 τρικλινή ομάδα σημείου. Σχηματίζονται επάλληλα στρώματα στιβάδων στον τρισδιάστατο χώρο, συνδεδεμένες μεταξύ των με τα μόρια της πυραζίνης, σε αντισιδηρομαγνητικές συζεύξεις, [Larrea Edurne S., et al, 2007]. Η χρήση των οργανικών μορίων στον σχεδιασμό νέων ανοργάνων υλικών επέτρεψε την παρασκευή συμπλόκων ενώσεων, με σπουδαίες τεχνολογικές εφαρμογές. Τέτοιες ενώσεις του βαναδίου, με αλειφατικές, αλεικυκλικές και αρωματικές αμίνες φαίνεται να αποκτούν μεγάλη σημασία, ιδίως λόγω της πληθωρικής κρυσταλλικής χημείας αυτών, [Larrea Edurne

S., 2009]. Συντέθηκαν ισοδομικά σύμπλοκα των μετάλλων M=Co(II), Ni(II) and Cu(II), με τον γενικό μοριακό τύπο  $[M(C_6H_{16}N_3)_2(VO_3)_4]$  και μελετήθηκε η κρυσταλλογραφική δομή τους, συναρτήσει της θερμικής σταθερότητας αυτών, [Larrea Edurne S., et al, 2011]. Απομονώθηκε σε μονοκρυσταλλική μορφή, το Διένυδρο άλας του οξαλικού 4-Αμμώνιο-1-μεθυλο-πιπεραζίν-1-υλίου  $[(C_5H_{15}N_3^{2+}) \cdot (C_2O_4^{2-}) \cdot 2H_2O]$ , του οποίου διαλευκάνθηκε η κρυσταλλική δομή, με ανάλυση ακτίνων-Χ. Διαπιστώθηκε ότι και τα τέσσερα άτομα οξυγόνου των οξαλικών ανιόντων συμμετέχουν σε δεσμούς υδρογόνου, τόσο με το δικατιονικό μόριο του 1-μεθυλο-πιπεραζίνιου, όσο και με τα δύο μόρια, του ύδατος κρυσταλλώσεως, [Guo M.L., 2004].

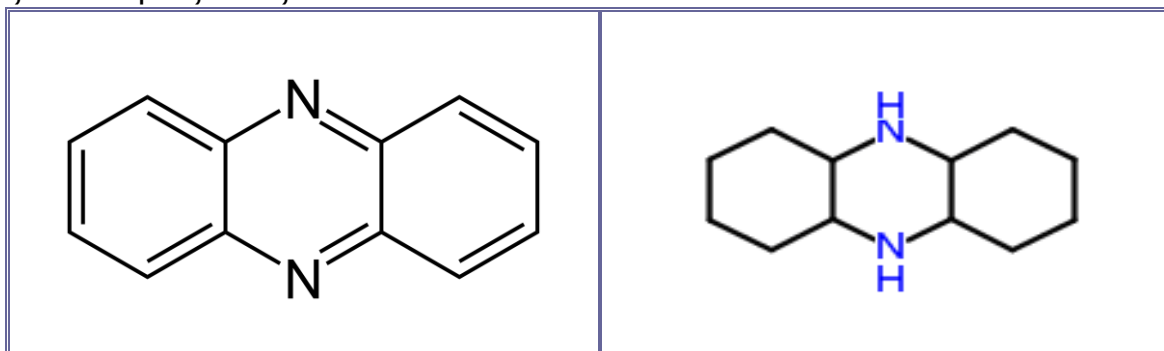
**Χλωριούχου Βαναδίου (III) και Οξαλικής Πιπεραζίνης** υδατικά διαλύματα αντιδρούν και λαμβάνεται η μικτή σύμπλοκη ένωση διένυδρη δις(οξαλατο)μονο(υδατο)οξοβαναδική πιπεραζίνη, με συντακτικό τύπο  $[C_4H_{12}N_2 \cdot VO(C_2O_4)_2 \cdot (H_2O)] \cdot 2H_2O$ , μοριακό τύπο  $[C_8H_{18}O_{12}N_2V]$  και μοριακό βάρος=385,19. Έγινε διαλεύκανση της δομής με ανάλυση ακτίνων-Χ και διαπιστώθηκε ότι το σύμπλοκο έχει γεωμετρία παραμορφωμένου οκτέδρου και ενδομοριακούς δεσμούς υδρογόνου N-H-O and C-H-O. Τα μη εντεταγμένα εξωτερικά ύδατα εφυδατώσεως, συνεισφέρουν στον σχηματισμό υπερμοριακής δομής, με βάση τους O-H-O δεσμούς υδρογόνου, [Aghabozorg Hossein, et al, 2007].

### 2.3.8 ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΚΑΙ ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ

**Βιομηχανικές Χρήσεις. 1)-** Οι πιπεραζίνες και τα παράγωγα αυτών χρησιμοποιούνται επίσης ως αναστολείς διάβρωσης (corrosion inhibitors), ως σκληρυντές διαφόρων εποξειδικών ρητινών, στα υγρά καθαριστικών μηχανών, στην παρασκευή πολυμερών και πλαστικών υλικών, στην παρασκευή υγρών πεδήσεως οχημάτων και στην παρασκευή πολλών άλλων πολυτίμων βιομηχανικών υλικών. **2)-** Υδατικά διαλύματα πιπεραζίνης  $[C_4H_{10}N_2]$ , σε συνδυασμό με τις υγρές οργανικές βάσεις: μονο-αιθανολαμίνη  $[H_2NCH_2CH_2OH]$  (mea), διαιθανολαμίνη  $[HN(CH_2CH_2OH)_2]$  (dea) και την μεθυλοδιαιθανολαμίνη (mdea)  $[CH_3N(CH_2CH_2OH)_2]$ , χρησιμοποιούνται ευρύτατα στα υγρά συντήρησης και καθαρισμού των σωληνώσεων, των κλινών, των αποστακτήρων και των εγκαταστάσεων παραγωγής αμμωνίας κατά Haber, καθώς και στα υγρά της απομάκρυνσης, των ανεπιθυμητών και επιβλαβών αερίων  $CO_2 \uparrow$  και  $H_2S \uparrow$ , τόσο από τις φυσικές εισερχόμενες αέριες μάζες (αντιδρώντα), όσο και από τα αέρια βιομηχανικά προϊόντα, της παραγόμενης αμμωνίας (προϊόντα). **3)-** Τα μίγματα αυτά χρησιμοποιούνται ευρύτατα επίσης, στις εγκαταστάσεις διυλιστηρίων και πετροχημικών, για την κατακράτηση των επιβλαβών αυτών αερίων και την επιβεβλημένη προστασία του περιβάλλοντος. **4)-** Χρησιμοποιείται επίσης ως ένας επιταχυντής, για τη σκλήρυνση του πολυχλωροπρενίου, [European Union Risk Assessment Report, 2005]. **5)-** Μελετήθηκε η κυκλοποίηση των αιθοξυλικών παραγώγων της πιπεραζίνης (pip) και της αιθυλενοδιαμίνης (eda), υπεράνω του καταλύτη- ζεολίθου ZSM-5, προς 1,4-διαζα-δικυκλο[2,2,2]οκτάνιο, {1,4-diazabicyclo[2,2,2]-octane, teda}. Διαπιστώθηκε ότι τα μονοαιθο-ξυλικά παράγωγα της pip και της eda παρέχουν σημαντικά υψηλότερες αποδόσεις, εξ' όλων των άλλων, που χρησιμοποιήθηκαν.

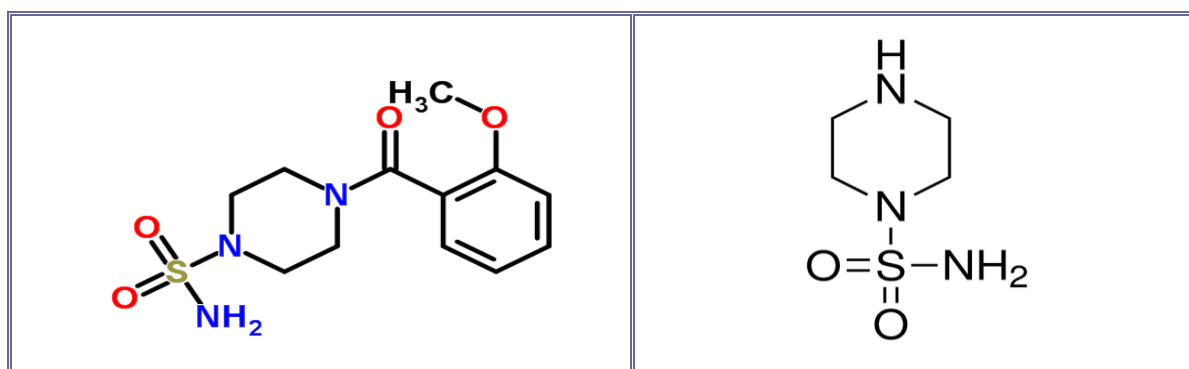
Όλες οι ενώσεις που δοκιμάσθηκαν υπεράνω του συγκεκριμένου καταλύτη οδήγησαν σε ακόρεστες κυκλικές ενώσεις, κυρίως παράγωγα της πυραζίνης, [Treibal Jiri, et al, 2012].

**Συνθετικές Φαρμακολογικές Χρήσεις. 6)**-Τα παράγωγα της πιπεραζίνης έχουν εκτεταμένα μελετηθεί υπό των οργανικών χημικών, λόγω της εγγύτατης συσχέτισης των, με διαφόρων τύπων βιολογικές, βιοχημικές και βιοιατρικές δραστηριότητες. **7)**- Παλαιότερα τα πιπεραζινικά παράγωγα χρησιμοποιήθηκαν ως ισχυρά και δραστικά φάρμακα, κατά των ρευματισμών και της ρευματοειδούς αρθρίτιδος, [Bischler A., 1891]. **8)**-Το 1944 εισήχθησαν υπό της Wellcome Research Laboratories, ως ισχυρά ανθελμινθικά και αντιπαρασιτικά φάρμακα. Ωστόσο με την πάροδο του χρόνου, η χρήση των περιορίσθηκε, λόγω επιβλαβών και ανεπιθύμητων παρενεργειών. Είναι μεγάλος ο αριθμός των παραγώγων της πιπεραζίνης, τα οποία περιέχουν τον πιπεραζινικό δακτύλιο, ως βασική δομική μονάδα του μορίου των και χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη, στην φαρμακευτική συνθετική βιομηχανία, μεθυλενικά παράγωγα με κινολίνες, συδόνες, σουλφοναμίδια, θειαζόλια και βενζοθειαζόλια.



**Εικόνα 2.3.21** Αριστερά: Συντακτικός τύπος της Φαιναζίνης ή Διβενζο-*p*-Διαζίνης και Δεξιά: Συντακτικός τύπος της Δεκατετραϋδρο-Φαιναζίνης, ή Δικυκλοεξανο-*p*-Πιπεραζίνης.

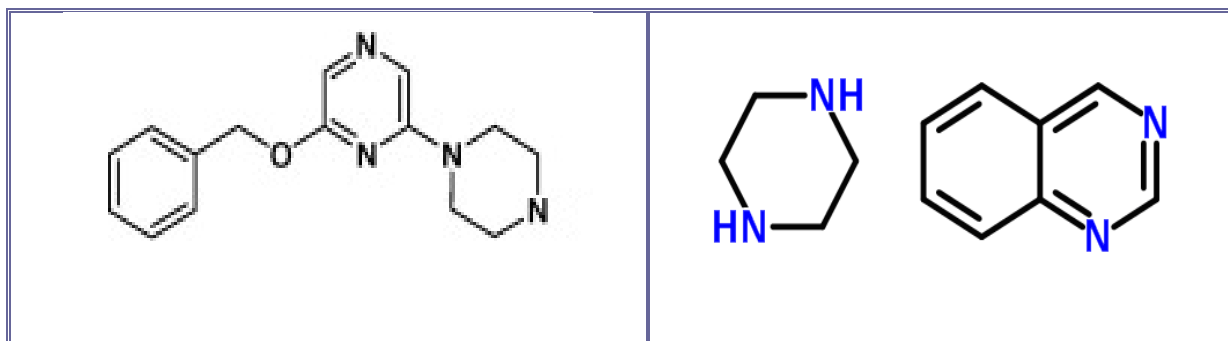
Τέτοιες κατηγορίες πιπεραζινικών παραγώγων, που χρησιμοποιούνται στην Ιατρική και την Φαρμακολογία είναι οι 2,5-Δικετοπιπεραζίνες, [Borthwick A.D., 2012] και οι πολυπυρηνικές πυραζίνες και πιπεραζίνες, όπως η Φαιναζίνη (Dibenzo-*p*-diazine) και η Δεκατετραυδροφαιναζίνη (Dicyclohexano-*p*-piperazine).



**Εικόνα 2.3.22** Οι Συντακτικοί Τύποι δύο Πιπεραζινικών Σουλφοναμιδικών Φαρμάκων. Αριστερά: Το 4-(2-Methoxy-Benzoyl)-Piperazine-1-Sulfonamide και Δεξιά: Το N,N-Dimethyl-1-Piperazine Sulphonamide.

Οι τελευταίες περιέχουν συμπυκνωμένους αρωματικούς ή αλεικυκλικούς δακτυλίους (Fused Rings), στις *p*-θέσεις 2,3- και 5,6- της πυραζίνης και της πιπεραζίνης, [Gilchrist Thomas L., 1997]. Έχουν τεράστια σημασία στην Ενζυματική Χημεία, την Οξειδο-αναγωγή, την

Ηλεκτροχημεία, την Φαρμακολογία, την Χημεία Βιοενεργών Χρωστικών και Φθοριζουσών Ουσιών, στην Χημεία των Αντιβιοτικών και στην σύγχρονη Τεχνολογία, γενικότερα, [Price-Whelan Alexa, et al, 2006]. Είναι βιβλιογραφικά τεκμηριωμένο ότι οι δις-ετεροκυκλικές ενώσεις διαθέτουν κατά πολύ ισχυρότερες αντιβακτηριακές δράσεις, από τις μονο-ετεροκυκλικές ενώσεις. **9)**- Εκτεταμένη είναι η τάξη των συνθετικών φαρμακευτικών ουσιών, η οποία περιλαμβάνει αντικαρκινικά, αντιισταμινικά, αντινεοπλαστικά, σουλφοναμίδια [Perrone M.G., et al, 2009], αντιπλασμοδιακά [Martyn D.C., et al, 2010], αντιβακτηριακά, ανθελονοσιακά, αντικαταθλιπτικά, αντιψυχωτικά, ανθελμινθικά, αντιρρευματικά φάρμακα, καθώς και τους αναστολείς της **HIV** πρωτεάσης.



**Εικόνα 2.3.23** Αριστερά: Συντακτικός τύπος του 2-Piperazin-Azaindane και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του Μοριακού Συμπλόκου Piperazine-Quinazoline (1:1).

Μια σειρά νέων πιπεραζινικών παραγώγων έχουν προταθεί στην βιβλιογραφία, με βάση το μοριακό ικρίωμα του 2-πιπεραζινο-αζαϊνδανίου, περιχαρακωμένης διαμορφώσεως 5HT<sub>2c</sub> αγωνιστών υποδοχέων. Μελετήθηκε η σύνθεση και η δομική δραστηριότητα αυτών με βελτιωμένη εκλεκτικότητα κατά των 5HT<sub>2a</sub> και 5HT<sub>2b</sub> υποδοχέων και εξαιρετική 2c δυναμικότητα, των παραγώγων αυτών κατά της παχυσαρκίας, [Liu Kevin K.C., et al, "Design and Synthesis of Orally-Active and Selective Azaindane 5HT<sub>2c</sub> Agonist for the Treatment of Obesity", 2010]. Η συντακτική μοριακή δομή ενός τέτοιου χαρακτηριστικού φαρμάκου φαίνεται στην Εικόνα 2.3.23, (Αριστερά).

**10)**- Η δημοφιλία της χρήσεως των πιπεραζινικών παραγώγων, ως ψυχοτρόπων ουσιών συνεχίζει ακόμη να αυξάνει, λόγω του κατ' επίφαση νομίμου καθεστώτος, που πηγάζει από τα ήπια ψυχοδραστικά φαινόμενα και την αποδεδειγμένη ασφάλεια των παραγώγων αυτών, σε σύγκριση με τα παράνομα εξαρτησιογόνα φάρμακα. Ωστόσο η τοξικότητα των παραγώγων αυτών, λόγω της ευρείας διαθεσιμότητας των και σε συνδυασμό με την πρόσληψη άλλων ουσιών (αμφεταμίνες, αλκοόλ και MDMA) είναι πολλές φορές απρόβλεπτη και σοβαρή και οι πραγματικές συνέπειες υγείας αρχίζουν να αναδύονται, από τις πολυάριθμες αναφορές νοσηλείας και θανατηφόρου κατάληξης.

**Περιβαλλοντικές Εφαρμογές. 11)**- Μέσα στα πλαίσια της αντιμετώπισης του φαινομένου του θερμοκηπίου (Greenhouse Effect) και της γενικότερης προστασίας του περιβάλλοντος, έχουν μελετηθεί πολλές χημικές ουσίες, που έχουν την αυθόρμητη φυσικοχημική ιδιότητα της σύλληψης-κατακράτησης του διοξειδίου του άνθρακα, α)-μέσω φαινομένων προσρόφησης του αερίου CO<sub>2</sub>, β)-μέσω χημικών αντιδράσεων μεταφοράς

μάζας και ενέργειας και γ)-μέσω διαλυτοποίησής του, σε υδατικά διαλύματα των ουσιών αυτών. Διεξήχθησαν μελέτες της κινητικής της αντιδράσεως πιπεραζίνης- διοξειδίου του άνθρακα, στην περιοχή θερμοκρασιών 298 έως 333°K, σε διαλύματα 0,2-0,6M πιπεραζίνης, με φαινόμενη συνολική ταχύτητα αντιδράσεως, δευτέρας τάξεως 53.700m<sup>3</sup>/kmol·s στους 25°C.

Η ταχύτητα ακολουθεί την θερμοκρασιακή εξάρτηση κατά Arrhenius, με ενέργεια ενεργοποίησης 3,36x10<sup>4</sup> kJ/kmol. Πυκνά διαλύματα πιπεραζίνης (PZ) αποτελούν τον δυναμικότερο, αποτελεσματικότερο και **ανθεκτικότερο διαλύτη, σύλληψης και κατακράτησης του ατμοσφαιρικού διοξειδίου του άνθρακα**, σε σύγκριση με πολλές άλλες διαμίνες και ιδίως με την MEA (Μονοαιθανολαμίνη), στα ίδια επίπεδα συγκεντρώσεων. Διαλύματα 8M PZ καταναλώνουν 5-10% μικρότερα ποσά ενέργειας, απ' τα αντίστοιχα της MEA και έχουν ταχύτητα προσρόφησης CO<sub>2</sub> υπερδιπλάσια της αντίστοιχης της MEA.

Μεγάλο πλεονέκτημα της PZ είναι η χημική σταθερότητα των συστημάτων αυτής, ιδίως όταν συνυπάρχουν μεταλλοκατιόντα στοιχείων μεταπτώσεων, τα οποία ως γνωστόν αποτελούν ισχυρούς οξειδοαναγωγικούς καταλύτες. Θερμικές διασπάσεις είναι σημαντικές παρουσία >4mM Cu(II), ενώ η παρουσία χρωμίου (0,6mM), νικελίου (0,25mM), σιδήρου (0,25mM) και βαναδίου (0,1mM) έχουν αμελητέα επίδραση. Οι μεγάλες ταχύτητες προσρόφησης αφ'ενός και οι μικρές ταχύτητες θερμικής διασπάσεως αφ'ετέρου καθιστούν την πιπεραζίνη κορυφαία οργανική διαμίνη, στην κατακράτηση του CO<sub>2</sub> της ατμόσφαιρας, [Freeman Stephanie A., et al, 2009].

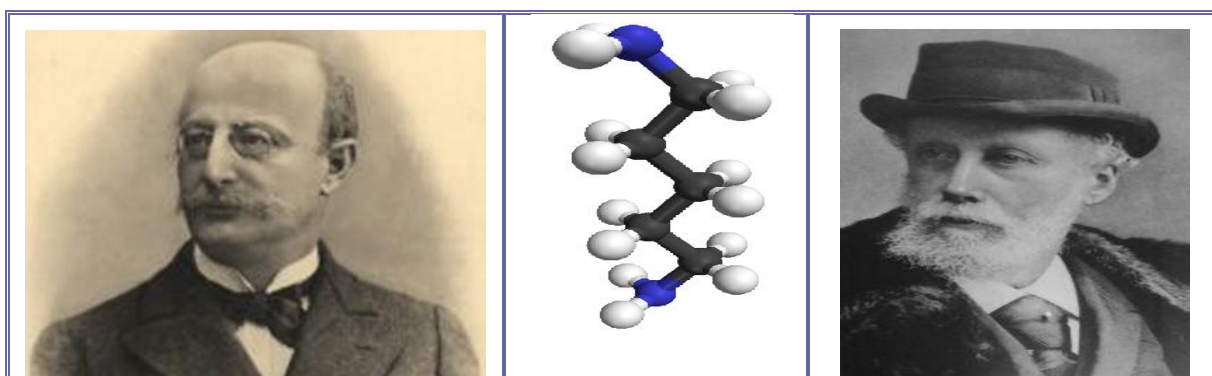
Οι χημικές ισορροπίες και οι ισορροπίες φάσεων μελετήθηκαν με την τεχνική NMR και μοντελοποιήθηκαν με την παραδοχή, ότι σχημα-τίζονται οι εξής χημικές μορφές: η πρωτονιωμένη πιπεραζίνη, η καρβαμική πιπεραζίνη, η δικαρβαμική πιπεραζίνη και τα πρωτονιωμένα καρβαμικά ιόντα. Τα δικαρβαμικά δεν είναι το κυρίαρχο σωματίδιο στις αντιδράσεις αυτές. Η δραστηριότητα της πιπεραζίνης αποδίδεται στην δισυπόστατη φύση της: στον αλκυκλικό χαρακτήρα της και στην δισόξινη διαμινική βασικότητα της, [Bishnoi Sanjay and Rochelle Gary T., 2000] και [Oexmann Jochen, 2008].

**Χρήσεις Γεωργικής Φαρμακολογίας, 12)**- Σύνθεση και παρασκευή πολυαρίθμων σειρών παρασιτοκτόνων, ακαρεοκτόνων και εντομοκτόνων φαρμάκων, με εκτεταμένες εφαρμογές στην Γεωργία και την Κτηνοτροφία.

## 2.4 PENTANE-1,5-DIAMINE, 1,5-DIAMINO-PENTANE, ANIMAL CONIINE, CADAVERINE, ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗ, (C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>).

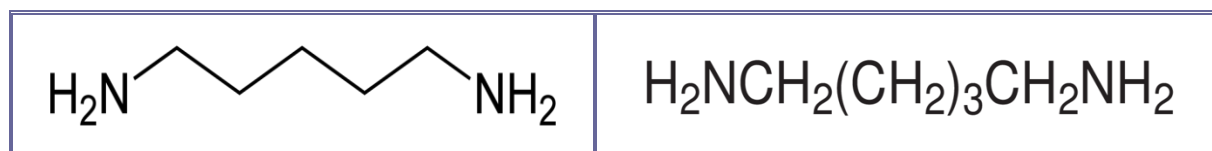
### 2.4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η καδαβερίνη είναι μια δυσώδης τοξική ένωση, προϊόν υδρόλυσης πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της σήψης των ζωικών ιστών, σχεδόν παράλληλα και ταυτόχρονα με την πουτρεσκίνη. Η ονομασία της προέρχεται από την λατινική λέξη Cadaver=σώμα. Παράγεται σε μικρές ποσότητες υπό των ζώντων οργανισμών. Ανήκει στην μεγάλη οικογένεια των λεγομένων **βιογενών ή βιογενικών αμινών και πολυαμινών** (Biogenic amines and polyamines), όπως πρώτος τις ονόμασε ο γερμανός φυσιολόγος Ludwig Brieger (1849–1919). Μερικές από τις κυριότερες βιογενείς αμίνες είναι οι νιτρογενείς πτωμαΐνες: Ισταμίνη, Τυραμίνη, Καδαβερίνη, Αγκματίνη, Καντισίνη, Φαινυλοισθανολαμίνη, Σπερμίνη, Σπερμιδίνη, Πουτρεσκίνη, Χορδενίνη, Οκτοπαμίνη και Φαινυλοισθυλαμίνη, [Brieger Ludwig, "Weitere Untersuchungen Über Ptomaine", 1885] και [Brieger Ludwig, "Microbes Ptomaines et Maladies", 1887] και [Brieger Ludwig, "Üeber Ptomaine", 2010]



Εικόνα 2.4.1 Οι πρώτοι επιστήμονες που ασχολήθηκαν με την καδαβερίνη: Αριστερά: Ο Ludwig Brieger Γερμανός Φυσιολόγος. Το 1885 έδωσε πρώτος την περιγραφή της Καδαβερίνης. Δεξιά: Ο Albert Ladenburg, Γερμανός χημικός. Το έτος 1885, πρώτος συνέθεσε την καδαβερίνη. Στο Κέντρο: το Μοριακό παραστατικό μοντέλλο της Καδαβερίνης.

Η ανίχνευση, ο διαχωρισμός και τα κλινικά χαρακτηριστικά των πτωμαΐνών, καθώς και άλλων **ζωικών αλκαλοειδών** αναφέρθηκαν στην βιβλιογραφία από τον [Farquharson A.C., 1892]. Οι συντακτικοί τύποι αυτών των πτωμαΐνών παρουσιάζονται στις επόμενες σελίδες και σε πινακοποιημένες ομάδες. Η καδαβερίνη είναι μια τοξική πτωμαΐνη- διαμίνη με τον τύπο [NH<sub>2</sub>—(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>—NH<sub>2</sub>], το οποίο είναι παρόμοιο με το υπόστρωμα.



Εικόνα 2.4.2 Αριστερά: Ο γραμμικός συντακτικός τύπος της ελεύθερης βάσεως καδαβερίνης και Δεξιά: ο συνήθης επεξηγηματικός, συντακτικός μοριακός της τύπος.

Είναι επίσης γνωστή με τις ονομασίες πενταμεθυλενοδιαμίνη και 1,5-πεντανεδιαμίνη. Αν και η διαμίνη αυτή σχετίζεται καθαρά με την σηπτική διαδικασία αποσύνθεσης της σάρκας, ωστόσο παράγεται επίσης σε μικρές ποσότητες, από τα έμβια όντα και ανευρίσκεται στις ρίζες κάποιων φυτών. Είναι εν μέρει υπεύθυνη για τη γνωστή **οσμή σπερμίνης**, τόσο των ούρων, όσο και του σπέρματος, [Ladenburg Albert, "Üeber die Imine und Darstellung von

Pentamethylenediamin", Berichte, 1885] και [Ladenburg Albert et al, "Über das Aethylenimin (Spermin)", Berichte, 1888]. Ανευρίσκεται παραδόξως στα άνθη του φυτού Hoodia Gordonii, της οικογενείας Asclepiad-Daceae, η οσμή του οποίου θυμίζει εντόνως σεσηπότα απορρίματα. Παράγεται επίσης σε μεγάλες ποσότητες κατά την σήψη της σάρκας, των ιχθύων τόνου και ξιφία, μαζί με πουτρεσκίνη, σπερμιδίνη και ισταμίνη. Αυξημένα επίπεδα καδαβερίνης έχουν βρεθεί στα ούρα των ασθενών, με ορισμένες παθολογίες στο **μεταβολισμό της λυσίνης**, [Bocklisch Oscar, "Über Faulnissbasen aus Fischen", Berichte, Volume 18, 87-89, 1885] και [Bocklisch Oscar, "Biogenic Polyamine and Homolog of Putrescine, Produced by Decarboxylation of Lysine. Found in Cholera Discharge. Isolation", Berichte, Volume 18, 1922-27, 1885]. Είναι σώμα τοξικό σε μεγάλες δόσεις. Μελετήθηκε η τοξικότητα πέντε βιογενών αμινών: καδαβερίνης, πουτρεσκίνης, σπερμιδίνης, σπερμίνης και τυραμίνης, κατά την από στόματος χορήγηση, σε επίμυες Wistar. Η καδαβερίνη παρουσίασε οξεία τοξικότητα, άνω των 2000mg/kg/day σωματικού βάρους ανά ημέρα, ενώ τοξικότερη όλων ευρέθη η σπερμίνη, στα 19mg/kg/day σωματικού βάρους ανά ημέρα, [Til H.P., et al, 1997].

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2.41. Φυσικοχημικές παράμετροι της Καδαβερίνης**

Title: CADAVERINE, ANIMAL CONIINE	Additional Names: 1,5-pentamethylenediamine
Μοριακός τύπος : C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	Additional Names: 1,5-diamino-n - pentane
Μοριακό Βαρος= 102,18	Chemical Family: Ptomaines, body toxins
Melting point: mp= 9°, (1,6kPa)	Additional Names: carcasses amine,
Boiling point: bp=178-180°, (1,6kPa)	CAS Name: 1,5-Pentanediamine
pK <sub>a1</sub> =10,25 και pK <sub>a2</sub> =9,13	CAS Registry Number: 462-94-2
Density: d <sub>4</sub> <sup>25</sup> =0,873	Περιεκτικότητα: %: C=58,77, H=13,81, N=27,42
Index of refraction: n <sub>D</sub> <sup>20</sup> =1,463	Toxicity: Poisonous ! and Hydroscopic, Keep well closed.

#### 2.4.2 ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Άχρωμο σιροπιώδες υγρό, στη συνήθη θερμοκρασία, ατμίζει έντονα σε ανοικτή ατμόσφαιρα με βαριά, χαρακτηριστική δυσάρεστη οσμή, που περιγράφεται ως η οσμή του θανάτου. Η οσμή της θυμίζει το ανδρικό σπέρμα και την πιπεριδίνη. Είναι ευδιάλυτη στο ύδωρ, την μεθανόλη, την αιθανόλη, την πυριδίνη και μερικώς διαλυτή στον διαιθυλαιθέρα και στην ακετόνη. Είναι πτητική και αποσπάξει άνευ διασπάσεως στους B.P.=178-180°C, (1,6kPa). Αποσπάξει καλύτερα μεθ' υδρατμών και με τον τρόπο αυτόν διαχωρίζεται από τα παραπροϊόντα των αντιδράσεων συνθέσεως αυτής. Ως ισχυρή βάση, οι ατμοί της παγιδεύουν αθρόα το διοξείδιο του άνθρακα, με την ανάπτυξη λευκών καπνών και αντιδρούν ταχέως, προς το λευκό, κρυσταλλικό όξινο ανθρακικό άλας.



Γι' αυτό τα υάλινα δοχεία-περιέκτες πρέπει να σφραγίζονται ερμητικώς, κατά την άφωση προς μακρά παραμονή, με πολλά στρώματα παραφίλμ. Παρέχει ευκόλως διπλά άλατα, με όλα τα μετρίως ισχυρά και τα λίαν ισχυρά, οργανικά και ανόργανα οξέα, οπότε λαμβάνονται σταθερά, κρυσταλλικά και μερικώς υγροσκοπικά σώματα. Καθιζάνει ποσοτικά

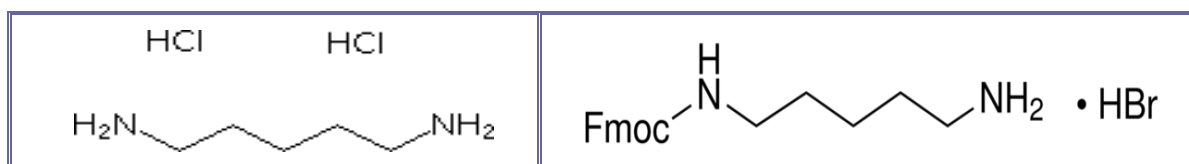


με τα συνήθη αντιδραστήρια καταβύθισης και ταυτοποίησης των αλκαλοειδών. Η **σαπρίνη** (sarpine) και η **νευριδίνη** (neuridine) αποτελούν τις δύο ισομερείς μορφές της καδαβερίνης, με ελαφρώς διαφοροποιημένες ιδιότητες μεταξύ των. Οι βιογενείς αυτές αμίνες, μαζί με την καδαβερίνη, πουτρεσκίνη και **μυδαλεΐνη** (mydaleine) ανευρέθησαν ύστερα από την σηπτική αποσύνθεση τριών εβδομάδων, του ανθρώπινου ήπατος και της σπλήνας. Όλες αυτές οι βάσεις καταβυθίζονται ποσοτικά, με το αντιδραστήριο του διχλωριούχου υδραργύρου και παρέχουν δυσδιάλυτα χλωροϋδραργυρικά άλατα-ιονικά ζεύγη. Τα άλατα αυτά διασπώνται με H<sub>2</sub>S παρέχοντας HgS και τις ελεύθερες αμίνες. Ακολουθώντας μία κοπιώδη διαδικασία συνεχών κλασματικών καταβυθίσεων, ο Brieger κατάφερε να διαχωρίσει και να απομονώσει τις πέντε αυτές ελεύθερες βάσεις, [Brieger Ludwig, "Weitere Untersuchungen Über Ptomaine", Berlin, Deutschland, 1885] και [Brieger Ludwig, "Über Ptomaine", United States, 2010].

### 2.4.3 ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΗΣ ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗΣ

Θεωρώ απαραίτητο να παραθέσω μία σειρά από διάφορα παράγωγα σώματα και άλατα της καδαβερίνης, λόγω της ευρύτατης χρησιμότητας, που διαθέτουν και των πολλαπλών και ποικίλων εφαρμογών, σε διάφορους τομείς της Επιστήμης.

**1)- Δις-Υδροχλωρικό Καδαβερίνιο.** Το πλέον σύνηθες και εμπορικώς διαθέσιμο άλας της καδαβερίνης είναι το διαλυτό άλας, με μοριακό συντακτικό τύπο [(C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>)·(HCl)<sub>2</sub>] ή [(<sup>+</sup><sub>3</sub>HN-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)·(Cl<sup>-</sup>)<sub>2</sub>] και με M.B.=175,10. Η εκατοστιαία περιεκτικότητα των συστατικών του στοιχείων είναι: C=34,30%, H=9,21%, N=16,00%, Cl=40,49% και το Σημείο Τήξεως=225-230°C. Άχρωμες κρυσταλλικές βελόνες, μη υγροσκοπικές, αθρόα διαλυτές στο ύδωρ, ευκόλως διαλυτές σε αιθανόλη 96% και δυσδιάλυτες στην απόλυτη αιθανόλη και στον αιθέρα. Ερεθιστικό του δέρματος και των βλενογόνων μεμβρανών. Όταν υποστεί ξηρά, πυρολυτική απόσταξη μετατρέπεται σε πιπεριδίνη.



**Εικόνα 2.4.3 Το μόριο του άλατος της Δις-Υδροχλωρικής Καδαβερίνης και το μόριο του παραγώγου άλατος της Καδαβερίνης, N-Fmoc-Cadaverine Hydrobromide.**

Όταν η καδαβερίνη κατεργάζεται με περίσσεια μεθυλο-ιωδιδίου (CH<sub>3</sub>I), δεν συμβαίνει εξαντλητική μεθυλίωση προς το εξα-, ή το τετρα- μεθυλιωμένο παράγωγο αυτής, αλλά λαμβάνεται μόνον το δις-υδροϊωδιούχο-διμεθυλιωμένο παράγωγο, [C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>(NH-CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·(HI)<sub>2</sub>], το οποίο με το αντιδραστήριο εξαχλωρο-πλατινικό οξύ παρέχει σταθερό και πολύ δυσδιάλυτο άλας ιονικού -ζεύγους, [C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>(NH-CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·(HCl)<sub>2</sub>·(PtCl<sub>6</sub>)<sub>2</sub>], σε μακρές βελόνες καθαρού ερυθρού χρώματος, οι οποίες δεν μεταβάλλουν σχήμα με τις επανειλημμένες ανακρυσταλλώσεις, όπως συμβαίνει με το αντίστοιχο πορτοκαλλόχρωμο άλας της καδαβερίνης.

**2)-Το Τετραχλωρο-Πλατινικό** της άλας [(C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>)·(H<sub>2</sub>PtCl<sub>4</sub>)], σχηματίζει πορτοκαλλέρυθρα ρομβικά πρίσματα [Brieger, 1885] και προμοιάζει με το τετραχλωρο-πλατινικό

αμμώνιο. Στους 195°C μελανούται και στους 215°C τήκεται με ολική διάσπαση. 1g ουσίας διαλύεται σε 70,8ml ύδατος (21°C) και σε 113,5ml ύδατος (12°C).

**3)- Το Τετραχλωρο-Χρυσικό** της άλας  $[(C_5H_{14}N_2) \cdot (HAuCl_4)_2]$ , σχηματίζει μακρές χρυσοκίτρινες βελόνες, καθώς και επίπεδα πρίσματα, που συγκρατούν ύδατα κρυσταλλώσεως. Έχει Σ.Τ.= 186-188°C. Διαλυτοποιείται σχετικά εύκολα στο ύδωρ.

**4)- Το Χλωρο-Υδραργυρικό** της άλας,  $[(C_5H_{14}N_2) \cdot (HCl)_2 \cdot (HgCl_2)_4]$ , λαμβάνεται από περίσσεια HCl και HgCl<sub>2</sub> και κρυσταλλώνεται από θερμό υδατικό διάλυμα. Στους 95°C χάνει διχλωριούχο υδράργυρο και τελικά τήκεται στους 214,5°C. Στους 21°C το 1g ουσίας διαλύεται σε 32,5ml ύδατος, ενώ στην αιθανόλη δεν έχει σημαντική διαλυτότητα.

**5)- Το Δις-Πικρικό** της άλας  $[(C_5H_{14}N_2) \cdot (C_6H_3O_7N_3)_2]$ , σχηματίζει μακρές χρυσοκίτρινες βελόνες, με Σ.Τ.= 221°C. Δυσδιάλυτο στο ψυχρό και ελαφρά διαλυτό στο ζέον ύδωρ. Σχεδόν αδιάλυτο στη ζέουσα απόλυτη αιθανόλη.

**6)- Το Δις-Πικρολονικό** της άλας  $[(C_5H_{14}N_2) \cdot (C_{10}H_8O_5N_4)_2]$ , μελανούται στους 220°C και τήκεται πλήρως στους 250°C. Το 1g ουσίας διαλύεται σε 7.575ml ύδατος στους 21°C, σε 357ml ζέοντος ύδατος, σε 5.952ml ψυχρής και σε 475ml ζέουσας αιθανόλης.

**7)- Το Δις-Βενζοΐλο** παράγωγο αυτής  $[C_5H_{10}(NHCO_6H_5)_2]$ , σχηματίζει μακρές άχρωμες βελόνες, δύσκολα διαλυτές στον αιθέρα. Έχει Σ.Τ.= 135°C.

**8)- Το Φαινυλο-Ισοκυανικό** της παράγωγο  $[C_5H_{10}(NHCONHC_6H_5)_2]$ , είναι πιο διαλυτό στην ακετόνη και την πυριδίνη, απ' το αντίστοιχο πουτρεσκινικό παράγωγο. Έχει Σ.Τ.= 207-9°C.

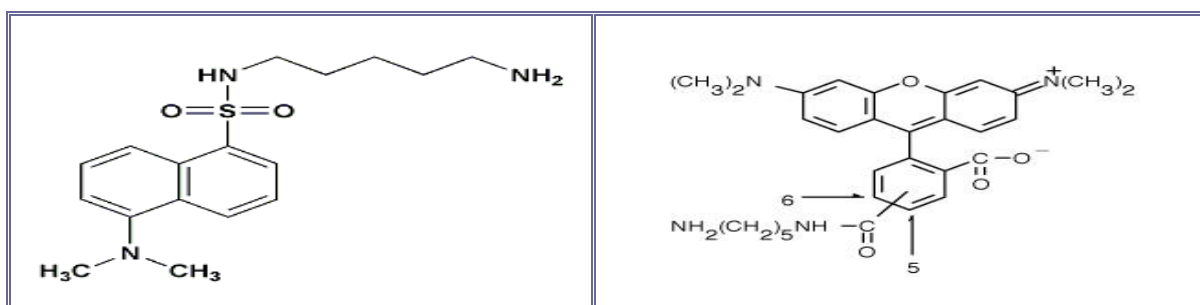
**9)- Το Ουδέτερο Οξαλικό Άλας** παρασκευάσθηκε από τον [Bocklisch Oscar, 1885], δια προσθήκης σε αιθανολικό διάλυμα της ελευθέρας βάσεως, ενός αιθανολικού διαλύματος, της στοιχειομετρικής ποσότητας οξαλικού οξέος  $[H_2C_2O_4]$ .

Καταβυθίζεται τότε αθρόα, το λευκό διένυδρο  $[(C_5H_{14}N_2) \cdot (H_2C_2O_4) \cdot 2H_2O]$ , κρυσταλλικό ίζημα, το οποίο ανακρυσταλλώνεται από θερμή αιθανόλη 75% και παρέχει άχρωμες βελόνες. Τήκεται στους 160°C, με έκλυση αερίων.

**10)- Το Όξινο Οξαλικό Άλας**  $[(C_5H_{14}N_2) \cdot (2H_2C_2O_4) \cdot (H_2O)]$  σχηματίζεται όταν το ουδέτερο άλας διαλυτοποιηθεί σταδιακά, σε θερμό αιθανολικό διάλυμα της στοιχειομετρικής ποσότητας οξαλικού οξέος. Το μονο-ένυδρο άλας διαλυτοποιείται σε θερμή και αραιή αιθανόλη, απ' την οποία και ανακρυσταλλώνεται σε τετραεδρικές, απαστράπτουσες πλάκες ή και βελόνες. Τήκεται στους 143°C, με διάσπαση.

Η δυσδιαλυτότητα αυτών των οξαλικών αλάτων στην απόλυτη αιθανόλη, οδήγησε σε σύγχυση τους επιστήμονες στο παρελθόν, αναφορικά με την μέθοδο διάκρισης, μεταξύ των πτωμαϊνών και των φυτικών αλκαλοειδών.

**11)- Τετραμεθυλοροδαμινική Καδαβερίνη.** Το μικτό ισομερές μοριακό σύμπλεγμα της τετραμεθυλοροδαμινικής καδαβερίνης (tetramethylrhodamine cadaverine, 5-(και-6)-[(N-(5-aminopentyl)-amino-carbonyl] [tetramethylrhodamine]. Η χημική ένωση έχει μοριακό τύπο  $C_{17}H_{25}N_3O_2S$ , Μοριακό Βάρος=335,46 και CAS No.: 10121-91-2, [Biotium Science TM, 2008].



**Εικόνα 2.4.4** Δύο παράγωγα συνθετικά προϊόντα της καδαβερίνης. Αριστερά: το μόριο της ελεύθερης βάσης της Ντανσυλοκαδαβερίνης (Dansylcadaverine) και Δεξιά: το μόριο της ελεύθερης βάσης της Τετρα-μεθυλοροδαμινικής Καδαβερίνης (Tetramethylrhodamine Cadaverine).

**12)- N-Fmoc-Cadaverine Hydrobromide.** Το παράγωγο μόριο της καδαβερίνης 9-Φλουορενυλο-μεθυλοN-(5-αμινοπεντυλο)-καρβαμικο-υδροβρωμίδιο (CAS Number 352351-57-6), είναι ένα εμπορικό προϊόν χρήσιμο, στη χημεία των αμινικών αλάτων, στην χημική βιολογία, στην χημεία των αζωτούχων ενώσεων, στην χημική σύνθεση, στους δισχιδείς συνδέσμους (Bifunctional Linkers), στα δομικά συγκροτήματα οικοδόμησης μορίων (Building Blocks), στα δομικά συγκροτήματα οικοδόμησης οργανικών μορίων (Organic Building Blocks), στους απλούς συνδέσμους και στους διασταυρωμένους συνδέσμους (Linkers and Crosslinkers). Έχει εμπειρικό μοριακό τύπο [C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>·HBr], Μοριακό Βάρος=405,33, Σημείο Τήξεως=~130°C (διάσπαση) και θερμοκρασία συντήρησης 2-8°C, [Sigma-Aldrich, Cat.Number=47544, Material Safety Data Sheet].

**13)- Ντανσυλοκαδαβερίνη.** Dansylcadaverine, ή N-5-Aminopentyl-5-dimethylamino-1-naphthalenesulfonamide), έχει CAS No.: 10121-91-2, CB Number: CB 4266400, MOL File: 10121-91-2.mol, Einecs: 233-326-9, Μοριακός Τύπος: [C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S], Μοριακό Βάρος: 335,46 και Σημείο Τήξεως=137-140°C. Για μακροχρόνια διατήρηση πρέπει να φυλάγεται σε αμπούλες με ατμόσφαιρα αργού, ενώ για συχνή χρήση πρέπει να διατηρείται σε θερμοκρασία -20°C. Είναι λευκή κρυσταλλική ένωση, που χρησιμοποιείται σε βιοχημικές μελέτες, ως φθορισμομετρικό υπόστρωμα, στον προσδιορισμό της καδαβερίνης, και των transamidating enzymes.

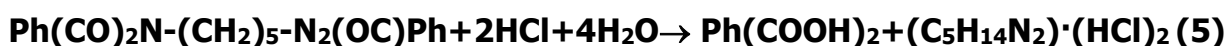
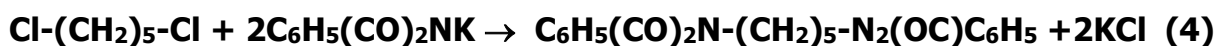
#### 2.4.4 ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΠΟΡΕΙΕΣ ΤΗΣ ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗΣ

Παράγεται επίσης σε μικρές ποσότητες κατά την ξηρά απόσταξη διασπάσεως της λυσίνης. Η καδαβερίνη συντέθηκε από τον [Ladenburg Albert, 1894] ύστερα από αναγωγή του δινιτριλο-τριμεθυλενίου ή γλουταρικού δινιτριλίου, υπό μεταλλικού Na, εντός ανύδρου απολύτου αιθανόλης,

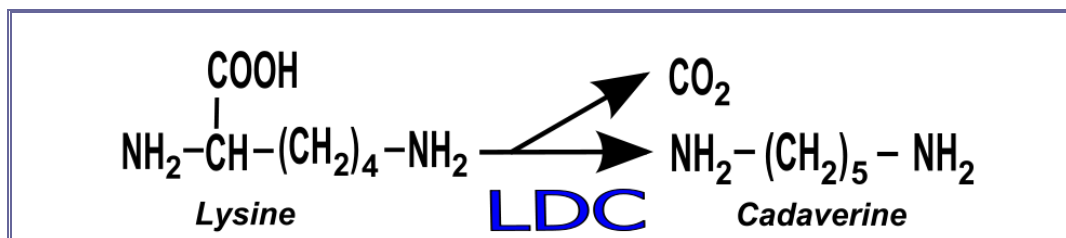


ή υπό μεταλλικού Zn παρουσία HCl, σε υδατικό περιβάλλον. Συντέθηκε επίσης με την αντίδραση περίσσειας φθαλιμιδικού καλίου, με το διχλωρο-πεντάνιο, το οποίο εύκολα συντίθεται, σε πολύ καλές αποδόσεις, ύστερα από αντίδραση της πιπεριδίνης με πενταχλωριούχο φωσφόρο, με την μέθοδο [von Braun J.Julius, 1904]. Κατ'αυτήν η θέρμανση της πιπεριδίνης με περίσσεια PCl<sub>5</sub>, στους 200°C, σε στεγανό υάλινο δοχείο,

οδηγεί στην ποσοτική παραγωγή του πενταμεθυλενο-διχλωριδίου, το οποίο στη συνέχεια σε αντίδραση με φθαλιμιδικό κάλιο παρέχει το προϊόν συμπυκνώσεως [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO-N(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>N-OCC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>], το οποίο τελικώς υδρολύεται με περίσσεια HCl, παρέχοντας το δις-υδροχλωρικό καδαβερίνιο [(C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>)·(HCl)<sub>2</sub>] και φθαλικό οξύ, σύμφωνα με τις παρακάτω αντιδράσεις (όπου για συντομία Ph=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Σύμφωνα με τις προγενέστερες αντιδράσεις και παρατηρήσεις, συμπεραίνεται ότι το δις-υδροχλωρικό καδαβερίνιο (μία αλειφατική διαμίνη με άτρακτο πέντε ατόμων άνθρακα), η πυριδίνη (μία ετεροκυκλική, αρωματική δευτεροταγής αμίνη, με άτρακτο πέντε ατόμων άνθρακα) και κατ' επέκταση η πιπεριδίνη (εξαϋδρο-πυριδίνη, μία ετεροκυκλική, μη αρωματική δευτεροταγής αμίνη, με άτρακτο και πάλι πέντε ατόμων άνθρακα) είναι κατοπτρικές (σχέση ειδώλου-αντικειμένου) ενώσεις, που εύκολα αλληλομετατρέπονται η μία στην άλλη, κάτω από διαφορετικές χημικές διεργασίες, που προαναφέρθηκαν, [Ladenburg Albert, 1885,1886], [von Braun J.Julius, 1916] και [Ackermann D., 1910].



Η καδαβερίνη είναι το προϊόν της βιοχημικής, ενζυματικής αντίδρασης αποικοδόμησης της λυσίνης, υπό του ενζύμου της αποκαρβοξυλάσης της λυσίνης (L-lysine Carboxylase, ή Lysine Decarboxylase), παρουσία του συμπαραγόντα Pyridoxal 5'-Phosphate, με σύγχρονη έκλυση αερίου διοξειδίου του άνθρακα και με βάση την παρακάτω αντίδραση, του Σχήματος 2.4.5.

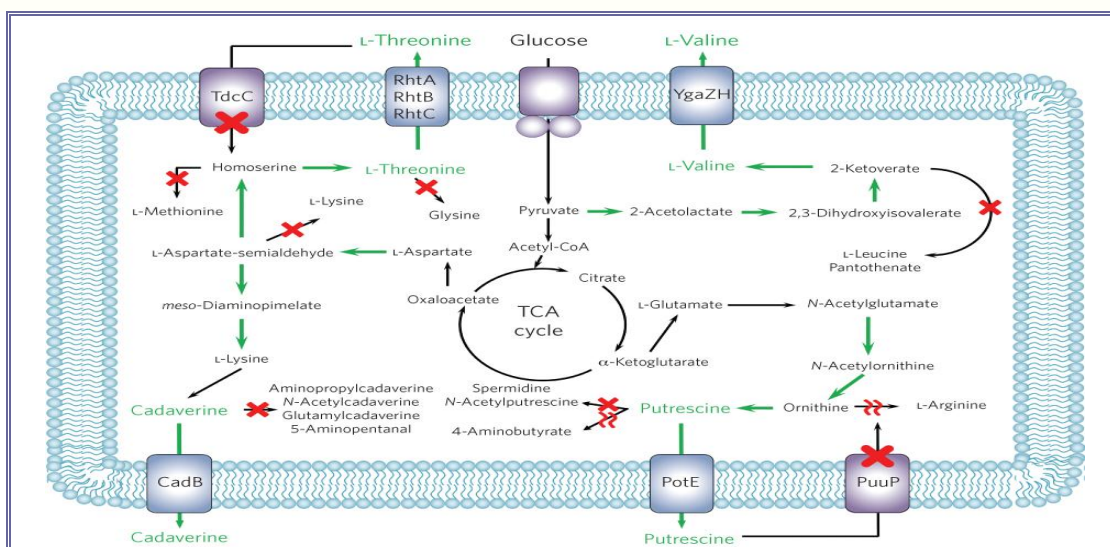


**Εικόνα 2.4.5** Σχηματική αναπαράσταση της ενζυματικής αποκαρβοξυλίωσης της λυσίνης, με την σύγχρονη, ποσοτική παραγωγή της καδαβερίνης.

Έχει αναφερθεί η άμεση και μονοσταδιακή διαδικασία παραγωγής της καδαβερίνης, απ' ευθείας από πρώτη ύλη το διαλυτό άμυλο (Soluble Starch), με την χρήση του στελέχους του γλουταμικού κορυνοβακτηρίου (Corynebacterium Glutamicum), που εκδηλώνει ταυτοχρόνως την συμπεριφορά αμφοτέρων των ενζύμων, τόσο της **α**)- α-αμυλάσης (AmyA, Streptococcus Bovis 148), όσο και **β**)- της καρβοξυλάσης της λυσίνης (CadA, Escherichia coli K-12), [Tateno T., et al, 2009].

Ζύμωση ποσότητας διαλυτού αμύλου 50g/l, με την μέθοδο αυτήν έδωσε μετά από ενζυματική δράση 21h, ποσότητα καθαρής καδαβερίνης 23,4mM. Τελικά προτείνουν ότι το στέλεχος Corynebacterium Glutamicum διαθέτει υψηλή δραστηριότητα, στην ποσοτική μετατροπή μεγάλων ποσοτήτων ανακυκλώσιμης αμυλούχου βιομάζας, προς καθαρή

καδαβερίνη. Σήμερα η καδαβερίνη είναι το προϊόν της ενζυματικής βιοχημικής αποκαρβοξυλίωσης του αμινοξέος λυσίνης και το μεγαλύτερο μέρος της ζήτησης, της παγκόσμιας παραγωγής προέρχεται απ' αυτήν την βιομηχανική μεταβολική πορεία, [Jeong Wook Lee, et al, 2012].



**Εικόνα 2.4.6 Συγκεντρωτική Αναπαράσταση Παραγωγής της Πουτρεσκίνης και της Καδαβερίνης, από την Ενζυματική Αποικοδόμηση των Αμινοξέων, με Βάση τον Κύκλο TCA.**

## 2.4.5 ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗΣ

Θεωρούμε απαραίτητο να αναφερθούμε εδώ σε μερικά παθογενή βακτήρια, τα οποία όταν λειτουργούν με θρεπτικό υπόστρωμα την σάρκα των θηλαστικών, σε κατάσταση σήψης παράγουν **βιογενικές πολυαμίνες- πτωμαίνες** και συγκεκριμένα την καδαβερίνη, [Schneider Jens, et al, 2011].

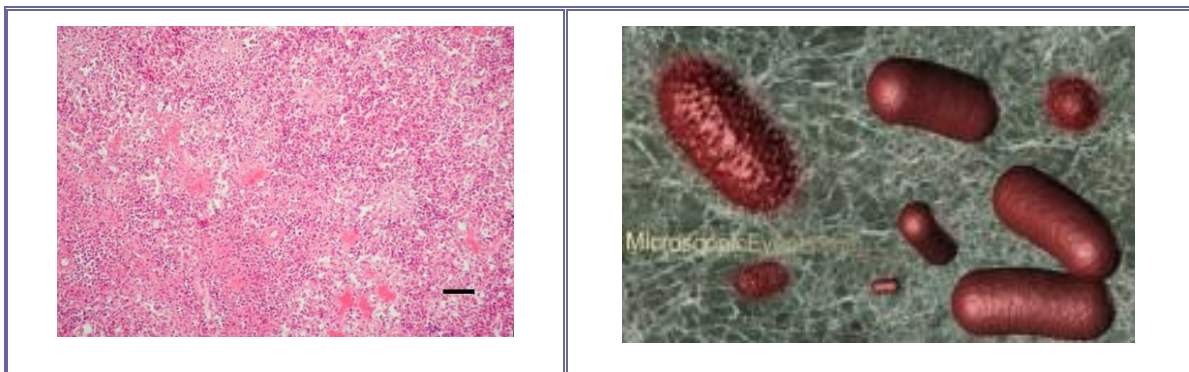


**Εικόνα 2.4.7 Το Βακτηρίδιο Klebsiella Oxytoca.**

Η Klebsiella Oxytoca είναι ραβδόμορφο βακτηρίδιο, που συνδέεται στενά με την Klebsiella Pneumoniae. Και τα δύο είναι Gram-αρνητικά βακτήρια και προκαλούν παρόμοιους τύπους ασθενειών. Συνήθως βρίσκονται στον εντερικό σωλήνα και αποτελούν μέρος του οικοσυστήματος, ενός υγιούς παχέος εντέρου. Είναι ιδιαίτερα λοιμογόνα βακτήρια, μπορούν να εξαπλωθούν σε άλλα μέρη του σώματος και να προκαλέσουν απειλητικές για τη ζωή ασθένειες, όπως η πνευμονία, η αιμορραγική κολίτιδα και η σηψαιμία. Ιδιαίτερα

ευαίσθητοι για μόλυνση είναι οι ανοσοκατεσταλμένοι, οι αλκοολικοί, οι διαβητικοί και οι έχοντες χρόνιες βρογχοπνευμονίες. Άλλοι ασθενείς που διατρέχουν κίνδυνο είναι εκείνοι που υπέστησαν γενική χειρουργική και μεταμόσχευση οργάνων ή βλαστικών κυττάρων. Πρόσθετοι παράγοντες κινδύνου είναι η χρήση σωλήνα καθετήρα και διαφόρων σκευών σίτισης. Η *Klebsiella Oxytoca* χαρακτηρίζεται από αρνητική αντίδραση ερυθρού του μεθυλίου, θετική VP, θετική κιτρικών, θετική αντίδραση ουρίας, παραγωγής TSI αερίου. Συμπεριλαμβάνεται στα βακτήρια, που παρεπιδημούν σε μονάδες εντατικής θεραπείας, νοσοκομεία και γηροκομεία. Η ευρεία χρήση αντιβιοτικών οδήγησε στην ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών της *Klebsiella*, σε πολλαπλά φάρμακα.

Η *Klebsiella Oxytoca* έχει δώσει βάσιμες υποσχέσεις στη βιομηχανική τεχνολογία παραγωγής καυσίμου αιθανόλης, καθώς επίσης και στην τεχνολογία παραγωγής υδρογόνου, [Özogul Fatih, 2007] και [Özogul Fatih, 2005]. Η *Hafnia Alvei* είναι το γένος της οικογένειας *Enterobacteriaceae*, των οποίων το μόνο είδος είναι τα Gram-αρνητικά, αναερόβια, ραβδόμορφα βακτηρίδια *Hafnia Alvei*. Παρεπιδημεί σε ποικίλα περιβάλλοντα, διάφορα θηλαστικά, ψάρια, πτηνά, το έδαφος, το νερό, και μια σειρά από τρόφιμα. Είναι συμβιωτικά του ανθρώπινου γαστρεντερικού σωλήνα και έχουν λάβει αυξημένη κλινική προσοχή, ως αιτία διαφόρων λοιμώξεων και ασθενειών σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Διαθέτει μια σειρά διαφορετικών μηχανισμών μολυσματικότητας, παρόμοιων ή ταυτόσημων με άλλα gram-αρνητικά εντεροπαθογόνα.



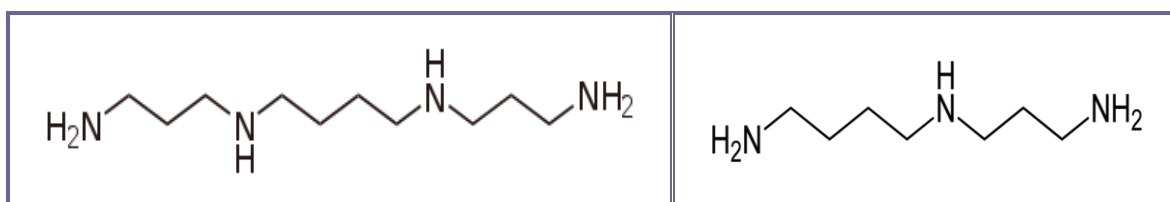
Εικόνα 2.4.8 Το βακτήριο *Hafnia Alvei*

Είναι ύποπτο ότι προκαλεί ποικιλία **εντερικών διαταραχών**, συμπεριλαμβανομένης της **γαστρεντερίτιδας**, καθώς επίσης της **πνευμονίας**, της **μηνιγγίτιδας**, **αποστημάτων** και **σηψαιμίας**. Είναι ανθεκτικά σε πολλαπλά αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των αμινοπε-νικιλινών, [Pircher A., et al, 2007].

#### 2.4.6 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΒΙΟΓΕΝΙΚΩΝ ΑΜΙΝΩΝ

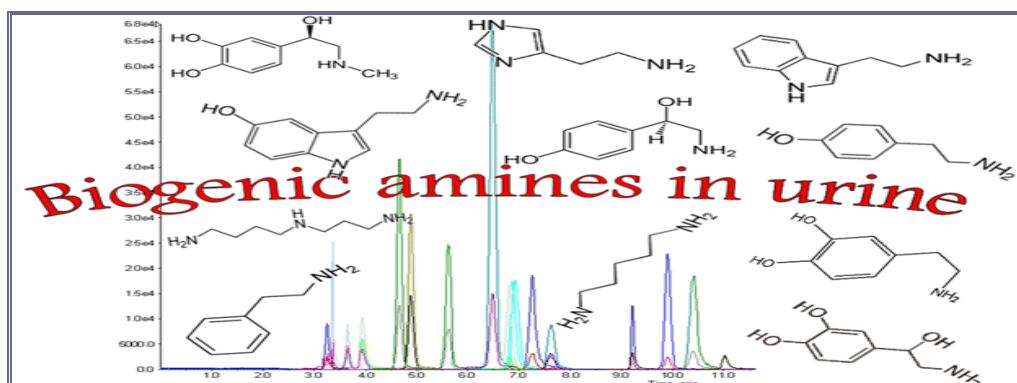
Οι Βιογενικές Αμίνες ή Καδαβερικά Αλκαλοειδή, ή Βακτηριακά Δηλητήρια είναι μία τάξη οργανικών, μικρομοριακών αζωτούχων ενώσεων. Προέρχονται από την ενζυματική αποκαρβοξυλίωση των φυσικώς υπαρχόντων αμινοξέων και σχηματίζονται σε χαμηλά επίπεδα και εντός των ζώντων κυττάρων επίσης, [Barger G., and Dale H.H., "The Water-Soluble Active Principles of Ergot", *Journal of Physiology*, 1909], [Barger G., "Isolation and Synthesis of p-Hydroxyphenylethylamine, an Active Principle of Ergot Soluble in Water",

Journal of the Chemical Society Transactions, 1909]. Οι βιογενείς αμίνες είναι αζωτογενείς χημικές ενώσεις, που φυσικώς υφίστανται στους έμβιους οργανισμούς και εμπλέκονται σε πολλές βιολογικές διαδικασίες, [Guggenheim M., 1916 και 1951]. Ωστόσο, σε μεγάλες ποσότητες, εντός των τροφίμων, αποβαίνουν επικίνδυνες για την ανθρώπινη υγεία, [Brunton T.L., 1885]. Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται δέκα από τις κυριότερες βιογενείς αμίνες, [Brown Alexander Menzies, "The Animal Alkaloids, Cadaveric and Vital Ptomaines and Leucomaines", Second Edition, Volume XXV, London, 1889].



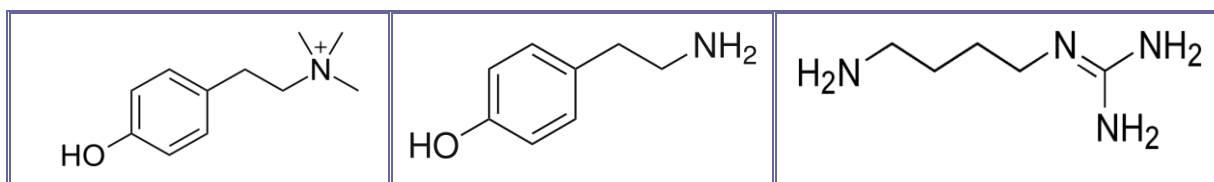
Εικόνα 2.4.9 Οι Συντακτικοί τύποι της Σπερμίνης και της Σπερμιδίνης.

Οι τέσσερις συνηθέστερα απαντώμενες βιογενείς αμίνες εντός των οίνων είναι η **πουτρεσκίνη**, η **καδαβερίνη**, η **ισταμίνη** και η **τυραμίνη**, που παράγονται ενζυματικά από τα αμινοξέα αργινίνη, λυσίνη, ιστιδίνη και τυροσίνη, αντίστοιχα. Τα επίπεδα συγκεντρώσεων των βιογενικών αμινών, συνήθως αυξάνονται ανάλογα με την έκταση της **μηλικής-γαλακτικής ζυμώσεως**. Κατά την διαδικασία της γήρανσεως των οίνων, οι συγκεντρώσεις των βιογενών αμινών καθίστανται μέγιστες, [ETS Laboratories, 2011].



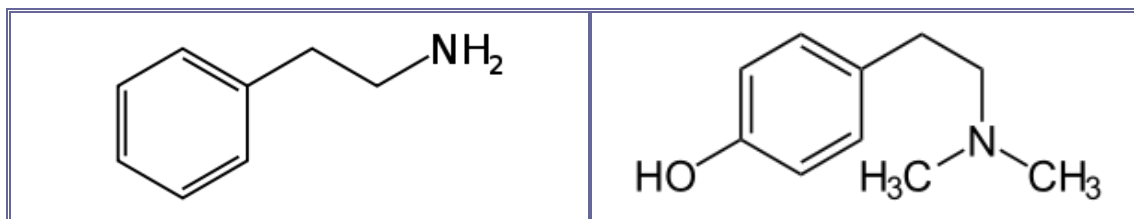
Εικόνα 2.4.10 Ταυτοποίηση και αναλυτικός προσδιορισμός 16 βιογενικών αμινών, σε ούρα, με την χρήση HPLC-MS/MS.

Ειδικότερα η παρουσία της πουτρεσκίνης και καδαβερίνης στην τροφή, προάγει το φαινόμενο της συναφομοίωσης (Ingestion) της ισταμίνης. Υψηλές συγκεντρώσεις των διαμινών αυτών σε πρωτεϊνούχες τροφές, αποτελούν ένδειξη υγειονομικού ελείμματος, στην διατροφική αλυσίδα. Αν και σχηματίζονται ενδογενώς και είναι θεμελιώδεις σε κάποιες φυσιολογικές μεταβολικές οδούς, οι διαμίνες αυτές είναι πρόδρομοι παράγοντες των καρκινογόνων νιτροζαμινών, [Ackermann D., "Cadaverine Structure", Zeitschr. Physiol. Chem., 18, 1922, 1885], [Ackermann D., "Ein Beitrag zur Chemie der Fäulnis", Zeitschr. Physiol. Chem., 54, 1-31, 1907. ibid: 54, 16, 1907], [Ackermann D., "Ein Fäulnisversuch mit Lysinfreiem Eiweiss", Zeitschr. Physiol. Chem., 64, 91-94, 1909] και [Ackermann D., "Üeber die Entstehung von Fäulnisbasen", Zeitschr. Physiol. Chem., 60, 482-501, 1909].



Εικόνα 2.4.11 Οι Συντακτικοί τύποι της Καντισίνης, της Τυραμίνης και της Αγκματίνης.

Ειδικότερα η πουτρεσκίνη σχετίζεται με την ανάπτυξη των όγκων. Η μέση ημερήσια λήψη πουτρεσκίνης μέσω ζυμω-θέντων τροφών είναι 6,8 (ενήλικες γυναίκες) και 8,8 (ενήλικες άνδρες) mg/άτομο/ημέρα. Οι αντίστοιχοι αριθμοί για την καδαβερίνη είναι 9,8 και 11,6 mg/άτομο/ημέρα, [Rauscher-Gabernig E., et al, 2012].

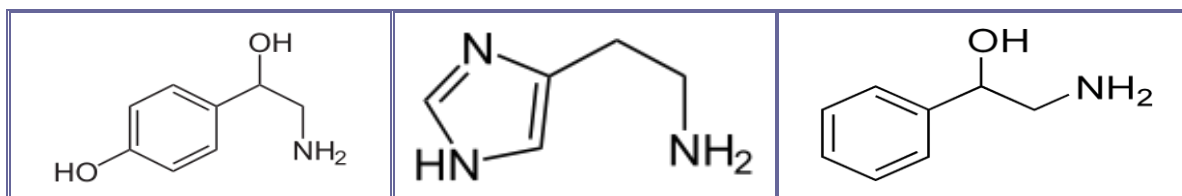


Εικόνα 2.4.12 Οι Συντακτικοί τύποι Αριστερά: της Φαινυλο-αιθυλαμίνης και Δεξιά: της Χορδενίνης.

Οι πτωμαίνες και τα διάφορα -βασικού χαρακτήρα- προϊόντα αποικοδομήσεως των οργανικών πρωτεϊνών ομαδοποιήθηκαν στο πολύτομο έργο ["Allen's Commercial Organic Analysis", 1913] και περιγράφονται, τόσο στην μονογραφία του [Barger G., "The Simpler Natural Bases", 1914], όσο και στην δημοσίευση των [Barger G., and Dale H.H., "Chemical Structure and Sympathomimetic Action of Amines", 1910].

**Αλειφατικές μονοαμίνες:** Τριμεθυλαμίνη [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N, Herring Pickle], Διαιθυλαμίνη, [(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>NH, Putrid Meat Extract], Τριαιθυλαμίνη [(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>N, Decomposed Cod-Fish], Προπυλαμίνη [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NH<sub>2</sub>, Decomposing Cod-Liver], Βουτυλαμίνη [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NH<sub>2</sub>, Decomposing Cod-Liver], Αμυλική αμίνη [C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NH<sub>2</sub>, Cod-Uver Oil].

**Diamines of the Aliphatic Series:** Πουτρεσκίνη ή τετραμεθυλοδιαμίνη [C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>, Putrid Horse Flesh, Meat and Meat Products], καδαβερίνη ή πενταμεθυλενοδιαμίνη [C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>, Putrid Fish and Blood], Neuridine [C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>, Putrid Meat, Albumin, Gelatin], Saprine [C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>, Decomposed Flesh].



Εικόνα 2.4.13 Οι Συντακτικοί τύποι Αριστερά: της Οκτοπαμίνης, Κέντρο: της Ισταμίνης και Δεξιά: της Φαινυλο-αιθανολαμίνης.

**Αρωματικές Πτωμαίνες:** 3-Φαινυλοαιθυλοαμίνη [C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>N, Putrid Gelatin], τυραμίνη [C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO], Parvoline [C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>N, Putrid Horse Flesh after several months], Chordenine [C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>NO], Corindine [C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N, Putrid Cuttle-Fish], Di-hydrocollidine [C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>N, Putrid Fish and Horse Flesh]. **Γουανιδίνες:** Μεθυλογουανιδίνη, [C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>, Putrid Horse Flesh and Beef].



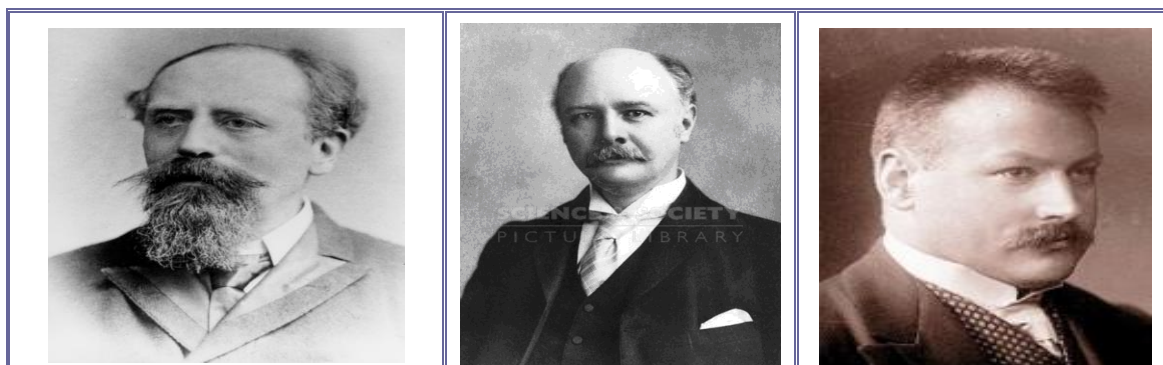
**Oxygenated Ptomaines:** Neurine [ $C_5H_{13}NO$ , Αφυδάτωση Χολίνης, Putrid Meat on Sixth Day], Choline [ $C_5H_{14}NO$ , Accompanies Neurine], Muscarine [ $C_9H_{20}NO_2^+$ , Putrid Fish], Betaine [N,N,N-Trimethylglycine, Leucomaine,  $C_5H_{11}NO_2$ , in Mussels], Homopiperidinic acid [ $NH_2(CH_2)_4COOH$ , Decomposition of Meat Fibre], Mytilotoxine [ $C_6H_{15}NO_2$ , in Poisonous Mussels], Mydatoxine [ $C_6H_{13}O_2N$ , Putrid Horse Flesh after Fifteen Months], Gadinene [ $C_7H_{18}O_2N$ , Putrid Fish, Especially Cod] και Methylgadinene [ $C_8H_{20}O_2N$ ], [Ackermann D., "Die Isolierung der Fäulnisbasen", Band II, pp. 1002-43, Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien, 1910].

**Aromatic Oxygenated Bases:** Tyrosamines [ $C_7H_{12}NO$ , Decomposing Cod-Liver], Mydine [ $C_8H_{11}ON$ , Decomposing Human Flesh], Hydroxyphenylethylamine [ $C_8H_{11}NO$  Cheese, Cod-Liver]. Σε σοβαρές εκθέσεις ατόμων σε ατμόσφαιρα βιογενών αμινών, συμβαίνει ισχυρός ερεθισμός των οφθαλμών και εγκαύματα του δέρματος. Στις περιπτώσεις αυτές χορηγούνται σκευάσματα υδροχλωρικής **Προπαρακαΐνης**. Σε σοβαρότερες δηλητηριάσεις επέρχεται δύσπνοια, ναυτία, εμετός, μερική ασφυξία και πνευμονικό οίδημα. Υποστηρίζεται η αναπνοή με οξυγόνο και χορηγείται **Διαζεπάμη**, [Currance P.L., et al, 2005].

Εξαιρετικές πηγές περί των βιογενών πολυαμινών αποτελούν τα τρία συγγράματα των [Vaughan Victor Clarence, et al, 1888, 1891 and 1896]. Εκεί αναφέρονται διεξοδικά οι φυσικές, χημικές και βιοϊατρικές ιδιότητες, των δύο μεγάλων οικογενειών, των βιολογικών αυτών σωμάτων: Πτωμαϊνών και Λευκομαϊνών, σε μία νοηματική αντιδιαστολή της αντίστροφης βιο-αποστολής των. Όπου οι μεν πρώτες αποτελούν τις βακτηριακά παραγόμενες, επικίνδυνες **Τοξίνες**, ενώ οι δεύτερες **Αντι-τοξίνες** είναι οι εξουδετερωτές των πρώτων, σε μία βιολογική και βιοχημική έκφραση της προαιώνιας φυσικής αρχής: δράσης – και αντίδρασης.

#### 2.4.7 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗΣ

Μεγάλη συνεισφορά και πληθωρικό έργο, στην δημιουργία των βιογενών πτωμαϊνών κατά την μεταθανάτια αποσύνθεση της σάρκας, στην χημεία, στις βιολογικές-βιοχημικές τους ιδιότητες και στην φυσιο-παθολογία των, πάνω στους οργανισμούς και στα κύτταρα, των εμβίων όντων είχαν οι επιστήμονες που εμφανίζονται στις παρακάτω φωτογραφίες.



Εικόνα 2.4.14 Οι Πρώτοι Επιστήμονες που Ενασχολήθηκαν με την Χημεία των Πτωμαϊνών. Αριστερά: Ο Alexander Wynter Blyth (1844-1921), Κέντρο: ο Alfred Henry Allen (1846-1904) και Δεξιά: ο Abderhalden Emil (1877-1950).

Ο Βρετανός χημικός φυσιολόγος Blyth Alexander Wynter (1844-1921), με το έργο του ["Poisons: Their Effects and Detection", 1906], κατατάσσει τις πτωμαΐνες στην κατηγορία

των δηλητηρίων και περιγράφει διεξοδικά την ανίχνευση και τις επιδράσεις των. Ο Βρετανός χημικός και επόπτης Δημόσιας Υγείας Alfred Henry Allen (1846-1904), με τα έργα του ["Allen's Commercial Organic Analysis", 1913] και [Alfred Henry Allen, 1895], έδωσε διεξοδική περιγραφή των βιογενών αμινών σε διάφορες πηγές, καθώς και στα βιολογικά υγρά. Ο Ελβετός Βιοχημικός Abderhalden Emil (1877-1950), με τα θεμελιακά έργα του ["Text-book of Physiological Chemistry in Thirty Lectures", 1908] και ["Lehrbuch der Physiologischen Chemie", 1920–1921], καθώς και ["Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden", 1910-1919], συνεισέφερε τα μέγιστα στις Επιστήμες της Βιοχημείας, της Αναλυτικής Χημείας και της Βοτανικής Χημείας.



**Εικόνα 2.4.15** Από τους Πρωτοπόρους Επιστήμονες που Συνεισέφεραν στην Χημεία των Πτωμαϊνών και των Λευκομαϊνών. Αριστερά: Ο Aitken, William (1825-1892), Κέντρο: ο Vaughan Victor Clarence (1851-1929) και Δεξιά: ο Wells Harry Gideon (1875-1943).

Ο χημικός και ιατρός Vaughan Victor Clarence (1851-1929) εξειδικευθείς στις μεταδοτικές ασθένειες, κατά τον Πρώτο Παγκόσμιο Πόλεμο, συγκέντρωσε το πειραματικό υλικό του στα συγγράμματα, [Vaughan V.C., and Novy Frederick George, "Ptomaines, Leucomaines, of the Putrefactive and Physiological Alkaloids", 1888], [Vaughan Victor Clarence, and Novy Frederick George, "Ptomaines, Leucomaines, Bacterial Proteids: The Chemical Factors in the Causation of Disease", 1891], καθώς και [Vaughan Victor Clarence, and Novy Frederick George, "Ptomaines, Leucomaines, Toxins and Antitoxins: The Chemical Factors in the Causation of Disease", 1896], όπου έδωσε εκτεταμένες περιγραφές των πτωμαϊνών, σχεδόν από πάσης πλευράς.

Ο Αμερικανός βιοχημικός Harry Gideon Wells Ph.D., (1875—1943), στο ογκώδες σύγγραμμα του ["Chemical Pathology", 1907], διαλαμβάνει το θέμα ολόκληρης της οικογένειας των βιογενών αμινών, απ' την πλευρά των παθολογικών τους επιδράσεων. Επίσης ο Βρετανός παθολόγος ιατρός και βιοχημικός Sir William Aitken, M.D., (1825-1892), στο οκτάτομο πόνημα ["Animal Alkaloids, the Ptomaines, Leucomaines and Extractives, in their Pathological Relations", 1890], στο δίτομο πόνημα του ["The Science and Practice of Medicine", 1885-1900], καθώς και τις μελέτες του στην Επιδημιολογία και στην Υγειολογία παρέχει εξαιρετικά εκτεταμένη και τεκμηριωμένη βάση πληροφόρησης, για την φύση, τις ιδιότητες και τις βιολογικές και βιοχημικές δράσεις, των πτωμαϊνών και των λευκομαϊνών. Στα σπονδυλωτά έμβια όντα η καδαβερίνη δύναται άμεσα να μετατραπεί στο **4-Αμινοβουτυρικό οξύ (GABA)**, τον κυριότερο αναστολέα νευροδιαβιβαστή του εγκεφάλου. Αυτό πραγματοποιείται μέσω δύο ενζυματικών σταδίων. Οξειδωτική απαμίνωση, υπό του ενζύμου της διαμινικής οξειδάσης (Diamine Oxidase) σε μονο-

ακετυλο-πουτρεσκίνη, η οποία στη συνέχεια υφίσταται και πάλι οξειδωτική απαμίνωση, υπο της μονοαμινικής οξειδάσης (Monoamine Oxidase). Η διαδικασία της μονο-ακετυλιώσεως και της οξειδωτικής απαμίνωσης των ακετυλο-παραγώγων φαίνεται να είναι ο επικρατέστερος τρόπος αποικοδομήσεως των πολυαμινών, [Seiler N., 1980].

Οι βιογενείς διαμίνες 1,3-Διαμινο-προπάνιο, 2,2'-Διθειο-δισ-(αιθυλαμίνη), Πουτρεσκίνη, Καδαβερίνη και Σπερμιδίνη **αποβάλλονται στα ούρα ασθενών**, με κυστινουρία και κυστινο-λυσινουρία, [Bremer H.J., et al, 1971]. Η καδαβερίνη είναι απαραίτητη διαμίνη για την κανονική ανάπτυξη βλαστών σπέρματος, καρπού σόγιας και των ριζών αυτής, καθώς επίσης και των ριζικών συστημάτων πολλών άλλων σπερμάτων και καρπών, [Gamarnik A., et al, 1991]. Στα ριζικά συστήματα διαφόρων φυτών και εντός του υπεδάφους, η καδαβερίνη παράγεται ενζυματικά, με την αποκαρβοξυλίωση της λυσίνης, παρουσία του ενζύμου Lysine Decarboxylase, σύμφωνα με το παρακάτω διάγραμμα, (Εικόνα 2.4.16), [Flores H.E., et al, 1989]. Έχει αναφερθεί ότι οι διαμίνες Πουτρεσκίνη και η Καδαβερίνη ανήκουν **στα πρωτογενή εκείνα και αρχέγονα οργανικά μόρια**, που πρωτοδ-ημιούργησαν στην Γήινη ατμόσφαιρα, στις προϊστορικές και εφιαλτικές συνθήκες, των υψηλών θερμοκρασιών και πιέσεων και των συνεχών εκρήξεων, που επικρατούσαν στην επιφάνεια της γης, όταν το υγρό υδάτινο στοιχείο και ο διάπυρος φλοιός του ρευστού μάγματος, αλληλεπιδρούσαν βίαια μεταξύ των. Οι συγγραφείς στηρίζουν αυτήν την επιστημονική εικόνα στην εργαστηριακή διαπίστωση ότι, όταν υδατικά διαλύματα των αντιστοιχών αμινοξέων, L-Ορνιθίνης και L-Λυσίνης θερμαίνονται, απουσία οξυγόνου, οδηγούν σε αποκαρβοξυλίωση των αμινοξέων και στην ποσοτική παραγωγή των ελευθέρων αμινών, [Kim E., et al, 1991].

Ο πρωτογενής και δευτερογενής μεταβολισμός του αζώτου των πολυαμινών στα φυτά, καθώς και η βιολογία, η φυσιολογία και οι βιοχημικές αλληλεπιδράσεις, που πραγματοποιούνται **στα φυτικά συστήματα**, αναφέρονται στις εργασίες των [Flores H.E., et al, 1990]. Αναφέρθηκε η μελέτη της ομο-τροφικής οξειδωτικής αποικοδόμησης της καδαβερίνης υπό μίας μεθανογονικής, υδρογονοτροφικής συγκαλλιέργειας προς μεθάνιο, καθώς και οξικά, βουτυρικά, γλουταρικά και θειούχα ιόντα.

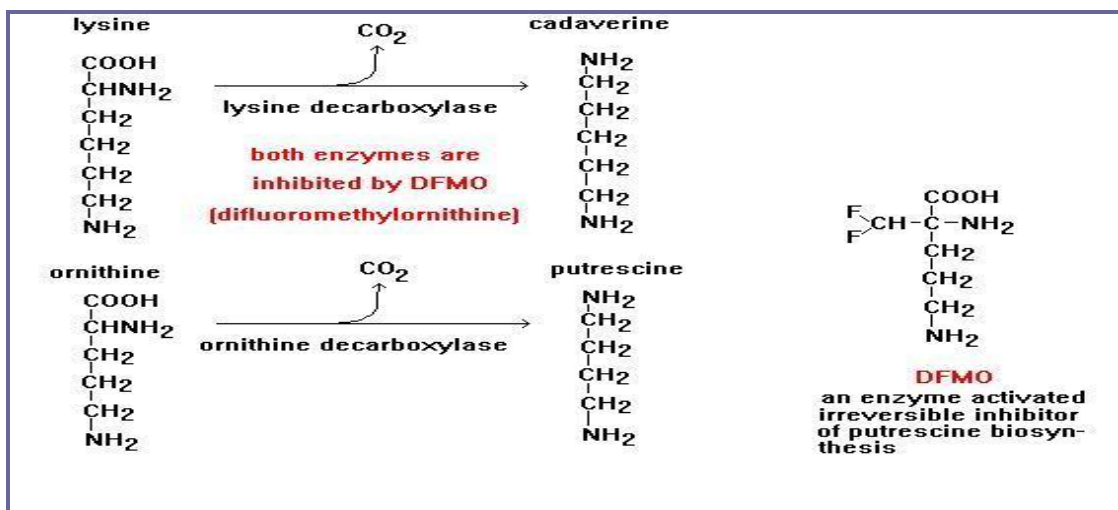
Προτείνεται ενζυματικός μηχανισμός, **ζύμωσης της καδαβερίνης** μέσω της 5-Αμινοβαλεριανικής Αλδεϋδης και του Κροτονυλικού Συνενζύμου A, από τους [Roeder Julia, et al, 2009]. Μία σειρά ομολόγων παραγώγων της καδαβερίνης (C-Alkylcadaverines) και πουτρεσκίνης (N-Alkylputrescines) συντέθηκαν και αναλύθηκαν ως υποστρώματα, για την μελέτη της διαμινικής οξειδάσης, προερχόμενης από σπορίδια μπιζελιού και νεφρούς χοίρου.

DAO



**Η οξειδωτική απαμίνωση**, που λαμβάνει χώρα είναι κατά πολύ ασθενέστερη στα παράγωγα αυτά, απ' ότι στις μητρικές αρχικές βάσεις, σε βαθμό που αυτά να μπορούν να προταθούν, άλλοτε ως αναστολείς και άλλοτε ως υποστρώματα, αυτής της ενζυμικής δράσεως. Προκύπτουν οι αντίστοιχες αλδεϋδες, με βάση την παραπάνω αντίδραση, (όπου DAO= Diamine Oxidase, το μόριο της Διαμινο-Οξειδάσης), [Equi A.M., et al, 1991]. Έχουν παρασκευασθεί και χαρακτηρισθεί, τόσο με μοριακή αγωγιμότητα, όσο και με φάσματα

άπω-υπερύθρου, τα **σύμπλοκα των 1,3-Διαμινοπροπανίου, 1,4-Διαμινοβουτανίου** (πουτρεσκίνης) και **1,5-Διαμινοπεντανίου** (καδαβερίνης), με αλογονούχα και ψευδοαλογονούχα ανιονικά σύμπλοκα των Zn(II), Cd(II) and Hg(II). Προτείνονται πιθανές δομές των συμπλόκων αυτών σε στερεά κατάσταση, [Ahuja I.S., 1975].



Εικόνα 2.4.16 Η Πορεία Βιολογικής Συνθέσεως της Καδαβερίνης και της Πουτρεσκίνης.

Συντέθηκαν διάφορα πολυπυρηνικά χηλικά σύμπλοκα του **Pt(II)**, με **βιογενείς πολυαμίνες** και ελέγχθηκαν ως προς τις αντιπολλαπλασιαστικές και κυτταροτοξικές ιδιότητες τους, σε διάφορες σειρές καλλιεργειών ανθρωπίνων καρκινικών κυττάρων. Διαφορετικές γεωμετρικές και δομικές διαμορφώσεις των συμπλόκων αυτών επέδειξαν ικανοποιητικά αποτελέσματα και διαφορετική εξειδίκευση, έναντι των HeLa and HSC-3 επιθηλιακών κυττάρων και των THP-1, MOLT-3 και CCRF-CEM λευκαιμικών κυττάρων. Η τοξικότητα έναντι φυσιολογικών –μη καρκινικών – κυττάρων αναστρέφεται, με την διακοπή του φαρμάκου, [Teixeira L.J., et al, 2004].

Συντέθηκαν τα σύμπλοκα άλατα γενικού τύπου **[{trans-PtCl(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>(Diamine)]Cl<sub>2</sub> και [{cis-PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](Diamine)]** και μελετήθηκαν οι ιδιότητες και οι δομές των trans-χηλικών συμπλόκων με την αιθυλενοδιαμίνη, την 1,4-βουτανοδιαμίνη, την 1,5-πεντανοδιαμίνη και την 2,5-διμεθυλο-2,5-εξανοδιαμίνη. Απομονώθηκαν επίσης τα διαμοριακά (Intermolecular) και ενδομοριακά (Intramolecular), υδροξυ-γεφυρωμένα σύμπλοκα. Το προϊόν της αντιδράσεως του συμπλόκου **trans-Diammine-Dichloro-Platinum(II)**, με γεφυροποιούς αλειφατικές πολυαμίνες, εξαρτάται, τόσο από το μήκος της αλειφατικής αλυσίδας, όσο και την γεωμετρία του συμπλόκου, [Qu Yun, and Farrell Nicholas, 1990 και 1992]. Η ίδια ερευνητική ομάδα συνέθεσε μία νέα τάξη χηλικών συμπλόκων του Pt(II) και μελέτησε την αξιοσημείωτη κυτταροτοξικότητα και αντινεοπλασματική δραστηριότητα των, έναντι καλλιεργειών καρκινικών κυττάρων ανθεκτικών έναντι, τόσο των συμπλόκων της γνωστής Cis-Platin, όσο και του συμπλόκου του Pt(II), με το 1,2-Διαμινοκυκλοεξάνιο, [Farrell N., et al, 1990]. **Μια σειρά απλών και βιογενών αμινών** (υδραζίνη, αιθυλενοδιαμίνη, πουτρεσκίνη, αιθανολαμίνη, σπερμίνη, σπερμιδίνη και καδαβερίνη) μελετήθηκε πειραματικά, από τους [Kallistratos G., et al, 1976], ως προς την

ανασταλτική τους δραστικότητα, έναντι της χημικής καρκινο-γένεσης με βενζο[α]πυρένιο (Benzo[a]pyrene) (2,52mg-65) και διαπίστωσαν, ότι εξ' όλων αυτών η αιθυλενοδιαμίνη (12,2mg-4,5), η πουτρεσκίνη (10,0mg-1,6) και η καδαβερίνη (10,0mg-9,5) αποτελούν τους πλέον ισχυρούς παρεμποδιστές της χημικής καρκινογένεσης, όπως φαίνεται απ'τα αριθμητικά αποτελέσματα εντός των παρενθέσεων, όπου δίνονται τα mg της χορηγηθείσης δόσεως και μετά η καρκινογενική δυναμικότητα.

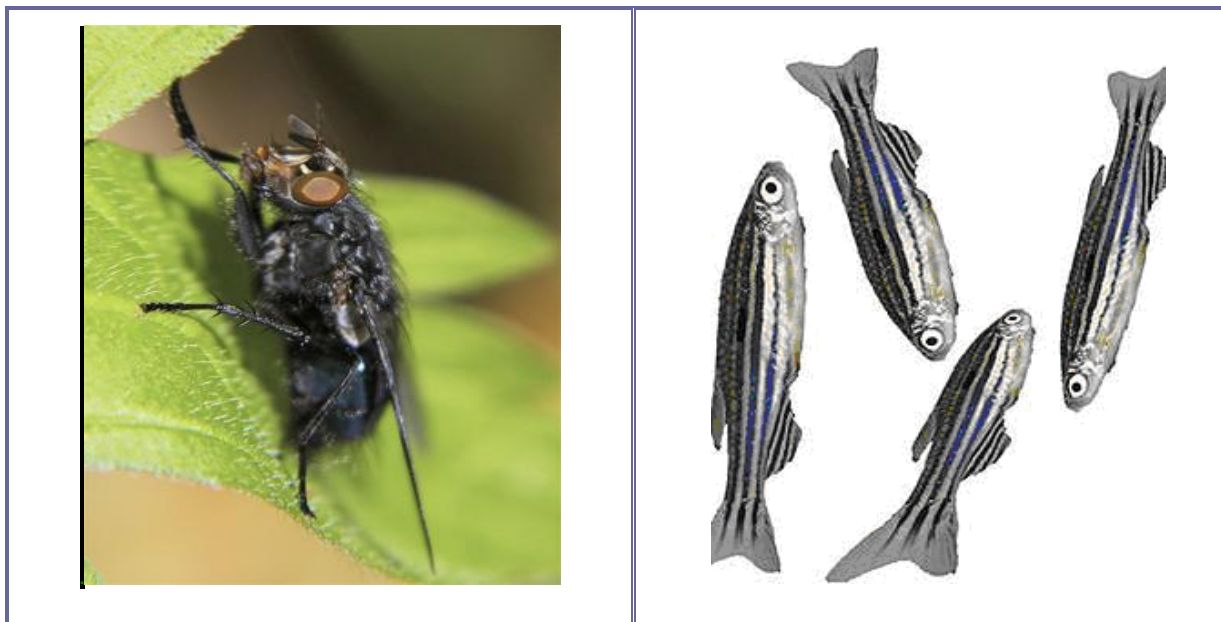
#### **2.4.8 ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗΣ**

Οι ερευνητές [Hong Li, et al, 1992] ανέφεραν την κατασκευή ενός **ενζυματικού αντιδραστήρα**, σε διάταξη συνεχούς ροής, εφοδιασμένου με PVC μεμβράνη άλατος της τρυγικής καδαβερίνης, για τον αναλυτικό προσδιορισμό της λυσίνης ή της καδαβερίνης σε περιοχές συγκεντρώσεων από 0,1 έως 100mM. Ο μεταλλάκτης αυτός, λόγω της εκλεκτικής μεμβράνης καδαβερίνης, χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση πραγματικών δειγμάτων, αμινοξέων και παρουσίασε εξαιρετική εκλεκτικότητα έναντι της λυσίνης, με μόνη σοβαρή παρεμποδιστική δράση από την νικοτίνη. Προτάθηκε ευαίσθητη διαγνωστική μέθοδος κολπικών βακτηριακών μολύνσεων, μέσω μετρήσεων των βιογενών αμινών, με τη μέθοδο της **φασματοσκοπίας ιοντικής ευκινησίας** (IMS). Η μέθοδος είναι ταχεία και εφαρμόστηκε σε μεγάλη σειρά υγρών δειγμάτων, από κολπικά απεκκρίματα. Τα δείγματα αναλύθηκαν με την μέθοδο αυτή και σε σύγκριση με τα κριτήρια Amsel, τα πειραματικά αποτελέσματα IMS, είχαν ευαισθησία 95,5%, εκλεκτικότητα 98,9% και επαναληπτικότητα αναλύσεων 94,4%, [Sobel J.D., et al, 2012]. Τα επίπεδα συγκεντρώσεως των βιογενών αμινών πουτρεσκίνης (ορνιθίνης), καδαβερίνης (λυσίνης) και ινδολίου (τρυπτοφάνης) προτάθηκαν ως χημικοί δείκτες, του βαθμού αποσύνθεσης των πεναιδών γαριδών, [Benner R.A.Jr., et al, 2003]. Οι γαρίδες Penaeidae είναι μια οικογένεια εμπορεύσιμων, θαλάσσιων καρκινοειδών, υποσύνολο της μεγάλης οικογένειας των πενειδών Dendrobranchiata. Αλιεύονται στις ακτές της Αφρικής ή παράγονται σε τεχνητές ιχθυοκαλλιέργειες. Έγιναν εργαστηριακά πειράματα, ελεγχόμενης αποσύνθεσης, σε φρέσκιες ή κατεψυγμένες γαρίδες και σε διάφορες θερμοκρασίες. Προτείνεται ότι ένα επίπεδο συγκεντρώσεως 3ppm (25μg/100g) αποτελεί ασφαλή τιμή απορρίψεως, των αλλοιωθέντων γαριδών. Σε άλλες σειρές πειραμάτων με γαρίδες (*Litopenaeus Vannamei*, *Setiferus* και *Brasiliensis*) της Νικαράγουας και των ακτών της Φλόριδας διεπίστωσαν ότι, ο μοναδικός σηπτικός μικροοργανισμός, που επιφέρει αλλοίωση και αποσύνθεση στην εν λόγω γαρίδα, και οδηγεί στην παραγωγή των προαναφερθέντων βιογενών αμινών, σε μία σειρά θερμοκρασιών είναι ο *Shewanella Putrefaciens*, [Benner R.A.Jr., et al, 2004]. Τα επίπεδα συγκεντρώσεων των αμινών αυτών προτείνονται ως ασφαλείς διατροφικοί δείκτες, της υγειονομικής καταστάσεως, αυτών των θαλασσινών. Οι ιχθείς αποτελούν μια εξαιρετική και πλούσια πηγή ελεύθερων αμινοξέων και ως εκ τούτου ιδανικό υπόστρωμα για μικροβιακή ανάπτυξη. Ο βαθμός αποσύνθεσης φιλέτων των ιχθύων Mahi-Mahi (*Coryphaena Hippurus*, παραλλαγής γάδου), για την εκτίμηση της ποιότητας αυτών μπορεί να γίνει με την βοήθεια χημικών δεικτών, της μικροβιακής δραστηριότητας, όπως είναι οι βιογενείς αμίνες. Έγιναν πειράματα σε διάστημα 10 ημερών με/και χωρίς εμβολιασμό σε *Morganella Morganii* ( $10^5$  CFU/mL). Και διαπιστώθηκε ότι η καδαβερίνη αποτελεί τον καλύτερο δείκτη

αλλοιώσεως, αφού έχει τον καλύτερο βαθμό συσχέτισεως, με τις αντίστοιχες αμινο-ενώσεις: λυσίνη ( $r=0,61$ ), ισταμίνη ( $r=0,78$ ) και πουτρεσκίνη ( $r=0,85$ ), φθάνοντας στο  $r=3\text{mg}/100\text{g}$  την τρίτη ημέρα, [Antoine F.R., et al, 2002]. Αναπτύχθηκε μία αέριος/υγρή χρωματογραφική μέθοδος για τον αναλυτικό προσδιορισμό της πουτρεσκίνης και καδαβρίνης σε αλιευτικά προϊόντα, τροποποίηση παλαιότερης για ανάλυση διαμινών σε γαρίδες. Ο **χρωματογραφικός διαχωρισμός** των τροποποιημένων διαμινών, βελτιώθηκε τα μέγιστα με την αλλαγή της στατικής φάσεως της στήλης από OV-225-κυανο-προπυλο-μεθυλο-φαινυλο-μεθυλο-σιλικόνης, σε πολική μοριακή στήλη HP-Innowax-διακλαδισμένη πολυαιθυλενο-γλυκόλη. Προσθήκη KCl και HCl στο εκχύλισμα μεθανόλης-ύδατος, οδήγησε σε αποτροπή σχηματισμού γαλακτώματος γέλης και σε ηυξημένες ανακτήσεις της πουτρεσκίνης από 64 σε 98% και της καδαβρίνης από 85 σε 93%. Τα επίπεδα συγκεντρώσεων αμφοτέρων των διαμινών, στις γαρίδες υψηλής ποιότητας κυμαίνονται σε 0 to 0,7ppm, ενώ στις αλλοιωμένες γαρίδες είναι για μεν την πουτρεσκίνη  $>4,8$  ppm, για δε την καδαβρίνη  $>1,3$  ppm, [Rogers P.R. et al, 1993 και 2003]. Αναπτύχθηκε μία νέα **χρωματογραφική μέθοδος HPLC**, φθορισμομετρικού ανιχνευτή, για την εκτέλεση αναλυτικών προσδιορισμών, της ημερήσιας διακύμανσης συγκεντρώσεων των βιογενικών αμινών, στον ανθρώπινο σίελο. Οι μεγαλύτερες τιμές που μετρήθηκαν (μέση συγκέντρωση σε  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), με την πρωινή αφύπνιση των εθελοντών ατόμων ήταν, πουτρεσκίνη  $33,0\pm 19,0$ - καδαβρίνη  $17,6\pm 16,7$  και ινδόλιο  $0,4\pm 0,4$ ), ενώ δεν ανιχνεύθηκε το σκατόλιο στον ανθρώπινο σίελο και σε οποιαδήποτε ώρα της ημέρας. Μετά την λήψη του πρωινού, καθώς και μετά το βούρτσισμα των οδόντων, με φθοριούχο οδοντόπαστα παρατηρείται απότομη πτώση των τιμών αυτών, σε πουτρεσκίνη  $7,0\pm 6,4$  σε καδαβρίνη  $3,1\pm 4,7$  και σε ινδόλιο  $0,04\pm 0,09$ ). Το φθοριούχο νάτριο αποδεικνύεται ισχυρός αναστολέας του σχηματισμού των βιογενικών αυτών αμινών, στον στοματικό σίελο, [Cooke M., et al, 2003]. Σε συνθήκες μειωμένης στοματικής υγιεινής **τα σιελογόνα βακτήρια** υπερ-παράγουν το ένζυμο αποκαρβοξυλάση της λυσίνης, τα οποία μετατρέπουν ενδοστοματικά την λυσίνη σε καδαβρίνη. Αυτό οδηγεί σε στοματική κακοσμία, φλεγμονές των ούλων και περιοδοντικές παθήσεις. Αναπτύχθηκε μία ευαίσθητη και εκλεκτική μέθοδος τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης, εφοδιασμένης με φθορισμομετρικό ανιχνευτή πηγής Laser, για τον αναλυτικό προσδιορισμό της καδαβρίνης και λυσίνης στον σίελο, ως ενδεικτικό της ενεργότητας του ενζύμου αποκαρβοξυλάσης της λυσίνης. Τα διαμινο-προϊόντα στην μονο-πρωτονιωμένη κατάσταση διαχωρίζονται, στη μορφή των παραγώγων τους με το αντιδραστήριο 4-φθοριο-7-νιτροβενζο-2-οξα-1,3-διαζόλιο (NBD-F). Σε μετρήσεις σιέλου υγιών εθελοντών, με και χωρίς εντατική στοματική υγιεινή, επετεύχθη ικανοποιητική γραμμικότητα και επαναληπτικότητα της μεθόδου, στην περιοχή των  $1-50\mu\text{mol}/\text{L}$ , [Tábi Tamás, et al, 2008]. Έχει επιτευχθεί ο χρωματογραφικός διαχωρισμός της καδαβρίνης από την πουτρεσκίνη, την ισταμίνη και από άλλες βιογενείς πολυαμίνες, σε νεφρούς ποντικών, με τη βοήθεια **στήλης φωσφοροσελλουλόζης**, [Furuta H., et al, 1985]. Η αλληλεπιδράσεις μιάς σειράς βιογενών αμινών (am=αιθυλενοδιαμίνη, πουτρεσκίνη, καδαβρίνη, σπερμιδίνη, σπερμίνη, εξαμίνη), με πολύ-ηλεκτρολύτες (L=αλγινικά και φουλβικά οξέα) μετρήθηκαν ποτενσιομετρικά και θερμοδομετρικά, σε υδατικό περιβάλλον χωρίς φέροντα ηλεκτρολύτη ( $I=0$ ,  $25^\circ\text{C}$ ) και διαπιστώθηκε η δυνατότητα συμπλέξεως

αυτών, σε μορφές του γενικού τύπου  $[(am)L_2Hi]$ , με σταθερές σχηματισμού, της τάξεως μεγέθους των μεταλλικών συμπλόκων, ( $\log K_{(i)}=6,0, 6,5$  και  $10,8$  για  $i=1..4$ ), από τους [De Stefano C., et al, 2006]. **Μελετήθηκε ποτενσιομετρικά** ο σχηματισμός και η σταθερότητα διαφόρων συμπλόκων των πρωτονιωμένων διαμινών ( $A=$ καδαβερίνη, πουτρεσκίνη), με διάφορους καρβοξυλικούς υποκαταστάτες ( $L=$ οξικά, μηλικά, τρυγικά, μηλονικά, κιτρικά, 1,2,3-τρικαρβοξυλικό-προπανιο, 1,2,3,4-τετρακαρβοξυλικό-βουτάνιο και γλουταμικά) και ελήφθησαν σύμπλοκα συζεύξεως του τύπου  $ALH(r)$ , (όπου  $r=1..m+1$ ), σε διάφορα περιβάλλοντα. Ευρέθη ότι η σταθερότητα των ενώσεων αυτών είναι συνάρτηση του αριθμού των πρωτονίων, που εμπλέκονται και των γεφυρών που αποκαθίστανται, στην αντίδραση σχηματισμού των συμπλόκων αυτών, [De Stefano C., et al, 1998]. Οι θερμοδυναμικές παράμετροι της αλληλεπίδρασης της συνδέσεως, των κατιόντων διαφόρων βιογενών πολυαμινών, με οργανικά και ανόργανα πολυανιόντα, μελετήθηκαν ποτενσιομετρικά με το **ηλεκτρόδιο υάλου και θερμοδομετρικά**, σε υδατικό περιβάλλον και στους  $25^\circ\text{C}$ . Ο γενικός τύπος των γραμμικών τρι-, τετρα-, πεντα και εξα-αμινών πολυαμινών είναι  $[A=NH_2-(CH_2)_x-NH_2]$ , (όπου  $x=2..10$ ), τα δε πολυανιόντα είναι  $[L=Cl^-, SO_4^{2-}, HPO_4^{2-}, P_2O_7^{4-}, P_3O_{10}^{5-},$  τρυγικά, μηλικά, κιτρικά, γλουταμικά, 1,2,3-τρικαρβοξυλικό-προπάνιο και το 1,2,3,4-τετρακαρβοξυλικό-βουτάνιο. Οι σταθερές σχηματισμού (ενθαλπίες σχηματισμού,  $\Delta H_0$ ) των συμπλόκων σωματιδίων μετρήθηκαν και βρέθηκαν ότι είναι συνάρτηση των εμπλεκόμενων φορτίων και όλα έχουν θετική τιμή, πράγμα που επιβεβαιώνει ότι **τα σύμπλοκα αυτά είναι εντροπικώς σταθεροποιημένα**, [De Robertis A., et al, 2001]. Μελετήθηκαν ποτενσιομετρικά οι σταθερές σχηματισμού των συμπλόκων αλάτων -ιονικών ζευγών, μεταξύ των πρωτονιωμένων κατιονικών βιογενών διαμινών,  $[A=$ πουτρεσκίνης και καδαβερίνης], με μία σειρά ανοργάνων πολύ-ανιόντων  $[L=Cl^-, SO_4^{2-}, HPO_4^{2-}, P_2O_7^{4-}$  and  $Fe(CN)_6^{4-}]$ , με τη χρήση ηλεκτροδίου υάλου και σε θερμοκρασία  $25^\circ\text{C}$ . Η ηλεκτροστατική σύζευξη των αντιθέτου φορτίου ιόντων, οδηγεί στον σχηματισμό ενώσεων -ιονικών ζευγών, του τύπου  $[ALH_r]$ . Διατυπώθηκε μία γενική σχέση για τις σταθερές σχηματισμού  $[\log K=-0,85+1,81z-0,055n]$ , [De Robertis A., et al, 1998]. Αναπτύχθηκε μία **ευαίσθητη φωτομετρική μέθοδος** επιδείξεως της δράσεως των ενζύμων αποκαρβοξυλάσης της λυσίνης και της αποκαρβοξυλάσης της ορνιθίνης, χωρίς τη χρήση των συνηθισμένων δεικτών pH. Η ανίχνευση των διαμινών που παράγονται, από τις καλλιέργειες διαφόρων τάξεων εντεροβακτηριδίων, παρουσία των αντιστοίχων αμινοξέων, επιτυγχάνεται με την χρήση του αντιδραστήριου 5-νιπροσαλικυλικής αλδεΐδης, σε περίσσεια τριαιθανολαμίνης και κατιόντων νικελίου. Ο σχηματισμός εντόνως εγχρώμων και δυσδιαλύτων χηλικών συμπλόκων του  $Ni(II)$  αποδεικνύουν και επιβεβαιώνουν την ενζυματική δράση. Τα πειραματικά δεδομένα της προτεινόμενης μεθόδου συσχετίζονται ικανοποιητικά με τα αντίστοιχα των καθιερωμένων μεθόδων των πεχαμετρικών δεικτών. Η μέθοδος διακρίνεται για την ταχύτητα της και υπερτερεί των κλασσικών μεθόδων, για την οπτική ευκρίνεια των πειραματικών αποτελεσμάτων, [James A.L., et al, 1986]. Μία μοριακή διαμόρφωση των παραγώγων της κουμαρίνης με διάφορες βιογενείς αμίνες χρησιμοποιήθηκε για την οπτική ανίχνευση αυτών, με **φασματοσκοπία φθορισμού UV-Vis**, σε κατάλληλο περιβάλλον ρυθμιστικού παράγοντα. Το έγχρωμο προϊόν ακινητοποιημένο πάνω σε πολυμερική μεμβράνη, χρησιμοποιείται στην οπτική ανίχνευση των αμινών αυτών, σε

αέρια φάση, [Boram Lee, 2011] και [Reinert Susanne, 2008]. Έχει αναφερθεί η χρήση των τιμών συγκεντρώσεων, των πτωμαϊνών **σε ιατροδικαστικές χημικές αναλυτικές εργασίες**, [Tamba K., 1886 and 1887].



**Εικόνα 2.4.17. Αριστερά: Η λαμπρή κυανο-πράσινη κρεατόμυγα (blue bottle fly) έλκεται ισχυρά από την καδαβερίνη και Δεξιά: Το ψάρι Ζέμπρα απωθείται ισχυρά από την οσμή της πουτρεσκίνης.**

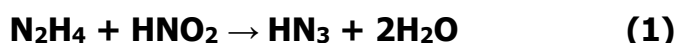
Σύμφωνα με την ερευνητική ομάδα των [Medina M.A., 2003], οι βιογενικές διαμίνες και η ισταμίνη παράγονται από αρωματικά και κατιονικά αμινοξέα, στην μορφή οργανικών πολυκατιόντων, με ένα υδρόφοβο σκελετό και ένα ή περισσότερα θετικά φορτία. Η φύση προορίζει τα μόρια αυτά να διαδραματίζουν πολλαπλούς και διαφορετικούς ρόλους στην φυσιο-παθολογία των θηλαστικών, αλλά να διατηρούν παρόμοια μοντέλα, στην διακυτταρική συμπεριφορά και στον μεταβολισμό των. **Η βιοχημεία και μοριακή βιολογία των ουσιών αυτών** είναι περίπλοκη, στις παθολογίες στις οποίες συμμετέχουν, όπως οι ανοσολογικές, οι νευρολογικές, οι γαστροεντερικές και ογκολογικές παθογένειες και απαιτούν διαλεύκανση. Στις εργασίες αυτές συγκεντρώνουν και ομαδοποιούν πλήθος ερευνητικών βιο-ιατρικών πληροφοριών, τόσο για την εκχύλιση των βιοχημικών ομοιοτήτων, όσο και των διαφορών των διαμινών αυτών, με σκοπό την ανάπτυξη νέων συστημικών υποθέσεων μοριακής βιολογίας και βιοιατρικών στρατηγικών, με την βοήθεια της βιο-πληροφορικής, της βιο-φυσικής και της μοριακής βιολογίας, [Medina M.A., 2005]. Η ερευνητική ομάδα του καθηγητή Sigrun I. Korsching ανέφερε ότι η καδαβερίνη και η πουτρεσκίνη, δύο διαμίνες που προέρχονται από την αποσύνθεση της σάρκας, έχουν έντονα αποκρουστικές μυρωδιές για τον άνθρωπο, αλλά εξυπηρετούν σε άλλα είδη και για διάφορα κοινωνικά μηνύματα, ως μία έμφυτη ελκυστική ή απωθητική οσμή. Έτσι η λαμπρή κυανο-πράσινη κρεατόμυγα (blue bottle fly) είναι μόνον ένα από τα πολλά έντομα, που έλκονται ισχυρότατα από την καδαβερίνη. Εξ' άλλου το ψάρι-ζέβρα (Zebrafish, *Danio rerio*), ένα πρότυπο έμβιο σύστημα σπονδυλωτών, παρουσιάζει ισχυρή και έμφυτη συμπεριφορά αποφυγής, των δύο αυτών, διότι διαθέτει υψηλής συγγένειας οσφρητικούς υποδοχείς TAAR13c, ειδικότερα έναντι της καδαβερίνης, [Hussain Ashiq, et al, 2013].



## 2.5- ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ ή ΑΖΙΔΙΟ ΤΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ ή ΝΑΤΡΑΖΙΔΙΟ ή ΑΖΙΥΜ.

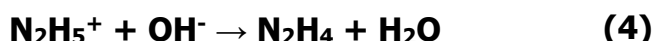
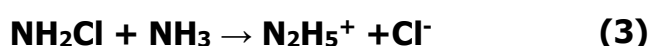
### 2.5.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΑΥΤΟΥ

Το υδραζωτικό οξύ ( $\text{HN}_3$ ) παρασκευάστηκε για πρώτη φορά το 1890 από τον Theodor Julius Curtius, [Berichte, "Üeber Stickstoffwasserstoffsäure (Azoimid)  $\text{N}_3\text{H}$ ", 1890]. Η σύνθεση του βασίσθηκε στην οξειδωση της υδραζίνης ( $\text{N}_2\text{H}_4$ ), με νιτρώδες οξύ, (Αντίδραση 1). Ο ίδιος επίσης για πρώτη φορά το έτος 1887 είχε παρασκευάσει εργαστηριακά και την υδραζίνη.

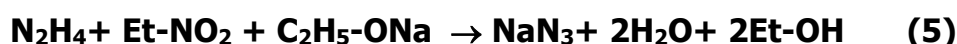


Εικόνα 2.5.1 Οι Πρώτοι Χημικοί που Συνέθεσαν και Απομόνωσαν το Υδραζωτικό Οξύ και τα Άλατα του, Αριστερά: Curtius Theodor Julius 1857-1928 και Δεξιά: Wislicenus Johann Adolf 1835-1902.

Ο κυριότερος τρόπος σύνθεσης της υδραζίνης βασίσθηκε στην ελεγχόμενη οξειδωση της αμμωνίας, με διάφορα υποχλωριώδη άλατα (Αντιδράσεις 2-4).



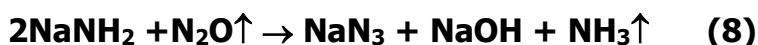
Η Αντίδραση 1 πραγματοποιείται σε διαλύτη διαιθυλαιθέρα και στους  $0^\circ\text{C}$ , παρουσία  $\text{CH}_3\text{ONa}$  ή  $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$ , ως βασικού σώματος, με το οποίο το  $\text{HN}_3$  αντιδρά παρέχοντας το άλας  $\text{NaN}_3$ . Αντί του νιτρώδους οξέος μπορούν να χρησιμοποιηθούν εστέρες νιτρώδους οξέος ή άλλα οξειδωτικά αντιδραστήρια, όπως το νιτρικό οξύ, το υπεροξειδίο του υδρογόνου, τα υπερθειικά και τα χλωρικά άλατα. Ένυδρη υδραζίνη (5g) διαλύεται σε 50ml απολύτου διαιθυλαιθέρα, το μίγμα ψύχεται επί πάγου και στη συνέχεια εισάγονται, **α)**- πρώτα διάλυμα 37,5ml διαλύματος 4N αιθοξειδίου του νατρίου και ύστερα **β)**- 12,6ml νιτρώδους αιθυλίου, σταδιακά και υπό αργή ανάδευση. Το σύστημα παραμένει επί πάγου επί περίπου μίαν ώρα και στη συνέχεια αφήνεται να επανέλθει αργά στις συνθήκες δωματίου. Το  $\text{NaN}_3$  καταβυθίζεται ποσοτικά σε άχρωμους μονοκρυστάλλους, διηθείται υπό κενό και εκπλύνεται με μίγμα μεθανόλης-αιθέρος, Αντίδραση 5, όπου ( $\text{Et} = \text{C}_2\text{H}_5^-$ ),



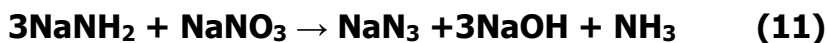
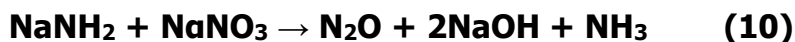
Ο Πρώσος χημικός Wislicenus J.A. (1835–1902), το 1892 ανέπτυξε μία διαφορετική πορεία σύνθεσης του νατραζιδίου, αποτελούμενη από δύο στάδια. Κατά το πρώτο στάδιο μεταλλικό νάτριο τήκεται στους 350°C και εντός αυτού διαβιβάζεται ξηρά αμμωνία, οπότε γίνεται η αντίδραση οξειδο-αναγωγής και παραγωγής του σοδαμιδίου:



Στο δεύτερο στάδιο εντός του NaNH<sub>2</sub> διαβιβάζεται αέριο υποξείδιο του αζώτου (ιλαρυντικό αέριο), οπότε παράγεται μόνον το NaN<sub>3</sub>, ή και υδροξείδιο του νατρίου, με ταυτόχρονη διαφυγή αέρια αμμωνίας, αντιδράσεις (7) και (8).



Με προσθήκη αιθανόλης στα προϊόντα της αντιδράσεως διαλυτοποιείται και απομακρύνεται πλήρως το ευδιάλυτο NaOH, οπότε απομένει το δυσδιάλυτο λευκό άλας NaN<sub>3</sub>,



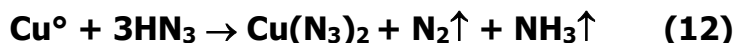
Κατά δεύτερη μέθοδο του ιδίου του Wislicenus κονιοποιημένο NaNO<sub>3</sub> εισάγεται απ'ευθείας σε τήγμα NaNH<sub>2</sub>, στους 175°C, (Αντίδραση 11), οπότε το υποξείδιο του αζώτου παράγεται εν τω γεννάσθαι, [Wislicenus Johann Adolf, "Eine Synthese von Natriumazid (NaN<sub>3</sub>) aus Natriumamid (NaNH<sub>2</sub>) und Lachgas (N<sub>2</sub>O)", Berichte, 1892].

## 2.5.2 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ-ΑΛΑΤΩΝ

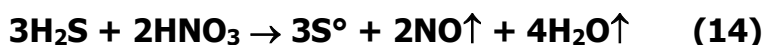
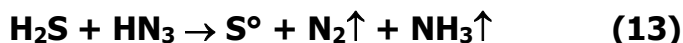
**ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΟ ΟΞΥ (HN<sub>3</sub>)**, ή αζίδιο του υδρογόνου (IUPAC), ή αζιμιδίο, ή διαζιμιδίο, ή τριαζωικό οξύ είναι ένα άχρωμο, πτητικό υγρό, με χαμηλό σημείο βρασμού=35,7°C και με εξαιρετικά δυσάρεστη και πνιγηρή οσμή, η οποία δίνει την ζαλιστική αίσθηση χλωροφορμίου και η παρατεταμένη εισπνοή των ατμών, προκαλεί επικίνδυνη πτώση της αρτηριακής πίεσεως, ερεθισμό των οφθαλμών και ολόκληρου του αναπνευστικού συστήματος, βήχα, ζάλη, ισχυρό πονοκέφαλο, αδυναμία και τελικά βρογχίτιδα και κατάρρευση. Τα αζιδιακά άλατα, σε στερεή, υγρή και αέρια κατάσταση απορροφώνται ισχυρώς από το δέρμα και εισέρχονται ταχέως στην κυκλοφορία. Έχει τοξικότητα σε ποντίκια IP, LD<sub>50</sub>= 21,5 mg/kg και μέγιστη επιτρεπτή συγκέντρωση στον αέρα (NIOSH): 0,1ppm.

Είναι ένα ασθενές οξύ, με ισχύ παραπλήσια με εκείνη του οξικού οξέος. Οι τιμές pK που αναφέρονται στη βιβλιογραφία καλύπτουν την περιοχή 4,7 έως 4,9, με πιο πιθανή τιμή περίπου pK<sub>a</sub>= 4,75-4,77 (25°C). Αυτό συνεπάγεται σημαντική υδρόλυση των διαλυμάτων των διαλυτών αλάτων του, που σε συνδυασμό με τη μεγάλη πτητικότητά του, καθιστά τα διαλύματα αυτά από μόνα τους πηγή τοξικών ατμών υδραζωτικού οξέος, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά τη χρήση τους. Είναι ασταθές και εξαιρετικά εκρηκτικό, σε κρούση, ώση και θέρμανση, γι'αυτό και η μεταφορά του σε καθαρή υγρή

μορφή είναι αδύνατη. Έχει μοριακό τύπο:  $\text{HN}_3$ , μοριακή μάζα=43,03, σημείο τήξης=-80°C και πυκνότητα=1,126 g/cm<sup>3</sup> (0°C). Εμφανίζει μίαν **ιδιόμορφη συμπεριφορά οξειδωτικού οξυ-οξέος**, εντελώς ανάλογη και παρόμοια με την δράση του νιτρικού οξέος. Έτσι το υδραζωτικό οξύ προσβάλλει αφ' εαυτού παντελώς τα βαρέα μεταπτώτικα, μεταλλικά στοιχεία (Cu, Ag, Pt, Pd, Hg), παρέχοντας **α**- τα υδραζωτικά άλατα αυτών, **β**- ελεύθερο άζωτο και **γ**- κάποιες φορές την υδραζίνη ( $\text{NH}_2\text{-NH}_2$ ) και **δ**- τις περισσότερες φορές την αμμωνία, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση, προσβολής του μεταλλικού χαλκού



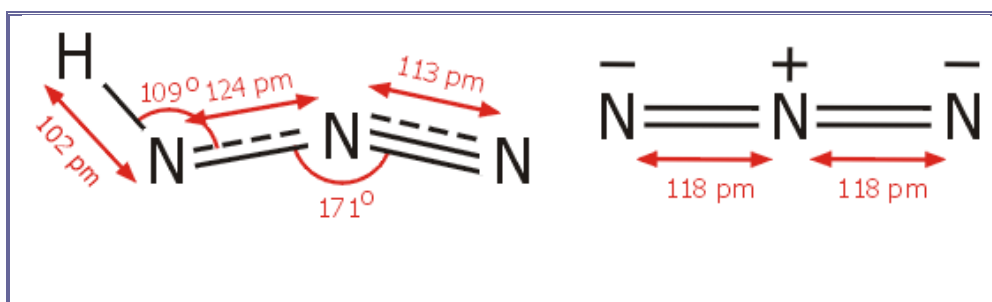
Σε αυτές τις αντιδράσεις αυτοοξειδοαναγωγής, (Αντίδραση 12) και στο ένα εκ των τριών αντιδρώντων μορίων του  $[\text{HN}_3]$ , τα δύο άτομα αζώτου οξειδώνονται, σε στοιχειακό αέριο άζωτο (0), ενώ το άλλο ανάγεται σε αέρια αμμωνία (-3). Έτσι προκαλεί την οξείδωση του υδροθείου (-2) προς στοιχειακό θείο (0), ενώ το ίδιο οξειδοανάγεται, αφ' ενός σε στοιχειακό άζωτο (0), αφ' ετέρου σε αμμωνία (-3), Αντίδραση 13,



Η αντίδραση νιτρικού οξέος-υδροθείου παρατίθεται για συγκριτικούς λόγους, Αντίδραση 14. Παρατηρούμαι ότι και το νιτρικό οξύ προκαλεί την απελευθέρωση στοιχειακού θείου ( $\text{S}^\circ$ ). Η **"εξωφρενική αυτή ιδιομορφία"** του υδραζωτικού οξέος, φθάνει στο απίστευτο σημείο, ώστε μίγματά του με HCl (1:2) να προκαλούν την οξείδωση-διαλυτοποίηση του λίαν ευγενούς και αδρανούς μεταλλικού στοιχείου, του **λευκοχρύσου ( $\text{Pt}^\circ$ )**, σύμφωνα με την Αντίδραση 19,



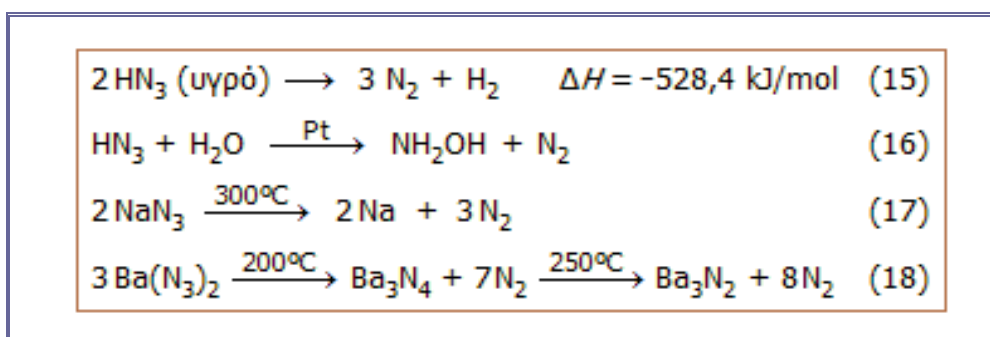
και μάλιστα όχι στην χαμηλότερη (+2), αλλά στην **ανώτατη οξειδωτική βαθμίδα** της πλατίνας (+4). Την ιδιότητα αυτή διαθέτουν μόνον τα μίγματα του HCl με το νιτρικό οξύ (3:1, Aqua Regia), οπότε μπορούμε πλέον να πούμε με βεβαιότητα, ότι τα δύο αυτά αζωτούχα οξέα ( $\text{HNO}_3$  και  $\text{HN}_3$ ) έχουν πολύ στενή ομοιότητα και αναλογία, τόσο χημικής συμπεριφοράς, όσο και οξειδο-αναγωγικών ιδιοτήτων.



Εικόνα 2.5.3 Οι Συντακτικοί τύποι του Υδραζωτικού οξέος και του Αζιδιακού Ανιόντος, με Γωνίες και Αποστάσεις Δεσμών.

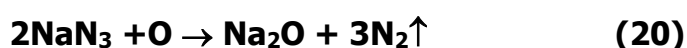
**ΤΟ ΑΖΙΔΙΟ ΤΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ ( $\text{NaN}_3$ )**, ή Νατραζίδιο ή Sodium Azide ή Natriumazid ή Azium ή Azidosodium, με CB Number: CB1853409 είναι το εμπορικά διαθέσιμο και πλέον συνηθισμένο άλας του υδραζωτικού οξέος με NaOH. Έχει CAS Number: 26628-22-8, μοριακό βάρος=65,02 και είναι ένα άχρωμο και άοσμο, κρυσταλλικό στερεό, με αλμυρή

γεύση. Έχει Σ.Τ.=275°C, Σ.Ζ.=300°C, πυκνότητα: 1,85g/cm<sup>3</sup>, σημείο αναφλέξεως= 300°C και θερμοκρασία αποθήκευσης=2-8°C. Έχει διαλυτότητα στο H<sub>2</sub>O: 1M στους 20°C, προς καθαρά και άχρωμα διαλύματα, ή 420g/L (17°C). Ανήκει στην οικογένεια των αλάτων των ψευδαλογονικών ανιόντων (N<sub>3</sub><sup>-</sup>, CNO<sup>-</sup>, SCN<sup>-</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Είναι ευδιάλυτο στο ύδωρ και την υγροποιημένη αμμωνία, ελαφρώς διαλυτό στις αλκοόλες (0,315gr σε 100gr αλκοόλης στους 16°C) και αδιάλυτο στους αιθέρες. Είναι ασταθές και ευαίσθητο σώμα στην υγρασία, την θερμοκρασία και την τριβή. Είναι επικίνδυνο υλικό, με υψηλή τοξικότητα και εξαιρετικό κίνδυνο σοβαρών εκρήξεων, σε ξηρά κατάσταση και ιδίως όταν θερμανθεί στην περιοχή 275 έως 330°C. Αποφεύγετε πηγές θέρμανσης, ανάφλεξης, υγρασίας, κρούσης και τριβής. Αυτό και τα άλατά του ιδίως με υδράργυρο [HgN<sub>3</sub>] και μόλυβδο [PbN<sub>3</sub>] είναι αναντικατάστατα υλικά, στην χημεία των εκρηκτικών ουσιών, με εξαιρετική χρησιμότητα, ως πυροκροτητές των καψυλλίων των βλημάτων και των οβιδίων, [Urbanski T., 1964–84]. Οι πυροκροτητές είναι ανόργανα κυρίως άλατα, ευαίσθητα σε **κρούση, ώση** και **θέρμανση**.



**Εικόνα 2.5.2 Μερικές Χαρακτηριστικές Αντιδράσεις, Θερμικής Διασπάσεως Μερικών Αζιδιακών Παραγώγων, με ή χωρίς Καταλύτη.**

Μετά την έκρηξη του, σε ανοικτή ατμόσφαιρα εκλύεται αέριο στοιχειακό άζωτο και καταλείπεται οξειδίο του νατρίου, που ταχέως μετατρέπεται από την υγρασία σε καυστικό νάτριο, Αντίδραση 20,



Η αντίδραση αυτή χρησιμοποιείται ευρύτατα στην εποχή μας, στους σάκκους ασφαλείας των ΙΧ αυτοκινήτων, στη θέση του οδηγού και του συνοδηγού. Τα ουδέτερα και ιδίως τα όξινα υδατικά διαλύματα των αζιδιακών αλάτων διασπώνται ακαριαία προς το πτητικό αέριο υδραζωτικό οξύ HN<sub>3</sub>. Τα αζιδιακά άλατα είναι ασύμβατα με τις χημικές ουσίες Χρωμυλο-χλωρίδιο, την Υδραζίνη, τα στοιχειακά Αλογόνα, τον Διθειάνθρακα, το Θειικο Διμεθύλιο, τα Χλωρίδια των Οξέων, το Διβρωμο-μαλονιτρίλιο και τα Ισχυρά Ορυκτά Οξέα, [MCA, "Guide for Safety in the Chemical Laboratory", 1972].

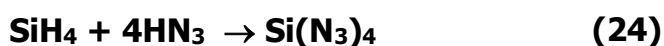
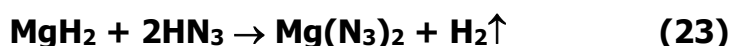
**Παρασκευή και διαλυτότητα των αζιδίων:** Τα άλατα του υδραζωτικού οξέος ή αζίδια θα πρέπει να διακριθούν από τα νιτρίδια, ενώσεις μετάλλων με άζωτο (Li<sub>3</sub>N, AlN, BN). Τα νιτρίδια μπορούν θεωρηθούν ως παράγωγα της αμμωνίας, της οποίας τα τρία άτομα υδρογόνου έχουν αντικατασταθεί με ένα μέταλλο. Έτσι ενώ το αζίδιο του λιθίου [LiN<sub>3</sub>], είναι ένα σχετικά σταθερό άλας εξαιρετικά ευδιάλυτο στο ύδωρ, το νιτρίδιο του λιθίου [Li<sub>3</sub>N] αντιδρά έντονα με το ύδωρ, με έκλυση αμμωνίας, Αντίδραση 21,



Τα αζίδια είναι άλατα των μετάλλων με το ανιόν  $[\text{N}_3^-]$ , ενώ τα νιτρίδια είναι άλατα μετάλλων με το υποθετικό ανιόν  $[\text{N}^{3-}]$ . Τα αζίδια των διαφόρων μετάλλων παρασκευάζονται με άμεση αντίδραση των ίδιων των μετάλλων ή των οξειδίων ή των υδροξειδίων τους με διάλυμα υδραζωτικού οξέος, ή με αντίδραση αντικατάστασης με ένα εμπορικά διαθέσιμο αζίδιο όπως το  $\text{NaN}_3$ . Τα δυσδιάλυτα αζίδια παρασκευάζονται με αντίδραση υδατικών διαλυμάτων  $\text{NaN}_3$  και διαλυτών αλάτων του μετάλλων. Έτσι το εκρηκτικό αζίδιο του μολύβδου καθιζάνει κατά την Αντίδραση 22:



Αζίδια που υδρολύονται εύκολα, παρασκευάζονται απουσία ύδατος με αντίδραση υδριδίων ή αλκυλοενώσεων των μετάλλων, με διάλυμα υδραζωτικού οξέος, εντός διαιθυλαιθέρα, σύμφωνα με τις Αντιδράσεις 23, 24 και 25:



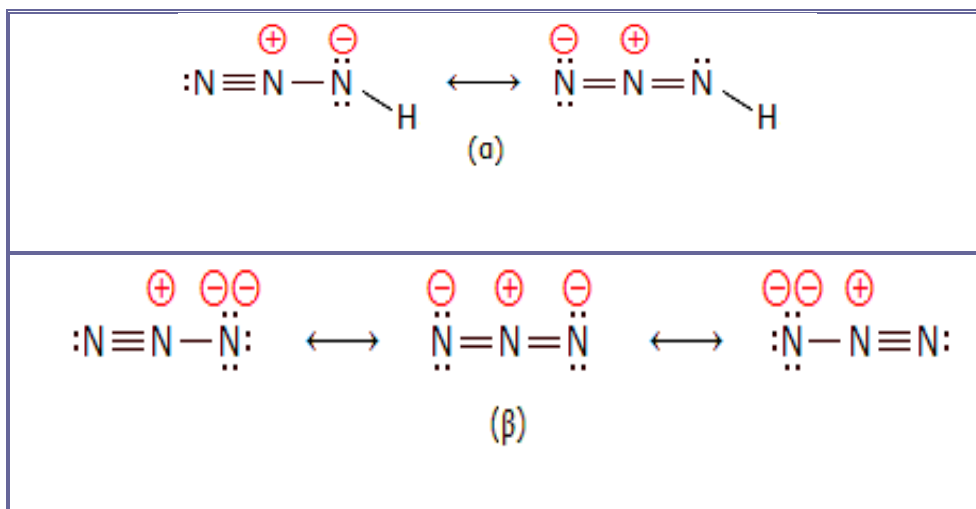
Τα αζίδια των αλκαλίων, του αμμώνιου και των γαιαλκαλίων είναι πολύ έως και εξαιρετικά ευδιάλυτα στο νερό, ενώ τα άλατα με  $\text{Ag}(\text{I})$ ,  $\text{Cu}(\text{I})$ ,  $\text{Hg}(\text{I})$  και  $\text{Pb}(\text{II})$  είναι δυσδιάλυτα. Οι τυπικές διαλυτότητες ορισμένων αζιδίων (σε g ανά 100g ύδατος) είναι:  $\text{LiN}_3=66$  ( $16^\circ\text{C}$ ),  $\text{NaN}_3=39$  ( $0^\circ\text{C}$ ) και  $42$  ( $17^\circ\text{C}$ ) και  $55$  ( $100^\circ\text{C}$ ),  $\text{KN}_3=50$  ( $17^\circ\text{C}$ ) και  $106$  ( $100^\circ\text{C}$ ),  $\text{RbN}_3=107$  ( $16^\circ\text{C}$ ),  $\text{CsN}_3=224$  ( $0^\circ\text{C}$ ),  $\text{NH}_4\text{N}_3=30$  ( $30^\circ\text{C}$ ) και  $27$  ( $40^\circ\text{C}$ ),  $\text{Ca}(\text{N}_3)_2=38$  ( $0^\circ\text{C}$ ) και  $45$  ( $16^\circ\text{C}$ ),  $\text{Ba}(\text{N}_3)_2=17,3$  ( $16^\circ\text{C}$ ),  $\text{Hg}_2(\text{N}_3)_2=0,025$  (σε ψυχρό νερό),  $\text{CuN}_3=0,00075$  ( $20^\circ\text{C}$ ),  $\text{AgN}_3=0,01$  ( $100^\circ\text{C}$ ),  $\text{Pb}(\text{N}_3)_2=0,023$  ( $18^\circ\text{C}$ ) και  $0,09$  ( $70^\circ\text{C}$ ), [Weast Robert C., 1974-75].

### 2.5.3 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

**Ηλεκτρονιακή δομή:** Τόσο το υδραζωτικό οξύ, όσο και τα υδραζωτικά άλατα ή αζίδια είναι δραστικές χημικές ενώσεις ισχυρά ενδόθερμες, δηλαδή ενώσεις με μεγάλο "ενεργειακό περιεχόμενο", το οποίο αποδίδεται κατά τη διάσπασή τους. Το αζιδιο-ανιόν  $[\text{N}_3^-]$  είναι η συζυγής βάση του υδραζωτικού οξέος. Είναι ένα γραμμικό ανιόν, ισοηλεκτρονικό προς τα  $\text{CO}_2$  και  $\text{N}_2\text{O}$ . Η ενθαλπία σχηματισμού του  $\text{HN}_3$ ,  $\Delta H^\circ_f$  (σε υγρή κατάσταση) είναι  $+264$  kJ/mol. Οι ηλεκτρονιακές δομές του υδραζωτικού οξέος (α) και του υδραζωτικού ανιόντος (β) μπορούν να παρασταθούν με τις ακόλουθες μεσομερείς μορφές, οι οποίες συνεισφέρουν στην σταθερότητα των σωμάτων αυτών, Εικόνα 2.5.4.

Το μόριο του υδραζωτικού οξέος είναι επίπεδο. Οι δεσμοί N–N έχουν διαφορετικό μήκος: ο δεσμός N–N– έχει μήκος 113pm, ο δεσμός N–NH 124pm και ο δεσμός N–H 101pm. Η γωνία H–N–N είναι  $114^\circ$ , η οποία είναι ενδιάμεση μεταξύ της γωνίας που αναμένεται για υβριδισμούς  $\text{sp}^3$  ( $109,5^\circ$ ) και  $\text{sp}^2$  ( $120^\circ$ ), [Lee T.H., et al, 1975]. Αυτή ακριβώς η διαφορά στη δομή των ηλεκτρονιακών ζευγών του N, που είναι ενωμένο με το H, έναντι

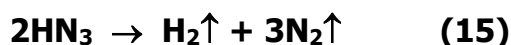
των άλλων δύο ατόμων αζώτου του μορίου, οδηγεί και στην μικρή απόκλιση από την ευθεία της γωνίας N–N–N, η οποία είναι 171°. Σε αντίθεση με το μόριο του υδραζωτικού οξέος, το ανιόν του αζιδίου είναι γραμμικό, με κεντροσυμμετρική συμμετρία και μήκος δεσμού N–N 118pm, διότι όλα τα άζωτα έχουν υβριδισμό **sp**. Να σημειωθεί ότι τα υπολογιζόμενα μήκη των δεσμών N–N, N=N και N≡N είναι αντιστοίχως: 140, 120 και 110pm, [Wiberg E., et al, 2001].



Εικόνα 2.5.4 Πάνω: οι Μεσομερείς Μορφές, που Συνεισφέρουν στην Σταθεροποίηση του Υδραζωτικού Οξέος και Κάτω: οι Μεσομερείς Μορφές, που Συνεισφέρουν στην Σταθεροποίηση των Αζιδιακών Αλάτων.

**Το υδραζωτικό οξύ ως οξύ:** Το υδραζωτικό οξύ είναι ασθενές οξύ με ισχύ παραπλήσια με εκείνη του οξικού οξέος. Οι τιμές pK που αναφέρονται στη βιβλιογραφία καλύπτουν την περιοχή 4,7 έως 4,9, με πιο πιθανή τιμή περίπου 4,75. Αυτό συνεπάγεται σημαντική υδρόλυση των διαλυμάτων των διαλυτών αλάτων του που σε συνδυασμό με τη μεγάλη πτητικότητα του, καθιστά τα διαλύματα αυτά από μόνα τους, πηγή τοξικών ατμών υδραζωτικού οξέος, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά τη χρήση τους, [Βαλαβανίδης Α., 2009].

**Θερμικά χαρακτηριστικά - Σταθερότητα υδραζωτικού οξέος και των αλάτων του:** Δίδονται τέσσερεις αντιδράσεις, που περιγράφουν τις θερμοχημικές και θερμοδυναμικές ιδιότητες του υδραζωτικού οξέος, του αζιδίου του νατρίου και του αζιδίου του βαρίου, Αντιδράσεις 15, 16, 17 και 18. Το υδραζωτικό οξύ διασπάται κατά εκρηκτικό τρόπο προς άζωτο και υδρογόνο εκλύοντας μεγάλα ποσά θερμότητας, Αντίδραση 15. Η έκρηξη μπορεί να προκληθεί με θέρμανση ή με μηχανικό ερέθισμα.



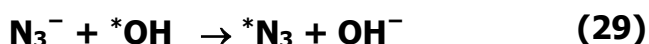
Αναφέρεται ότι υδατικά διαλύματα  $\text{HN}_3$  μέχρι περιεκτικότητα 20% μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ασφάλεια. Στα διαλύματα αυτά, το  $\text{HN}_3$  διασπάται με βραδύ ρυθμό παρουσία λευκοχρύσου, σε λεπτό διαμερισμό, σύμφωνα με την Αντίδραση 16.

**Το ανιόν  $[\text{N}_3^-]$  ως ψευδαλογονίδιο:** Το αζιδιακό ανιόν συμπεριφέρεται παρόμοια με τα ανιόντα  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  και  $\text{I}^-$  και σχηματίζει αντίστοιχα σύμπλοκα, όπως το  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_2(\text{N}_3)_2]$  και το  $\text{K}_2[\text{Cu}(\text{N}_3)_4]$ . Η ιδιότητα αυτή, σε συνδυασμό με τις παρόμοιες διαλυτότητες των αλάτων του, όπως τα δυσδιάλυτα άλατα με  $\text{Ag}(\text{I})$ ,  $\text{Hg}(\text{I})$ ,  $\text{Tl}(\text{I})$  το κατατάσσει στα

ψευδαλογονίδια, όπως είναι τα ανιόντα  $\text{CN}^-$ ,  $\text{OCN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{=}$ ,  $\text{SeCN}^-$ , και  $\text{TeCN}^-$ . Τα ψευδαλογόνα ή ψευδαλογονίδια (Pseudohalides) είναι σύνθετα ανιονικά σωματίδια, με κοινά χαρακτηριστικά -σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό- και με παρόμοια χημική συμπεριφορά, ως προς τα αλογονίδια και αλογόνα, όπως αυτή περιγράφεται με τις ηλεκτροχημικές, Αντιδράσεις 26, 27 και 28,



**Η αζιδιακή ρίζα** παράγεται μέσω της αντιδράσεως του αζιδιακού ανιόντος, με τις υδροξυλικές ρίζες, Αντίδραση 29,



Εξ' άλλου με την αντίδραση του αζιδιακού ανιόντος, με άτομα-ρίζες υδρογόνου, σε ελαφρώς όξινο περιβάλλον, επίσης έχουμε τον σχηματισμό των ιδίων ριζών, Αντίδραση 30,

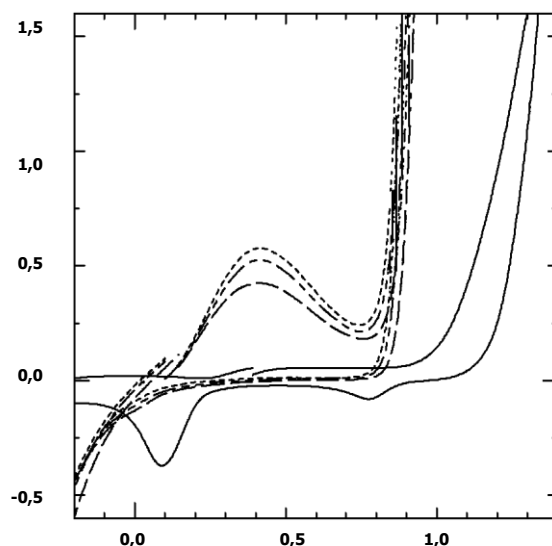


Η αζιδιακή ρίζα έχει μία μέτρια οπτική απορρόφηση στην περιοχή της UV ακτινοβολίας, με ένα οξύ μέγιστο στα 274nm, με  $\epsilon=2.025\text{L/mol}\cdot\text{cm}$ . Στο ήμισυ της κορυφής μεγίστου, το εύρος της κορυφής είναι μόνο 20nm. Γι' αυτό το λόγο η λήψη μετρήσεων ακριβείας είναι ιδιαίτερος δύσκολη και μη αναπαραγώγιμη, στα διάφορα εργαστήρια, λόγω της ευαισθησίας των μετρήσεων, στην σταθερότητα του μήκους κύματος και στο πλάτος της σχισμής, που επιλέγεται, [Brazier C.R., and Bernath P.F., 1988]. Γι' αυτό και προτιμήθηκε η φασματοφωτομέτρηση του σωματιδίου-προϊόντος, μετά την αντίδραση της ελεύθερης αζιδιακή ρίζας, με κάποιο αντιδρών.

Η ρίζα αυτή είναι ένα ισχυρό μονο-ηλεκτρονιακό οξειδωτικό αντιδραστήριο, με δυναμικό οξειδο-αναγωγής +1,3V έναντι NHE. Οι αντιδράσεις αυτές είναι ιδιαίτερος ταχείες, ακόμη ταχύτερες από ισχυρά οξειδωτικά, όπως το  $\text{Br}_2$ , [Bräse Stefan, et al, 2005]. Αυτό το άρθρο ανασκοπήσεως αποτελεί μία εξαιρετική πηγή πληροφόρησης, για την χημεία των αζιδίων και νιτρενίων, οργανικών και ανοργάνων ενώσεων.

Αυτό ίσως αποδίδεται στην υψηλή ταχύτητα αυτό-ανταλλαγής (self-exchange), των ισοατομικών αζιδιακών ειδομορφών [ $\text{*N}_3 \longleftrightarrow \text{N}_3^-$ ], η οποία υπολογίσθηκε στην τιμή  $k=4\times 10^4\text{L/mol}\cdot\text{sec}$ . Η αζιδιακή ρίζα [ $\text{*N}_3$ ] οξειδώνει ποσοτικά τις ανιλίνες και τα φαινοξειδία-ιόντα, με ταχύτητες ελεγχόμενες σχεδόν μόνον απ' την διάχυση. Εμφανίζει κάποια εκλεκτικότητα στην οξείδωση ουδετέρων φαινολών, καθώς και άλλων ασθενέστερων αναγωγικών ουσιών. Αντιδρά ωστόσο ταχύτερα με την θρυπτοφάνη, την μεθειονίνη, την ιστιδίνη, τις φαινοθειαζίνες, τις πορφυρίνες, τα ιωδιούχα ιόντα, τα θειώδη ιόντα και τα σιδηροκυανιούχα ιόντα.

Οι ηλεκτροχημικές αυτές συμπεριφορές των αζιδιακών ανιόντων και μορίων προσομοιάζουν με εκείνες των ανιόντων των γνωστών αλογόνων, [Dalmia A., et al, 1996] [Moussa A.A., et al, *Electrochimica Acta*, Volume 15, Issue 8, pp. 1373–1380, 1970, and *ibid*: pp. 1381–1390, 1970, and *ibid*: pp. 1391–1397, 1970].



**Εικόνα 2.5.5 Κυκλικά Βολταμογράμματα διαλυμάτων Αζιδίου του Νατρίου, εντός αδρανούς ρυθμιστικού. Οριζόντιος Αξων: E/V vs Ag/AgCl, Κάθετος Αξων:  $j$ , (mA/cm<sup>2</sup>). Οι γραμμές παριστάνουν: (—) απουσία NaN<sub>3</sub>, (----) 1% NaN<sub>3</sub>, (-.-.-) 2% NaN<sub>3</sub>, (•••••) 3% NaN<sub>3</sub>.**

Είναι γνωστές επίσης και οι μικτές ενώσεις αλογόνων-ψευδαλογόνων, όπως οι [Cl-C≡N], [N≡C-NCS] και έχουν απομονωθεί ενώσεις, όπως οι [Cl-N<sub>3</sub>] και [N≡C-N<sub>3</sub>]. Μια διαφορά του [N<sub>3</sub><sup>-</sup>] σε σχέση με τα άλλα ψευδαλογονίδια είναι η μέχρι σήμερα αδυναμία παρασκευής του διμερούς του, δηλαδή του ψευδαλογόνου [N<sub>3</sub>-N<sub>3</sub>]. Απόπειρα παρασκευής του με ηλεκτρόλυση του άνυδρου υδραζωτικού οξέος -παρουσία του άλατος KN<sub>3</sub>, για την αύξηση της αγωγιμότητας- απέτυχε προφανώς, λόγω της μεγάλης ενέργειας του δεσμού N<sub>2</sub>, πράγμα που οδηγεί στην άμεση διάσπαση του μοριακού συγκροτήματος του, σύμφωνα με την Αντίδραση 31:

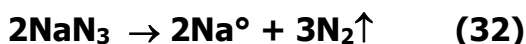


**Εικόνα 2.5.6 Αριστερά: Θέρμανση 50-60mg NaN<sub>3</sub> μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα, σε γυμνή φλόγα λύχνου. Μέσον: Μετά τη θερμική διάσπαση ( $2\text{NaN}_3 \rightarrow 2\text{Na} + 3\text{N}_2$ ) διακρίνεται κατοπτρική απόθεση μεταλλικού νατρίου στα τοιχώματα του σωλήνα. Δεξιά: Μετά την προσθήκη ύδατος το μεταλλικό νάτριο, ως ειδικώς ελαφρύτερο, ανέρχεται στην επιφάνεια παράγοντας H<sub>2</sub> κατά την αντίδρασή του με το νερό ( $2\text{Na} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NaOH} + \text{H}_2$ ).**

Τα άλατα του υδραζωτικού οξέος με αλκάλια ή αλκαλικές γαίες έχουν κυρίως ετεροπολικό χαρακτήρα και διασπώνται σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες, παρέχοντας ελεύθερα μέταλλα ή τα νιτρίδια τους, Αντιδράσεις 17, 18. Η διάσπαση γίνεται μάλλον με ελεγχόμενο



ρυθμό πριν ακόμη τακούν. Εξ όλων των υδραζωτικών αλάτων μόνο το αζίδιο του καισίου ( $\text{CsN}_3$ ) με  $\Sigma T=310^\circ\text{C}$ , **μπορεί να τακεί, χωρίς να διασπαστεί**. Η διάσπαση του  $\text{NaN}_3$  και όλων των μεταλλικών υδραζωτικών αλάτων έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή των μεταλλικών στοιχείων σε υπερ-καθαρή κατάσταση, Αντιδράσεις 17, 32, 33, 34, 35 και 36. Τα αζίδια των βαρέων μετάλλων, όπως των  $\text{Pb(II)}$ ,  $\text{Hg(I)}$ ,  $\text{Cu(II)}$ ,  $\text{Cd(II)}$  και  $\text{Ag(I)}$  έχουν κυρίως ομοιοπολικό χαρακτήρα και διασπώνται εκρηκτικά με θέρμανση ή με μηχανική κρούση. Η ιδιότητά τους αυτή τα καθιστά κατάλληλα ως εμπυρεύματα σε πυροκροτητές και καψύλλια, [Jobelius Horst H., 2005].



#### 2.5.4 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ

Το ίδιο το υδραζωτικό οξύ δεν αποτελεί διαθέσιμο προϊόν, σε ευρεία εμπορική και βιομηχανική κλίμακα, διότι λόγω της εκρηκτικότητάς του, η αποθήκευση και η μεταφορά του είναι πρακτικά αδύνατες. Γι' αυτό παρασκευάζεται εργαστηριακά κατά περίπτωση, εύκολα και σε **πολύ μικρές ποσότητες** μόνο, ύστερα από την αντίδραση υδατικού διαλύματος αλάτος του, με αραιό διάλυμα θειικού οξέος και περαιτέρω απόσταξη. Το απόσταγμα μπορεί να αφυδατωθεί με άνυδρο χλωριούχο ασβέστιο και να φθάσει σε περιεκτικότητα 90% σε  $\text{HN}_3$ . Επειδή διασπάται με ισχυρή έκρηξη (detonation), η παρασκευή αυτή είναι ιδιαίτερα επικίνδυνη, λόγω της αστάθειας του, αλλά και λόγω της μεγάλης τοξικότητάς του, [Urbanski T., 1964–84] και [Brauer G., "Handbook of Preparative Inorganic Chemistry", 2<sup>nd</sup> Edition, Vol. 1: 1963 and Vol. 2: 1965, Academic Press, United Kingdom]. Σε βιομηχανική κλίμακα παρασκευάζεται με διαβίβαση ξηρού αερίου υποξειδίου του αζώτου (ιλαρυντικού αερίου,  $\text{N}_2\text{O}$ ) μέσω τήγματος νατραμιδίου ( $\text{NaNH}_2$ ) στους  $190^\circ\text{C}$ . Το παραγόμενο  $\text{H}_2\text{O}$  απομακρύνεται με αντίδρασή του με μέρος του νατραμιδίου (Αντίδραση 6), οπότε συνολικά αντιδρούν δύο μόρια  $\text{NaNH}_2$  με ένα μόριο  $\text{N}_2\text{O}$ , (Αντιδράσεις 7, 8). Εναλλακτικά, αντί του αερίου  $\text{N}_2\text{O}$  μπορεί να χρησιμοποιηθεί  $\text{NaNO}_3$ , το οποίο αντιδρά με το  $\text{NaNH}_2$  παρέχοντας in situ  $\text{N}_2\text{O}$ , (Αντίδραση 10). Στην πράξη εφαρμόζεται η μέθοδος Wislicenus, κατά την οποία προστίθεται κονιοποιημένο  $\text{NaNO}_3$ , σε τηγμένο  $\text{NaNH}_2$  στους  $175^\circ\text{C}$ , (Αντίδραση 11), [Haase Jurgen, 2010].

#### 2.5.5 ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ

**Ίζημα Τριαζιδίου του Σιδήρου(III)**. Είναι μία χρωματομετρική αντίδραση, που χρησιμοποιείται, για την εύκολη ποιοτική ανίχνευση και ταυτοποίηση της παρουσίας του υδραζωτικού οξέος και των αλάτων του, σε εργαστηριακά και βιομηχανικά απόβλητα και εκτελείται ως εξής: Πέντε σταγόνες του αγνώστου υγρού εισάγονται σε ένα κοίλωμα σταγονομετρικού πλακιδίου πορσελάνης, όπου εισάγεται και μία σταγόνα διαλύματος

FeCl<sub>3</sub>. Ακολουθεί η προσθήκη δύο σταγόνων αραιού HCl και το πλακίδιο θερμαίνεται ελαφρώς πάνω στην επιφάνεια υδρολούτρου 780°C. Εμφάνιση μετ' ολίγον ερυθράς χροιάς αποκαλύπτει την ύπαρξη υδραζωτικών αλάτων, λόγω του ερυθρού δυσδιαλύτου ιζήματος του [Fe(N<sub>3</sub>)<sub>3</sub>].

**Ανιονικό Σύμπλοκο Κοβαλτίου (II).** Περίσσεια αζιδίου του νατρίου σε διάλυμα κατιόντων παρέχει ισχυρό ιώδη χρωματισμό, οφειλόμενο στο ανιονικό σύμπλοκο ιόν [Co(N<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>. Σε ανοιχτή ατμόσφαιρα λαμβάνει χώρα εξαιρετικά αργή οξειδωση στο αντίστοιχο ανιονικό σύμπλοκο του [Co(N<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>, χρώματος λαμπρού κιτρίνου, ( $\beta_6 = 1,0 \times 10^{24} \text{ M}^{-6}$ ). Αυτή η αντίδραση είναι εκλεκτική και καταλύεται τα μέγιστα, μόνον απ' τα θειώδη ανιόντα [SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>], δηλαδή το θειώδες οξύ, καθώς και τα άλατα αυτού, με όριο ανιχνεύσεως 0,5γ θειωδών.

**Αντίδραση Ιωδιδίου-Αζιδίου.** Καστανέρυθρο υδατικό διάλυμα ιωδίου [I<sub>3</sub><sup>-</sup>] και υδραζωτικού νατρίου [N<sub>3</sub><sup>-</sup>] παραμένει σταθερά επ' αόριστον. Όμως παρουσία ελαχίστων ιχνών θειούχων ή θειοθειικών ή θειοκυανιούχων ιόντων λαμβάνει χώρα ακαριαία αντίδραση μεταξύ των, με αποχρωματισμό του διαλύματος και αθρόα έκλυση φυσαλίδων αζώτου. Η αντίδραση αυτή είναι πολύ εντυπωσιακή, για εκπαιδευτικούς ιδίως σκοπούς, ενώπιον ακροατηρίου.



Την αντίδραση αυτή παρέχουν ακόμη και τα πλέον δυσδιάλυτα εκ των μεταλλικών σουλφιδίων, όπως του υδραργύρου (HgS) και του αργύρου (AgS), με όριο ανιχνεύσεως 0,05γ θειούχων, [Feigl Fritz, 1958].

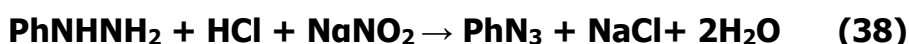
**Boron-Doped Diamond Electrodes.** Έγινε άμεση ανίχνευση και ανάλυση του αζιδίου του νατρίου σε μερικά δείγματα φυσιολογικών σιέλων, με την χρήση βοριο-ενοφθαλμισθέντων ηλεκτροδίων αδαμάντων (Boron-Doped Diamond, BDD). Για την σταθερότητα του pH χρησιμοποιήθηκαν οι ρυθμιστικοί παράγοντες: το N-(2-Acetamido)-Iminodiacetic acid, το δινάτριο EDTA και το ιμιδαζόλιο, σε ευρείες περιοχές συγκεντρώσεων. Επιλέχθηκαν τα BDD, με τερματικά άτομα υδρογόνου, διότι αυτά επέδειξαν πολύ καλύτερη απόκριση προς την οξειδωση των αζιδίων, σε σχέση με τα έχοντα τερματικά άτομα οξυγόνου. Μία καλώς διαχωρισμένη κορυφή του NaN<sub>3</sub> παρατηρήθηκε, εντός αυτών των ρυθμιστικών διαλυμάτων, παρέχοντας μία εκλεκτική ανίχνευση του αζιδιακού ανιόντος. Προσδιορίστηκε αναλυτικά το αζίδιο του νατρίου, στις τιμές συγκεντρώσεων 502 και 1.355μg/mL με R.S.D=0,07 and 2,37% αντιστοίχως, σε δύο εμπορικά σκευάσματα-αραιωτές, της μεθόδου απαρίθμησης κυττάρων, . Έγινε σύγκριση με τις τιμές συγκεντρώσεων του κατασκευαστή, με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Τα ηλεκτρόδια αυτά προσφέρουν μία απλή και εκλεκτική μέθοδο ανιχνεύσεως του NaN<sub>3</sub>, με εξαιρετική επαναληψιμότητα και σταθερότητα τιμών, πράγμα που τους καθιστά ελκυστικούς μεταλλάκτες, σε διάφορες ηλεκτρο-αναλυτικές εφαρμογές, [Akane Suzukia, et al, 2007].

**Οξίνη- Κατιόντα Βαναδιλίου και Αζιδιακά** ανιόντα αντιδρούν σε pH 3,5–4,5 σχηματίζοντας ένα βαθέως πράσινο στερεό, το οποίο εκχυλίζεται σε βενζόλιο, παρέχοντας βαθυ-πράσινα διαλύματα, με  $\lambda_{\text{max}}=415\text{nm}$   $\lambda_{\text{max}}=620\text{nm}$  και με μοριακές απορροφήσεις  $\epsilon_{\text{max}}=8650 (\text{mol}\cdot\text{cm})^{-1}$  και  $\epsilon_{\text{max}}=6040(\text{mol}\cdot\text{cm})^{-1}$ . Φασματοφωτομετρικές μελέτες έδειξαν ότι

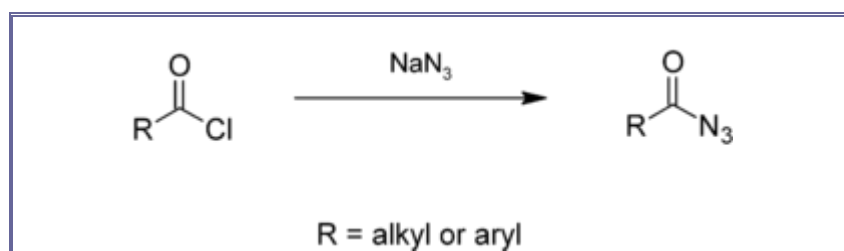
τα εκχυλισθέντα μόρια του συμπλόκου έχουν στοιχειομετρική αναλογία  $V:HOx:[N_3^-] = 1:2:2$  και ο νόμος του Beer ακολουθείται γραμμικά μέχρι τα 8,10μg and 10,50μg βαναδίου, για τα μήκη κύματος 415nm and 620nm αντιστοίχως. Η σταθερά σχηματισμού και η ελεύθερη ενέργεια σχηματισμού του συμπλόκου αυτού υπολογίσθηκαν στις τιμές  $K_f=8,5\pm 0,2\times 10^6$  και  $\Delta G_f=-9,61\pm 0,30\text{Cal}$  αντιστοίχως, για τους 30°C. Μελετήθηκε η παρεμποδιστική δράση διαφόρων ιόντων, καθώς και οι μέθοδοι αναιρέσεως αυτής. Μελετήθηκαν επίσης τα φάσματα υπερύθρου και η μαγνητική συμπεριφορά του στερεού συμπλόκου, [Pandu V., et al, 1973].

## 2.5.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΖΙΔΙΑΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΣΥΝΘΕΤΙΚΗ ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

Το ανιόν του αζιδίου ως ψευδο-αλογονικό (**pseudohalogen**) ανιόν πολλές φορές υποκαθιστά άτομα αλογόνων ή ψευδαλογόνων (Cl-, Br-, -N=N-, -CNO), σε διάφορες οργανικές ενώσεις και παρέχει τα αντίστοιχα αζιδιο-παράγωγα αυτών. Έτσι τα αρυλο-αζίδια παρασκευάζονται με την απ' ευθείας αντικατάσταση του κατάλληλου διαζωνιακού άλατος, υπό του  $NaN_3$  ή του τριμεθυλο-σιλυλο-αζιδίου (trimethylsilyl azide). Αλειφατικές ενώσεις με τις κατάλληλες ομάδες μπορούν να υποστούν πυρηνόφιλη υποκατάσταση με το αζίδιο του νατρίου. Οι αλειφατικές αλκοόλες παρέχουν αζιδιο-παράγωγα, με τη χρήση υδραζωτικού οξέος και με εφαρμογή τροποποιημένης παραλλαγής της αντιδράσεως Mitsunobu. Οι αρυλο-υδραζίνες σχηματίζουν αρυλο-αζίδια κατόπιν αντιδράσεων αυτών με νιτρώδες νάτριο, [Wiberg N., et al, 1977], Αντίδραση 38,



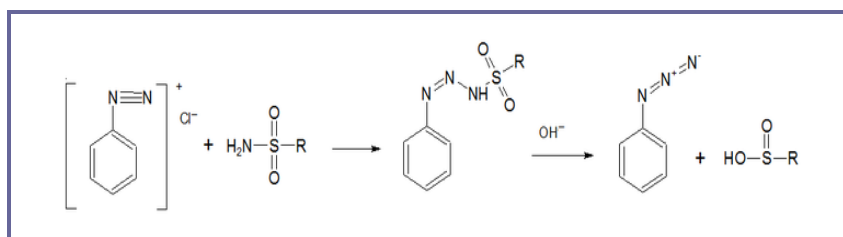
Τα αλκυλο- ή ακυλο-χλωρίδια αντιδρούν με το αζίδιο του νατρίου σε υδατικό περιβάλλον και παρέχουν τα ακυλο-αζίδια, τα οποία με αντιμετάθεση Curtius δίνουν ισοκυανικά παράγωγα, [Wear J.O., 1975].



Εικόνα 2.5.7 Αντίδραση ακυλοχλωριδίων με υδραζωτικό νάτριο

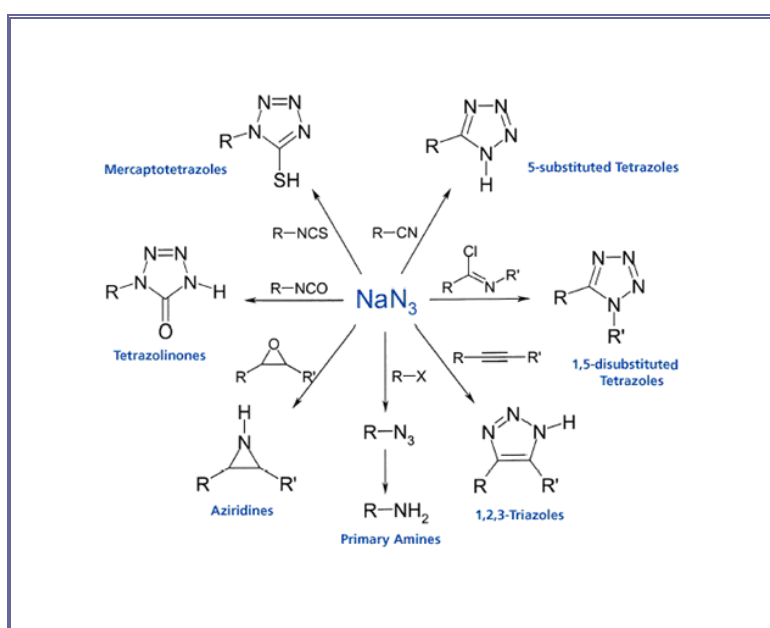
Οι αζιδιο-διαβιβαστές είναι οι οργανικές ενώσεις trifluoro-methane-sulfonyl-azide and imidazole-1-sulfonyl azide, οι οποίες παρασκευάζονται από το αζίδιο του νατρίου επίσης. Αντιδρούν ευκόλως με διάφορες αμίνες και παρέχουν τα αντίστοιχα αζίδια,  $RNH_2 \rightarrow RN_3$ .

**Αντίδραση Dutt-Wormall.** Αποτελεί κλασική μέθοδο παρασκευής των αρωματικών αζιδιο-παραγώγων, στην οποία ένα μόριο διαζωνιακού άλατος αντιδρά με ένα μόριο σουλφοναμιδίου, προς ένα διαζο-αμινο-σουλφινικό παράγωγο, το οποίο στη συνέχεια υδρολυόμενο παρέχει ένα μόριο αρωματικού αζιδίου και ένα μόριο σουλφινικού.



**Εικόνα 2.5.8 Αντιδραση Dutt-Wormall**

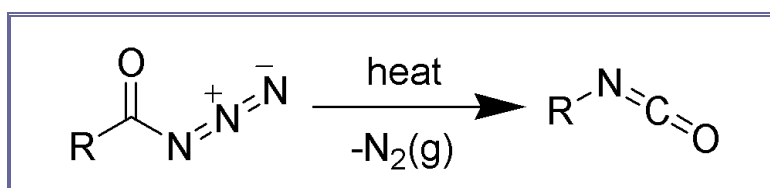
Το αζίδιο του νατρίου είναι ένα ισχυρό αντιδραστήριο και μία πολύτιμη πρώτη ύλη, στην οργανική συνθετική χημεία, παρασκευής πολυαριθμών **ετεροκυκλικών αζω-ενώσεων**. Και τούτο διότι είναι ένα δραστικό και ενεργό αντιδραστήριο-πρωτη ύλη, που μπορεί να αντιδράσει εύκολα με τα ομόλογα μέλη πολλών οικογενειών οργανικών ενώσεων, παρέχοντας χρήσιμα ενδιάμεσα προϊόντα, μιά ποικιλία ετεροκυκλικών δομών, για περαιτέρω συνθετικές διαδικασίες.



**Εικόνα 2.5.9 Το Αζίδιο του Νατρίου ως πρώτη ύλη στην χημεία των Οργανικών Ετεροκυκλικών Ενώσεων.**

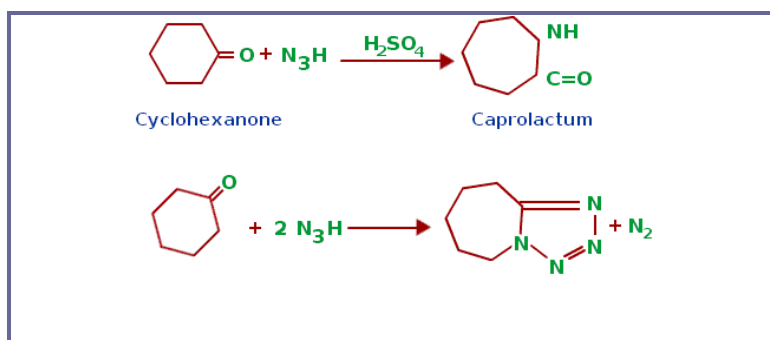
Με τη χρήση του παρακάμπτονται κοπιώδεις, χρονοβόρες και κοστοβόρες συνθετικές διαδρομές, για την σύνθεση πρωτογενών αμινών και ισοκυανικών ενώσεων, καθώς και τριαζολικών και τετραζολικών ετεροκυκλικών ενώσεων, όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.5.9.

**Αντιμετάθεση Curtius:** Είναι μία οργανική αντίδραση, κατά την οποία ένα ακυλο-αζίδιο παράγωγο μετασχηματίζεται ενδομοριακά σε ισο-κυανικό παράγωγο σε κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας.



**Εικόνα 2.5.10 Η αντιμετάθεση Curtius, κατά την οποία ένα ακυλο-αζίδιο μετατρέπεται σε ισοκυανικό εστέρα.**

Η αντιμετάθεση αυτή πραγματοποιείται μέσω μηχανισμού μεταπήδησης της ομάδας R-, από τον καρβονυλικό άνθρακα στο πλησιέστερο άτομο αζώτου, υπό ταυτόχρονη έκλυση αερίου μοριακού αζώτου. Η διαφυγή ενός εκ των προϊόντων από το σύστημα οδηγεί την αντίδραση ποσοτικά προς τα δεξιά και την καθιστά ποσοτική και μη αντιστρεπτή. Τα παραθέντα ισοκυανικά μπορούν στη συνέχεια να δεσμευθούν από ποικιλία πυρηνόφιλων αντιδραστηρίων και να δώσουν χρήσιμα προϊόντα. Έτσι παρουσία ύδατος θα υδρολυθούν προς τις αντίστοιχες αμίνες και παρουσία τριτοταγούς βουτανόλης (tert-butanol) θα παραχθούν Boc-προστατευμένες αμίνες, πολύ χρήσιμα ενδιάμεσα μόρια, στην οργανική σύνθεση, [Curtius Theodor Julius, 1890] και [Curtius Theodor Julius, 1894].

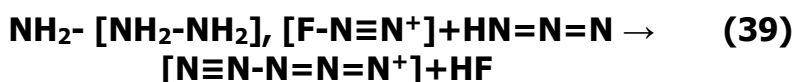


Εικόνα 2.5.11 Η αντίδραση Schmidt, κατά την οποία ένα ακυλο-αζίδιο μετατρέπεται σε ισοκυανικό εστέρα.

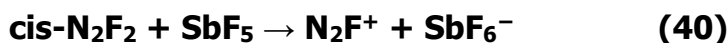
**Η Αντίδραση Schmidt** πραγματοποιείται μεταξύ του υδραζωτικού οξέος και διαφόρων αλδευδών και κετονών, με την δημιουργία διαφόρων N-φορμυλο-παραγώγων της καπρολακτάμης. Η αντίδραση επιτυγχάνει την εισαγωγή μίας NH- ομάδος μεταξύ της καρβονυλικής και της αλκυλικής ομάδος μίας κετόνης.

## 2.5.7 ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΑΡΑΓΩΓΑ ΤΟΥ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

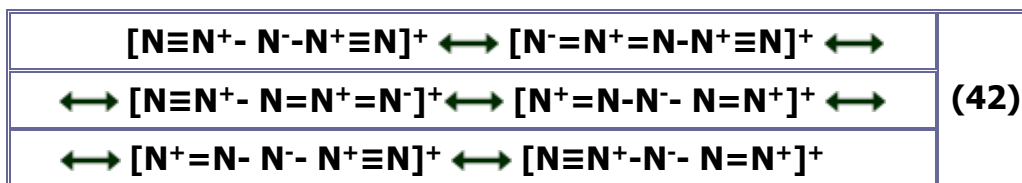
**Το Κατιόν Πενταζενίου** είναι ένα θετικώς φορτισμένο πολυαζωτούχο ιόν. Το Κατιόν αυτό [N<sub>5</sub><sup>+</sup>], το κατιόν του διαζώτου [N<sub>2</sub><sup>2+</sup>] και το αζιδιακό ιόν [N<sub>3</sub><sup>-</sup>] αποτελούν τις μοναδικές, ολυαζωτούχες σωματιδιακές μορφές, που έχουν απομονωθεί σε ικανοποιητικές ποσότητες. Το 1988 ο Carl O. Christe εργαζόμενος στο US Air Force Research Laboratory πάνω στα τοξικά προωθητικά καύσιμα πυραύλων, παράγωγα της υδραζίνης [NH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>], οδήγησε την έρευνα του στην σύνθεση γραμμικών πολύ-αζωτούχων ενώσεων με πρώτες ύλες το διφθοριούχο-διάζωτο και το υδραζωτικό οξύ σε χαμηλές θερμοκρασίες, -78°C με βάση την γενική αντίδραση, καθώς



και τις παρακάτω εξειδικευμένες συνθετικές αντιδράσεις. Χρησιμο-ποιήθηκε το αντιδραστήριο πενταφθοριούχο-αντιμόνιο [SbF<sub>5</sub>, το οποίο αποδείχτηκε πολύτιμο και αναντικατάστατο υλικό για την ολοκλήρωση των αντιδράσεων αυτών,], το οποίο αποδείχτηκε πολύτιμο και αναντικατάστατο υλικό, για την ολοκλήρωση των αντιδράσεων αυτών,



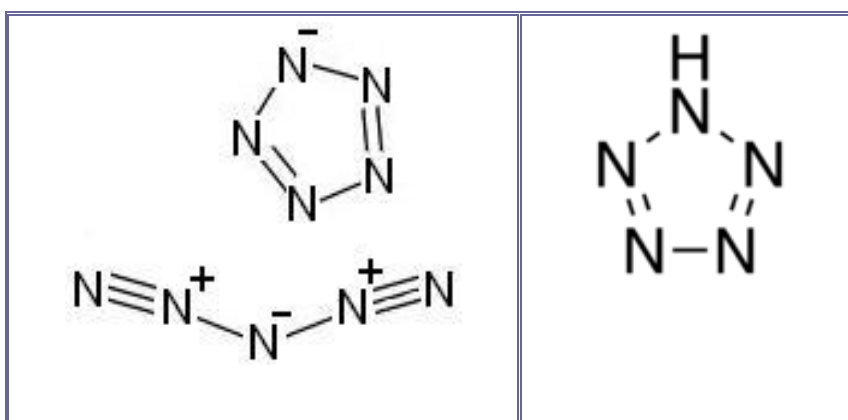
Το άλας εξαφθοριούχο πενταζένιο είναι σημαντικά σταθερό σώμα, ανθεκτικό σε κρούσεις και αύξηση της θερμοκρασίας, μέχρι και 60-70°C.



Εικόνα 2.5.12 Οι έξι μεσομερείς διαμορφώσεις του κατιόντος πενταζενίου, που συνεισφέρουν στην σταθεροποίηση του χημικού μορίου του, σύμφωνα με την σθενοδεσμική θεωρία.

Έτσι κατορθώθηκε η απομόνωση μεγάλων ποσοτήτων του νέου άλατος, καθώς και μονοκρυστάλλων, για την επίλυση της δομής με ακτίνες-Χ.

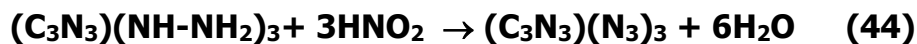
**Πενταζολικό Πενταζένιον**,  $[\text{N}_5^-] \cdot [\text{N}_5^+]$ , Pentazenium pentazole. Ανήκει στις μορφές στερεού πολύ-αζώτου. Τα πενταζόλια ή πενταζολίδια  $[\text{N}_5\text{H}]$  είναι μία οικογένεια αρωματικών ενώσεων, στα όρια μεταξύ οργανικής και ανόργανης χημείας. Έχουν πενταμελείς δακτυλίους, με πέντε άτομα αζώτου, εκ των οποίων μόνον το ένα είναι φορτισμένο αρνητικά και αντισταθμίζεται με ένα κατιόν υδρογόνου.



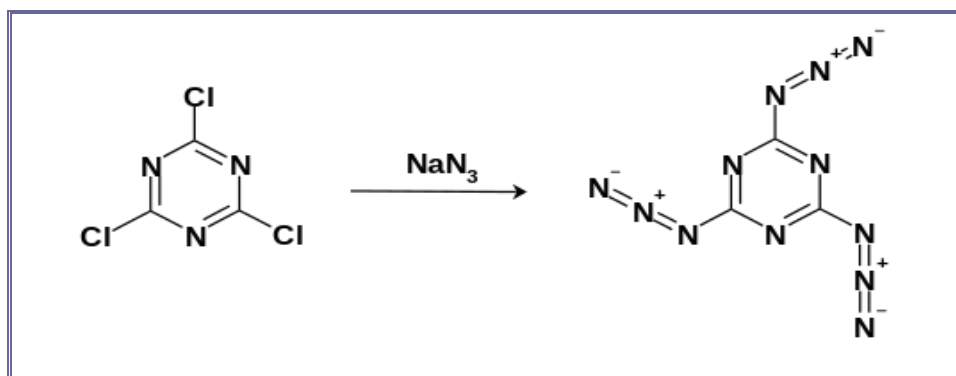
Εικόνα 2.5.13 Αριστερά: Πενταζολικό πενταζένιον,  $[\text{N}_5^-] \cdot [\text{N}_5^+]$ , Δεξιά: το Μοριακό ουδέτερο πενταζόλιο,  $[\text{N}_5\text{H}]$

Είναι ασταθή και εξόχως εκρηκτικά σώματα, με εκτεταμένες εφαρμογές στα εξόχως ισχυρά προωθητικά καύσιμα πυραύλων, που κατευθύνονται σε πολύ μακρινές διαστημικές αποστολές [Christe Karl O., 2007]. Στα υποκατεστημένα παράγωγα του πενταζολίου όπως στο φαινυλο-πενταζόλιο phenylpentazole, ο πενταζολικός δακτύλιος είναι σημαντικά σταθεροποιημένος, λόγω συζυγιακού φαινομένου με τον φαινολικό δακτύλιο. Οι ομάδες-ηλεκτρονιακοί δότες σταθεροποιούν τα πενταζολικά παράγωγα. Ωστόσο τα περισσότερα, σε θερμοκρασίες άνω των 50°C αποσυντίθενται εκρηκτικά. Έχει αναφερθεί η απομόνωση του πενταζολικού οξέος και του πενταζολικού ψευδραγύρου, σε διάλυμα, από τους [Butler R.N., et al, 2003].

**Το Κυανουρικό Τριαζίδιο.** Ο Finger H., για πρώτη φορά το 1907 συνέθεσε, από το κυανουρικό τριχλωρίδιο, ύστερα από αντίδρασή του με περίσσεια ένυδρης υδραζίνης, προς το κυανουρικό τριυδραζίδιο. Το προϊόν στη συνέχεια εντός αραιού οξέος, κατεργάσθηκε με περίσσεια νιτρώδους νατρίου και τελικά παρέλαβε μάζα λευκού κρυσταλλικού σώματος, από το σύστημα των παρακάτω αντιδράσεων,



Το προϊόν ανακρυσταλλώθηκε σε πολύ καθαρή κατάσταση και χαρακτηρίσθηκε, με τους συνήθεις αναλυτικούς προσδιορισμούς ταυτοποίησης, [Finger H., 1907]. Στη συνέχεια, με ανάλογη μέθοδο και με αντιδρών αντιδραστήριο το κυανουρικό οξύ, πραγματοποιήθηκε και άλλη συνθετική παρασκευή του κυανουρικού τριαζιδίου, από τους [Ott Erwin und Ohse Ernst, 1921]. Το κυανουρικό τριαζίδιο παρασκευάζεται σήμερα, από το κυανουρικό τριχλωρίδιο, μέσω αντιδράσεως υποκαταστάσεως με περίσσεια  $\text{NaN}_3$  και περαιτέρω απόσταξη, με διαλύτη ακετόνη. Μετά την απομάκρυνση του διαλύτη λαμβάνεται μάζα λευκών κρυστάλλων, οι οποίοι καθαρίζονται με ανακρυστάλλωση από τολουόλιο, στους  $-20^\circ\text{C}$ , [Gillan Edward G., 2000].



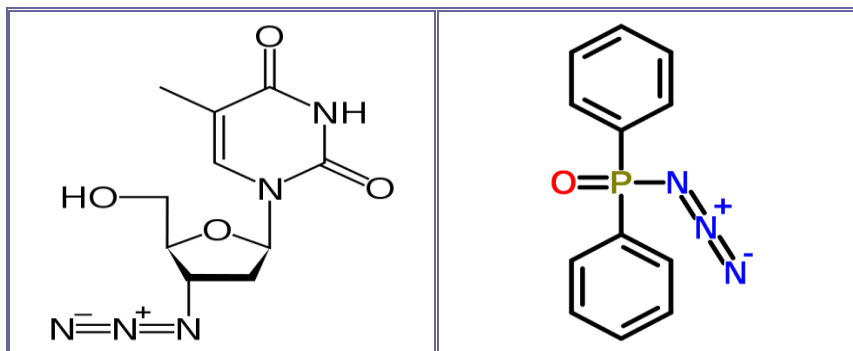
**Εικόνα 2.5.14 Cyanuric triazide synthetic reaction**

Το κυανουρικό τριαζίδιο είναι ένα πολύ ισχυρό εκρηκτικό υλικό με θερμοκρασία αναφλέξεως  $205^\circ\text{C}$  και ταχύτητα εκτονώσεως  $7.300\text{m/s}$ , θεωρείται ως "φιλικό εκρηκτικό υλικό" (Fulminating Material) για το περιβάλλον, με χαμηλή τοξικότητα και χωρίς την διασπορά επιβλαβών προϊόντων στην ατμόσφαιρα, εφ' όσον τα αέρια προϊόντα είναι μόνον το διοξείδιο του άνθρακος ( $\text{CO}_2$ ) και το στοιχειακό άζωτο ( $\text{N}_2$ ), Αντίδραση 45,



Το κυανουρικό τριαζίδιο είναι μία αποκλειστικώς συνθετική οργανική ένωση, με υψηλή ενεργειακή πυκνότητα και δεν απαντάται πουθενά αυτοφυές στην φύση, με  $H=740\text{kJ/mol}$  υπό συνήθεις συνθήκες και  $H=2.235\text{kJ/mol}$ , υπό οξειδωτικές συνθήκες. Το μόριο είναι επίπεδο με τρεις άξονες συμμετρίας τρίτης τάξεως, που διέρχονται από τα τρία ζεύγη  $\text{-C-N-}$  του αρωματικού δακτυλίου. Παρουσιάζει απότομο σημείο τήξεως  $=94-95^\circ\text{C}$ , έντονη έκλυση αερίων στους  $155^\circ\text{C}$ , καστανοπορτο-καλλόχρωμη τήξη στους  $170^\circ\text{C}$ , καστανοπορτοκαλλόχρωμη στερεο-ποίηση στους  $200^\circ\text{C}$  και τελικώς ταχεία διάσπαση-αποσύνθεση στους  $240^\circ\text{C}$ , προς στοιχειακό γραφίτιο άνθρακα και αέριο άζωτο.

**Diphenylphosphoryl Azide** ή DPPA ή diphenyl phosphorazidate (IUPAC) είναι μία τοξική οργανική ένωση-αζιδιακό παράγωγο, με CAS number Είναι ένα υποκίτρινο υγρό, με  $\Sigma.Z=157^{\circ}\text{C}$  (0,2 mmHg), με μοριακό τύπο  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{P}$ , με  $M.B.=275,20\text{g/mol}$  και πυκνότητα  $d= 1,277\text{g/cm}^3$ . Συντίθεται εύκολα από την αντίδραση του διαφαινυλοφωσφορικού-χλωριδίου με το αζίδιο του νατρίου, εντός ακετόνης. Το αξιοπρόσεκτο φαινόμενο στην ένωση αυτή είναι το γεγονός ότι δεν εκρήγνυται, δεν διασπάται βίαια με έκλυση αζώτου και παραμένει σταθερή, μέχρι και του σημείου ζέσεως της, τους  $157^{\circ}\text{C}$ .

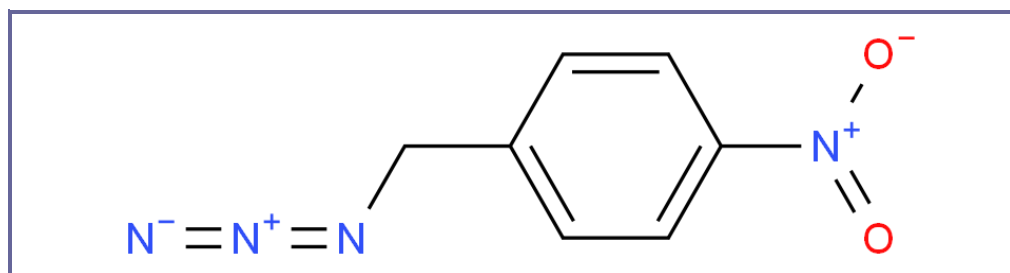


Εικόνα 2.5.15 Αριστερά το φάρμακο Zidovudine ή Retrovir και Δεξιά το αντιδραστήριο Diphenylphosphinicazide.

Υφίσταται εύκολα πυρηνόφιλη υποκατάσταση ψευδαλογόνου και αντιδρά με ύδωρ, βουτανόλη, αμμωνία και διάφορες αμίνες και χρησιμοποιείται ευρύτατα στη σύνθεση άλλων οργανικών ενώσεων. Χρησιμοποιείται ως αντιδραστήριο σύνθεσης πεπτιδίων, λόγω της ιδιότητος του να αντιδρά εύκολα με καρβοξυλικά οξέα, προς ουρεθάνες ή αμίδια κατά περίπτωση, [Cremlyn R.J.W., 1973].

**Η Ζιντοβουντινή** ή Αζιδοθυμιδίνη ή Retrovir ή 1-[(2R,4S,5S)-4-Azido-5-(Hydroxymethyl)-Oxolan-2-yl]-5-Methyl-Pyrimidine -2,4-Dione είναι ένας νουκλεοζιτη-ανάλογος αναστολέας, ανάστροφης μεταγραφάσης-(NRTI), ένας τύπος αντιρετροϊκού φαρμάκου, που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της λοίμωξης HIV/AIDS. Χρησιμοποιείται επίσης στην πρόληψη της μετάδοσης του HIV, όπως στην περίπτωση μητέρας προς παιδί, κατά την περίοδο της γέννησης, ή μέσω του ομφάλιου λώρου, [Rodman J.H., et al, 1999].

**Το p-Νίτρο-Βενζαζίδιο**, με μοριακό τύπο  $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$  και με μοριακό βάρος=192,13 είναι ένα αρωματικό παράγωγο του αζιδίου του νατρίου, με εξαιρετική θερμική και κρουστική σταθερότητα, σε συνήθεις εργαστηριακές συνθήκες.



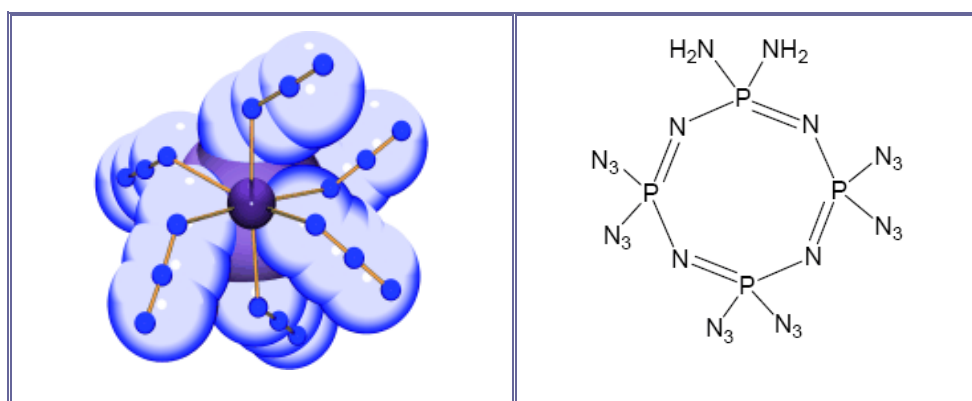
Εικόνα 2.5.16 Ο συντακτικός μοριακός τύπος του p-νιτρο-βενζαζιδίου

Δεν είναι επικίνδυνο εκρηκτικό, μέχρι και την θερμοκρασία ζέσεως του τολουολίου ( $111^{\circ}\text{C}$ ). Όταν σ' αυτόν τον διαλύτη ζέονται διάφορες αλειφατικές ή αρωματικές αμίνες, τότε παράγονται ποσοτικά, στοιχειομετρικά και μη αντιστρεπτά οι αντίστοιχες p-



νιτροφαινυλο-ουρίες. Το αντιδραστήριο p-Nitrobenzazide αντέδρασε με πενήντα αμίνες, διαφόρων τύπων εντός ζέοντος τολουολίου και έδωσε σε μεγάλες αποδόσεις, τις αντίστοιχες p-νιτροφαινυλο-ουρίες (p-Nitrophenyl-Ureas). Τα προϊόντα αυτά είναι ιδανικά παράγωγα, για την ασφαλή ταυτοποίηση των αμινών αυτών, δεδομένου ότι εμφανίζουν απότομα και ακριβή σημεία τήξεως, [Sah Peter P.T., 1940].

**Αζιδιακά Άλατα Βισμούθιου.** Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται για πρώτη φορά η σύνθεση των διμερών ενώσεων Bi(III) και αζιδιοανιόντων, του τύπου  $[Bi(N_3)_3]$ ,  $[Bi(N_3)_4^-]$  και  $[Bi(N_3)_6^{3-}]$  και ο χαρακτηρισμός αυτών. Το μοριακό σύμπλοκο  $[Bi(N_3)_3 \cdot THF]$  αποδεικνύεται μία πρόδρομη ουσία, στην παρασκευή της πολύτιμης ομοιοπολικής ενώσεως  $[Bi \equiv N]$ , στη χημεία των πυροκροτητών, λόγω της χαμηλής του ευαισθησίας, σε θερμικά και μηχανικά ερεθίσματα (κρούση, ώση, θέρμανση), έναντι του εξόχως ευαίσθητου και επικινδύνου υλικού  $Bi(N_3)_3$ , [Villinger Alexander and Schulz Axel, 2010].



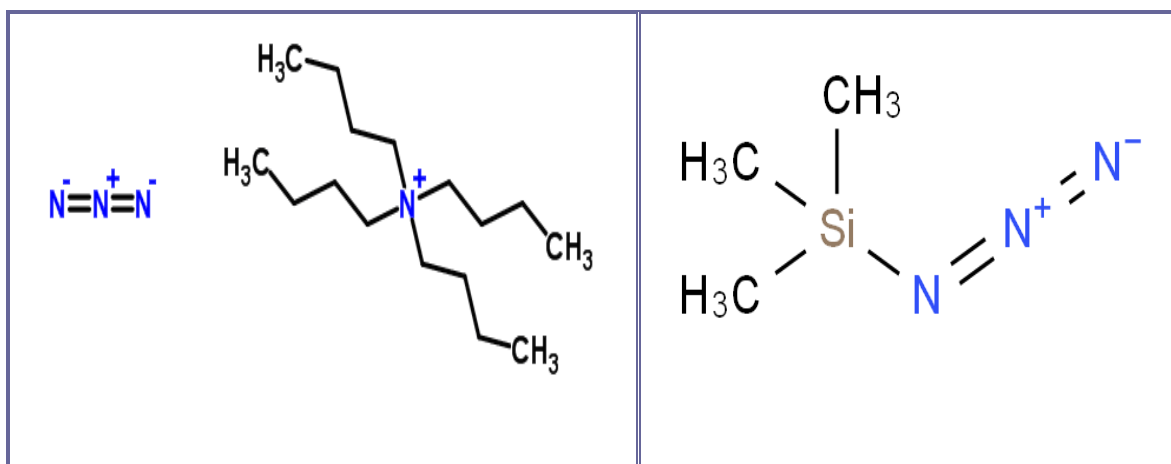
**Εικόνα 2.5.17** Αριστερά: η δομή του Hexazidobismutate-anion. Δεξιά: το 1,1,-Diamino-3,3,5,5,7,7-hexaazido-cyclotetraphosphazene  $[(NH_2)_2(N_4P_4)(N_3)_6]$ .

Μεγάλη έκταση και τεράστιο ενδιαφέρον έχει προσλάβει τα τελευταία χρόνια η έρευνα στην σύνθεση, στην απομόνωση και στον χαρακτηρισμό, διαφόρων ετεροκυκλικών αρωματικών πολύ-φωσφαζενικών παραγώγων, με ιδιαίτερη σημασία στις χωροταξικές κρυσταλλικές δομές και στις εφαρμογές τους στην χημεία των εκρηκτικών και πυροκροτικών ιδιοτήτων τους, [Zhang Jianguo, et al, 2008].

**Tetrabutylammonium Azide:** (TBAA), CAS Number: 993-22-6, Εμπειρικός τύπος:  $C_{16}H_{36}N_4$ , M.B.=284,48 g/mol, Σ.Τ.=184-188 °C, Θερμοκρασία Συντήρησης=2-8°C. Εμφάνιση: Καστανο-κιτρίνη σκόνη. Παράγεται από την αντίδραση του Χλωριούχου Τετραβουτυλαμμωνίου με περίσσεια Αζιδίου του Νατρίου, σε περιβάλλον τετραυδροφουρανίου.

Είναι εξαιρετικό αντιδραστήριο μεταφοράς φάσεως, χωρίς να διαθέτει όξινες ιδιότητες και ως εκ τούτου μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε απρωτικούς ή λιγότερο πολικούς διαλύτες. Χρησιμοποιείται επίσης στις αντιδράσεις υποκαταστάσεως αλογόνων, σε οργανικά μόρια που περιέχουν και άλλες δομικές ομάδες, ιδιαίτερος δραστικές. Πυκνότης  $d=0,9$  g/cm, Διαλυτότης στο THF=150g/l, Διαλυτότης στο Ύδωρ: Ικανοποιητική, Τοξικότητα Xi: Irritant, Toxic. Επικίνδυνες Αντιδράσεις: Σχηματίζει εκρηκτικές ενώσεις με άλατα βαρέων μετάλλων. Αποδεσμεύει εξόχως τοξικά αέρια, Υδραζωτικού Οξέος, κατά την επαφή του με

οξεία, [Fotsing J.R., "Dissertation Thesis, Chemnitz University of Technology, Germany, 2004] και [Haase Jurgen, "Large-Scale Preparation and Usage of Azides", 2010].



Εικόνα 2.5.18 Αριστερά: το μόριο του Tetrabutylammonium Azide και Δεξιά: το μόριο του Azidotrimethylsilane.

**Azidotrimethylsilane:** ή Trimethylsilyl Azide ή TMSA. Άχρωμο υγρό, CAS Number: 4648-54-8, Linear Formula:  $(\text{CH}_3)_3\text{SiN}_3$ , M.B.= 115,21 με Δείκτη Διαθλάσεως  $n_D^{20}=1,416$  με B.P.= 95–96 °C ή B.P.=2-53 °C/175 mmHg, με F.P.=23 °C και με  $d=0,868$  g/mL at 25 °C. Θερμοκρασία Συντήρησης=2-8°C, με IR:  $\nu_{\text{max}} 2100\text{cm}^{-1}$  και με  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 0,22$ . Διαλυτό στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Χρησιμοποιείται στην αζίδωση (azidation) των οργανικών αλογονιδίων, των ακεταλών, των εστέρων, καθώς και άλλων οργανικών σωμάτων, [Birkofer L., and Wegner P., "1,3-Cycloadditionen mit Trimethylsilyl-Azid", 1966] και [Haase Jurgen, "Large-Scale Preparation and Usage of Azides", 2010].

**Το Ιωδιούχο Αζίδιο.** Αν και τα χλωριούχο αζίδιο και βρωμιούχο αζίδιο έχουν από μακρόν και παρά την εκρηκτική φύση των, που χρησιμοποιούνται ευρύτατα, ως παρασκευαστικά συνθετικά αντιδραστήρια, στην οργανική χημεία, λίγα πράγματα ήταν γνωστά για το ιωδιούχο αζίδιο. Οι συστάσεις του Hantzsch από το 1900 φαίνεται ότι έκαναν τους χημικούς πολύ επιφυλακτικούς, στην χρήση αυτού του σώματος. Στην εργασία αυτή αποδεικνύεται, ότι η προσεκτική εφαρμογή του αντιδραστηρίου αυτού ανοίγει τεράστιους ορίζοντες, στην συνθετική οργανική χημεία, [Dehnicke Kurt, 1979].

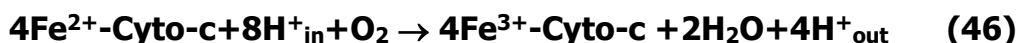
**Ανιονικά σύμπλοκα  $\text{V}(\text{N}_3)_4$ ,  $[\text{V}(\text{N}_3)_6]^{2-}$  και  $[\text{V}(\text{N}_3)_6]^-$ .** Αναφέρθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός των διμερών ανιονικών συμπλόκων του βαναδίου (IV) και (V), με αζιδιακά ανιόντα, του τύπου  $\text{V}(\text{N}_3)_4$ ,  $[\text{V}(\text{N}_3)_6]^{2-}$  και  $[\text{V}(\text{N}_3)_6]^-$ . Τα σύμπλοκα μελετήθηκαν φασματοσκοπικά και η δομή των επιλύθηκε με ανάλυση ακτίνων-Χ, [Haiges Ralf, et al, 2010].

**Αιθερικές Κορώνες - Αζιδιακά Σύμπλοκα Ca, Ba και Sr.** Αναφέρονται για πρώτη φορά οι συνθέσεις των αζιδιακών συμπλόκων των μετάλλων Ca, Ba και Sr, με αιθερικές κορώνες [15] και [18] των μοριακών χημικών τύπων  $[\text{Ba}([18]\text{-Crown-6})(\text{N}_3)_2(\text{MeOH})]$ ,  $[\text{Sr}([15]\text{-Crown-5})(\text{N}_3)_2(\text{H}_2\text{O})]$ ,  $[\text{Ca}([15]\text{-Crown-5})(\text{N}_3)_2(\text{H}_2\text{O})]$  and  $[\text{Sr}([15]\text{-Crown-5})(\text{N}_3)(\text{NO}_3)]$ . Η επίλυση της δομής αυτών με ανάλυση ακτίνων-Χ έδωσε ποικιλία τύπων δεσμού, με κυρίαρχους τους δεσμούς υδρογόνου. Το σύμπλοκο  $[\text{Ba}([18]\text{-Crown-6})(\text{N}_3)_2(\text{MeOH})](1/3\text{MeOH})$  περιέχει διπυρηνικά κατιόντα, με τρεις -1,3-NNN γέφυρες, πράγμα που

αναφέρεται για πρώτη φορά για τις αλκαλικές γαίες. Έγινε σύγκριση των δομών αυτών με τις μοριακές δομές, της θεωρίας συναρτήσεων πυκνότητας, που υπολογίσθηκαν με την χρήση προγράμματος PC, διαλευκάνθηκαν τα αποτελέσματα του κρυσταλλικού πλέγματος και μελετήθηκε η φύση των δεσμών, μετάλλου-αζιδίου. Επιβεβαιώθηκε ότι οι δεσμοί στα σύμπλοκα αυτά κατά κύριο λόγο είναι ιοντικοί ή χαρακτήρα ιόντος-διπόλου, μεγιστοποιώντας τον αριθμό εντάξεως και ελαχιστοποιώντας τις απώσεις υποκαταστάτη-υποκαταστάτη, [Brown M.D., et al, 2008].

### 2.5.8 ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΖΙΔΙΩΝ

Το υδραζωτικό και τα άλατά δρουν ως παρεμποδιστές της κυτοχρωμικής οξειδάσης (Cytochrome Oxidase, Cyto-c), του ενζύμου που εμπλέκεται άμεσα στη δέσμευση του οξυγόνου μέσω της οξειδωσης του σιδήρου(II) προς σίδηρο(III) σύμφωνα με τη γενική βιοχημική Αντίδραση 46:

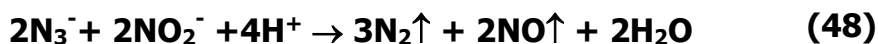
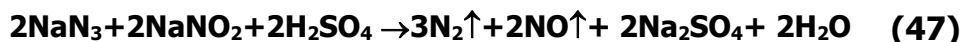


Το ιόν του αζιδίου δεσμεύεται μη αντιστρεπτά από την αίμη, γεγονός που οδηγεί σε θάνατο από ασφυξία και κατατάσσει το υδραζωτικό οξύ και τα άλατά του στα σφοδρά δηλητήρια. Την ίδια παρεμπόδιση ασκούν τα κυανιούχα ιόντα, τα θειούχα ιόντα και το μονοξειδίο του άνθρακα, [Crofts Antony, 1996]. Η ιδιότητα αυτή αξιοποιείται στην ευρύτατη χρησιμοποίηση του νατραζιδίου, ως ισχυρής αντιμικροβιακής και βακτηριοστατικής συντηρητικής ουσίας (Preservative), σε πρωτεϊνούχα διαλύματα δείγματα ορού, όπου δρα ικανοποιητικά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (0,05-0,1%). Αν χρειαστεί, μπορεί να απομακρυνθεί εύκολα από τα διαλύματα αυτά με διαπίδυση. Έκθεση του ανθρώπου σε μικρές ποσότητες νατραζιδίου ή υδραζωτικού οξέος- με εισπνοή σκόνης  $\text{NaN}_3$  ή ατμών  $\text{HN}_3$  από διαλύματα  $\text{NaN}_3$  ή με απορρόφηση μέσω του δέρματος- προκαλεί τα ακόλουθα συμπτώματα: ταχεία αναπνοή, ανησυχία, ζάλη, αδυναμία, πονοκέφαλο, ναυτία και έμετους, ταχυκαρδία, κοκκίνισμα των ματιών, καταρροή, βήχα και εγκαύματα στο δέρμα, [Russo I., et al, 2008]. Λήψη σχετικά μεγάλης ποσότητας νατραζιδίου (>10mg/kg) προκαλεί: Σπασμούς, πτώση της πίεσης, επιβράδυνση των καρδιακών παλμών, απώλεια των αισθήσεων, πνευμονικό οίδημα και αναπνευστική καταστολή, που οδηγεί τελικά στο θάνατο. Ουσιαστικά, τα συμπτώματα είναι ίδια με εκείνα της δηλητηρίασης από μονοξειδίο του άνθρακα. Ως τοξική δόση για το  $\text{NaN}_3$  έχει αναφερθεί η ποσότητα των 700mg. Ατυχήματα δηλητηρίασης από νατραζίδιο έχουν συμβεί σε τεχνικούς εργαστηρίων, σε διαλυτήρια αυτοκινήτων, από τους μηχανισμούς των αερόσακων και από την κατασκευή ελαττωματικών αερόσακων. Για το υδραζωτικό οξύ σε επίμυες οι τιμές  $\text{LC}_{50}$  και  $\text{LD}_{50}$  είναι αντίστοιχα 34 mg/m<sup>3</sup> και 33mg/kg. Το υδραζωτικό οξύ και τα αζίδια δεν έχουν υπαχθεί στην κατηγορία των μεταλλαξιογόνων και καρκινογόνων ουσιών, [Angelotti T., 2007].

### 2.5.9 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΔΡΑΖΩΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Έχει αναφερθεί ότι τα διαλύματα αζιδίου του νατρίου δεν πρέπει να απορρίπτονται στον νεροχύτη ενός εργαστηρίου χημείας, διότι αντιδρούν ευκόλως με τις μεταλλικές σωληνώσεις των αποχετεύσεων (Cu, Pb, Cd, Zn), σχηματίζοντας ισχυρώς εκρηκτικά αζιδιακά άλατα, ιδίως με τον μόλυβδο και τον χαλκό. Θα πρέπει πρώτα να διασπασθούν

σχολαστικά, ώστε να ανενεργοποιηθούν οριστικά. Αυτή η εξουδετέρωση τέτοιων, ισχυρώς αναγωγικών διαλυμάτων επιτυγχάνεται σύμφωνα με τις παρακάτω αντιδράσεις, κατά τις οποίες τελικώς παράγεται αέριο άζωτο και αέριο μονοξειδίο του αζώτου.



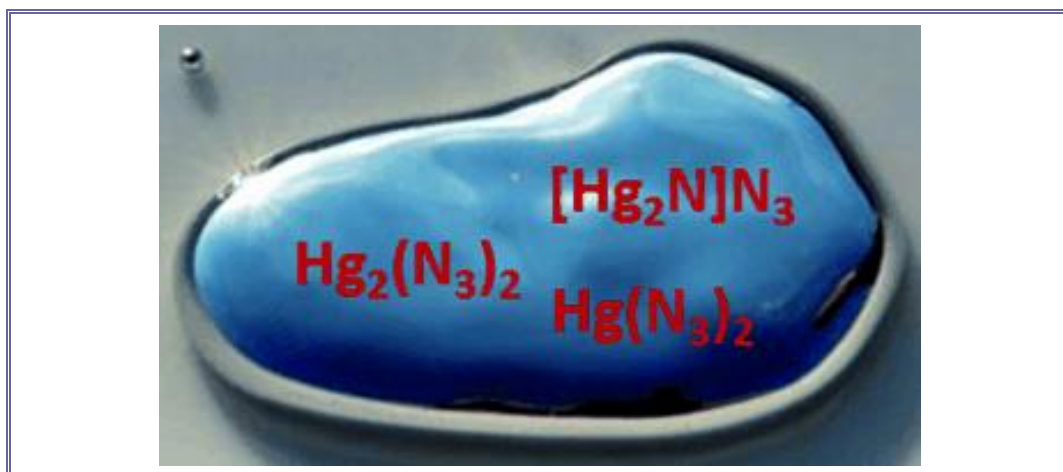
Γι' αυτό τον λόγο η εργασία αυτή θα πρέπει οπωσδήποτε να εκτελείται εντός απαγωγού εστίας, [Cooper Jean, 2013]. Τα αντιδραστήρια εισάγονται με συγκεκριμένη σειρά. Εντός των διαλυμάτων αζιδιακών αλάτων εισάγεται κατά πρώτον το διάλυμα του νιτρώδους νατρίου, τηρουμένων των στοιχειομετρικών αναλογιών. Τελευταίος εισάγεται ο οξυνοιστικός παράγων, δηλαδή το θειικό οξύ. Για ένα απορριπτό διάλυμα που περιέχει <5% νατραζίδιο εντός μεγάλου ποτηρίου, εισάγεται υπό μαγνητική ανάδευση, ο αντίστοιχος όγκος υδατικού διαλύματος 20% νιτρώδους νατρίου, το οποίο περιέχει 1,5g NaNO<sub>2</sub>, για κάθε γραμμάριο NaN<sub>3</sub>. Στη συνέχεια εισάγεται αργά και σταδιακά διάλυμα 20% υδατικό διάλυμα θειικού οξέος, μέχρις οξίνου αντιδράσεως, του πεχαμετρικού χάρτη (ερυθρός), [Clouy D.R., 1965].

#### 2.5.10 ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΕΣ

**Φυτοφάρμακο SEP-®-100.** Η Amrac διαθέτει βιομηχανικές εγκαταστάσεις παραγωγής του άλατος αζιδίου του νατρίου, για τη χρήση του, ως δραστικού συστατικού στο γεωργικό σκεύασμα SEP-®-100, που λειτουργεί ως ένα αποτελεσματικό φυτοφάρμακο ευρέος φάσματος, καθώς λειτουργεί ως μυκητοκτόνο (ελέγχου μυκήτων), ως νηματοκτόνο (ελέγχου νηματωδών), ως ζιζανιοκτόνο (ελέγχου ζιζανίων ή άλλων ανεπιθύμητων φυτών) και ως ένα βακτηριοκτόνο (Bacteriacide, ελέγχου ανεπιθύμητων βακτηρίων στο έδαφος). Η δράση του είναι ασφαλής, για το περιβάλλον, με μηδενική δυναμική στην καταστροφή του όζοντος. Το εγκεκριμένο φυτοφάρμακο αυτό είναι ο κατάλληλος αντικαταστάτης του μεθυλοβρωμιδίου, το οποίο καταστρέφει δραστικά το στρώμα του όζοντος, [American Pacific Corporation, 2013].

**Νηματοκτόνος Δράση** (Nematicidal Properties). Το αζίδιο του νατρίου, καθώς και τα αζίδια οργανικών οξέων, όπως το βενζαζίδιο (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CON<sub>3</sub>), το p-χλωροβενζαζίδιο, το m-νιτροβενζαζίδιο, το p-νιτροβενζαζίδιο και το [β]-ναφθαζίδιο ήταν ιδιαίτερα τοξικά έναντι των Turbatrix Aceti, Heterodera Rostochiensis, Meloidogyne Sp., αποικιών Bacterium Coli, Aspergillus Niger, Mucor Sp. και Penicillium Sp. Μελετήθηκε η δράση των αζιδίων αυτών στον έλεγχο του σκώληκος της ρίζας της πατάτας και -υπό κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες- διαπιστώθηκε η ικανοποιητική αποτελεσματικότητα των, τόσο στις δοκιμές θερμοκηπίου, όσο και στις δοκιμές ανοιχτού πεδίου. Σε δοκιμές πεδίου όταν υδατικά διαλύματα αζιδίου του νατρίου, εφαρμόζονται στο έδαφος έδωσαν σημαντικές αυξήσεις στην απόδοση των γεωμήλων, σε εκτάσεις μολυσμένες σε μεγάλο βαθμό, με Rostochiensis H., πράγμα που συνοδεύεται από αύξηση του πληθυσμού κύστεων του εδάφους. Έχει αποδειχθεί ότι η βιολογική δραστηριότητα των αζιδίων προκύπτει από την απελευθέρωση των αδιάστατου υδραζωϊκού οξέος. Το οξύ απελευθερώνεται σε σημαντικές ποσότητες, μόνον στα όξινα εδάφη, όπου περαιτέρω αποσυντίθεται, με σχηματισμό μοριακού αζώτου.

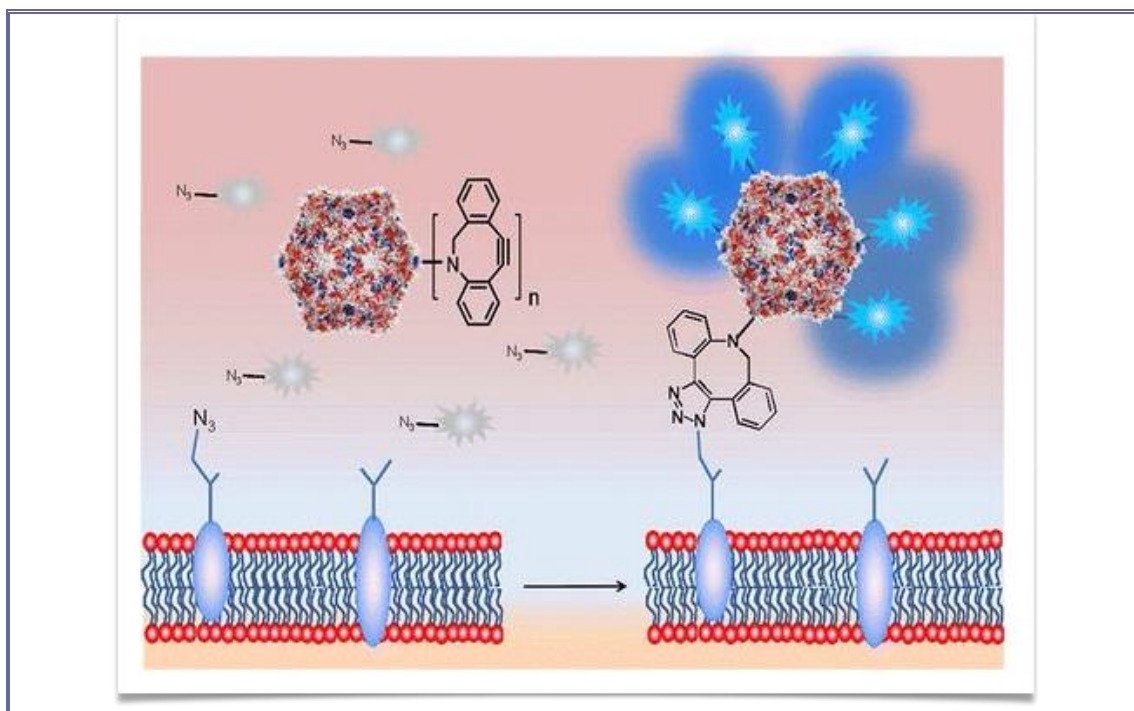
Αντιθέτως τα αζίδια των οργανικών οξέων αποσυντίθεται τόσο από ένα ευρύ φάσμα αραιωτικών συστατικών του εδάφους, όσο και από το ίδιο το έδαφος των αγρών. Υπάρχουν ενδείξεις από πειραματικές μελέτες ότι σε αραιωτικά εδάφους η κύρια αντίδραση αποσύνθεσης είναι ο σχηματισμός ισοκυανικών εστέρων, από την αναδιάταξη Curtius, ενώ στα υγρά εδάφη λαμβάνει χώρα εκτεταμένη υδρόλυση, προς το ίδιο το υδραζωτικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια αποσυντίθεται. Τα περιεχόμενα αζίδια του εδάφους και των διαλυμάτων μετρήθηκαν χρωματομετρικά, με την προσθήκη  $\text{FeCl}_3$  και με την μετατροπή τους στο ερυθρό άλας  $[\text{Fe}(\text{N}_3)_3]$ , του τρισθενούς σιδήρου, [Bradbury F.R., 1957] και [Khan Salim, 2009]. Περίπου 500 τόνοι αζιδιακών παραγώγων παράγονται ετησίως, με επικρατέστερο το αζίδιο του νατρίου. Οι αζιδιακές ενώσεις και τα υδραζωτικά άλατα αποδεικνύονται εξαιρετικά εργαλεία σε πολλούς τομείς της Επιστήμης και μία μοναδική παλέτα ευέλικτων επιλογών, στις τεχνολογίες νέων συνθετικών μορίων: Στη **Χημεία του δυναμίτη, των πυροκροτητών** και των εκρηκτικών υλών.



**Εικόνα 2.5.19** Τα τρία αζιδιακά μόρια του υδραργύρου σταθεροποιημένα, πάνω στην μεταλλική επιφάνεια, σταγόνες μεταλλικού υδραργύρου.

Αναφέρθηκε στην βιβλιογραφία η απομόνωση και η μελέτη, μιας σειράς ασταθών αζιδιακών αλάτων του Hg. Το μετασταθές αζιδιακό άλας  $\beta\text{-Hg}(\text{N}_3)_2$  παράγεται με αργή διάχυση, όταν υδατικό διάλυμα υδραζωτικού νατρίου (πάνω) διαχέεται αργά, μέσω πυκνού διαλύματος  $\text{NaNO}_3$  (μέσον) και στη συνέχεια προς το υποκείμενο διάλυμα  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  (κάτω). Ευμεγέθεις, βελονοειδείς και διαυγείς κρύσταλλοι του άλατος σχηματίζονται στον πυθμένα του ποτηρίου, οι οποίοι εκρήγνυνται αφ'εαυτών, κατά την διάρκεια της πορείας κρυσταλλώσεως, σε ένα εντυπωσιακό φαινόμενο μικρών εκρήξεων-αναλαμπών, εντός του διαλύματος. Εάν προϋπάρχει στρώμα μεταλλικού  $\text{Hg}^0$  στον πυθμένα, τότε μέρος του άλατος σταθεροποιείται, διαλυτοποιούμενο στην επιφάνεια του μετάλλου, παρέχοντας λαμπρό κυανούν επιφανειακό στρώμα, (Εικόνα 2.5.19), [Lund Henrik, et al, "Mercury Azides and the Azide of Millon's Base", *Angewandte Chemie International Edition*, 2013]. Στη Χημεία των διβορανίων, στη Χημεία της υδραζίνης, στη Χημεία των νιτρο-αλκανίων, στη Χημεία των διαζωξικών ενώσεων, στη Χημεία του διθειάνθρακα, στη Χημεία του Διαζωμεθανίου, στη Χημεία του αζωδικαρβοξυλικού οξέος, στη Χημεία των πολυφωσφαζενίων, στην Οζονόλυση, στην Κυκλοπρο-πανίωση, στην Καρβονυλίωση, στην

Staudinger Ligation, στην Τεχνολογία των Χειραλικών ενώσεων, στη Χημεία των εξαιρετικώς ισχυρών ενεργών συστατικών, στην Προηγμένη οργανική σύνθεση, στην Παρασκευαστική χρωματογραφία, στις Προηγμένες τεχνολογίες καθαρισμού και στην Χημεία των **"Click Bio-Conjugation Reactions"**.

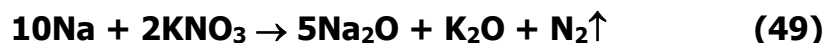
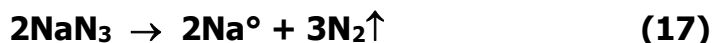


**Εικόνα 2.5.20 Μηχανισμός συζεύξεως του τροποποιημένου σωματιδίου (Ιού Cowpea mosaic virus - αζα-διβενζυλο-κυκλοοκτυνίου), με διάφορες αζιδιο-γλυκάνες. Τα προκύπτοντα μοριακά συγκροτήματα-βλήματα διέρχονται ελεύθερα μέσω της κυτταρικής μεμβράνης του καρκινικού μαστικού κυττάρου MCF-7.**

Προσφάτως στην χημεία των αντιδράσεων αυτών τα αζιδιακά άλατα ευρίσκουν εκτεταμένες εφαρμογές, στην διαδικασία **τροποποίησης ενεργών βιο-μορίων**. Αναπτύχθηκε μέθοδος τροποποίησης των ιικών σωματιδίων του Cowpea mosaic virus, με την ένωση αζα-διβενζυλο-κυκλοοκτυνίου. Τα τροποποιημένα βιολογικά σωματίδια αντιδρούν με αζιδιοπαράγωγα μη φυσικών σακχάρων (αζιδιο-γλυκάνες), τα οποία αφ' εαυτών δύνανται να διέρχονται ελεύθερα μέσω της κυτταρικής μεμβράνης. Η αντίδραση βιο-συζεύξεως που πραγματοποιείται είναι κυκλοπροσθήκη του τύπου αζιδιο-αλκυνίου και τα συστατικά της δεν είναι τοξικά, για τα φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα. Με την μέθοδο αυτήν διάφορα βιολογικά θεραπευτικά βλήματα-ιοί καθίστανται και αυτά διηθήσιμα, μέσω της καρκινικής κυτταρικής μεμβράνης. Η μέθοδος εφαρμόστηκε επιτυχώς σε ζωντανές καλλιέργειες ανθρωπίνων μαστικών καρκινικών κυττάρων, MCF-7, (Εικόνα ), [Washington-Hughes Clorissa L., et al, "In Vivo Virus-Based Macrofluorogenic Probes Target Azide-Labeled Surface Glycans in MCF-7 Breast Cancer Cells", 2013].

**Αερόσακοι Ασφαλείας Αυτοκινήτων:** Η εγκατάσταση αερόσακων στα αυτοκίνητα, ως σύστημα παθητικής ασφάλειας γενικεύτηκε κατά τη δεκαετία του 1990, ως υποχρεωτικό σύστημα σε κάθε αυτοκίνητο. Η ιδέα χρήσης του νατραζιδίου, σε μίγμα με μεταλλικά οξείδια, για την ταχύτατη παραγωγή αερίου ανήκει στον Χημικό John Pietz, από το 1968.

Χρησιμοποιείται το μίγμα  $\text{NaN}_3\text{-KNO}_3\text{-SiO}_2$ . Με την θερμική διάσπαση του  $\text{NaN}_3$  παράγεται αέριο άζωτο και μεταλλικό νάτριο, Αντίδραση 19. Το  $\text{KNO}_3$  αξειδώνει αμέσως το  $\text{Na}$  προς  $\text{Na}_2\text{O}$ , Αντίδραση 20. Η εκλυόμενη θερμότητα αυξάνει τον όγκο του παραγομένου αερίου και καθιστά ουσιαστικά ακαριαία την παραγωγή του. Η αντίδραση αυτή συνεισφέρει επιπλέον ποσά αζώτου και θερμότητας, στο σύστημα, εξασφαλίζοντας τον βαθμό "εκρηκτικότητας", που απαιτεί η δεδομένη εφαρμογή.



Χρησιμοποιείται το μίγμα  $\text{NaN}_3\text{-KNO}_3\text{-SiO}_2$ . Με την θερμική διάσπαση του  $\text{NaN}_3$  παράγεται αέριο άζωτο και μεταλλικό νάτριο, Αντίδραση 19. Το  $\text{KNO}_3$  αξειδώνει αμέσως το  $\text{Na}^\circ$  προς  $\text{Na}_2\text{O}$ , Αντίδραση 20. Η εκλυόμενη θερμότητα αυξάνει τον όγκο του παραγομένου αερίου και καθιστά ουσιαστικά ακαριαία την παραγωγή του. Το  $\text{SiO}_2$  δεσμεύει τα παραχθέντα οξείδια των αλκαλίων  $\text{Na}_2\text{O}$  και  $\text{K}_2\text{O}$ , σχηματίζοντας αβλαβή υαλώδη πυριτικά άλατα, Αντιδράσεις 48 και 49.



Εικόνα 2.5.21 Αριστερά: Πυροκροτητές και καψύλια. Δεξιά: Η αρχή λειτουργίας του αερόσακου

Η συνολική αντίδραση αποδίδεται από την Αντίδραση 50. Με βάση την συνολική αντίδραση, μπορεί θεωρητικά να υπολογιστεί, ότι από 1g  $\text{NaN}_3$  θα προκύψουν περίπου 0,75L αερίου αζώτου, σε μέση θερμοκρασία αερίου 100°C. Εκτιμάται ότι στα σύγχρονα αυτοκίνητα, με τέσσερα συστήματα αερόσακων, υπάρχουν συνολικά περίπου 200 έως 300g  $\text{NaN}_3$ .

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

### **ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ. ΜΕΘΟΔΟΙ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ**

#### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ**

##### **3.1 ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΑ**

Η αναρχική ανάπτυξη μιας μάζας κυττάρων εν μέσω φυσιολογικών ιστών, κατά τρόπο εντελώς αυθαίρετο και εκτός της οικονομίας του οργανισμού χαρακτηρίζεται ως νεόπλασμα. Η βασική ανωμαλία, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη του νεοπλασματος είναι ο συνεχής πολλαπλασιασμός των νεοπλασματικών κυττάρων, [Ruddon Raymond, 2007]. Τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι κύτταρα τα οποία έχουν ξεφύγει από τη φυσιολογική ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα και απωθούν τους παρακείμενους υγιείς ιστούς (καλοήθεις όγκοι) ή διηθούν τους γειτονικούς ιστούς και τα αγγεία (κακοήθεις όγκοι). Η απώλεια του ρυθμιστικού ελέγχου την οποία παρουσιάζουν τα νεοπλασματικά κύτταρα είναι το αποτέλεσμα συσσωρευμένων ανωμαλιών, σε διάφορα ρυθμιστικά συστήματα του κυττάρου και απεικονίζεται σε διάφορες σκοπιές της συμπεριφοράς των νεοπλασματικών κυττάρων, που τα διακρίνει από τα φυσιολογικά κύτταρα, [King Roger, 2006]. Από άποψη μοριακής γενετικής, η ανάπτυξη νεοπλασμάτων αποδίδεται στους εξής κυρίαρχους μηχανισμούς:

- 1)-** Στην ενεργοποίηση γονιδίων που υποκινούν τον πολλαπλασιασμό των νεοπλασματικών κυττάρων (ογκογονίδια),
- 2)-** Στην απενεργοποίηση γονιδίων που αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (ογκοκατασταλτικά γονίδια),
- 3)-** Στην ενεργοποίηση γονιδίων που εμποδίζουν το φυσιολογικό κυτταρικό θάνατο (αντιαποπτωτικά γονίδια) και
- 4)-** Στην ενεργοποίηση γονιδίων που υποκινούν την αγγειογένεση, [McKinnell Robert, 1998].

##### **3.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ**

Τα νεοπλάσματα μπορεί να προέλθουν από τον ανώμαλο πολλαπλασιασμό οποιουδήποτε κυττάρου του σώματος και επομένως υπάρχουν πάνω από 100 διαφορετικοί τύποι νεοπλασματος οι οποίοι διαφέρουν τόσο ως προς τη βιολογική τους συμπεριφορά όσο και ως προς την ανταπόκρισή τους στη θεραπεία. Με βάση την βιολογική τους συμπεριφορά, τα νεοπλάσματα διακρίνονται σε καλοήθη και κακοήθη νεοπλάσματα. Τα καλοήθη νεοπλάσματα είναι νεοπλάσματα που αυξάνονται απωθώντας του γύρω ιστούς, χωρίς να τους διηθούν και χωρίς να μεθίστανται, [Cooper Geoffrey, 2007]. Οι καλοήθεις όγκοι αναπτύσσονται αργά, είναι περιγεγραμμένοι και μπορεί να περιβάλλονται από ινώδη κάψα. Αποτελούνται δε από υψηλά διαφοροποιημένο ιστό που μοιάζει με τον ιστό από τον οποίο



προήλθαν. Η πρόγνωση των καλοήθων νεοπλασμάτων είναι άριστη, αν και ορισμένα από αυτά θα μπορούσαν να απειλήσουν τη ζωή του ατόμου ασκώντας πίεση σε κάποιο ζωτικό όργανο. Τα κακοήθη νεοπλάσματα είναι νεοπλάσματα που αυξάνονται διηθώντας τους γύρω ιστούς, [Weinberg Robert Allan, 2007]. Η διήθηση πραγματοποιείται κατά συνέχεια ιστών, ακολουθώντας τη διαδρομή με τη μικρότερη αντίσταση. Τα κακοήθη κύτταρα έχουν επίσης την τάση να εισβάλουν σε λεμφικά και αιμοφόρα αγγεία, [Cooper Geoffrey, 2007]. Με τον τρόπο αυτό, ομάδες κακοήθων κυττάρων μεταφέρονται από την αρχική τους θέση (πρωτοπαθής εστία) σε απομακρυσμένα όργανα και ιστούς, εγκαθιστώντας μεταστάσεις (δευτεροπαθείς εστίες). Οι κακοήθεις όγκοι αναπτύσσονται γρήγορα, έχουν ασαφή όρια και δεν περιβάλλονται από ινώδη κάψα, ενώ εμφανίζουν περιοχές με αιμορραγίες και νεκρώσεις. Αποτελούνται δε από λιγότερο ή καθόλου διαφοροποιημένο ιστό. Τα κακοήθη νεοπλάσματα αναφέρονται συχνά και με τον όρο **"Καρκίνος"**. Η διάκριση των νεοπλασμάτων σε καλοήθη και κακοήθη δεν είναι πάντα εφικτή. Υπάρχουν και νεοπλάσματα που εμπίπτουν σε ενδιάμεσες κατηγορίες. Τα νεοπλάσματα αυτά αναπτύσσονται διηθώντας τους γύρω ιστούς αλλά σπάνια εμφανίζουν μεταστάσεις (νεοπλάσματα χαμηλής κακοήθειας). Τυπικά παραδείγματα αποτελεί το πολύμορφο αδένωμα της παρωτίδας, οι καρκινοειδείς όγκοι της σκληροκοειδούς απόφυσης και το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα του δέρματος, [Σιβρίδη Ευθυμίου, 2007]. Τόσο οι καλοήθεις όσο και οι κακοήθεις όγκοι διακρίνονται ανάλογα με την ιστολογική τους προέλευση σε :

- α)-** επιθηλιακά νεοπλάσματα, τα οποία προέρχονται από το καλυπτήριο ή το αδενικό επιθήλιο,
- β)-** μεσεγχυματικά νεοπλάσματα, τα οποία προέρχονται από διάφορα μεσεγχυματικά κύτταρα,
- γ)-** μεικτούς όγκους οι οποίοι σχηματίζονται από δυο ή περισσότερους τύπους διαφοροποιημένων νεοπλασματικών κυττάρων,
- δ)-** εμβρυογενείς όγκους ή βλαστώματα, οι οποίοι προέρχονται από τα πολυδύναμα εμβρυϊκά κύτταρα και
- ε)-** νεοπλάσματα από βλαστικά-γεννητικά κύτταρα τα οποία προέρχονται από τα ολοδύναμα βλαστικά-γεννητικά κύτταρα των γονάδων.

Βέβαια υπάρχουν και ορισμένα νεοπλάσματα που δεν εμπίπτουν σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες. Τα νεοπλάσματα αυτά είναι τα εξής :

- α)-** τα λεμφώματα, τα οποία προέρχονται από κύτταρα του λεμφικού συστήματος,
- β)-** οι λευχαιμίες, οι οποίες προέρχονται από κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος,
- γ)-** το κακόηθες μελάνωμα, το οποίο προέρχεται από τα μελανοκύτταρα της επιδερμίδας,
- δ)-** τα γλοιώματα, τα οποία προέρχονται από τα νευρογλοιακά κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος και
- ε)-** οι νευροενδοκρινικοί όγκοι οι οποίοι προέρχονται από τα ενδοκρινικά κύτταρα του συστήματος APUD.

### 3.3 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΚΑΚΟΗΘΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων ως αποτέλεσμα της συσσώρευσης ανωμαλιών οι οποίες επιδρούν στους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του κυττάρου έχει ως αποτέλεσμα μεταβολές στη συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων οι οποίες τα διακρίνουν από τα φυσιολογικά κύτταρα. Οι ιδιότητες αυτές των καρκινικών κυττάρων είναι οι εξής, [MacKinnell Robert Gilmore, et al, "The Biological Basis of Cancer", First Edition, Volume XIX, Cambridge University Press, New York, USA, 1998]:

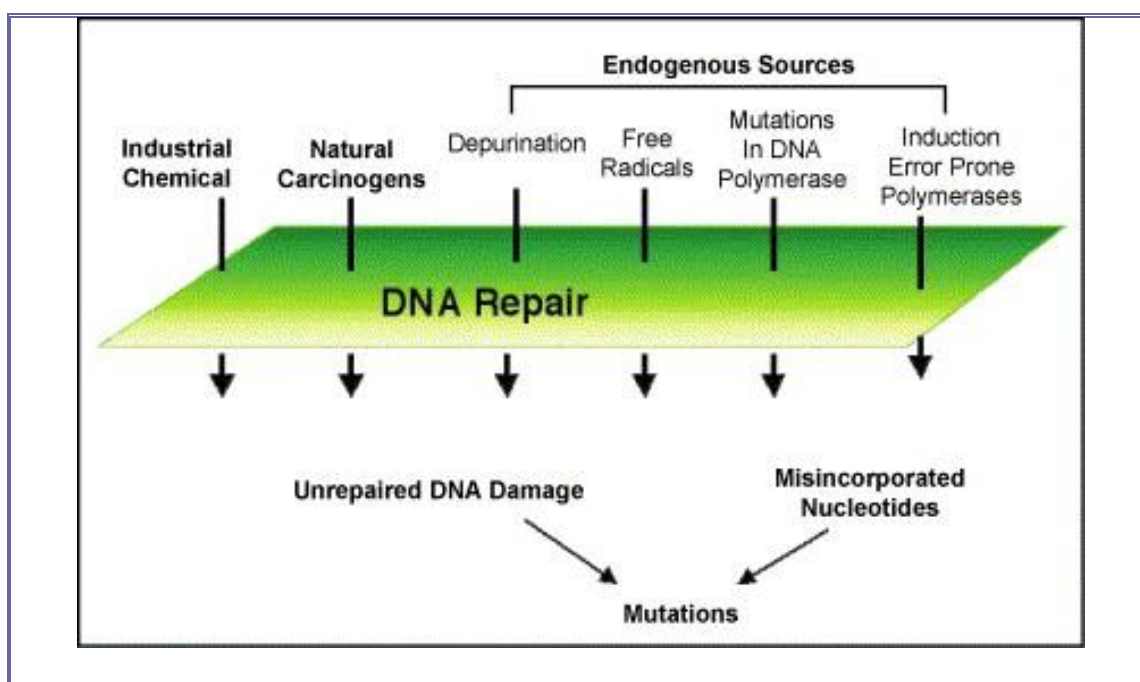
- 1)-** Η μορφολογία των καρκινικών κυττάρων. Τα κακοήθη κύτταρα παρουσιάζουν μεγάλο πολυμορφισμό σε μέγεθος και σχήμα, έχουν εμφανείς πυρηνίσκους, πυκνή χρωματίνη και παρουσιάζουν πολλές και ανώμαλες μιτώσεις, [Diaz-Canó S.J., 2008].
- 2)-** Η συμπεριφορά των καρκινικών κυττάρων: Τα κακοήθη κύτταρα δεν ανταποκρίνονται στους ρυθμιστικούς μηχανισμούς του οργανισμού, [Hanahan, 2000]. In vivo έχουν την τάση να διηθούν τους γύρω ιστούς και να μεθίστανται σε απομακρυσμένες θέσεις, ενώ in vitro εμφανίζουν απώλεια του φαινομένου της αναστολής του πολλαπλασιασμού μετά από επαφή, [Cooper Geoffrey, 2007].
- 3)-** Ο μεταβολισμός των καρκινικών κυττάρων: Τα κακοήθη κύτταρα εμφανίζουν στροφή από την οξειδωτική φωσφορυλίωση στην αναερόβια γλυκόλυση, [Yeluri S., 2009].
- 4)-** Η αντιγονική δομή των καρκινικών κυττάρων: Τα κακοήθη κύτταρα αναπτύσσουν νέα επιφανειακά αντιγόνα όπως το καρκινοεμβρυακό αντιγόνο, εμφανίζουν αλλοιώσεις στην ολιγοσακχαριδική δομή του γλυκοκάλυκα οι οποίες αναγνωρίζονται ως μεταβολές στη δέσμευση ορισμένων λεκτινών και παρουσιάζουν αλλοιώσεις στα μόρια προσκόλλησης των κυτταρικών μεμβρανών (καντερίνες, ιντεγκρίνες) οι οποίες οδηγούν σε ελάττωση της συνοχής και αύξηση της κινητικότητας των καρκινικών κυττάρων, [Berx Geert, 2009].
- 5)-** Η γενετική δομή των καρκινικών κυττάρων: Τα κακοήθη κύτταρα εμφανίζουν πολύ συχνά ανευπλοειδισμό ή πολυπλοειδισμό, [Duensing A., 2010], ενώ άλλοτε οι γενετικές αλλοιώσεις είναι μη ειδικές και αφορούν μια συγκεκριμένη πάθηση. Στη τελευταία αυτή περίπτωση ανήκει η χρόνια μυελογενής λευχαιμία η οποία σχετίζεται με το χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας.
- 6)-** Ο κυτταρικός κύκλος: Οι χρόνοι του κυτταρικού κύκλου εμφανίζουν διαφορές στις διάφορες μορφές καρκίνου, αν και οι περισσότερες παρουσιάζουν βράχυνση της φάσης G1, διαταραχή η οποία αντικατοπτρίζεται ως έντονη μιτωτική δραστηριότητα, [Hanahan D., 2000].
- 7)-** Η εκκριτική δράση των καρκινικών κυττάρων: Μερικά νεοπλάσματα διατηρούν την ικανότητα να συνθέτουν ορμόνες ή ένζυμα του ιστού από τον οποίο προέρχονται όπως το καρκίνωμα των νησιδίων του παγκρέατος το οποίο έχει τη δυνατότητα να παράγει ινσουλίνη. Άλλα νεοπλάσματα μπορεί να παράγουν ουσίες ξένες προς τους ιστούς από τους οποίους προέρχονται όπως τα αδιαφοροποίητα καρκινώματα του πνεύμονα τα οποία παράγουν επινεφριδιοφλοϊτρόπο ορμόνη ή ακόμα και πρωτεϊνικές

ουσίες οι οποίες παράγονται φυσιολογικά κατά την εμβρυϊκή ζωή όπως το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο και η α-εμβρυϊκή σφαιρίνη, [Yeung S.C., 2011].

### 3.4 ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Καρκινογένεση είναι η διαδικασία μετατροπής ενός κυττάρου ή ενός πληθυσμού κυττάρων από φυσιολογικά σε κακοήγη. Το πρώτο βήμα της καρκινογένεσης είναι η εκκίνηση (initiation), [Nowell P.C., 1986]. Ο εκκινητής είναι ένας μεταλλαξιογόνος παράγοντας που προκαλεί ριζικές αλλοιώσεις στη δομή του γενετικού υλικού του κυττάρου. Τέτοιοι παράγοντες είναι: **α)**- τα χημικά καρκινογόνα όπως είναι οι αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες, οι αρωματικές αμίνες, τα αρωματικά αζωχρώματα, οι νιτροζαμίνες, η αφλατοξίνη, οι ανόργανες καρκινογόνες ουσίες, οι αλκυλιούντες παράγοντες, **β)**- οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες όπως η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ακτίνες X, γ) ή η σωματιδιακή ακτινοβολία (σωμάτια α, β, πρωτόνια, νετρόνια) και **γ)**- οι DNA και οι RNA ογκογόνοι ιοί όπως ο HTLV-1, ο ιός του έρπητα, ο HPV, ο ιός της ηπατίτιδας Β, ο κυτταρομεγαλοϊός και ο ιός Epstein Barr αλλά και ορισμένα βακτήρια όπως το *Helicobacter Pylori*, [Colditz G.A., 2006]. Η προαγωγή (promotion) αποτελεί το δεύτερο βήμα της καρκινογένεσης και εξαρτάται από την παρουσία ουσιών οι οποίες δεν είναι αρκετές από μόνες τους να προκαλέσουν καρκίνο και ονομάζονται προωθητές, [Cooper Geoffrey, 2007]. Οι προωθητές δεν μεταβάλλουν την αλληλουχία του DNA αλλά προάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προκαλούν καρκίνο μόνο μετά την έκθεση του κυττάρου σε κάποιον εκκινητή. Οι ορμόνες και ιδιαίτερα τα οιστρογόνα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο ως προωθητές σε κάποιες μορφές καρκίνου όπως είναι ο καρκίνος του μαστού, [Russo J., 2006]. Το επόμενο βήμα στην πολυσταδιακή διαδικασία της καρκινογένεσης είναι η κλωνική επέκταση, δηλαδή ο πολλαπλασιασμός του εξαλλαγέντος κυττάρου με αποτέλεσμα τη δημιουργία της αρχικής νεοπλασματικής μάζας, [Fialkow Philip, 1979]. Η εξέλιξη (progression) αποτελεί το επόμενο στάδιο της καρκινογένεσης και περιλαμβάνει μια χρόνια διαδικασία επικράτησης του ισχυρότερου κλώνου, μετά από την αλληλεπίδραση με τις αμυντικές δυνάμεις του οργανισμού, [Cooper Geoffrey, 2007]. Η εξέλιξη φαίνεται ότι οφείλεται σε πολλαπλές, τυχαίες, ανεξάρτητες μεταλλάξεις που προκαλούνται στα νεοπλασματικά κύτταρα με αποτέλεσμα τη δημιουργία νεοπλασματικών υποκλώνων με διαφορετικούς φαινοτυπικούς χαρακτήρες, οπότε τελικά προκύπτει ένας πληθυσμός κυττάρων που αποτελείται από την επικρατέστερη κυτταρική σειρά. Βέβαια, η ανάπτυξη του καρκίνου μπορεί να επιταχυνθεί και από βλάβες του ίδιου του κυττάρου όπως είναι η ελαττωμένη επιδιόρθωση, αντιγραφή και ο γενετικός ανασυνδυασμός του DNA, [Weinberg Robert Allan, 2007]. Τέλος, η επέκταση του όγκου περιλαμβάνει τη διήθηση των παρακείμενων ιστών και οργάνων, την είσοδο των καρκινικών κυττάρων στα αγγεία και τη μετάσταση σε απομακρυσμένα όργανα, [Mendelsohn John, 2001]. Η διήθηση των παρακείμενων ιστών και οργάνων οφείλεται στην έκφραση ειδικών μορίων προσκόλλησης σε βασικές μεμβράνες αλλά και στην έκκριση ειδικών ενζύμων για τη διάσπαση των βασικών μεμβρανών. Η αγγειογένεση είναι απαραίτητη για την τοπική επέκταση του όγκου, [Folkman J., 2002] και επιτελείται μέσω της επίδρασης αυξητικών παραγόντων όπως είναι ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας, ο ινοβλαστικός αυξητικός

παράγοντας και ο αιμοπεταλιακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας, οι οποίοι εκκρίνονται είτε από τον ίδιο τον όγκο, [Sporn Michael B., 1985], είτε από διάφορα μαστοκύτταρα και μακροφάγα που τον διηθούν, είτε από το εξωκυττάριο στρώμα. Πιο συγκεκριμένα, υπό την επίδραση αυξητικών παραγόντων τα γειτονικά αγγεία διατείνονται, ενώ τα κύτταρα του ενδοθηλίου τους μεταναστεύουν προς το αγγειογενετικό ερέθισμα. Η μετακίνηση διευκολύνεται τόσο από την καταστροφή της βασικής μεμβράνης όσο και από τη λύση του γειτονικού στρώματος από πρωτεολυτικά ένζυμα, που παράγονται από τους ινοβλάστες, [Nesnow S., et al, "Chemical Carcinogens. A Review and Analysis of the Literature of Selected Chemicals and the Establishment of the Gene-Tox Carcinogen Data Base", 1987].



**Εικόνα 3.1 Παράγοντες Πρόκλησης Βλάβης στο DNA, που Οδηγούν σε Μεταλλάξεις.**

Ακολουθεί πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων και δημιουργία νέων αγγείων. Η είσοδος των νεοπλασματικών κυττάρων στα αιμοφόρα αγγεία και τα λεμφαγγεία αποτελεί σημαντικό στάδιο στην επέκταση του νεοπλάσματος και οδηγεί στην εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων, [Fiddler I.J., 2002]. Μετά την είσοδό τους στα αγγεία, τα νεοπλασματικά κύτταρα που θα διαφύγουν τους μηχανισμούς άμυνας προσκολλώνται στον ενδοθήλιο και εξαγγειώνονται. Στη θέση εξαγγείωσης δημιουργούνται οι δευτεροπαθείς εστίες του όγκου. Η δημιουργία μεταστάσεων προϋποθέτει την έκφραση συμπληρωματικών μορίων προσκόλλησης με το όργανο-ξενιστή, την αγγειογένεση και την αύξηση των καρκινικών κυττάρων στη θέση μετάστασης, [Folkman J., 2002].

### **3.5 ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗΣ**

Η καρκινογένεση είναι το αποτέλεσμα συσσώρευσης αλλοιώσεων στο γενετικό υλικό του κυττάρου, οι οποίες μπορεί να είναι κληρονομικές ή επίκτητες και προκαλούν νεοπλασματική νόσο μόνο εφόσον καταλύσουν την ικανότητα του φυσιολογικού κυττάρου

να διατηρεί τη γενετική του σταθερότητα. Η κατάλυση της ικανότητας αυτής επέρχεται όταν οι μεταλλάξεις αφορούν γονίδια που σχετίζονται με την μετάδοση σημάτων που ελέγχουν την κυτταρική αύξηση και την κυτταρική επιβίωση. Τέτοια γονίδια είναι τα **α)**-ογκογονίδια, **β)**- τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, **γ)**- τα γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση και **δ)**- τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA, [Vogelstein Bert, 2004]. Τα ογκογονίδια προέρχονται από μεταλλάξεις των πρωτο-ογκογονιδίων, τα οποία αποτελούν ρυθμιστικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταγωγείς – σήματος οι οποίες προάγουν την αύξηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, [Cooper G.M., "Oncogenes", 1995] και [Cooper G.M., et al, "The Cell, A Molecular Approach", 2007]. Τα ογκογονίδια εκφράζονται συνήθως σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τα πρωτο-ογκογονίδια, με αποτέλεσμα την προαγωγή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την ανάπτυξη νεοπλασμάτων. Βέβαια, εκτός από τις μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση, τα ογκογονίδια μπορεί να κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες διαφέρουν δομικά και λειτουργικά, από τις φυσιολογικές ομόλογές τους. Τα πρωτεϊνικά παράγωγα των ογκογονιδίων ανήκουν στις εξής κατηγορίες, [Παταριάς Θ.Α., et al, "Εισαγωγή στη Βιολογία", 1996 και "Θέματα Βιοχημείας Γενετικής του Ανθρώπου", Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 1983]:

**1)**- Αυξητικοί παράγοντες: στην περίπτωση αυτή η ογκογόνος δράση των ογκογονιδίων ασκείται μέσω υπερέκφρασης των αυξητικών παραγόντων με αποτέλεσμα την αυτοκρινή διέγερση των κυττάρων που παράγουν τον αυξητικό παράγοντα, η οποία οδηγεί σε ανώμαλο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και συμβάλει στην ανάπτυξη μιας μεγάλης ποικιλίας νεοπλασμάτων, [Aaronsons S.A., 1991]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η υπερέκφραση του γονιδίου c-ras, [Sistonen L., 1986], η οποία ενισχύει την έκκριση του αυξητικού παράγοντα TGF- $\alpha$  (transforming growth factor- $\alpha$ ). Ο παράγοντας αυτός επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω σύνδεσης με τον υποδοχέα EGFR (epidermal growth factor receptor).

**2)**- Υποδοχείς αυξητικών παραγόντων και άλλες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες: Οι υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων έχουν δράση τυροσινικής κινάσης και μετατρέπονται σε ογκοπρωτεΐνες εξαιτίας των μεταβολών στις αμινοτελικές τους περιοχές οι οποίες φυσιολογικά προσδένονται στους αυξητικούς παράγοντες, [Blume – Jensen P., 2001]. Για παράδειγμα, το πρωτο-ογκογονίδιο για τον υποδοχέα του Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) μετατρέπεται σε ογκογονίδιο, μετά από μια χρωμοσωμική μετάθεση, κατά την οποία το αμινοτελικό άκρο του PDGFR αντικαθίσταται από την αμινοτελική αλληλουχία του μεταγραφικού παράγοντα Tel. Οι αμινοτελικές αλληλουχίες της χιμαιρικής πρωτεΐνης Tel/PDGFR έχουν την ικανότητα διμερισμού απουσία αυξητικού παράγοντα με αποτέλεσμα τη συνεχή ενεργότητα της ενδοκυττάριας περιοχής με δράση κινάσης και την συνεχή παραγωγή ενός σήματος πολλαπλασιασμού από την ογκοπρωτεΐνη. Βέβαια, η ογκογόνος δράση των ογκογονιδίων μπορεί να ασκείται και μέσω υπερέκφρασης των υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η υπερέκφραση των υποδοχέων EGFR1 και 2 για τον EGF, και του υποδοχέα VEGFR2/KKDR για τον VEGF, [Perona R., 2006].

**3)-** Πρωτεΐνες της οδού μετάδοσης μηνύματος: Οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν συστατικά του G-protein-coupled signaling pathway, του NF-kB pathway και των μονοπατιών Hedgehog, Wnt και Notch, [Taipale J., 2001] και [Vogelstein Bert, 2004]. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν: **α)-** οι πρωτεΐνες G όπως η πρωτεΐνη ras η οποία είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών της οικογένειας Raf, [Roskoski R., 2010], **β)-** οι ενεργοποιητές των γουανουσινο-5'-τριφωσφορικών όπως η gap, **γ)-** οι κυτταρο-πλασματικές κινάσες συνδεδεμένες με την κυτταρική μεμβράνη όπως οι πρωτεΐνες scr, yes και fgr, [Danielian S., 1993] και **δ)-** οι κυτταροπλασματικές κινάσες μη συνδεδεμένες με την κυτταρική μεμβράνη όπως η πρωτεΐνη raf η οποία είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της ERK MAP κινάσης με τελικό αποτέλεσμα την μεταβολή της γονιδιακής έκφρασης του κυττάρου, [Niault T.S., 2010] και οι πρωτεΐνες mos, rim-1 και fps, [Nawijn M.C., 2011] και [Singh Balraj, 1997].

**4)-** Πυρηνικές πρωτεΐνες υποδοχείς μηνύματος: στην περίπτωση αυτή η ογκογόνος δράση των ογκογονιδίων ασκείται μέσω υπερέκφρασης αυτών των πρωτεϊνών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η υπερέκφραση της πρωτεΐνης myc, η οποία επάγει τη μεταγραφή γονιδίων της μίτωσης τα οποία οδηγούν το κύτταρο στη φάση G1, με αποτέλεσμα τη συνεχή αποστολή μηνυμάτων εισόδου στον κυτταρικό κύκλο, [Albiñan A., 2010].

**5)-** Οι κυκλίνες και οι κινάσες εξαρτώμενες από τις κυκλίνες : στην περίπτωση αυτή η ογκογόνος δράση των ογκογονιδίων ασκείται μέσω υπερέκφρασης ή διαφοροποιημένης έκφρασης των πρωτεϊνών αυτών με αποτέλεσμα την απορύθμιση του κυτταρικού κύκλου και τη συνεχή κυτταρική διαίρεση, [Laird A.D., 1997]. Για παράδειγμα η υπερέκφραση της κυκλίνης D1 οδηγεί στην είσοδο του κυττάρου στον κυτταρικό κύκλο.

**6)-** Η τελομεράση : στην περίπτωση αυτή ενεργοποιείται η σύνθεση τελομεράσης με αποτέλεσμα την αναστολή της απόπτωσης των κυττάρων που φέρουν τη μετάλλαξη, [Donate Louis E., 2011].

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια δρουν φυσιολογικά εμποδίζοντας της κυτταρική διαίρεση και επομένως την ανάπτυξη νεοπλασμάτων, [Pelengaris Stella, 2006]. Σε πολλές περιπτώσεις, τα γονίδια αυτά μπορεί να χαθούν ή να απενεργοποιηθούν με αποτέλεσμα να λείπει η αρνητική ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στον συνεχή πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Επομένως, η ογκογόνος δράση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων οφείλεται στην απώλεια σημαντικών πρωτεϊνών οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αναστολή ή τη ρύθμιση της εισόδου του κυττάρου στον κυτταρικό κύκλο, [Varmus Harold Elliot, 1993]. Αυτά τα πρωτεϊνικά παράγωγα ανήκουν στις εξής κατηγορίες:

**1)-** Παράγοντες αναστολές του πολλαπλασιασμού: οι παράγοντες αυτοί συνδέονται με υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης και εκπέμπουν μηνύματα ανασταλτικά του πολλαπλασιασμού. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί το γονίδιο BRCA-1, μεταλλάξεις του οποίου οδηγούν σε ανάπτυξη καρκίνου του μαστού, [Cornelisse C.J., 1996].

**2)-** Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης: οι πρωτεΐνες αυτές είναι υπεύθυνες για τη σύνδεση των κυττάρων μεταξύ τους και με την εξωκυττάρια ουσία. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το γονίδιο DCC το οποίο εντοπίζεται στον καρκίνο του παχέος εντέρου, του ενδομητρίου, του προστάτη και του παγκρέατος. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη η οποία είναι υπεύθυνη για την προσκόλληση των κυττάρων στην εξωκυττάρια ουσία, η αλλοίωση της οποίας διευκολύνει τον αποχωρισμό των κυττάρων από την πρωτοπαθή νεοπλασματική μάζα με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η διήθηση και η μεταστατική διασπορά, [Mehlen P., 2004].

**3)-** Μόρια της οδού μετάδοσης μηνύματος: οι πρωτεΐνες αυτές ρυθμίζουν αρνητικά τη μετάδοση μηνυμάτων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η πρωτεΐνη NF-1, μια GAP πρωτεΐνη η οποία ασκεί ανασταλτική δράση στο ογκογονίδιο *ras*. Η απώλεια της NF-1 συνοδεύεται από ενεργοποίηση της πρωτεΐνης *ras* η οποία τίθεται σε κατάσταση συνεχούς διέγερσης με αποτέλεσμα την εμφάνιση διαφόρων τύπων καρκίνων όπως είναι η οξεία μυελογενής λευχαιμία, [Mullally Ann, 2010].

**4)-** Μόρια που ρυθμίζουν τη μεταγραφή και τον κυτταρικό κύκλο: τα μόρια αυτά ρυθμίζουν αρνητικά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα πιο γνωστά μόρια της ομάδας αυτής είναι η πρωτεΐνες p53, INK4 και Rb. Η απώλεια της πρωτεΐνης Rb, η οποία ρυθμίζει την είσοδο του κυττάρου στη φάση S, έχει ως αποτέλεσμα την τυφλή είσοδο του κυττάρου στη φάση S, [Cooper Geoffrey, 2007], ενώ η απώλεια της πρωτεΐνης p53, η οποία σταματά τον κυτταρικό κύκλο πριν την είσοδο στη φάση S σε περίπτωση βλάβης του DNA (προάγοντας την σύνθεση της πρωτεΐνης p21 η οποία αναστέλλει τα σύμπλοκα Cdk/cyclin) και προάγει την απόπτωση του κυττάρου που φέρει τη βλάβη, έχει ως αποτέλεσμα την διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ κυτταρικής επιβίωσης και κυτταρικού θανάτου, [Sebastian S., 2010]. Το γονίδιο INK4 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p16, η οποία αναστέλλει την ενεργότητα του συμπλόκου Cdk4,6/cyclin D που είναι υπεύθυνο για την μετάβαση στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου. Επομένως, οι μεταλλάξεις του γονιδίου INK4 οδηγούν σε αύξηση της ενεργότητας του συμπλόκου Cdk4,6/cyclin D με αποτέλεσμα την απρόσκοπτη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης Rb και τον απρόσκοπτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, [Cánepa E.T., 2007].

Τα γονίδια τα οποία σχετίζονται με την απόπτωση των κυττάρων περιλαμβάνουν αποπτωτικά γονίδια τα προϊόντα των οποίων προάγουν την απόπτωση και τα αντιαποπτωτικά γονίδια τα προϊόντα των οποίων αναστέλλουν την απόπτωση, [Farmer Peter B., 1985]. Οι μεταλλάξεις των γονιδίων αυτών οι οποίες οδηγούν στην εμφάνιση καρκίνου αφορούν είτε την αλλοίωση των πρωτεϊνικών προϊόντων των αποπτωτικών γονιδίων είτε την υπερέκφραση των αντιαποπτωτικών γονιδίων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα πρωτεϊνών οι οποίες ανήκουν στις κατηγορίες αυτές είναι η πρωτεΐνη Bax, η οποία προάγει τον κυτταρικό θάνατο και οι πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl-2 οι οποίες τον αναστέλλουν, [Cooper Geoffrey, 2007].

Τα γονίδια τα πρωτεϊνικά προϊόντα των οποίων σχετίζονται με την επιδιόρθωση του DNA μπορεί να υποστούν βλάβη με αποτέλεσμα την ανεπαρκή επιδιόρθωση του DNA και την εμφάνιση μεταλλάξεων οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν στην εμφάνιση καρκίνου.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα γονίδια XPA, [Camenisch U., 2008], ERCC4, POLH, τα οποία οδηγούν σε ελαττωμένη επιδιόρθωση και στην εκδήλωση μελαγχρωματικού ξηροδέρματος, νόσο που συνδέεται με αυξημένη επίπτωση καρκίνου του δέρματος (Gratchev A., 2003). Επίσης, η υπερέκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την επιδιόρθωση του DNA είναι υπεύθυνη για την αντοχή των καρκινικών κυττάρων στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία, [Kirschner K., 2010].

### **3.6 Η ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ**

Ο κλασικός τρίποδας αντιμετώπισης των νεοπλασιών αποτελείται από την **Χειρουργική Αφαίρεση**, την **Ακτινοβολία** και τη **Χημειοθεραπεία**. Η χημειοθεραπεία έχει ως κλινικό στόχο την μακρά πλήρη ύφεση της νόσου και εφαρμόζεται είτε ως αγωγή πρώτης εκλογής, είτε προεγχειρητικά για τη σμίκρυνση του όγκου που πρόκειται να αφαιρεθεί, είτε συμπληρωματικά προς τις άλλες θεραπείες, ή τέλος παρηγορητικά. Η καταστροφή των καρκινικών κυττάρων από τα αντικαρκινικά φάρμακα ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης, που σημαίνει ότι για δεδομένη δόση φαρμάκου καταστρέφεται σταθερό ποσοστό κυττάρων, [Kadam S.S., 2008]. Η τοξικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων είναι συνάρτηση της χορηγούμενης δόσης, των συγκεντρώσεων που επιτυγχάνονται στο κύτταρο-στόχο και της ευαισθησίας του κυττάρου αυτού. Η τοξικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων αναχαιτίζεται από την ανάπτυξη ανθεκτικότητας από το αντικαρκινικό κύτταρο. Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας μπορεί να γίνει με τους εξής μηχανισμούς, [Gottesman Michael M., et al, "Multidrug Resistance in Cancer", Nature Reviews Cancer, 2002] και [Fuertes M.A., et al, 2003]:

- 1-** Με μεταβολή της διαβατότητας της κυτταρικής μεμβράνης προς το φάρμακο, με αποτέλεσμα τη μειωμένη πρόσληψη του φαρμάκου.
- 2-** Με αύξηση της δραστηριότητας των αντλιών αποβολής του φαρμάκου. Ειδική αναφορά γίνεται στην ανθεκτικότητα σε πολλαπλά φάρμακα (Multiple drug resistance) που οφείλεται σε μια μη ειδική μεμβρανική αντλία αποβολής, μια p-γλυκοπρωτεΐνη, τη MDR πρωτεΐνη, της οποίας το γονίδιο υπερεκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα, [Gottesman Michael M., "Mechanisms of Cancer Drug Resistance", Annual Review of Medicine, 2002]. Η αντλία αυτή φαίνεται ότι μπορεί να αναστέλλεται με αναστολείς των διαύλων ασβεστίου και νατρίου.
- 3-** Με μείωση της ενεργοποίησης των φαρμάκων.
- 4-** Με αύξηση της δραστηριότητας των μεταβολικών οδών που προσβάλλονται από το φάρμακο.
- 5-** Με ανάπτυξη παρακαμπτήριων μεταβολικών οδών.
- 6-** Με αύξηση της ειδικότητας των υποδοχέων.
- 7-** Με επιδιόρθωση αλλοιώσεων του DNA.
- 8-** Με ανάπτυξη ανταγωνιστών του φαρμάκου.
- 9-** Με ανάπτυξη αναστολέων του φαρμάκου.
- 10-** Με απενεργοποίηση του φαρμάκου.



Τα αντικαρκινικά φάρμακα πρέπει να αντιμετωπίσουν την καρκινική μάζα, το μέγεθος της οποίας εξαρτάται από το ποσοστό των κυττάρων που διαιρούνται, το ρυθμό των κυτταρικών απωλειών και το χρόνο του κυτταρικού κύκλου. Ένα κύτταρο μπορεί είτε να βρίσκεται σε ενεργή μεταβολική κατάσταση χωρίς να βρίσκεται στη διαδικασία πολλαπλασιασμού ή θανάτου ή μπορεί να βρίσκεται στη διαδικασία πολλαπλασιασμού ή σε διαδικασία θανάτου. Όμως όλα τα κύτταρα δεν βρίσκονται σε συγχρονισμό. Η έλλειψη συγχρονισμού και η αναγκαιότητα χρόνου για την αποκατάσταση της τοξικότητας (παρενέργειες) των αντικαρκινικών φαρμάκων υποχρεώνει την εφαρμογή της χημειοθεραπείας σε "κύκλους", συνήθως κάθε 22-28 ημέρες, [Skeel R.T., 2007]. Μια άλλη συνήθης πρακτική είναι η εφαρμογή αγωγής με συνδυασμό φαρμάκων, σύμφωνα με συγκεκριμένα κλινικά πρωτόκολλα. Με το συνδυασμό φαρμάκων επιδιώκεται η μεγαλύτερη καταστροφή καρκινικών κυττάρων με καλλίτερη ανοχή της θεραπείας, η εξουδετέρωση καρκινικών κυττάρων που ήταν από την αρχή ανθεκτικά προς το φάρμακο του συνδυασμού και η πρόληψη της ανάπτυξης ανθεκτικών καρκινικών κυττάρων (επικτητη ανθεκτικότητα). Βέβαια, ο σχεδιασμός και η εφαρμογή του συνδυασμού αντικαρκινικών φαρμάκων διέπεται από συγκεκριμένες αρχές, [Σιταρά Νικολάου, 1998]:

- 1-** Απαρτίζεται από φάρμακα που από μόνα τους είναι δραστικά για το συγκεκριμένο κυτταρικό πληθυσμό.
- 2-** Τα φάρμακα του συνδυασμού διαθέτουν διαφορετικές τοξικότητες.
- 3-** Τα φάρμακα του συνδυασμού χορηγούνται με τον καλύτερο για το καθένα τρόπο χορήγησης (δόση και οδός).
- 4-** Με το συνδυασμό αντικαρκινικών φαρμάκων γίνεται προσπάθεια σμίκρυνσης των μεσοδιαστημάτων θεραπείας.

Κλασικός συνδυασμός που εφαρμόζεται σε λέμφωμα Hodgkin's είναι το σχήμα MOPP (Πουστίνη, Βινκριστίνη, Προκαρβαζίνη και Πρεδνιζόνη). Η εφαρμογή του συνδυασμού προκαλεί ύφεση περίπου 80%, τη διπλάσια από την εφαρμογή καθενός φαρμάκου ξεχωριστά.

### **3.7 ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ**

Οι παρενέργειες των αντικαρκινικών φαρμάκων είναι πολλές και μπορούν να ταξινομηθούν σε ομάδες. Στην πρώτη ομάδα αναφέρονται παρενέργειες που οφείλονται στο θάνατο των φυσιολογικών κυττάρων που διαιρούνται, δηλαδή στην κυτταροτοξικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων, [Chu E., et al, 2007]. Στην ομάδα των παρενεργειών αυτών αναφέρεται η μυελοκαταστολή, η οποία προκαλείται από όλα σχεδόν τα αντικαρκινικά φάρμακα με πιθανή εξαίρεση τη μπλεομυκίνη, την ασπαραγινάση, τη στρεπτοζοσίνη και ίσως και τη βινκριστίνη. Η καταστολή του μυελού έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση αναιμίας, αιμορραγιών και ανοσοκαταστολής. Επίσης, η κυτταροτοξική δράση των αντικαρκινικών φαρμάκων μπορεί να προκαλέσει βλάβες των επιθηλίων. Μπορεί λοιπόν να προκληθεί στοματίτιδα (για παράδειγμα από τη μεθοτρεξάτη, την ετοποσίδη και την αραβιβοσίδη C), διάρροια και έλκη του γαστρεντερικού βλεννογόνου (για παράδειγμα από τη μεθοτρεξάτη, την ακτινομυκίνη D και τα κορτικοστεροειδή), αιμορραγική κυστίτιδα (για παράδειγμα από την κυκλοφωσφαμίδη και την ιφοσφαμίδη) και αλωπεκία (για παράδειγμα

από την δοξορουμπικίνη), η οποία είναι παροδική. Στην κυτταροτοξικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων οφείλεται και η στειρότητα την οποία προκαλούν οι αλκυλιούντες παράγοντες αναστέλλοντας την σπερματογένεση, αλλά και η τερατογένεση η οποία εμφανίζεται, όταν τα αντικαρκινικά φάρμακα χορηγούνται στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Η δεύτερη ομάδα παρενεργειών περιλαμβάνει αυτές που οφείλονται σε βλάβες του DNA που προκαλούν τα ίδια τα αντικαρκινικά φάρμακα, [Fischer D.S., 2003] και [Mailman R.B., and Lewis M.H., "Neurotoxicants and Central Catecholamine Systems", 1987]. Οι μεταλλάξεις αυτές μπορεί να οδηγήσουν σε κληρονομούμενες ανωμαλίες, εφόσον συμβούν στα σπερματοζώαρια ή τα ωάρια, ή σε καρκινογένεση εφόσον συμβούν σε σωματικά κύτταρα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αντικαρκινικών φαρμάκων με τέτοια δράση είναι οι αλκυλιούντες παράγοντες. Στην τρίτη ομάδα παρενεργειών από τα αντικαρκινικά φάρμακα αναφέρονται είτε γενικές (μη ειδικές) παρενέργειες είτε ειδικές για συγκεκριμένα φάρμακα παρενέργειες. Στις γενικές παρενέργειες αναφέρονται η ανορεξία, η ναυτία και ο έμετος που προκαλούνται από διέγερση της χημειοαισθητικής ζώνης του εμέτου από τη σισπλατίνη, τη μεχλωραιθαμίνη, την ακτινομυκίνη D, [Μπαρμπουνάκη-Κωνσταντάκου Ε., 2004]. Μη ειδική παρενέργεια είναι και οι ιστικές καταστροφές που προκαλεί το αντικαρκινικό φάρμακο όταν εκχυθεί εκτός της φλέβας χορήγησης. Στις ειδικές για συγκεκριμένα φάρμακα παρενέργειες αναφέρονται η ηπατοτοξικότητα που προκαλεί η μεθοτρεξάτη, η καρδιοτοξικότητα που προκαλεί η αδριαμυκίνη, η νεφροτοξικότητα που προκαλεί η σισπλατίνη, η πνευμονοτοξικότητα που προκαλούν η μεθοτρεξάτη και η μπλεομυκίνη, η νευροτοξικότητα που προκαλεί η βινκριστίνη και η φωτοευαισθησία που προκαλεί η 5-φθοριοουρακίλη, [Φούντζηλας Γ., 2006]. Στις παρενέργειες των αντικαρκινικών φαρμάκων θα πρέπει να αναφερθεί και το σύνδρομο **λύσης όγκου**, [Skeel R.T., 2007]. Το σύνδρομο αυτό παρατηρείται σε ασθενείς με ταχέως αναπτυσσόμενους όγκους οι οποίοι είναι ευαίσθητοι στη χρησιμοποιούμενη χημειοθεραπεία και σχετίζεται τυπικά με οξείες λευχαιμίες και λεμφώματα. Οφείλεται στον ταχύ θάνατο μεγάλου αριθμού καρκινικών κυττάρων και την απελευθέρωση ενδοκυττάρων ιόντων και παραπροϊόντων του μεταβολισμού στη συστηματική κυκλοφορία κατά τη χημειοθεραπεία. Το σύνδρομο λύσης όγκου εκδηλώνεται με υπερουριχαιμία, υπερφωσφαταιμία, υπερκαλιαιμία, υποασβεστιαίμια και οξεία νεφρική ανεπάρκεια και είναι απειλητικό για τη ζωή του ασθενούς.

### **3.8 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ**

Γενικά, ως κυτταροτοξική αναφέρεται μια ουσία η οποία εμφανίζει τοξικότητα σε καρκινικά κύτταρα *in vitro*, ως αντινεοπλασματική αναφέρεται μια ουσία η οποία εμφανίζει τοξικότητα σε καρκινικά κύτταρα *in vivo* και ως αντικαρκινική αναφέρεται μια ουσία η οποία παρουσιάζει τοξικότητα σε κλινικές δοκιμές, [Σιπαρά Νικολάου, 1998]. Τα αντικαρκινικά φάρμακα αναστέλλουν το μηχανισμό του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Για το λόγο αυτό, τα κύτταρα τα οποία βρίσκονται στη φάση G<sub>0</sub> του κυτταρικού κύκλου επηρεάζονται ελάχιστα. Τα αντικαρκινικά φάρμακα μπορούν να ταξινομηθούν στις εξής μεγάλες κατηγορίες, [Chu E., 2007]:

**A-** Τα κύκλου-ειδικά φάρμακα (cycle-specific, phase-non-specific drugs), τα οποία είναι κυτταροτοξικά καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, σε καρκίνους με υψηλό κλάσμα αύξησης.

**B-** Τα φάση ειδικά φάρμακα (phase-specific drugs), τα οποία είναι δραστικά σε μια μόνο φάση του κυτταρικού κύκλου.

**Γ-** Τα κύκλου μη ειδικά φάρμακα (cycle-non-specific drugs), τα οποία δρουν σε συμπαγείς όγκους με χαμηλό κλάσμα αύξησης.

Ανάλογα με τον πιθανό μηχανισμό δράσης τους μέσα στο κύτταρο, τα αντικαρκινικά φάρμακα διακρίνονται στις εξής κατηγορίες :

**1- Αλκυλιωτικοί παράγοντες**

**2- Αντιμεταβολίτες**

**3- Αντινεοπλασματικά φυτικής προέλευσης**

**4- Αντιβιοτικά**

**5- Ορμόνες**

**6- Βιολογικοί τροποποιητές της βιολογικής απόκρισης**

**7- Άλλες ενώσεις**

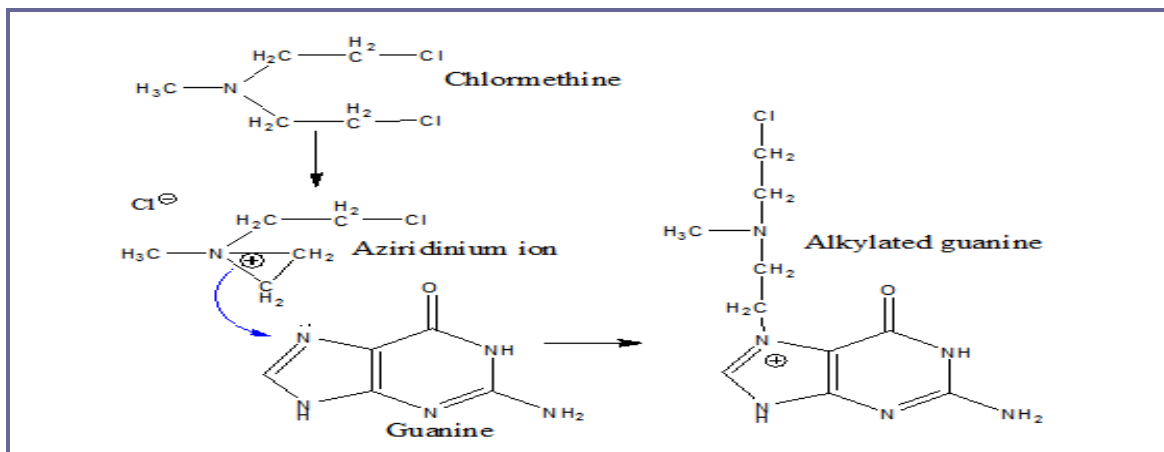
### **3.8.1 Αλκυλιωτικοί Παράγοντες**

Η χημειοθεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου ξεκίνησε τον Β΄ Παγκόσμιο Πόλεμο από τις μουστάρδες του αζώτου. Οι μουστάρδες του αζώτου αρχικά χρησιμοποιήθηκαν ως όπλα αλλά παρουσίασαν και αντιλευχαιμικές ιδιότητες χάρη στην ικανότητά τους να προκαλούν βιολογική αλκυλίωση. Τα αλκυλιωτικά αντινεοπλασματικά φάρμακα είναι ενώσεις που δρουν στο DNA, το RNA και σε ορισμένα κυτταρικά ένζυμα, [Chabner Bruce A., 2010].

Τα περισσότερα αλκυλιωτικά αντινεοπλασματικά φάρμακα σε κάποιο σημείο της δομής τους περιέχουν την ομάδα  $-CH_2CH_2Cl$  συμμετρικά δυο φορές. Τα παράγωγα αυτά είναι ισχυρά ηλεκτρονιόφιλα και παρουσιάζουν την ιδιότητα να αλκυλιώνουν υπό φυσιολογικές συνθήκες ορισμένες πυρηνόφιλες ομάδες των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών.

Πιστεύεται ότι αντιδρούν κυρίως με τη θέση N-7 της γουανίνης στη διπλή αλυσίδα του DNA σχηματίζοντας σταυροδεσμούς και με αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζουν το διαχωρισμό του DNA κατά τη μίτωση, [Kadam S.S., et al, 2008]. Η πυρηνόφιλη προσβολή γίνεται στο N-7 της γουανίνης διότι στη συζυγή της μορφή το άζωτο εμφανίζει αρνητικό φορτίο και συνεπώς η δομή αυτή είναι και πιο σταθερή.

Εναλλακτικά, μπορεί το φάρμακο να συνδέσει δυο ομάδες γουανιδίνης στην ίδια αλυσίδα, έτσι ώστε το φάρμακο να συνδέεται σαν εξόγκωμα στο πλάι της έλικας του DNA, [Avendaño Carmen, et al, 2008]. Επίσης, είναι δυνατή η λανθασμένη κωδικοποίηση εξαιτίας της αλκυλίωσης των γουανιδομάδων. Η γουανίνη συνήθως βρίσκεται στην κετονική ταυτομερή της μορφή και δημιουργεί ζεύγος με την κυτοσίνη.



Εικόνα 3.2. Ο Μηχανισμός Δράσης της Μεχλωραιθαμίνης.

Όταν όμως αλκυλιώνεται, προτιμά την ενολική ταυτομερή της μορφή που δημιουργεί ζεύγος με τη θυμίνη. Αυτού του είδους η λανθασμένη κωδικοποίηση οδηγεί τελικά σε αλλαγή της αλληλουχίας των αμινοξέων των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να προκαλεί διαταραχή της δομής και της λειτουργίας τους, [Chabner Bruce A., 2010]. Οι αλκυλιωτικές ενώσεις είναι πολύ δραστικές και αντιδρούν με κάθε καλό πυρηνόφιλο, [Κουρουνάκη Αγγελική, 2006].

Αλκυλιώνουν έτσι πρωτεΐνες και άλλα μακρομόρια εκτός από το DNA. Παρόλα αυτά, τα αλκυλιωτικά φάρμακα είναι χρήσιμα στη θεραπεία του καρκίνου επειδή τα καρκινικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται ταχύτερα από τα φυσιολογικά και έτσι η διαταραχή της λειτουργίας του DNA θα έχει πιο δραστικές επιπτώσεις στα κύτταρα αυτά, από ότι στα καρκινικά. Στην κατηγορία των ακυλιούντων παραγόντων ανήκουν :

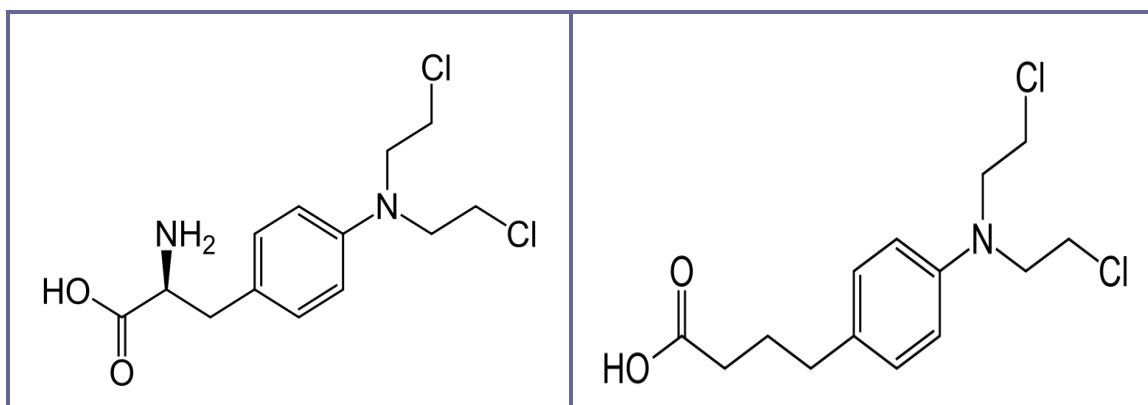
**α)- η μουστάρδα του αζώτου, μεχλωραιθαμίνη.** Η μεχλωραιθαμίνη ήταν το πρώτο αλκυλιωτικό μέσο που χρησιμοποιήθηκε (1942). Στο μόριο της μεχλωραιθαμίνης, το άτομο του αζώτου είναι ικανό να εκτοπίσει ενδομοριακά ένα ιόν χλωρίου σχηματίζοντας το ισχυρά ηλεκτρονιόφιλο ιόν του αζιριδινίου, το οποίο στη συνέχεια αλκυλιώνει το N-7 της γουανίνης. Έτσι, προκύπτει αλκυλίωση του DNA και με επανάληψη της διαδικασίας μπορεί να προκύψει σύνδεση μεταξύ των δυο αλυσίδων του DNA, [Κουρουνάκη Αγγελική, 2006].

Η μεχλωραιθαμίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της νόσου Hodgkin καθώς και σε μη-Hodgkin λεμφώματα.

**β)- Οι αρυλο-υποκατεστημένες μουστάρδες του αζώτου, όπως η μελφαλάνη και η χλωραμβουκίλη.** Η μελφαλάνη περιέχει στο μόριό της μια ομάδα L-φαινυλαλανίνης, η οποία βοηθά την είσοδο του μορίου στο κύτταρο χρησιμοποιώντας δυο μεταφορείς αμινοξέων, το νατριο-ανεξάρτητο σύστημα μεταφοράς των L-αμινοξέων και το νατριο-εξαρτώμενο σύστημα ASC για την αλανίνη, τη σερίνη και την κυστεΐνη, [Hosoya K., 2008]. Η χλωραμβουκίλη περιέχει μια ομάδα βουτυρικού οξέος η οποία επιτρέπει την κατανομή του μορίου πριν επέλθει η αλκυλίωση και επομένως την χορήγηση per os.

Επίσης ένα σημαντικό κλάσμα της χλωραμβουκίλης μετατρέπεται με β-υδροξυλίωση σε ένα πιο ενεργό προϊόν. Η μελφαλάνη χρησιμοποιείται για το πολλαπλό μυέλωμα και μετεγχειρητικά μετά από αφαίρεση καρκίνου του μαστού, ενώ η χλωραμβουκίλη για τη

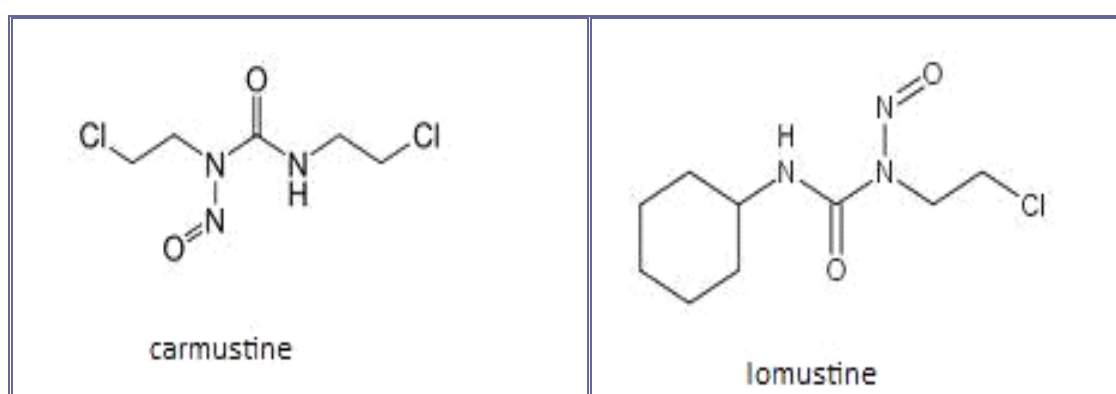
χρόνια λεμφογενή λευχαιμία, τα μη Hodgkin λεμφώματα, τη νόσο του Hodgkin, τον καρκίνο του μαστού, των ωοθηκών και το χοριοκαρκίνωμα, [Skeel R.T., 2007].



Εικόνα 3.3 Η χημική δομή της μελφαλάνης (αριστερά) και της χλωραμβουκίλης (δεξιά).

**γ)- Οι νιτροζουρίες, όπως η καρμουστίνη και η λομουστίνη.** Οι νιτροζουρίες φέρουν την κλασική αντινεοπλασματική φαρμακοφόρο ομάδα των αλκυλιωτικών (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl) μόνο μια φορά, [Fischer D.S., 2003]. Οι νιτροζουρίες δημιουργούν καρβανιόντα, τα οποία αλκυλιώνουν τα νουκλεϊκά οξέα και ισοκυανικά ιόντα, τα οποία καρβουλιώνουν τις αμινομάδες των πρωτεϊνών. Η αλκυλίωση του DNA φαίνεται να πραγματοποιείται στην O-6 ομάδα της γουανίνης.

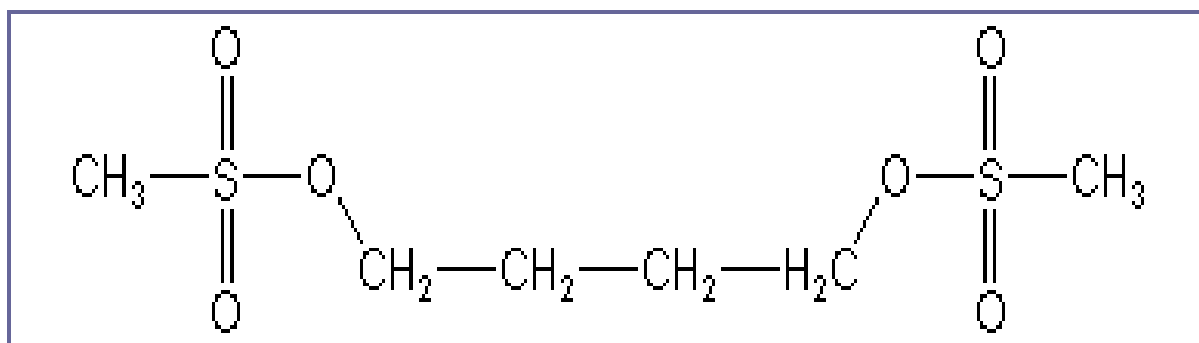
Η υψηλή λιποφιλία των νιτροζουριών επιτρέπει την εύκολη διάβασή τους από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό με αποτέλεσμα να αποτελούν φάρμακα εκλογής για καρκίνους του κεντρικού νευρικού συστήματος, [Schellens Jan H.M., 2005]. Οι νιτροζουρίες μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν και σε λεμφώματα, καρκίνο του μαστού, καρκίνο των βρόγχων και του παχέος εντέρου.



Εικόνα 3.4 Η χημική δομή της Καρμουστίνης και της Λομουστίνης.

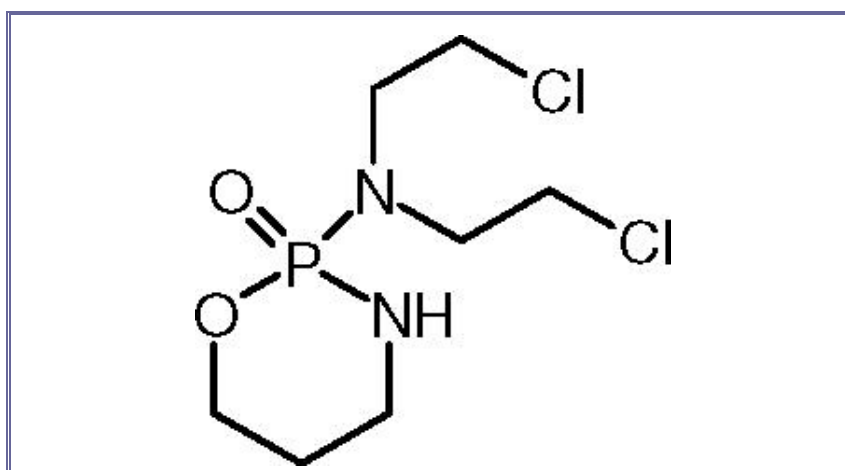
**δ)- Τα παράγωγα των μεθανοσουλφονικών εστέρων όπως είναι η βουσουλφάνη.** Τα παράγωγα των μεθανοσουλφονικών εστέρων δρουν αλκυλιώνοντας τις θειολομάδες

των πρωτεϊνών. Η δράση τους ασκείται κυρίως στα κοκκιοκύτταρα, γι' αυτό και χορηγούνται σε χρόνια μυελογενή λευχαιμία, [Kadam S.S., 2008].



Εικόνα 3.5 Η χημική δομή της Βουσουλφάνης.

**ε)- Το κυκλοφωσφαμίδιο αποτελεί προφάρμακο και δρα μόνο αφού μεταβολιστεί.** Η διάσπασή του προς το ενεργό αλκυλιωτικό ιόν γίνεται στο ήπαρ από τα μικροσωμικά ένζυμα και όχι στους ιστούς των όγκων, [Avendaño Carmen, 2008]. Η διάσπαση αυτή ακολουθεί πολλά στάδια και πιστεύεται ότι τελικά προκύπτει το ιόν αζιριδινιλίου το οποίο προκαλεί την αλκυλίωση.

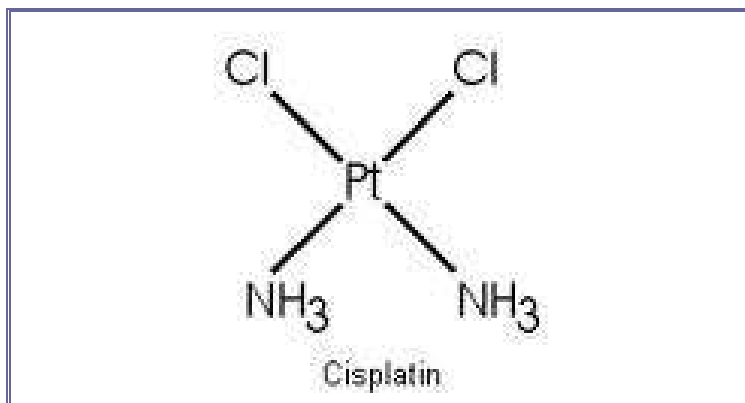


Εικόνα 3.6 Η χημική δομή της κυκλοφωσφαμίδης.

Το κυκλοφωσφαμίδιο χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά σε μη Hodgkin λεμφώματα, στη νόσο του Hodgkin και σε καρκίνους του μαστού, του ενδομητρίου και των πνευμόνων αλλά και σε σαρκώματα. Με τον ίδιο μηχανισμό δρα και η φωσφαμίδη.

**στ)- Η Σισπλατίνη (cis-Platinum) είναι ένα σύμπλοκο άλας με ένα κεντρικό άτομο Pt,** που περιβάλλεται από 2 άτομα Cl και 2 μόρια NH<sub>3</sub> σε cis- θέση. Η ανακάλυψή της ήταν τυχαία από μια έρευνα για την επίδραση ηλεκτρικού ρεύματος στην ανάπτυξη των βακτηρίων, [Peyrone Michele, (Discoverer of Cis-platin), "Üeber die Einwirkung des Ammoniaks auf Platin-chlorür", Justus Liebig's Annalen der Chemie, 55(2), 205–213, 1845] και [Rosenberg Barnett, et al, 1965].

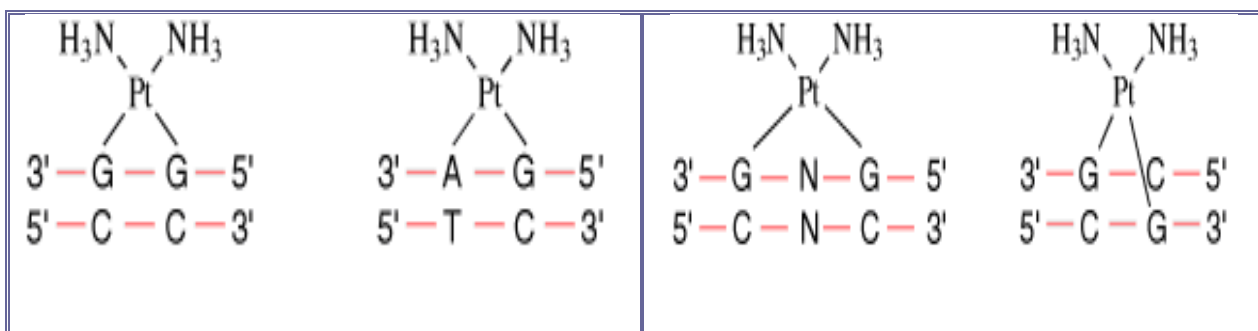
Κατά τη διάρκεια αυτών των πειραμάτων παρατηρήθηκε ότι η διαίρεση του βακτηριακού κυττάρου αναστέλλονταν, εξαιτίας ενός προϊόντος ηλεκτρόλυσης από το ηλεκτρόδιο του λευκόχρυσου. Το προϊόν αυτό ταυτοποιήθηκε ως *cis*-διαμμώνιο-διχλωρο-λευκόχρυσος (II).



**Εικόνα 3.7 Η χημική δομή της Σισπλατίνης.**

Η σισπλατίνη συνδέεται ισχυρά με το DNA σε περιοχές πλούσιες σε γουανίνη (N-7 αλκυλίωση) με τέτοιο τρόπο ώστε να συνδέεται πολλαπλώς εντός μιας αλυσίδας, [Barnes K.R., 2007].

Στο ουδέτερο χημικό σύμπλοκο της *cis*-πλατίνης (*cis*-platin), τα δύο *cis*- άτομα Cl<sup>-</sup> είναι ευκίνητα και παρουσία οργανικών αμινικών βάσεων, λόγω χαλαρής ένταξης εγκαταλείπουν εύκολα την εσωτερική σφαίρα, παρέχοντας την δυνατότητα αποκατάστασης ομοιοπολικών δεσμών, των δύο *cis*-διαθέσιμων πλέον μονάδων συγγενείας (Links, Bonds), της μορφής (1,2-N-Pt-N-) και (1,3-N-Pt-N-), σε διάφορες ενδο-κλωνικές (*interstrand*) και δια-κλωνικές (*intrastrand*) θέσεις, [Knipp M., 2009], [Mantri Y., et al, "Bifunctional Binding of Cis-Platin to DNA", 2007] και [Wozniak K., et al, 2002].

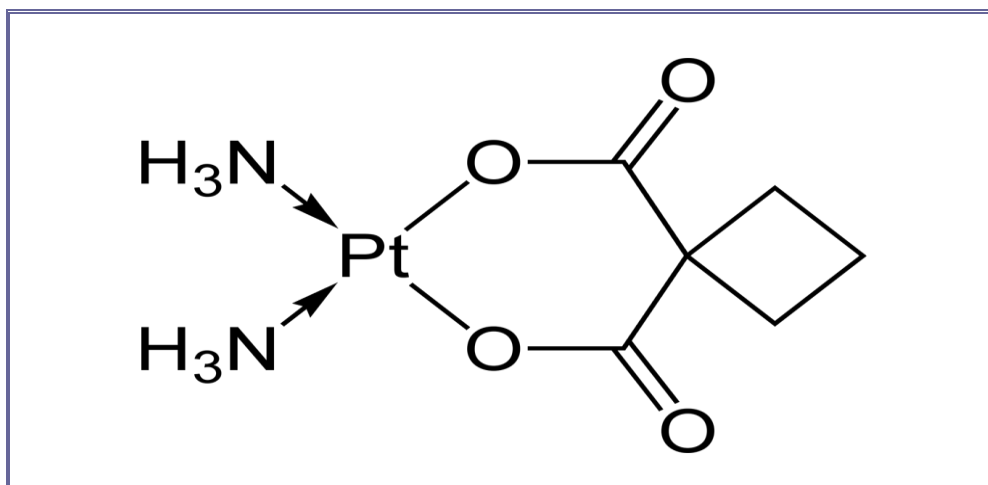


**Εικόνα 3.8 Αριστερά: Δεσμοί G-Pt-G (θέσεις: 1,2-*interstrand*), Δεσμοί A-Pt-G (θέσεις: 1,2-*interstrand*). Δεξιά: Δεσμοί G-Pt-G (θέσεις: 1,3-*interstrand*) και Δεσμοί G-Pt-G (θέσεις: 1,2-*intrastrand*).**

Η ισχυρή σύμπλεξη αποκαθίσταται μεταξύ του μεταλλικού ατόμου της πλατίνης και των τεσσάρων δομικών βάσεων (*oligomers*): Γουανίνης, Αδενίνης, Θυμίνης και Κυτοσίνης, των σπειροειδών ελίκων (*κλώνων*, *σπειρών*, *Strands*) του DNA, Εικόνα 3.8.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το ξετύλιγμα (*unfolding*) της έλικας του DNA και την παρεμπόδιση της διαδικασίας μεταγραφής, [Kelland Lloyd, "Broadening the Clinical Use of

Platinum Drug-based Chemotherapy with New Analogues, Satraplatin and Picoplatin", 2007].



Εικόνα 3.9 Χημική δομή της καρβοπλατίνης.

Δεσμεύεται επίσης σε μεγάλο βαθμό σε πυρηνικές και κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες. Είναι μη-ειδική του κυτταρικού κύκλου ουσία αλλά τα κύτταρα είναι πιο ευπαθή στη δράση της όταν βρίσκονται στη φάση G1 και S, [Kadam S.S., 2008]. Η σισπλατίνη χορηγείται σε καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, των όρχεων και των ωθηκών.

Η καρβοπλατίνη είναι χημικά συγγενής με την σισπλατίνη Όπως και η σισπλατίνη, δημιουργεί σταυροδεσμούς στο DNA μεταξύ των δύο ελίκων, αλλά και μεταξύ διαφορετικών σημείων της ίδιας έλικας, [Barnes K.R., et al, 2004].

Η καρβοπλατίνη χρησιμοποιείται σε ασθενείς που δεν μπορούν να ενυδατωθούν εντατικά, που πάσχουν από νεφρική δυσλειτουργία ή είναι επιρρεπείς σε νευρο- ή ωτοτοξικότητα, [Galanski M., et al, "Recent Developments in the Field of Tumor-Inhibiting Metal Complexes", Review Paper, Current Pharmaceutical Design, 2003], [Garbutcheon-Singh K.B., et al, "Transition Metal Based Anticancer Drugs", Review Paper, Current Topics in Medicinal Chemistry, 11(5), 521-542, 2011].

### 3.8.2 Οι Αντιμεταβολίτες

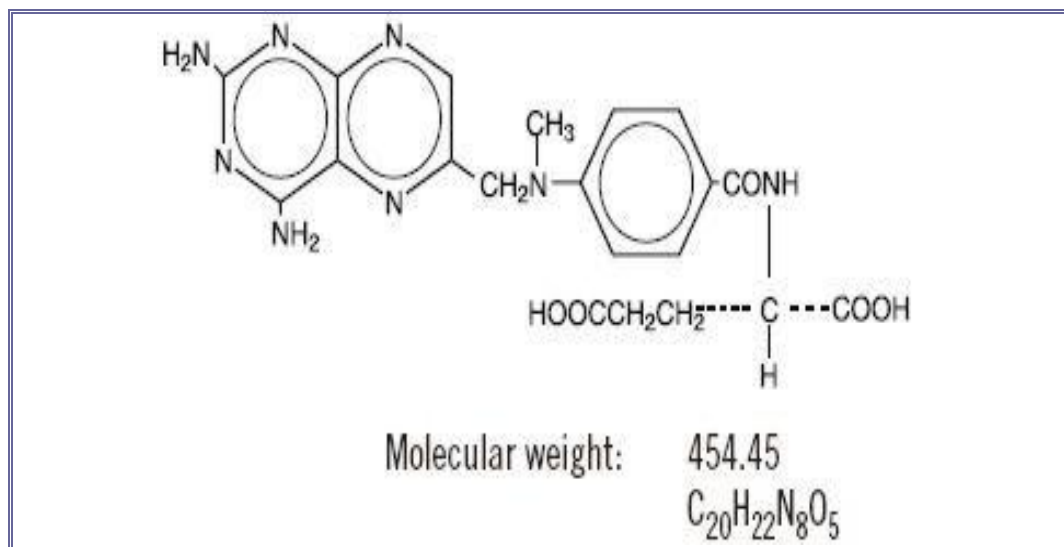
Οι αντιμεταβολίτες έχουν χημική δομή παρόμοια με αυτή των μεταβολιτών (ενδογενείς μεταβολικές ενώσεις, οι οποίες δρουν σε κάποιο μεταβολικό στάδιο, δηλαδή στις διαδικασίες βιοσύνθεσης και βιοαποικοδόμησης) και είναι δυνατό να τους υποκαταστήσουν στη βιοσύνθεση των νουκλεϊκών οξέων.

Έτσι, προκύπτουν παραποιημένα προϊόντα και συνεπώς σταματά η ανάπτυξη και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων. Επίσης, πολλοί από τους αντιμεταβολίτες είναι και αναστολείς ενζύμων.

Οι κυριότερες κατηγορίες αντιμεταβολιτών είναι οι εξής: **Οι αντιμεταβολίτες του φυλλικού οξέος:** πρόκειται για ουσίες που έχουν παρεμφερή δομή με το φυλλικό οξύ. Στην κατηγορία αυτή ανήκει η μεθοτρεξάτη, η οποία συναγωνιστικά αναστέλλει την



αναγωγή του διϋδροφυλλικού οξέος, που καταλύει το σχηματισμό τετραϋδροφυλλικού από διϋδροφυλλικό, [Schellens Jan, 2005].



Εικόνα 3.10. Η χημική δομή της Μεθοτρεξάτης.

Φυσιολογικά, το τετραϋδροφυλλικό μετατρέπεται σε διαφορετικά παράγωγα τα οποία λειτουργούν ως συνένζυμα και είναι απαραίτητα για τις αντιδράσεις σύνθεσης πουρινών (της αδενίνης και της γουανίνης), μεθειονίνης και σερίνης. Η κύρια αιτία κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από τη μεθοτρεξάτη είναι η αναστολή της βιοσύνθεσης των θυμιδυλίων και των πουρινών που απαιτούνται για τη σύνθεση DNA. Έτσι η μεθοτρεξάτη θανατώνει κύτταρα που βρίσκονται στη φάση S.

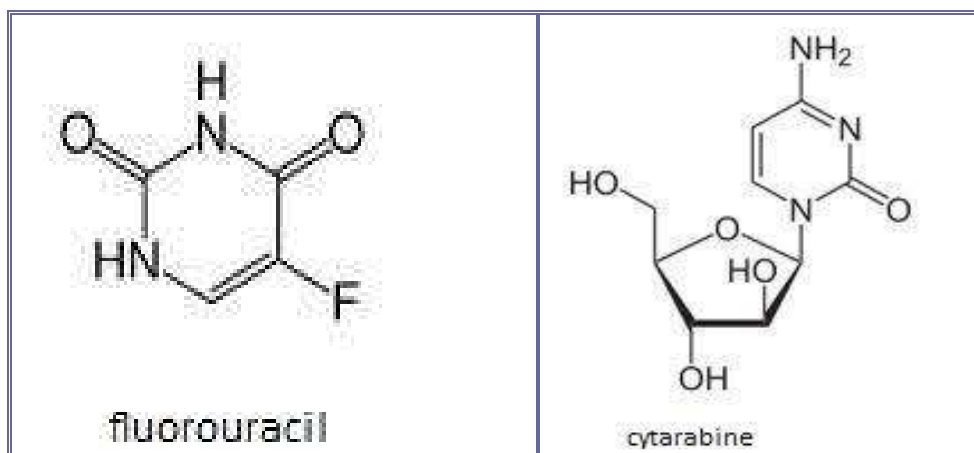
Επίσης, εξαιτίας του γεγονότος ότι η μεθοτρεξάτη αναστέλλει επίσης τη σύνθεση RNA και πρωτεϊνών, το φάρμακο αυτό μειώνει και την ταχύτητα με την οποία εισέρχονται τα κύτταρα στη φάση S. Δηλαδή πρόκειται για ένα αυτορυθμιζόμενο για την φάση S φάρμακο, [Kadam S.S., 2008].

Η μεθοτρεξάτη χρησιμοποιείται για το χοριοκαρκίνωμα, την οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία, το λέμφωμα Burkitt των παιδιών, το οστεοσάρκωμα, τον καρκίνο της κεφαλής, του τραχήλου και του μαστού.

**Οι αντιμεταβολίτες της πυριμιδίνης:** πρόκειται για ουσίες οι οποίες δρουν ανταγωνιστικά προς τις πυριμιδίνες. Στην κατηγορία αυτή ανήκει η 5-φθοριοουρακίλη, η οποία είναι ένα ανάλογο της πυριμιδίνης στην οποία το υδρογόνο στη θέση 5 του ουρακλικού δακτυλίου έχει αντικατασταθεί με ένα άτομο φθορίου, [Chabner Bruce, 2010]. Η 5-φθοριοουρακίλη μετατρέπεται στο αντίστοιχο δεσοξυνουκλεοτίδιο αφού εισέρθει στα κύτταρα στόχους.

Το προϊόν αυτό δρα ως ψευδοϋπόστρωμα της θυμιδικής συνθετάσης και εγκλωβίζεται μαζί με το ένζυμο και το συνένζυμό του σε ένα τριμερές σύμπλοκο το οποίο αδυνατεί να δώσει προϊόντα. Έτσι, ελαττώνεται η σύνθεση DNA λόγω έλλειψης θυμιδίνης και το καρκινικό κύτταρο οδηγείται στο θάνατο, [Schellens Jan, 2005].

Η 5-φθοριοουρακίλη χορηγείται σε καρκινώματα του παχέος εντέρου, του μαστού, του παγκρέατος και του στομάχου. Επίσης, είναι αποτελεσματική και στα επιπολής βασικοκυτταρικά καρκινώματα όταν εφαρμόζεται τοπικά.

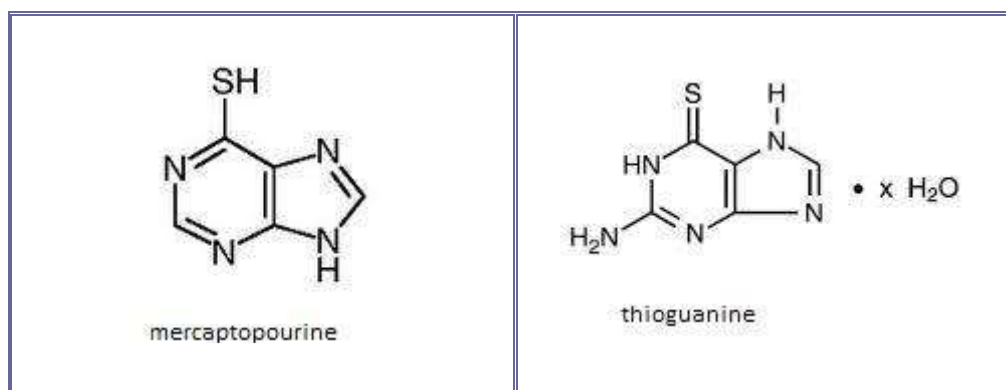


**Εικόνα 3.11 Η χημική δομή της φθοριοουρακίλης και της κυταραβίνης.**

Η κυταραβίνη είναι μια ουσία ανάλογη της 2'-Δεσοξυκυτιδίνης στην οποία η ομάδα της ριβόζης έχει αντικατασταθεί από αραβινόζη, [Skeel Roland, 2007].

Η κυταραβίνη φωσφορυλιώνεται προς το αντίστοιχο νουκλεοτίδιο, την τριφωσφορική κυταραβινοσίδη η οποία ενσωματώνεται στο DNA και τερματίζει την επιμήκυνση της αλυσίδας. Χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση οξέων φάσεων λευχαιμιών, λεμφωμάτων και χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας.

**Οι αντιμεταβολίτες της πουρίνης:** πρόκειται για ουσίες οι οποίες δρουν ανταγωνιστικά προς τις πουρίνες που είναι βασικά συστατικά του DNA. Στην κατηγορία αυτή ανήκει η 6-μερκαπτοπουρίνη η οποία είναι το θειολικό ανάλογο της υποξανθίνης.



**Εικόνα 3.12. Η χημική δομή της 6-μερκαπτοπουρίνης και της 6-θειογουανίνης.**

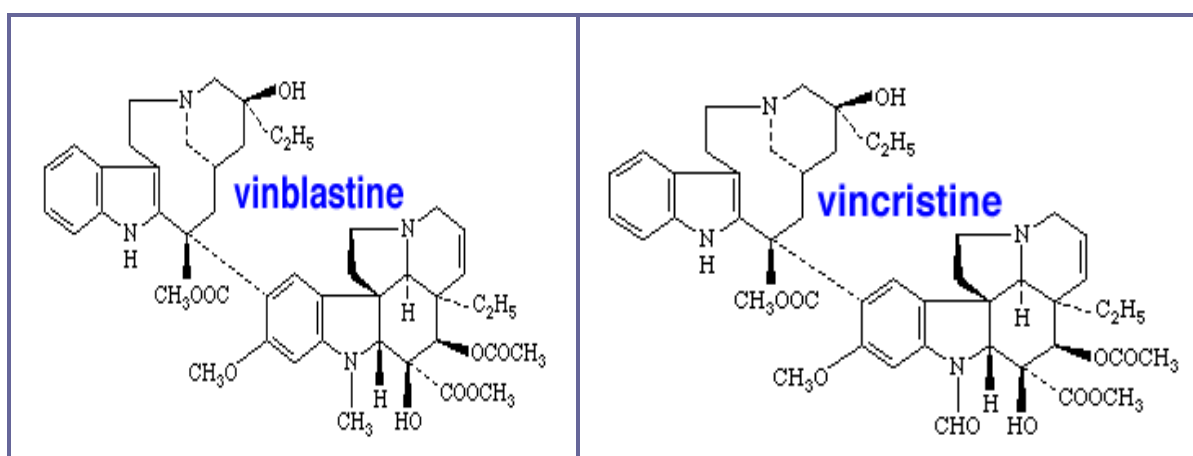
Η 6-μερκαπτο-πουρίνη, αφού διεισδύσει στα κύτταρα-στόχους, μετατρέπεται στο αντίστοιχο νουκλεοτίδιο, την 6-μερκαπτοπουρινική φωσφορική ριβόζη η οποία ενσωματώνεται στο DNA και το RNA και το καθιστά δυσλειτουργικό.

Η 6-μερκαπτοπουρίνη χρησιμοποιείται στη διατήρηση της ύφεσης της οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας. Η αζαθειοπρίνη είναι ένα ανοσοκατασταλτικό το οποίο ασκεί τη δράση του αφού μετατραπεί σε 6-μερκαπτοπουρίνη.

Η 6-θειογουανίνη είναι ένα ακόμη πουρινικό ανάλογο, το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία της οξείας λευχαιμίας, [Chabner Bruce, et al, 2010].

### 3.8.3 Αντινεοπλασματικά Φάρμακα Φυτικής Προέλευσης

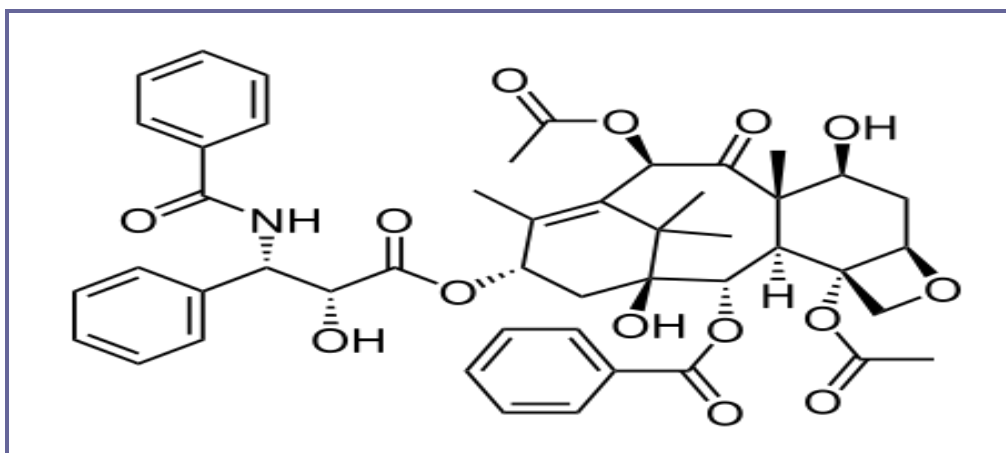
Η αντιμετώπιση του καρκίνου με φυτά ανάγεται πολλούς αιώνες παλαιότερα και ο κατάλογος περιλαμβάνει περί τα 1400 φυτικά γένη. Πολλών η αντικαρκινική δράση ήταν γνωστή από παλιά όπως η ρητίνη Ποδοφύλλου η οποία περιέχει ποδοφυλλοτοξίνη, το *Solanum Dulcamara* το οποίο περιέχει σολαμαρίνη, η *Cetraria*, η *Usnea*, η *Cladonia* που περιέχουν ουσκινικό οξύ. Σήμερα, η καλύτερη φυσική πηγή αντικαρκινικών φαρμάκων είναι το φυτό *Catharanthus roseus* ή *Vinca rosea* στο οποίο περιέχεται η βικριστίνη και η βινπλαστίνη, [Χαρβάλα Αικατερίνη, 1994].



Εικόνα 3.13 Η Χημική δομή της βινπλαστίνης και της βικριστίνης.

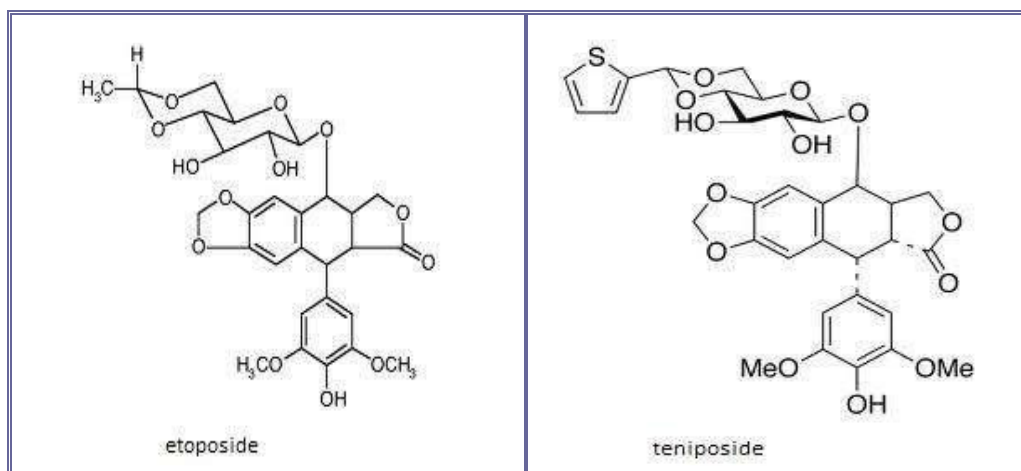
Η **ταξόλη** είναι ένα νέο κλινικά χρησιμοποιούμενο αντικαρκινικό φάρμακο που απομονώθηκε από το φλοιό του δέντρου *Taxus Brevifolia*. Επίσης ενδιαφέρουσα κυτταροτοξική και αντινεοπλασματική δράση παρουσιάζει η ελλιπτοσίνη, ένα αλκαλοειδές που συναντάται σε είδη των οικογενειών *Aprocynaceae* και *Loganiaceae*, αλλά και η ακρονυσίνη, ένα αλκαλοειδές που απομονώθηκε από το φυτό *Acronychia Baueri* της οικογένειας *Rutaceae*. Τα αντινεοπλασματικά φυτικής προέλευσης είναι συνήθως M-Phase Specific Drugs, δηλαδή είναι δηλητήρια της μίτωσης, [Dewick Paul M., "Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach", 2002]. Τα κυριότερα αντινεοπλασματικά φυτικής προέλευσης είναι τα εξής: Τα αλκαλοειδή της **Vinca** (βικριστίνη και βινπλαστίνη): λαμβάνονται από το φυτό *Catharanthus Roseus* (*Lochnera Rosa*, *Vinca Rosa*) της οικογένειας *Aprocynaceae*. Τα αλκαλοειδή αυτά δεσμεύονται με την ελεύθερη τουμπουλίνη σχηματίζοντας παρακρυσταλλικές συμπύξεις που αποτελούνται από διμερή τουμπουλίνης και το αλκαλοειδές με αποτέλεσμα τον αποπολυμερισμό των μικροσωληνίσκων και την αποτυχία της δημιουργίας μιτωτικής ατράκτου, [Van Der Heijden R., et al, "The *Catharanthus* Alkaloids: Pharmacognosy and Biotechnology", 2004]. Χορηγούνται σε οξείες λευχαιμίες, λεμφώματα και σε ορισμένους συμπαγείς όγκους. Η **πακλιταξέλη** (ταξόλη): είναι ένα διτερπένιο που απομονώθηκε από το φλοιό του δέντρου *Taxus Brevifolia* της

οικογένειας Taxaceae και εν συνεχεία από άλλα είδη του γένους Taxus. Δρα με μηχανισμό αντίθετο από εκείνο των αλκαλοειδών της νίνσα, σταθεροποιώντας του μικροσωληνίσκου με αποτέλεσμα την αποτυχία της κυτταρικής διαίρεσης, [Fu Y., et al, 2009]. Χορηγείται σε περιπτώσεις του καρκίνου των ωοθηκών και του μεταστατικού καρκίνου του μαστού.



Εικόνα 3.14. Η χημική δομή ταξόλης

Οι **ποδοφυλλοτοξίνες**, ετοποσιδής και τενιποσιδής: είναι ημισυνθετικοί γλυκοσίδες της ποδοφυλλοτοξίνης που λαμβάνεται από τα φυτά *Podophyllum Peltatum* και *Podophyllum Hexandrum* της οικογένειας Berberidaceae ή Podophyllaceae.

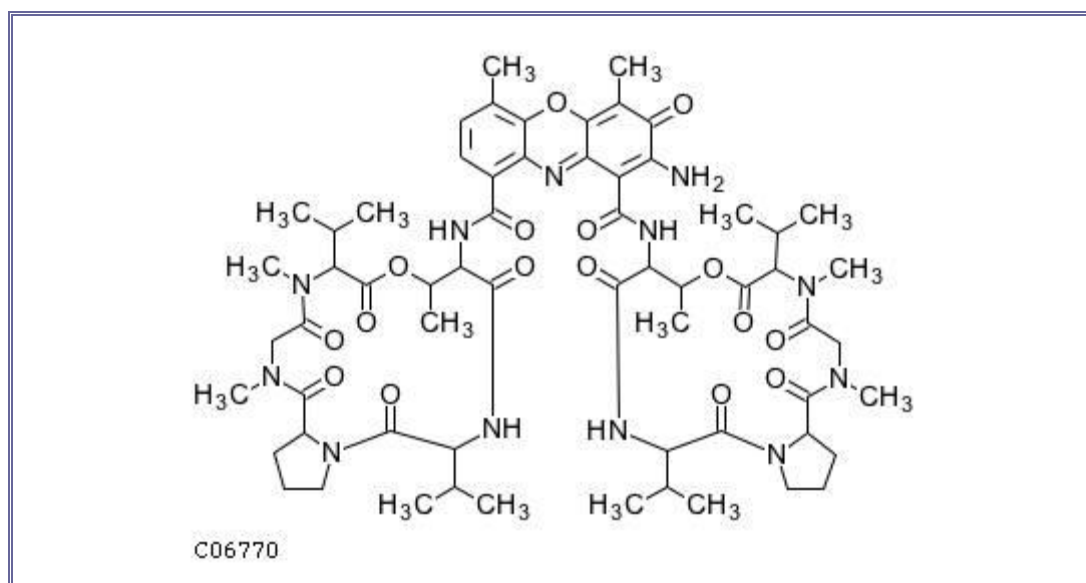


Εικόνα 3.15 Η χημική δομή της ετοποσιδής και της τενιποσιδής.

Οι ουσίες αυτές είναι δραστικές σε αρκετές νεοπλασίες. Κύριος στόχος τους είναι η τοποϊσομεράση II. Η σύνδεση του φαρμάκου με το σύμπλοκο ενζύμου-DNA καθιστά το DNA ευπαθές σε μη αναστρέψιμες ρήξεις της διπλής έλικας. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπλοκάρουν τα κύτταρα στην φάση S-G2, [Damayanthi Y., et al, 1998]. Η ετοποσιδής χρησιμοποιείται για καρκίνο όρχεων, και σε συνδυασμό με σισπλατίνη για μικροκυτταρικό καρκίνο πνευμόνων. Είναι δραστική σε αρκετές άλλες μορφές καρκίνου, όπως μη-Hodgkin λέμφωμα, καρκίνο μαστού και σάρκωμα Καρσί σε ασθενείς με AIDS, [Gosselin R.E., et al, "Clinical Toxicology of Commercial Products", 1984], [Gossauer A., "Struktur und Reaktivität der Biomoleküle. Eine Einführung in die Organische Chemie", 2006].

### 3.8.4 Αντιβιοτικά

Τα αντιβιοτικά οφείλουν τη δράση τους στις αλληλεπιδράσεις με το DNA, οι οποίες αποδιοργανώνουν τη λειτουργία του κυττάρου. Πρόκειται για ειδικά του κυτταρικού κύκλου φάρμακα. Τα κυριότερα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται ως αντινεοπλασματικά φάρμακα είναι τα εξής: Η **ακτινομυκίνη D**, η οποία παράγεται από το *Streptomyces Parvullus*. Το αντιβιοτικό αυτό περιέχει δυο κυκλικά πενταπεπτίδια και ένα επίπεδο τρικυκλικό ετεροαρωματικό σύστημα το οποίο μπορεί να εισχωρήσει στη διπλή έλικα του DNA. Το σύστημα αυτό παρεμβάλλεται μεταξύ γειτονικών ζευγών γουανίνης και συγκρατείται στη θέση του με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ βάσεων του DNA και των κυκλικών πενταπεπτιδίων που τοποθετούνται εξωτερικά της έλικας, [Κουρουνάκη Αγγελική, 2006].

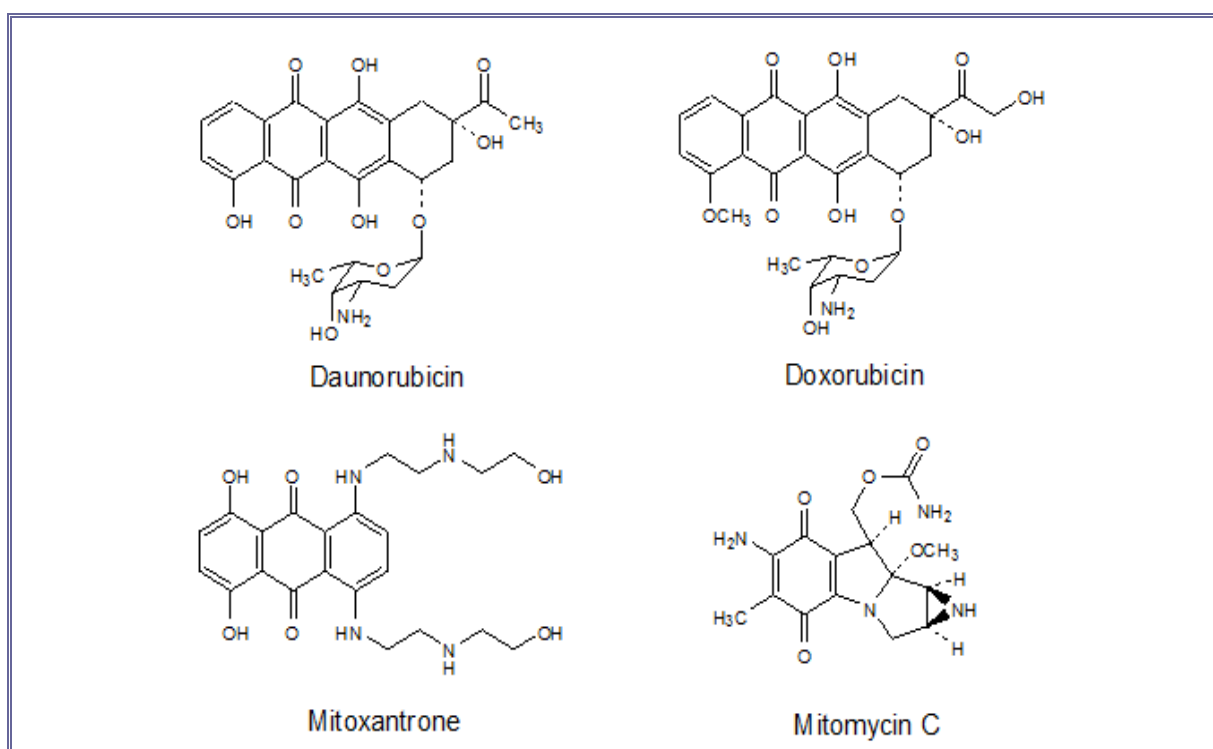


Εικόνα 3.16 Η χημική δομή της ακτινομυκίνης D.

Θεωρείται αναστολέας της τοποϊσομεράσης II και είναι S-phase specific drug. Η ακτινομυκίνη D χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση του όγκου του Wilms και σε σαρκώματα των μαλακών μορίων. Τον ίδιο μηχανισμό δράσης έχει και η **μιθραμικίνη**. Η **δοξορουμπικίνη** (αδριαμυκίνη) και η **δαουνορουβικίνη** παράγονται από τα *Streptomyces Coeruleorubidus* και *Streptomyces Peucetius* αντίστοιχα και ανήκουν στα αντιβιοτικά του τύπου της ανθρακυκλίνης, [Blum R.H., 1974]. Τα αντιβιοτικά αυτά παρεμβάλλονται κατά μη ειδικό τρόπο ανάμεσα σε γειτονικά ζεύγη βάσεων του DNA και παρεμποδίζουν τη σύνθεση DNA και RNA. Συγκεκριμένα, η αδριαμυκίνη έχει ένα τετρακυκλικό σύστημα με τρεις επίπεδους δακτυλίους που εισχωρούν στη διπλή έλικα. Η αδριαμυκίνη πλησιάζει και εισχωρεί στο DNA από τη μεγάλη αύλακα της διπλής έλικας, ενώ η αμινομάδα της που είναι συνδεδεμένη στο τμήμα του σακχάρου παίζει σπουδαίο ρόλο στη διατήρηση του αντιβιοτικού στη θέση του, αφού ιονιζόμενη σχηματίζει ιοντικό δεσμό με τις αρνητικά φορτισμένες φωσφορικές ομάδες του σκελετού του DNA. Επίσης τα αντιβιοτικά αυτά προσδένονται στις κυτταρικές μεμβράνες, με αποτέλεσμα να

διαταράσσεται η διαδικασία μεταφοράς, που συνδέεται με την ενεργοποίηση της φωσφατυδυλοϊνοσιτόλης, [Κουρουνάκη Αγγελική, 2006].

Τέλος, ανάγονται από την αναγωγή του κυτοχρώματος P-450 προς ελεύθερες ρίζες ημικινόνης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ελεύθερων ριζών οξυγόνου και την καταστροφή του DNA και την οξείδωση των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών, [Kivistö K.T., et al, 1995]. Τέλος, η αδριαμικίνη μπορεί να αναστείλει και τη δράση της τοποϊσομεράσης II, [Rommier Y., et al, 2010]. Η δοξορουβικίνη είναι ένα από τα πιο σημαντικά και ευρέως χρησιμοποιούμενα χημειοθεραπευτικά φάρμακα και χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση σαρκωμάτων και πολλών καρκινωμάτων όπως ο καρκίνος του μαστού και του πνεύμονα αλλά και της οξείας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας και λεμφωμάτων.

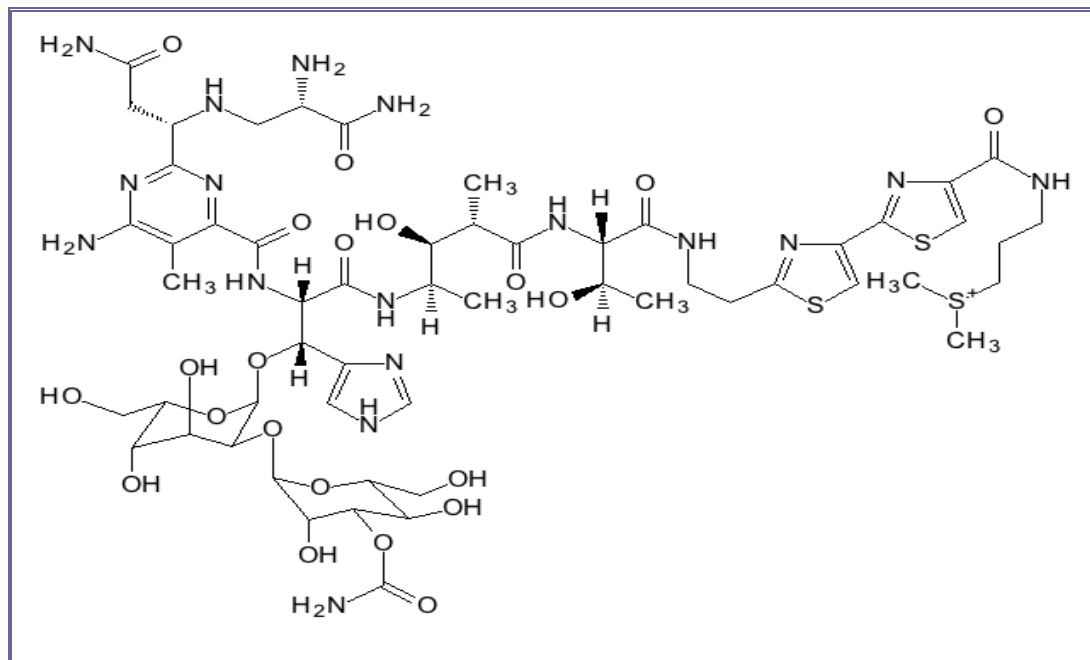


**Εικόνα 3.17 Η χημική δομή των φυτικών χημειοθεραπευτικών ουσιών, δαουνορουμπικίνης, δοξορουμπικίνης, μιτοξανδρόνης και μιτομικίνης C.**

Η δαουνορουβικίνη χρησιμοποιείται στη θεραπεία της οξείας λεμφοκυτταρικής και μυελοκυτταρικής λευχαιμίας. Η μιτομικίνη C είναι ένα αντικαρκινικό που μετατρέπεται εντός του σώματος σε αλκυλιωτικό παράγοντα. Η μετατροπή αυτή αρχίζει με μια ενζυμικά καταλυόμενη αναγωγή της κινόνης σε υδροκινόνη, αποβολή μεθανόλης και άνοιγμα του τριμελούς δακτυλίου της αζιριδίνης για τη δημιουργία αλκυλιωτικού παράγοντα.

Στη συνέχεια, αλκυλιώνονται υπόλοιπα γουανιδίνης σε διαφορετικές αλυσίδες DNA οδηγώντας σε αναστολή της αντιγραφής και τη κυτταρικής διαίρεσης, [Κουρουνάκη Αγγελική, 2006]. Η μιτομικίνη χορηγείται κυρίως σε συμπαγείς όγκους. Η **μπλεομικίνη** προέρχεται από είδη *Streptomyces* (*Streptomyces Verticillus*) και είναι μίγμα διάφορων χηλικών γλυκοπεπτιδίων του χαλκού, τα οποία ανήκουν στις ανθρα-κυκλίνες και προκαλούν ρήξεις του DNA με οξειδωτικό μηχανισμό.

Είναι ειδική για τον κυτταρικό κύκλο και προκαλεί συσσώρευση των κυττάρων στη φάση G2. Φαίνεται ότι δρα αποσπώντας άτομα υδρογόνου από το DNA, ενώ οι ρίζες που προκύπτουν αντιδρούν με το οξυγόνο σχηματίζοντας υπεροξυλικά στοιχεία, τα οποία κατακερματίζονται, [Brahim-Loghmani S., et al, 2009]). Χορηγείται εναντίον διαφόρων συμπαγών καρκίνων, κυρίως σε όγκους των όρχεων.



Εικόνα 3.18 Η χημική δομή της μπλεομικίνης.

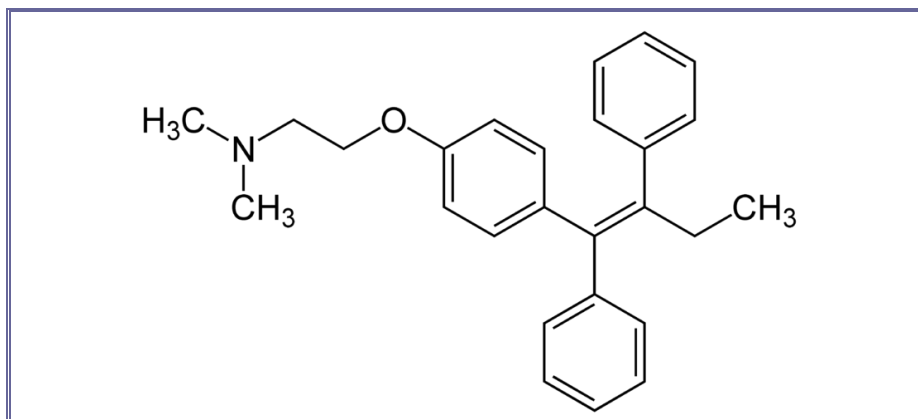
### 3.8.5 Ορμόνες

Οι ορμόνες ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και τη λειτουργία των καρκινικών κυττάρων ρυθμίζοντας την πρωτεϊνοσύνθεση, και χρησιμοποιούνται κυρίως για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού και του προστάτη, εφόσον βέβαια υπάρχουν ορμονικοί υποδοχείς στα καρκινικά κύτταρα, [Schellens Jan, 2005]. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα κορτικοστεροειδή (πρεδνιζολόνη) τα οποία αναστέλλουν την κυτταρική διαίρεση παρεμβαίνοντας στη σύνθεση του DNA.

Η πρεδνιζόνη είναι ένα ισχυρό αντιφλεγμονώδες κορτικοστεροειδές με ασθενή αλατοκορτικοειδή δράση. Η **πρεδνιζόνη** ανάγεται προς πρεδνιζολόνη από την 11-β-υδροξυστεροειδική αναγωγή και στη συνέχεια συνδέεται με έναν υποδοχέα που πυροδοτεί την παραγωγή ειδικών πρωτεϊνών, [Chabner Bruce, 2010]. Η πρεδνιζολόνη χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με διάφορα αντικαρκινικά φάρμακα για την αντιμετώπιση λευχαιμιών, λεμφωμάτων, καρκίνου του μαστού και του προστάτη. Η ταμοξιφαίνη είναι ένα συνθετικό αντιστρογόνο το οποίο χορηγείται σε καρκίνο του μαστού με παρουσία οιστρογονικών υποδοχέων, [Chu E., et al, 2007].

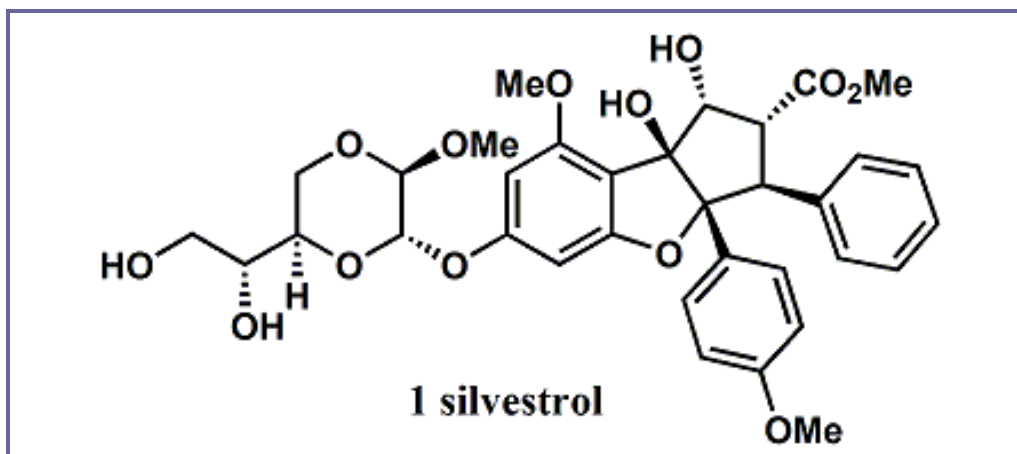
Η **ταμοξιφαίνη** συνδέεται με τον οιστρογονικό υποδοχέα αλλά το σύμπλεγμα που προκύπτει δεν είναι παραγωγικό με αποτέλεσμα την καταστολή της αυξητικής ενέργειας της φυσιολογικής ορμόνης και άλλων αυξητικών παραγόντων. Η δραστική μορφή του

φαρμάκου είναι το π-μονοϋδρόξυ-παράγωγο το οποίο είναι το προϊόν μεταβολισμού της ταμοξιφαίνης. Σε αντίθεση με την οιστραδιόλη, η οποία σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με κατάλληλες ομάδες στις δυο πλευρές του υποδοχέα της, η ταμοξιφαίνη σχηματίζει δεσμό υδρογόνου από τη μια μόνο μεριά και έτσι δεν επιτρέπει τη δομική αλλαγή του υποδοχέα της οιστραδιόλης, [Κωστάκη Ε., et al, 1994].



Εικόνα 3.19 Η χημική δομή ταμοξιφαίνης.

Χορηγείται για τη θεραπεία του οιστογονο-εξαρτώμενου καρκίνου του μαστού κυρίως σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η **στιλβεστρόλη** είναι ένα μη στεροειδές οιστρογόνο το οποίο χορηγείται στον καρκίνο του προστάτη, [Skeel Roland, 2007]. Η στιλβεστρόλη περιέχει στο μόριό της το σκελετό του trans-στιλβένιου και έχει επίπεδη διαμόρφωση.



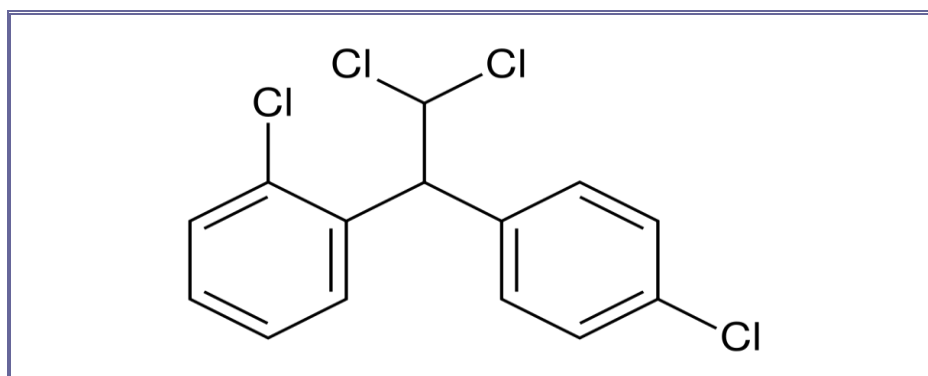
Εικόνα 3.20 Η χημική δομή της στιλβεστρόλης.

Επίσης, περιέχει δυο υδροξύλια στις π-θέσεις των βενζολικών πυρήνων που απέχουν μεταξύ τους απόσταση περίπου 11Å, δηλαδή όση σχεδόν είναι και η απόσταση μεταξύ των δυο ατόμων οξυγόνου των φυσικών οιστρογόνων, [Κωστάκη Ε., et al, 1994]. Η στιλβεστρόλη καταστέλλει την ανάπτυξη του προστατικού ιστού αποκλείοντας την παραγωγή ωχρινοποιητικής ορμόνης, με αποτέλεσμα την ελάττωση της παραγωγής ανδρογόνων από τους όρχεις προκαλώντας φαρμακευτικό ευνουχισμό. Ανάλογη δράση έχουν και τα ανάλογα της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών λευπρολίδη και γοσερελίνη.



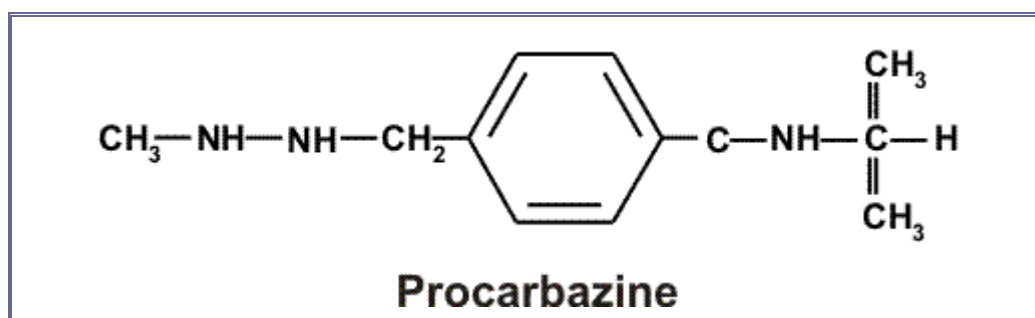
### 3.8.6 ΑΛΛΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΜΕ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Οι ενώσεις οι οποίες δεν ανήκουν σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες είναι η μιτοτάνη, η προκαρβαζίνη, η **L-ασπαραγινάση** και οι βιολογικοί τροποποιητές των βιολογικών αποκρίσεων, ο βάκιλλος Calmette-Guerin και το Rituximab. Η **μιτοτάνη** είναι ένα ισομερές του DTT η οποία εμφανίζει εκλεκτικότητα έναντι του καρκινώματος των επινεφριδίων. Η μιτοτάνη αναστέλλει τη στεροειδογένεση στο φλοιό των επινεφριδίων με άγνωστο μηχανισμό, [Fischer D.S., et al, 2003]. Η L-ασπαραγινάση καταλύει την απαμίνωση της L-ασπαραγίνης σε ασπαρτικό οξύ και αμμωνία. Έλλειψη του σημαντικού αμινοξέος της L-ασπαραγίνης στα νεοπλασματικά κύτταρα έχει ως αποτέλεσμα καταστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης και κυτταρικό θάνατο, [Skeel Roland, 2007]. Έχει σημαντική αποτελεσματικότητα στη θεραπεία οξείας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας. Η **προκαρβαζίνη** αναστέλλει τη σύνθεση DNA και RNA. Επίσης, μπορεί να προκαλέσει μεθυλίωση του DNA και επομένως άμεση βλάβη. Μετά τη χορήγησή της μετατρέπεται σε αζοπροκαρβαζίνη, μετά από οξείδωση στο P450 ή από το σύστημα MAO, [Fischer D.S., et al, 2003]. Η προκαρβαζίνη χρησιμοποιείται στη θεραπεία της νόσου του **Hodgkin**.



Εικόνα 3.21 Η χημική δομή της μιτοτάνης.

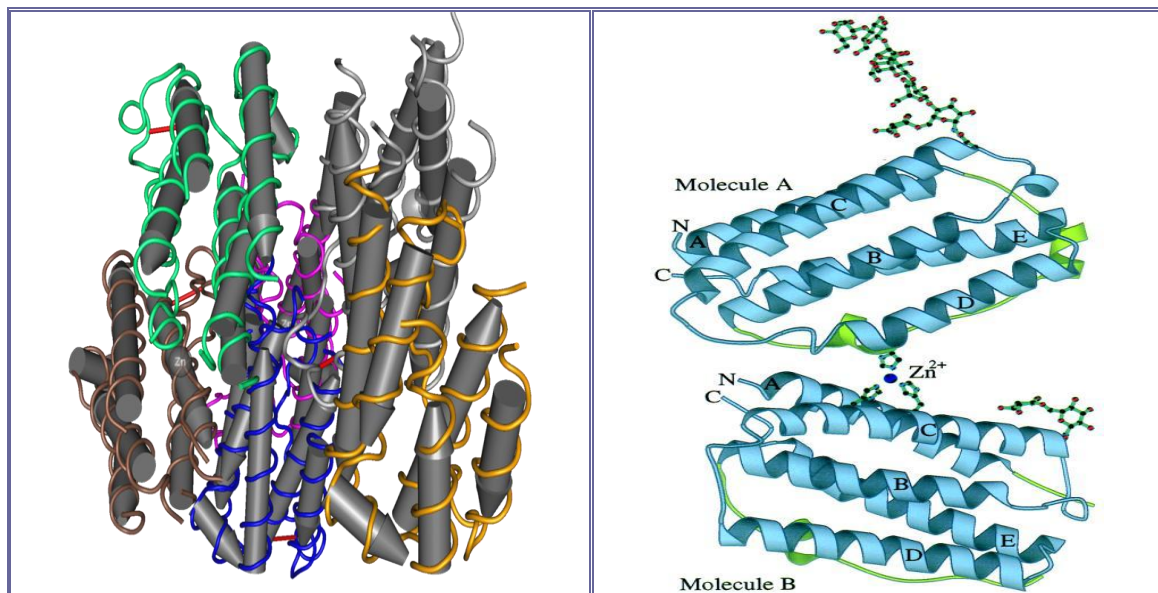
Βιολογικοί τροποποιητές βιολογικών αποκρίσεων είναι ουσίες που δρουν είτε απευθείας στα καρκινικά κύτταρα είτε αυξάνοντας την ανοσολογική απόκριση σε νεοπλασματικά κύτταρα.



Εικόνα 3.22 Η χημική δομή της προκαρβαζίνης.

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν η **ιντερλευκίνη-2** και οι ιντερφερόνες. Η ιντερλευκίνη-2 (IL-2), η οποία είναι η κυτταροκίνη που εκκρίνεται από T-κύτταρα και που έχει δοκιμαστεί σε μονοθεραπεία αλλά και σε συνδυασμό με άλλα αντικαρκινικά φάρμακα για τη θεραπεία μελανώματος και του όγκου νεφρών. Η ιντερλευκίνη -2 επάγει τη δημιουργία των Lymphokine activated killer (LAK) κυττάρων, αυξάνει τη δραστηριότητα των NK- κυττάρων,

προάγει τον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση των T- λεμφοκυττάρων και μεσολαβεί στην υποστροφή διαφόρων μορφών καρκίνων, που αναπτύχθηκαν σε μοντέλα πειραματοζώων, [Andorsky D.J., 2008]. Οι **ιντερφερόνες** ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). Η ιντερφερόνη  $\alpha$  φυσιολογικά παράγεται από τα λεμφοκύτταρα. Η αντινεοπλασματική της δράση οφείλεται στο ότι μειώνει τον πολλαπλασιασμό των νεοπλασματικών κυττάρων και αυξάνει την έκφραση των αντιγόνων του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (**MHC**) στην επιφάνειά τους, ενώ ταυτόχρονα διεγείρει και την παραγωγή κυττάρων φυσικών φονέων. Επίσης, η ιντερφερόνη  $\alpha$  προκαλεί αύξηση των υποδοχέων της **IL-2** σε διάφορα κύτταρα στόχους και κατ' επέκταση βελτιώνει την αντινεοπλασματική δράση της τελευταίας όταν χορηγούνται σε συνδυασμό, [Dillman Robert, 2011]. Η **αντινεοπλασματική δράση των ιντερφερονών** φαίνεται ότι είναι πλέον αποτελεσματική, σε υποκλινική νόσο ή σε μικρό φορτίο νόσου, διότι τότε ο οργανισμός με την ενίσχυση της άμυνάς του, πιθανόν να μπορέσει να αντιμετωπίσει αποτελεσματικότερα τη νεοπλασία.



**Εικόνα 3.22** Σχηματική Αναπαράσταση της Διαμορφώσεως και της Κρυσταλλικής Δομής στον Χώρο, των Ανθρώπινων Ιντερφερονών- $\alpha$  και - $\beta$ .

Οι  $\alpha$ -ιντερφερόνες (INF- $\alpha$ ) έχουν εγκριθεί για την θεραπεία της λευχαιμίας εκ τριχωτών κυττάρων, του σαρκώματος **Kaposi**, της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας, των μη Hodgkin λεμφωμάτων και του μεταστατικού καρκίνου του νεφρού. Η αποτελεσματικότητα των άλλων ιντερφερονών, όπως της ιντερφερόνης  $\beta$  και της ιντερφερόνης  $\gamma$  δεν υπερτερεί, έναντι αυτής της ιντερφερόνης  $\alpha$ . Βακίλλος **Calmette-Guerin**: πρόκειται για λυόφιλο παρασκεύασμα του βακίλλου Calmette-Guerin (BCG, στέλεχος Tice), το οποίο χρησιμοποιείται για ενδοκυστική έγχυση σε περιπτώσεις επιφανειακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης, [Herr H.W., et al, 2008]. Το φάρμακο αυτό βοηθά στην αναστολή της εξέλιξης του καρκινώματος και στη μείωση των υποτροπών. Rituximab: πρόκειται για ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο προσδένεται στις CD20 επιφανειακές πρωτεΐνες των B-λεμφοκυττάρων, [Harris M., 2004]. Το **Rituximab** χρησιμοποιείται για τη θεραπεία μη-Hodgkin λεμφωμάτων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΑΓΩΓΕΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ, ΜΕ ΤΗΝ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ

#### 4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Οι διάφορες ενώσεις του βαναδίου ασκούν αποτρεπτικά αποτελέσματα, ενάντια στη χημική καρκινογένεση των ζώων, κυρίως με το να τροποποιούν τα διάφορα ξενοκρατικά ένζυμα, οπότε κατ' αυτόν τον τρόπο παρεμποδίζουν, τους καρκινογεννητικά παραγόμενους δραστικούς μεταβολίτες. Οι μελέτες σε διάφορες κυτταρικές σειρές αποκαλύπτουν ότι το βανάδιο ασκεί τα καρκινοστατικά του αποτελέσματα, μέσω της αναστολής της δράσεως των κυτταρικών φωσφατασών της τυροσίνης ή/και της ενεργοποίησης των φωσφορυλασών της τυροσίνης. Αμφότερα τα αποτελέσματα ενεργοποιούν τις διαβάσεις μεταγωγής σημάτων, που οδηγούν είτε στην απόπτωση ή/και στην ενεργοποίηση των γονιδίων καταστολής των όγκων. Επιπλέον, οι διάφορες ενώσεις του βαναδίου μπορούν να προκαλέσουν την καταστολή των κυτταρικών κύκλων ή/και να επιφέρουν κυτταροτοξικά αποτελέσματα, μέσω α)-της σχάσεως και του τεμαχισμού του **DNA** και β)-της λιπουπεροξειδωσης των μεμβρανών του πλάσματος. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου, που παράγονται από διάφορες αντιδράσεις Fenton ή/και κατά τη διάρκεια της ενδοκυτταρικής αναγωγής του **V(V)** στο **V(IV)**, κυρίως από την NADPH, συμμετέχουν στην πλειονότητα των βανάδιο-προκαλούμενων διακυτταρικών γεγονότων. Το βανάδιο μπορεί επίσης να ασκήσει ανασταλτικά αποτελέσματα στην μεταστατική δυνατότητα των καρκινικών κυττάρων, μέσω της διαμόρφωσης των κυτταρικών μορίων συγκόλλησης και να αναστρέψει την αντινεοπλαστική φαρμακευτική αντίσταση. Εμφανίζει επίσης χαμηλή τοξικότητα, η οποία σε συνδυασμό με τη σύνθεση νέων, πλέον δραστικών και ικανοποιητικότερης ανεκτικότητας συμπλόκων ενώσεων, μπορεί να καθιερώσει το βανάδιο, ως ένα αποτελεσματικό και μη-λευκοχρυσικό, αντινεοπλασματικό μεταλλικό παράγοντα, [Evangelou A.M., 2002], [Ott I., and Gust R., "Non Platinum Metal Complexes as Anti-Cancer Drugs", Review Article, Archiv der Pharmazie, 340(3), 117-26, 2007].

Το βανάδιο είναι ένα γνωστό ιχνοστοιχείο, ευρέως κατανεμημένο στον γηινο φλοιό και απαραίτητο σε διάφορα είδη. Εν τούτοις ο ρόλος του ως μικροδιατροφικό ιχνοστοιχείο στον ανθρώπινο οργανισμό, ευρίσκεται ακόμα υπο μελέτη. Οι άνθρωποι και τα άλλα εμβια είδη εκτίθενται στο μεταλλικό αυτό στοιχείο μέσω, τόσο της διατροφικής αλυσίδας, όσο και της ατμόσφαιρας, που μολύνεται από τα προϊόντα καύσης της βαναδιούχων υδρογονανθράκων, αλλά και του καπνού και της σκόνης, που παράγονται, κατά τις εξορυκτικές και μεταλλουργικές διεργασίες, [Evangelou A.M., 2002]. Τα τρόφιμα περιέχουν χαμηλές συγκεντρώσεις βαναδίου, συνήθως κάτω του 1ng/g, αλλά η ημερησία προσλαμβανόμενη ποσότητα βαναδίου στον αμερικανικό πληθυσμο κυμαίνεται στα 10 έως 60μg, [Barceloux D.G., 1999]. Το βανάδιο εισέρχεται στον οργανισμό μέσω της αναπνοής, της γαστροεντερικής οδού και του δέρματος και απόθηκεύεται επιλεκτικά σε συγκεκριμένα

όργανα, κυρίως στο συκώτι, τα νεφρά και τα οστά, [Bracken W.M., et al, 1985], [Hansen T.V., et al, 1982] και [Cortizo A. M., et al, 2000]. Αν και η φιλοδοξία ότι οι μεταλλικές ενώσεις εντάξεως μπορούν να παρουσιάσουν αντινεοπλασματική δράση έχει εμφανισθεί από τις αρχές του 20ού αιώνα, μία ανασκόπηση της αντικαρκινικής δράσεως διαφόρων ανόργανων ενώσεων εμφανίστηκε το 1931. Ωστόσο σοβαρές ενδείξεις για τις αντινεοπλασματικές ιδιότητες, των αλάτων του βαναδίου παρουσιάστηκαν αρχικά το 1965, ενώ στα τέλη του 1967 το βανάδιο, που εξετάστηκε μεταξύ άλλων μετάλλων ενάντια στους αυθόρμητους όγκους ποντικών, βρέθηκε να είναι ανενεργό, [Djordjevitc C., 1995]. Η μελέτη της αντινεοπλασματικής δράσεως των μετάλλων προσέλαβε τεράστιο ενδιαφέρον, μετά την ανακάλυψη των καρκινοστατικών αποτελεσμάτων cis-PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (cis-platin), [Rosenberg Barnett, et al "Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents", Nature, 222, 385-386, 1969] και [Rosenberg Barnett, "Fundamental Studies with Cis-Platin", 55(10), 2303-2316, 1985], ενώ η έρευνα για το βανάδιο υποκινήθηκε από τα συμπεράσματα διαφόρων ερευνητών, στο ρόλο του μετάλλου ως αναστολέα, στην τελική διαφοροποίηση των ερυθρολευκαιμικών κυττάρων και στην αναστολή της χημικά προκληθείσας μαστικής καρκινογένεσης, από το άλας του θειικού βαναδυλίου, [Tsiani E., et al, 1997]. Κατεγράφησαν επίσης θετικές ενδείξεις, ότι αυτό το μεταλλικό ιχνοστοιχείο, που είναι χαρακτηριστικό διατροφικό συνδυαίτημα δυτικού τύπου (σε υγροχημικές συγκεντρώσεις βάρους, της τάξεως των μM), μπορεί να είναι ένας αποτελεσματικός χημειο-ανασταλτικός παραγοντας των καρκινικών νεοπλασιών. Επιπροσθέτως, τα βιολογικά αποτελέσματα των ενώσεων βαναδίου όπως η ινσουλινομιμητική του δράση, η ελάττωση της υπερλιπιδαιμίας και της υπέρτασης, σε συνδυασμό με ανεπαίσθητες δυσμενείς παρενέργειες, δείχνουν τις πιθανές δυναμικές θεραπευτικές εφαρμογές αυτών των ενώσεων. Συσσωρευτικά πειραματικά δεδομένα, των τελευταίων 15 έτη, υποδεικνύουν ότι το βανάδιο μπορεί να θεωρηθεί ως ο κύριος εκπρόσωπος μιας νέας κατηγορίας μη-λευκοχρυσικών μεταλλικών καρκινοστατικών παραγόντων, [Tsiani E., et al, 1997], [Djordjevitc C., et al, 1995], [Djordjevitc C., 1985] και [Van Rijt S.H., et al, 2009].

#### 4.2 ΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Το βανάδιο είναι ένα μεταλλικό στοιχείο μεταπτώσεως, της ομάδος **5d**, που κατέχει ορισμένες χημικές και βιοχημικές ιδιότητες. Ποικίλες ενώσεις βαναδίου έχουν συντεθεί μέχρι τώρα, σε μια προσπάθεια να προσφερθεί η καλύτερη ανοχή, η ισχυρότερη δράση, η καλύτερη επιλεκτικότητα και η λιγότερη τοξικότητα στη θεραπεία του καρκίνου. Τα χημικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά καθορίζουν τα αντικαρκινικά αποτελέσματα των ενώσεων βαναδίου. Το στοιχείο βανάδιο, είναι ένα μέταλλο με ηλεκτρονιακή απεικόνιση **[Ar] 4s<sup>2</sup> 3d<sup>3</sup>** και συνηθέστερες οξειδωτικές καταστάσεις την **V(III)**, την **V(IV)** και την **V(V)**, για τις οποίες διαθέτει σαφώς καθορισμένη γεωμετρία, της εσωτερικής σφαίρας εντάξεως, ενώ η εξωτερική σφαίρα-χημική γειτνίαση (**chemical moiety**) δεν υπόκειται σε τέτοιους περιορισμούς. Επομένως οι χημικοί υποκαταστάτες (ligands) της εσωτερικής σφαίρας εντάξεως, χορηγούν ζεύγη ηλεκτρονίων, στα κενά τροχιακά του μεταλλοϊόντος,

παρέχοντας έναν υψηλού βαθμού ομοιοπολικό χαρακτήρα, στους προκύπτοντες χημικούς δεσμούς. Τα σύμπλοκα εκείνα του βαναδίου, που εμφανίζουν γρήγορη ανταλλαγή των χορηγών υποκαταστατών (ατόμων, μορίων ή ριζών) στην εσωτερική σφαίρα εντάξεως χαρακτηρίζονται ως "**ευκίνητα ή labile**", σε αντίθεση με εκείνα που στερούνται την εύκολη μετακίνηση υποκαταστατών και χαρακτηρίζονται ως "**αδρανή ή inert**" σύμπλοκα. Το βανάδιο (V) παρουσία των υπεροξειδικών και μερικών πολυσχιδών ή πολυδοντικών υποκαταστατών (polydentate ligands) παρέχουν κρυσταλλικά υπεροξυ-σμπλοκα υπερο-υποκαταστατών (peroxo-heteroligand) μορφών. Οι ετερο-υποκαταστάτες αυτών των ενώσεων, μπορούν να μεταποτίσουν τα δυναμικά οξειδοαναγωγής (οξειδοαναγωγική δυνατότητα), του συστήματος **V(IV)/V(V)**, σε τέτοιο βαθμό, ώστε να εμφανισθεί μια ενδομοριακή μεταφορά ηλεκτρονίων, μέσα στη **V(V)**- υπεροξο γειτνίαση, προκαλώντας μια αποδυνάμωση των δεσμών **V-O**, έναντι ενός δις-οξυγονούχου εντεταγμένου υποκαταστάτη και τελικά στην παραγωγή του υπεροξειδικού ανιόντος, [Djordjevitc C., et al, 1995]. Έχει αναφερθεί ότι υφίσταται σχέση μεταξύ της χημικής σύστασης αφ'ενός και της χημικής αντικαρκινικής δράσης, καθώς και της τοξικότητας των υπεροξυ-βαναδικών ιόντων, αφ'ετέρου και ότι αυτή εξαρτάται ισχυρά από την φύση και τον τύπο του ετερο-υποκαταστάτη, [Djordjevitc C., et al, 1985]. Στις μη τοξικές συγκεντρώσεις η ταυτότητα του βοηθητικού υποκαταστάτη, των υπεροξυ-βαναδικών συμπλόκων μπορεί να διαδραματίσει έναν σημαντικό ρόλο στην σύλληψη του κυτταρικού κύκλου, που ασκείται από αυτά τα σύμπλοκα, στις σειρές καρκινικών κυττάρων, [Morinville A., et al, 1998]. Η συνακόλουθη επεξεργασία με άλας βαναδυλίου (**IV**) και υπεροξειδίο του υδρογόνου (**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**) προάγει τις βιολογικές επιδράσεις του μετάλλου στις διάφορες κυτταρικές σειρές, οι οποίες πιθανώς αποδίδονται στον σχηματισμό των υπεροξυ-βαναδικών ιόντων. Αποδείχθηκε ότι η επεξεργασία των σειρών καρκινικών κυττάρων (Hepatoma αρουραίων, βασοφιλική λευχαιμία αρουραίων, μυοειδής μυς και κινεζικά κύτταρα ωοθηκών χάμστερ) με τα Vanadates (V) και το υπεροξειδίο υδρογόνου αύξησε ισχυρά την τυροσινο-φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών και την διάσπαση του φωσφο-ινοσιπιδίου, σε μια σχέση δοσο-εξαρτώμενης αντίδρασης με τα βαναδικά ιόντα και πιθανώς παρεμπόδισε επιλεκτικά την δραστηριότητα της πρωτεϊνικής τυροσινο-φωσφατάσης in vitro. Περαιτέρω, οι μελέτες για δώδεκα υπεροξυ-βαναδικά σύμπλοκα αφορούσαν την είσοδο του υπεροξειδικού ανιόντος (**O<sub>2</sub><sup>2-</sup>**) στη σφαίρα συμπλέξεως του βαναδίου, στην ενεργοποίηση της κινάσης των υποδοχέων ινσουλίνης και στην παρεμπόδιση της δράσης της φωσφο-τυροσινικής φωσφατάσης στις κυτταρικές καλλιέργειες ηπατώματος, [Posner B.I., et al, 1994]. Στην κρυσταλλική κατάσταση η εσωτερική σφαίρα εντάξεως των υπεροξυ-βαναδικών συμπλόκων προσλαμβάνει μια από τις σαφώς καθορισμένες διαμορφώσεις, της πολυεδρικής του γεωμετρίας, όπως η τετραγωνική και η πενταγωνική διπυραμιδική δομή Πίνακας 1.1, [Rehder D., "Structure and Function of Vanadium Compounds in Living Organisms", Biometals, 1992]. Η πολυεδρική συμπλοκοποίηση του βαναδίου, στις διάφορες ενώσεις του, σε διάφορα βιολογικά περιβάλλοντα μέσα (Biomedica), πιθανώς δεν πραγματοποιείται, στις χαμηλές συγκεντρώσεις βαναδίου, αλλά ωστόσο μπορεί επίσης να διαδραματίσει έναν σοβαρό ρόλο, στην μηχανική καταστροφή των καρκινικών κυττάρων, [Djordjevitc C., 1995]. Τα βαναδοκένια (vanadocenes) είναι οργανομεταλλικά σύμπλοκα

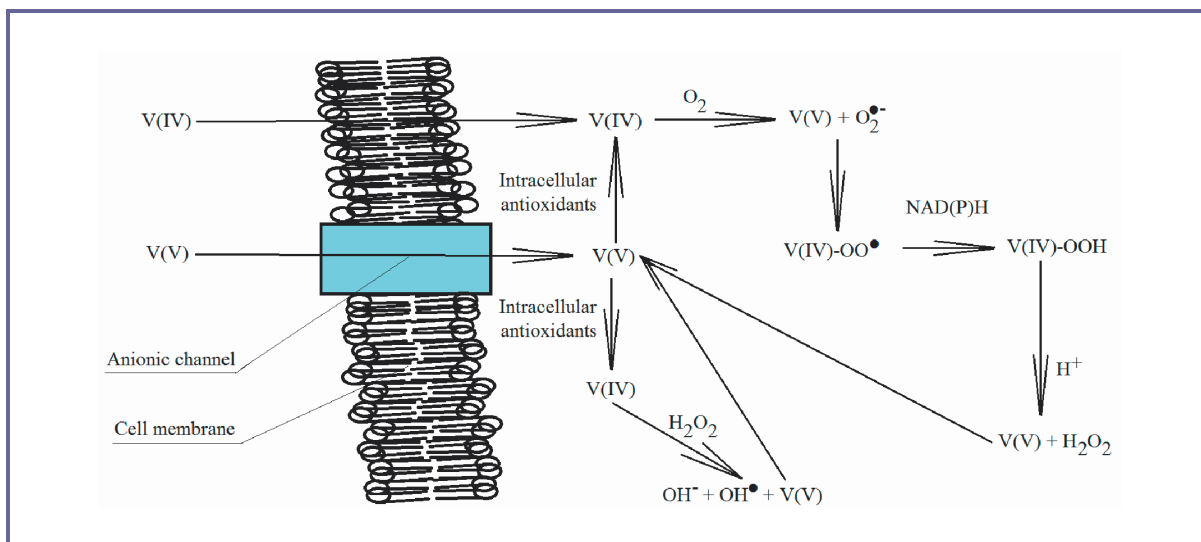
(Organometallic Complexes), που περιέχουν το βανάδιο (**IV**), που ανήκει στην γενικότερη κατηγορία των μεταλλοκενικών (Metallocene) αντικαρκινικών ενώσεων. Αυτά τα οργανομεταλλικά σύμπλοκα, όπου το βανάδιο (**IV**) είναι εντεταγμένο με τους οργανικούς υποκαταστάτες (Organic Ligands) και με απ'ευθείας δεσμούς μετάλλου-άνθρακα, εμφανίζουν σημαντικές αντικαρκινικές ιδιότητες in vivo και in vitro, [Djordjevitc C., 1995], [Korff-Majer P., 1994], [Harding M.M., et al, 2000] και [Ghosh P., et all, 2000]. Τα **βαναδοκένια** που περιέχουν το βανάδιο (**IV**) είναι σύμπλοκα του τύπου "κεκλιμένου σάντουιτς" (Bent Sandwich), με τα μόρια του κυκλοπενταδιενυλίου (Bis-Chloropentadienyl, Cp<sub>2</sub>) να διευθετούνται σε μία τετραεδρική συμμετρία (Tetrahedral Symmetry) και σε κεκαμμένη διαμόρφωση, όσον αφορά το κεντρικό μεταλλικό άτομο. Το πλέον υποσχόμενο, εκ των διαφόρων μη-λευκοχρυσικών (Non-Platinum) μεταλλοκενίων, εκτός του διχλωριούχου τιτανοκενίου (Titanocene Dichloride), είναι το διχλωριούχο βαναδοκένιο (Vanadocene Dichloride) (εν συντομία Cp<sub>2</sub>VCl<sub>2</sub>), με μοριακό τύπο [C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>V, η<sup>5</sup>-(C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>VCl<sub>2</sub>], [Sarsam S.W., et al, 2011], [Lummen G., et al, "Phase II Trial of Titanocene Dichloride in Advanced Renal-Cell Carcinoma, 1998] και [Olszewski U., et al, 2010]. Το βανάδιο, με τη μορφή των διαφόρων αλάτων του, στα υδατικά του διαλύματα είναι σταθερό, ως τετρασθενές κατιόν βαναδυλίου (Tetravalent Vanadyli, VO<sup>2+</sup>), σε όξινες περιοχές και ως πεντασθενές βαναδικό ανιόν (Pentavalent Vanadate VO<sub>3</sub><sup>-</sup> ή H<sub>2</sub>VO<sub>4</sub><sup>-</sup>) σε αλκαλικές περιοχές pH, [Djordjevitc C., et al, 1995], [Morinville A., et al, 1998] και [Gordon J.A., 1991]. Ένας μεγάλος αριθμός μονομερικών και πολυμερικών μορφών του τετρασθενούς και του πεντασθενούς βαναδίου, δύνανται να συνυπάρχουν στα υδατικά του διαλύματα, η σύσταση των οποίων εξαρτάται ισχυρά, τόσο από το pH, όσο και από τις συγκεντρώσεις του μετάλλου. Παρουσία οξειδωτικών ενώσεων το ιόν του βαναδίου υφίσταται ως ενυδατωμένο μονομερές βαναδικών [(HVO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ή H<sub>2</sub>VO<sub>4</sub><sup>-</sup>] σε επίπεδα μικρομοριακών συγκεντρώσεων και πλησίον ουδέτερου pH=7, ενώ παρουσία των διαφόρων εξωκυττάρων (Extracellular) ή των ενδοκυττάρων (Intracellular) αναγωγικών παραγόντων (π.χ. γλουταθειόνη), το βαναδικό ανιόν ανάγεται σε κατιόντα βαναδυλίου (VO<sup>2+</sup>), εντός ολίγων λεπτών, [Tassiopoulos A.J., et al, 2000]. Αυτή η βιο-αναγωγή (Bioreduction) του βαναδίου (V) σε βανάδιο (IV) από την γλουταθειόνη, [Sabbioni E., et al, 1993] ή από μικρόσωμα (Microsomes), μέσω της παραγωγής υδροξυλικών ριζών, [Shi X., et al, 1992], καθώς επίσης και από NADH-εξαρτώμενα φλαβονικά ένζυμα (**Flavoenzymes**) φαίνεται να ρυθμίζει τις διάφορες κυτταρικές επιδράσεις των βαναδιούχων ενώσεων, όπως οι κυτταροτοξικές και μορφολογικές επιδράσεις του, στα διάφορα κύτταρα. Τα βαναδικά ανιόντα αρχίζουν επίσης να πολυμερίζονται, σε συγκεντρώσεις μετάλλου μεγαλύτερες από 0,1 mM και στο ουδέτερο pH, [Gordon J.A., 1991]. Το μονομερές καθώς και τα πολυμερή συμπυκνώματα του βαναδίου (V) είδη και μέχρι το εξαμερές, υφίστανται γρήγορο πολυμερισμό και αποπολυμερισμό, ανάλογα με τις αλλαγές του pH, ενώ το δεκαμερές σχηματίζεται μεν ταχέως όταν οξυνίζεται το διάλυμα των βαναδικών, αλλά αποπολυμερίζεται αργά, όταν το pH επαναφέρεται στο ουδέτερο. Υπάρχουν ενδείξεις ότι το βανάδιο (V), στις διαφορετικές καταστάσεις πολυμερισμού μπορεί επίσης να παρουσιάζει διαφορετικές τοξικότητες. Το βανάδιο μπορεί επίσης να υπάρξει σε χαμηλότερες οξειδωτικές καταστάσεις, στη μορφή των τρισθενών [V(III)] και

των δισθενών [V(II)] ιόντων. Τα κατιόντα τρισθενούς βαναδίου [V(III)], που υπάρχουν στα δύο προσφάτως συντεθέντα σύμπλοκα με ψευδοπεπτίδια, τα οποία περιέχουν την σουλφυδρυλική ομάδα, δηλαδή την N-(2-μερκαπτοπροπιονυλο)-γλυκίνη και το αμινοξύ της κυστεινής, σε υδατικό περιβάλλον οξειδώνονται αργά προς κατιόντα βαναδυλίου ( $VO^{2+}$ ), [Evangelou A.M., et al, Cancer Letters, 119(2), 221–25, 1997] και [Liasko R., et al, 2000]. Στο φυσιολογικό pH το βανάδιο ευρίσκεται στην πεντασθενή βαθμίδα οξειδωσης, ως βαναδικό ανιόν, το οποίο αποτελεί την σταθερότερη μορφή μεταξύ των διάφορων οξειδωτικών του καταστάσεων, [Gresser M.J., et al, 1990] και [Bevan A.P., et al, 1995]. Η οξειδωτική κατάσταση του βαναδίου in vivo και in vitro συσχετίζεται με ποικιλία των βιολογικών του δράσεων, μεταξύ των οποίων είναι η συμμετοχή του σε αντιδράσεις ελεύθερων ριζών. Αυτές οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα, τόσο κατά την συμμετοχή του σε ισχυρή καρκινογένεση, όσο και στην εμφάνιση των ρυθμιστικών και τοξικών αποτελεσμάτων του, στα **α**)- φυσιολογικά, **β**)- στα καρκινικά κύτταρα και **γ**)- στα ζώα, (Εδάφιο 4.3). Η οξειδωτική κατάσταση του βαναδίου φαίνεται να καθορίζει επίσης, μερικές διαφορές στις βιολογικές δράσεις των βαναδιούχων ενώσεων. Οι σύμπλοκες ενώσεις τόσο των βαναδικών (V), όσο και του οξο-βαναδίου (IV) είναι, παραδείγματος χάριν, όλες ανεξαιρέτως αποτελούν ανασταλτικούς παράγοντες των πρωτεϊνικών φωσφορο-τυροσινών (phosphotyrosines, PTPs) σε πολλά κύτταρα, εντούτοις όμως επενεργούν, με διαφορετικούς μηχανισμούς. Τα βαναδικά εμφανίζονται να επενεργούν ως ένα ανάλογο φωσφορικών, που μιμείται την μεταβατική κατάσταση, [Gresser M.J., et al, 1990]. Κατά συνέπεια τα βαναδικά σχηματίζουν ασθενή και αντιστρεπτό δεσμό με την θειολική ομάδα των PTPs, δρώντας έτσι ως ένας ανταγωνιστικός αναστολέας. Τα σύμπλοκα παράγωγα των υπεροξυβαναδικών, καθώς και τα υδατικά διαλύματα αυτών είναι εντούτοις μη αντιστρεπτοί και πλέον ισχυροί αναστολείς PTPs, δεδομένου ότι το κρίσιμο κυστεινικό τμήμα του μορίου των, στην καταλυτική περιοχή τους, οξειδώνεται από τα υπεροξυ-βαναδικά σύμπλοκα, [Morinville A., et al, 1998] και [Bevan A.P., et al, 1995]. Ο ευρέως χρησιμοποιημένος υπερβαναδικός αναστολέας PTPs είναι μια υπερβαναδική ένωση, που παράγεται από την αντίδραση  $H_2O_2$  με τα ορθο-βαναδικά, in vivo και in vitro. Τα υπερβαναδικά έχουν αποδειχθεί ισχυρότερος αναστολέας PTPs, από τα  $Na_3VO_4$  και  $H_2O_2$  μεμονωμένα, [Kresja C.M., et al, 1997]. Τα υπεροξυ-βαναδικά σύμπλοκα εμφανίζονται να είναι 100-1000 φορές αποτελεσματικότεροι παρεμποδιστές PTPs in vitro, από το ορθοβαναδικό νάτριο, [Bevan A.P., et al, 1995]. Η οξειδωτική βαθμίδα του βαναδίου μπορεί επίσης να διαδραματίσει έναν σπουδαίο ρόλο, στην ενεργοποίηση των ενδοκυτταρικών διαβιβαστών μεταγωγής σημάτων, που ρυθμίζουν την ενεργοποίηση των κυτταροσολικών (cytosolic) πρωτεϊνικών κινασών της τυροσίνης, [Kresja C.M., et al, 1997].

#### **4.3 ΒΙΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

Η είσοδος του βαναδίου μέσα σε τον οργανισμό εξαρτάται από την πορεία της χορήγησης. Μόλις εισαχθούν τα βαναδικά ανιόντα (V), ανάγονται προς τα κατιόντα βαναδυλίου (IV), από την γλουταθειόνη των ερυθροκυττάρων ή από το ασκορβικό οξύ (AA) και άλλες

αναγωγικές ουσίες του πλάσματος. Στη συνέχεια μεταφέρεται από την αλβουμίνη κοντά λευκωματίνη και την τρανσφερίνη – μία σιδηροπρωτεΐνη- με τις οποίες το βανάδιο πιθανώς συνδέεται επιλεκτικά. Στο κυτταρικό επίπεδο, εντούτοις, τα βαναδικά ανιόντα (V) υπερισχύουν, λόγω του ουδέτερου pH. Το βανάδιο (V) εισέρχεται στο κύτταρο, μέσω του μηχανισμού μεταφορών ανιόντων. Κατόπιν τα βαναδικά ανιόντα (V), ανάγονται προς τα κατιόντα βαναδυλίου (IV), συνήθως από την ενδοκυττάρια γλουταθειόνη και στη συνέχεια συνδέεται με τις πρωτεΐνες, [Hansen T.V., et al, 1982] και [Sabbioni E., et al, 1993]. Αυτή η αναγωγή ρυθμίζεται από τους κυτταρικούς οξειδοαναγωγικούς μηχανισμούς, που ελέγχουν τις ισορροπίες μεταξύ των οξειδωτικών καταστάσεων του βαναδίου, [Bracken W.M., et al, 1985], [Hansen T.V., et al, 1982] και [Sakurai H., et al, 1980]. Μελέτες των ερυθροκυττάρων δείχνουν την ύπαρξη ενός διφασικού μηχανισμού, της εισόδου βαναδίου. Κατά τη διάρκεια της αρχικής φάσης τα βαναδικά ανιόντα (V) αποκαθιστούν ισορροπία, κατά μήκος της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων, εισερχόμενα εντός του κυττάρου, μέσω του συστήματος ανταλλαγής των ανιόντων. Η δεύτερη και πολύ πιο αργή φάση, εξαρτάται από την αναγωγή των βαναδικών ανιόντων (V) προς τα κατιόντα βαναδυλίου (IV), [Bracken W.M., et al, 1985] και [Hansen T.V., et al, 1982]. Η είσοδος των βαναδικών ανιόντων (V) στα χιτωνοφόρα κύτταρα αίματος *Nigra Ascidia*, μέσω του ανιονικού καναλιού, έχει αποκαλύψει ότι το βανάδιο (V) αποθηκεύεται στα κυτταρικά κενοτόπια και ανάγεται έπειτα σε κατιόντα βαναδυλίου (IV), ή/και κατιόντα V(III), αμφότερα των οποίων όντας κατιονικά, δεν επιτρέπουν στο βανάδιο για να δραπετεύσει από τα κενοτόπια.



**Εικόνα 4.1 Οι Βιοχημικοί Ατραποί των Ανοργάνων Ενώσεων του Βαναδίου εντός του Κυτταροπλάσματος, [Aureliano M., and Gândara R.M., "Decavanadate Effects in Biological Systems", 2005].**

Λήψη βαναδίου (<sup>48</sup>V) από τα νεφρικά κύτταρα βοός (MDBK) αποκάλυψε, ότι αυτό συσσωρεύεται μέσα στα κύτταρα, γραμμικά για την περιοχή συγκεντρώσεων 20- 200μM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> και αναλογικά προς την συγκέντρωσή του εντός του υγρού μέσου. Έχει αναφερθεί επίσης μια καμπυλόγραμμη σχέση, μεταξύ της κυτταρικής περιεκτικότητας σε βανάδιο και



του βαθμού της βανάδιο-προκληθείσας κυτταροτοξικότητας, [Bracken W.M., et al, 1985]. Το βανάδιο στα κύτταρα διανέμεται κυρίως στον πυρήνα και στα διαλυτά υπερκείμενα κλάσματα, [Bracken W.M., et al, 1985], [Sakurai H., et al, 1980] και [Edel J., et al, 1988]. Υπάρχουν επίσης στοιχεία ότι τα κατιόντα βαναδυλίου (IV) και τα βαναδικά ανιόντα (V), εντός του κυτταροπλάσματος είναι συνδεδεμένα σε επιλεγμένους φωσφορικούς, καρβοξυλικούς και άμινο- υποκαταστάτες, [Tasiopoulos A.J., et al, 2000]. Έχει αναφερθεί ότι στα κύτταρα με φωσφοροκρεατινίνη (CP), το 61% του συνόλου των κατιόντων βαναδυλίου (IV) είναι συνδεδεμένο στα φωσφορικά και το 29% στις πρωτεΐνες. Στα κύτταρα με τα υψηλά επίπεδα του AA, όπως τα κύτταρα του εγκεφάλου, το ασκορβικό οξύ συμπλέκεται με το σε 3% των κατιόντων βαναδυλίου (IV).

Το υπόλοιπο είναι πιθανώς συνδεδεμένο με καρβοξυλικούς και σουλφυδρυλικούς υποκαταστάτες, ενώ σχεδόν 1% παραμένει αδέσμευτο. Ο Bracken ανέφερε ότι το βανάδιο στα κύτταρα MDBK διανέμεται κατά σχεδόν 90% στο υπερκείμενο κλάσμα, ενώ το υπόλοιπο κατανέμεται κυρίως στα μιτοχόνδρια, τα πυρηνικά και κυτταρικά θραύσματα, καθώς και στα μικροσωματίδια (Microsomes), [Bracken W.M., et al, 1985]. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη το τετρασθενές και πεντασθενές βανάδιο, που χορηγήθηκε σε αρουραίους κατανεμήθηκε ενδοκυττάρια, κυρίως στο πυρηνικό κλάσμα (30-40%) και το υπόλοιπο στο κυτταρόπλασμα και τα μιτοχονδριακά κλάσματα. Χρωματογραφία διήθησης πηκτής (Gel Filtration Chromatography), του κυτταροπλάσματος πνευμόνων, απέδειξε επίσης, δύο βιοχημικές δεξαμενές βαναδίου, μία που αντιστοιχεί στο πρωτεϊνικά δεσμευμένο βανάδιο και μία άλλη στις διαχύσιμες μορφές βαναδίου, [Edel J., et al, 1988]. Χορήγηση του διχλωριδίου του βαναδοκενίου τόσο σε σε καρκινοπαθείς επίμυες, στους οποίους μεταμοσχεύθηκαν όγκοι Ehrlich περιτοναϊκού υγρού (ascites), όσο και σε καρκινικά κύτταρα Ehrlich, περιτοναϊκού υγρού, αποκάλυψαν ότι το βανάδιο, που υπολογίστηκε από τη φασματοσκοπία ενεργειακής απώλειας ηλεκτρονίων συσσωρεύθηκε κυρίως στην πυρηνική ετεροχρωματίνη και σε μικρότερη έκταση, στον πυρήνα και τα κυτταροπλασματικά ριβοσώματα, των καρκινικών κυττάρων. Οι διάφορες μελέτες στα ζωικά μοντέλλα έδειξαν αυτό το βανάδιο συσσωρεύεται, κατά κύριο λόγο στα νεφρά, σπλήνα, κόκκαλα, συκώτι και σε μια μικρότερη έκταση στους πνεύμονες και εμφανίζεται ως βαναδύλιο (IV) κατιόν (testes), [Hansen T.V., 1982], [Edel J., et al, 1988], με τα κόκκαλα να είναι πιθανώς ο κύριος ιστός της συσσώρευσης βαναδίου, [Tsiani E., et al, 1997], [Sakurai H., 1994]. Το βανάδιο απεκρίνεται γρήγορα, από τα νεφρά, με χρόνο βιολογικής ημιζωής 20-40 ώρες, στα ούρα, [Barceloux D.G., 1999]. Υπάρχουν επίσης κάποια στοιχεία ότι το βανάδιο συσσωρεύεται περισσότερο στα καρκινικά κύτταρα και στους ιστούς, απ' ότι στα αντίστοιχα φυσιολογικά. Τα επίπεδα βαναδίου, που υπολογίστηκαν από τον ενεργειακό φθορισμό ακτίνων- X, βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα σε καρκινικό ιστό στήθους, σε σύγκριση με τον αντίστοιχο φυσιολογικό ιστό. Το ανόργανο ισότοπο  $^{48}\text{V}$ , συσσωρεύεται ιδιαίτερα σε όγκους MH134, S180 και FM3A, αν και σε μικρότερο βαθμό, από ένα  $^{48}\text{Vanadyl-rheo-phorbide}$  σύμπλοκο. Υπάρχουν επίσης στοιχεία ότι το βανάδιο που χορηγήθηκε σε κυτταρικές σειρές όγκων, όπως τα λευκαϊμικά (leukemias) (P388 και L1120), του απηυθυσμένου (colon), του καρκινώματος πνευμόνων Lewis, του μελανώματος (B16), των στερεών και ρευστών περιτοναϊκών όγκων Ehrlich και

των πνευμονικών καρκινωμάτων, που μεταμοσχεύθηκαν σε αθυμικά (athymic) ποντίκια, συσσωρεύονται στις περιοχές των κυττάρων όγκων, που είναι πλούσιες, σε νουκλεϊνικά οξέα, [Harding M.M., et al, 2000].

#### **4.4 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ ΚΑΙ ΣΕ ΖΩΑ**

Χορήγηση διαφόρων βαναδιούχων ενώσεων στους ανθρώπους και τα ζώα αποκάλυψαν ότι το βανάδιο μπορεί να επιφέρει διάφορα τοξικά αποτελέσματα. Οι μελέτες για τα ζώα, κυρίως αρουραίοι και ποντίκια έδειξαν ότι τα τοξικά αποτελέσματα των ενώσεων βαναδίου συσχετίζεται με τα είδη, τη δόση, τον τρόπο και τη διάρκεια της χορήγησης, καθώς επίσης και με τη φύση της χημικής ένωσης. Οι μελέτες που εξετάζουν τη χορήγηση βαναδιούχων αλάτων στους ανθρώπους, που πάσχουν είτε από τον διαβήτη, είτε από ασθένειες των στεφανιαίων αρτηριών έδειξαν, ότι με τη βραχυπρόθεσμη αγωγή (4 εβδομάδων το πολύ), η πιο κοινή παρενέργεια ήταν μια ήπια γαστρεντερική διαταραχή. Μακροπρόθεσμη αγωγή, για περίπου πέντε μήνες, με ημερήσια χορήγηση 125mg ενός άλατος βαναδίου, προκάλεσε σχεδόν στα μισά των εξετασθέντων υποκειμένων (ασθενείς με παθήσεις στεφανιαίων αρτηριών), ανορεξία, απώλεια βάρους και κοιλιακό πόνο.

Έχει επίσης επισημανθεί ότι η στοματική χορήγηση του άλατος θειικού βαναδυλίου στους ανθρώπους, δεν έχει καμία επίδραση στο ιξώδες και στην βιοχημεία των κυττάρων του αίματος. Οι μελέτες για τα ζώα έδειξαν ότι η χορήγηση ενώσεων βαναδίου προκάλεσαν ποικίλα τοξικών αποτελεσμάτων. Λειτουργικές διαταραχές και ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του ήπατος και των νεφρών είναι τα πλέον συνήθη τοξικά αποτελέσματα. Στοματική χορήγηση του  $\text{NaVO}_3$  (μεταξύ 5 και 10μM, στο πόσιμο ύδωρ), επί τρίμηνο, προκάλεσε ήπια και δόσο-εξαρτώμενα ιστοπα-θολογικά τραύματα στα νεφρά και στον σπλήνα, που συνοδεύονται από ηυξημένες συγκεντρώσεις ουρίας και ουρικού οξέος, στο πλάσμα αίματος και στις υψηλότερα εκτεθεισες ομάδες. Έχουν επίσης αναφερθεί βανάδιο-προκληθείσες χρωμοσωματιδιακές μεταλλάξεις και ανευπλοειδή τελικά σημεία του μυελού των οστών, σε επίμυες, ύστερα από ενδογαστρική αγωγή με θειικό βαναδύλιο, ορθοβαναδικό νάτριο και θειικό αμμώνιο, [Ciranni R., et al, 1995], [Κουτσελίνης Α., "Τοξικολογία", 1997].

Οι μελέτες στους νεαρούς και ενήλικες αρουραίους που λαμβάνουν ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις του ορθοβαναδικού νατρίου (10 mg/kg/ημέρα και για οκτώ διαδοχικές ημέρες), αποκάλυψαν ότι το βανάδιο μπορεί να προκαλέσει νεφροτοξικότητα, η δριμύτητά της οποίας συσχετίζεται με την ηλικία των ζώων, που μελετήθηκαν, [Ciranni R., et al, 1995]. Σημαντική υποβάθμιση στην γενική δραστηριότητα και στην ικανότητα εκμάθησης, έχει επίσης παρουσιαστεί στους υγιείς αρουραίους, στους οποίους χορηγήθηκε βανάδιο στοματικά, σε δόσεις μεταξύ 4,1 και 16,4 mg/kg/ημέρα και για οκτώ εβδομάδες. Τα τοξικά αποτελέσματα των ενώσεων βαναδίου, στις αναπαραγωγικές και αναπτυξιακές λειτουργίες των αρουραίων και των ποντικιών, ως μία αρνητική καταγραφή στο ποσοστό σύλληψης και εμβρυϊκής ανάπτυξης, είναι επίσης καλώς επιβεβαιωμένα στην βιβλιογραφία. Εντούτοις μελέτες σε υγιείς και σε διαβητικούς αρουραίους δεν έδειξαν σημαντικές μεταβολές στις

αιματολογικές παραμέτρους, στην ηπατική και στη νεφρική λειτουργία, ή χαρακτηριστικές μορφολογικές ανωμαλίες, των διαφόρων οργάνων.

Στο παρόν Εργαστήριο Φυσιολογίας έχει αποδειχθεί ότι η στοματική χορήγηση, τόσο του θειικού βαναδουλίου, όσο και του συμπλόκου V(III) - κυστεινής σε άρρνες επίμυες Wistar, για εννιά εβδομάδες και για καθημερινές δόσεις βαναδίου 14 mg/kg, δεν προκάλεσε καμμία αιματολογική, βιοχημική και ιστοπαθολογική αλλοίωση. Οι άρρνες επίμυες Wistar, που αντιμετωπίστηκαν με το σύμπλοκο V(III) - κυστεινής παρουσίασαν μια μικρή αύξηση βάρους, σε αντίθεση με τους άρρνες επίμυες Wistar, που αντιμετωπίστηκαν με θειικό βαναδύλιο, οι οποίοι παρουσίασαν μια μικρή απώλεια βάρους, αλλά αμφότεροι οι πληθυσμοί δεν ήταν σημαντικά διαφοροποιημένοι, από τους αντίστοιχους- φύλλου και ηλικίας- πληθυσμούς αναφοράς- ελέγχου, [Kresja C.M., et al, 1998]. Επιπλέον, μακροπρόθεσμη (μεταξύ 4 και 6 μηνών), στοματική χορήγηση βαναδίου (III και IV) σε καθημερινές δόσεις 0,5mgV/kg, δεν επέφεραν κανένα τοξικό αποτέλεσμα, στους καρκινοπαθείς αρουραίους, [Evangelou A., et al, Cancer Letters, 115(1), 105-111, 1997]. Η οξεία τοξικότητα των ενώσεων βαναδίου στα ζώα περιλαμβάνει την απώλεια όρεξης, την αφυδάτωση, την σημαντική μείωση του σωματικού βάρους, την αδυναμία, την ρινική αιμορραγία, την πνευμονική αιμορραγία, την νέκρωση των λυμφοειδών (lymphoid) ιστών, την σωληναριακή νέκρωση νεφρών και τελικά τον θάνατο. Τέτοια αποτελέσματα είναι χρόνο- και δόσο- εξαρτώμενα, τόσο στην υποδόρια, όσο και στην ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση των βαναδιούχων ενώσεων.

Η φύση επίσης μιας βαναδιούχου ενώσεως μπορεί να συσχετίζεται με τα οξέα τοξικά αποτελέσματα του βαναδίου, με το V(V) να είναι, γενικά, τοξικότερο από το V(III), [Altamirano-Lozano M., et al, 1999]. Τα οξειδία του βαναδίου φαίνεται να είναι τοξικότερα, από τα άλατα βαναδίου. Επί παραδείγματι έχει αναφερθεί η γενοτοξική καταστροφή τεσσάρων διαφορετικών οργάνων (συκώτι, σπλήνα, καρδιά και μυελός των οστών), στα αρσενικά ποντίκια, που θεραπεύονται με ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις πεντοξειδίου του βαναδίου (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), σε δόσεις μεταξύ 5,75 και 23,0 μg/g, [Altamirano-Lozano M., et al, 1999].

Η τοξικότητα των υπερόξυ- έτερο-υποκατεστημένων βαναδικών (V) (peroxo heteroligand vanadates) στα ποντίκια μειώθηκε, μετά από την χηλικοποίηση των έτερο-υποκαταστατών και η τοξικότητα των βαναδιούχων αλάτων ήταν επίσης διαφοροποιημένη, μέσα στην ευρεία περιοχή των αλάτων βαναδίου (speciation), [Djordjevic C., et al, 1985]. Οι βραχυ- και μακροπρόθεσμες παρενέργειες των ενώσεων βαναδίου συσχετίζονται επίσης, με την ταχύτητα συσσώρευσης του μετάλλου, σε ορισμένα όργανα και ιστούς, του εκτιθέμενου οργανισμού, [Cortizo A.M., et al, 2000]. Συμπερασματικά, οι βαναδιούχες ενώσεις δεν επιφέρουν σημαντικά τοξικά αποτελέσματα, **1)**- όταν χορηγούνται από στόματος, **2)**-όταν η διάρκεια της χορήγησης αποτρέπει την σοβαρή συσσώρευση στα όργανα- στόχους και **3)**- όταν η συνολική και καθημερινή δόση (ανά kg βάρους) είναι κάτω από τα τοξικά όρια, της χρησιμοποιούμενης ένωσης.

Η πλειονότητα των μελετών που πραγματοποιούνται, επάνω σε διάφορους τύπους κυττάρων κατέδειξαν μόνο μια πιθανή καρκινική δράση των αλάτων βαναδίου, [Sabbioni E., et al, 1993]. Επίσης τα δυναμικά μεταλλαξιογόνα αποτελέσματα του βαναδίου έχουν

συσχετισθεί, τόσο με την ίδια τη φύση των βαναδιούχων ενώσεων, όσο και με τις βανάδιο- παραγόμενες δραστικές μορφές του οξυγόνου, [Halliwell Barry, and Gutteridge John M.C., 1985 και 1999]. Η πρόκληση καρκίνου από τις βαναδιούχες ενώσεις, στα πειραματόζωα έχει μέχρι τώρα αποδειχθεί ανεπιτυχής.

#### **4.5 ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΒΑΝΑΔΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΣΕ ΖΩΑ ΦΕΡΟΝΤΑ ΟΓΚΟΥΣ.**

Οι χημειο-παρεμποδιστικές (Chemopreventive) και αντικαρκινικές (Antitumor) επιδράσεις των ενώσεων βαναδίου έχουν ερευνηθεί ευρέως, τόσο σε εργαστηριακά μοντέλα πειραματόζωων, όσο και σε διάφορους τύπους κακοήθων κυτταρικών σειρών. Τα πρώτα στοιχεία έδειξαν ότι το βανάδιο μπορεί να ασκήσει τα χημειο-παρεμποδιστικά αποτελέσματα στην πειραματικώς προκληθείσα καρκινογένεση, στην **MNU-1** μαστική καρκινογένεση, προκληθείσα στους θηλυκούς αρουραίους Sprague-Dewley, από την 1-μέθυλο-1- νιτρωδο-ουρία. Χορήγηση 25μM άλατος θειικού βαναδυλίου (IV), στην ημερήσια σίτιση των ζώων οδήγησε, στην μείωση τόσο της εμφάνισης καρκίνου, όσο και του μέσου όρου του αριθμού των όγκων αυτών καθ' εαυτών, καθώς και στην επιμήκυνση του μέσου χρόνου ελεύθερου απ' τον καρκίνο. Περαιτέρω μελέτες στην μαστική καρκινογένεση, των θηλυκών αρουραίων Sprague-Dewley, προκληθείσα από το DMBA (7,12-διμεθυλο-βενζο-α-ανθρακένιο) αποκάλυψε ότι συμπληρωματική χορήγηση μονοβαναδικού αμμωνίου (0,5μM) στο πόσιμο ύδωρ, παρεχόμενο ad libitum στους αρουραίους, οδήγησε σε σημαντική μείωση της προσβολής, του συνολικού αριθμού, της πολλαπλότητας και του μεγέθους των ψηλαφητών όγκων, καθώς επίσης και σε καθυστέρηση της μέσης λανθάνουσας περιόδου, εμφάνισης των όγκων. Οι χημειο-παρεμποδιστικές επιδράσεις του βαναδίου στην DMBA- προκληθείσα μαστική καρκινογένεση πραγματοποιήθηκαν μέσω της μεταλλαγής της ηπατικής αντιοξειδωτικής καταστάσεως των ζώων, καθώς επίσης και μέσω της διαμόρφωσης των φαρμακο-μεταβολικών ενζύμων, της φάσης **I** και της φάσης **II**.

Οι χημειο-παρεμποδιστικές επιδράσεις του διαιτητικού μεταβαναδικού αμμωνίου (0,5μM) αναφέρθηκαν περαιτέρω και ενάντια του **DEN-** (διαίθυλο-νιτρωδο-αμίνη) προκληθέντος καρκίνου, προαχθέντος με φαινο-βαρβιτάλη, στην ηπατική καρκινογένεση, των αρσενικών και θηλυκών ποντικών Sprague- Dawley, [Bishayee A., et al, 1997]. Οι χημειο-παρεμποδιστικές και αντικαρκινικές επιδράσεις των ενώσεων βαναδίου βρέθηκε ότι διαμεσολαμβάνεται μέσω της αναστολής των μεταλλαγμένων εστιάσεων των ηπατικών κυττάρων και της ηπατικής αύξησης εστιών κατά τη διάρκεια των πρώιμων σταδίων του νεοπλασματικού μετασχηματισμού. Η αντιστροφή των κυτταρικών ηπατικών εστιάσεων και της αύξησης των ηπατικών μορφωμάτων, λόγω της χορήγησης συμπληρωμάτων βαναδίου, συσχετίσθηκε επίσης με την ενεργότητα της γ-γλουταμινικής τρανς-πεπτιδάσης (glutamyl transpeptidase) και με την αποκατάσταση των παθολογικών αιματολογικών παραμέτρων, όπως ο αιματοκρίτης, η αιμοσφαιρίνη και ο αριθμός των ερυθρο-κυττάρων του αίματος. Η κανονικοποίηση της μειωμένης συγκέντρωσης της λευκωματίνης του πλάσματος και της μειωμένης αναλογίας λευκωματίνης/σφαιρίνης των ζώων, συσχετίσθηκε επίσης με την

ουσιαστική προστασία, που παρέχουν οι διάφορες ενώσεις του βαναδίου, κατά της DEN-επαγόμενης καρκινογένεσης.

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι η αντικαρκινική δραστηριότητα του βαναδίου είναι ισχυρότερη κατά την έναρξη, παρά στο στάδιο της εξέλιξης της ηπατικής καρκινογένεσης. Περαιτέρω μελέτες επάνω στην επίδραση των τροφικών συμπληρωμάτων βαναδίου (0,5μM) κατά της DEN- προκληθείσης ηπατο-καρκινογένεσης στους ποντικούς Sprague Dawley αποκαλύπτουν ότι τα χημειο-ανασταλτικά αποτελέσματα εξυπηρετούνται πιθανώς, μέσω μιας διέγερσης των εμπλεκόμενων (conjugating) ενζύμων της φάσεως II, τα οποία στη συνέχεια οδηγούν σε μια μετακίνηση και μετατόπιση του ηπατικού μεταβολισμού, που μειώνουν την ενδοκυττάρια συγκέντρωση των παραγομένων καρκινογόνων δραστικών ενδιαμέσων. Τέλος η ταυτόχρονη χορήγηση του βαναδίου και του ενεργού μεταβολίτη της βιταμίνης D(3), πάνω στην DEN- προκληθείσα ηπατική καρκινογένεση, στους ποντικούς Sprague Dawley, δείχνει ότι η χημειο-ανασταλτική επίδραση του ανωτέρω συνδυασμού οφείλεται πιθανώς, στην σημαντική προστατευτική δράση, κατά της γενετικής ζημίας των ηπατικών κυττάρων και συγκεκριμένα κατά της αλκυλίωσης, που προκαλείται από την DEN. Οι αντικαρκινικές δράσεις των ενώσεων βαναδίου έχουν επίσης καταδειχθεί στους άρρενες επίμυες Albino, που έφεραν μεταμοσχεύσιμο περιτοναϊκό (Ascetic) λέμφωμα Dalton (DL). Μεταβαναδικό αμμώνιο, που χορηγείται στις χαμηλές δόσεις, παράτεινε την επιβίωση των DL-φορέων ποντικών, αυξάνοντας τα επίπεδα διαφόρων αποτοξινωτικών ηπατικών ενζύμων: **α)**- τρανσφεράση της γλουταθειόνης, **β)**- της UDP-γλυκουρονικής τρανσφεράση) και **γ)**- του κυτοχρώματος P450. Μεταβαναδικό αμμώνιο σε ημερήσιες χορηγήσεις των 0,005μg/0,1 ml/mouse προκάλεσαν επίσης, σημαντική μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού των όγκων στους DL-φορείς Albino επίμυες, μέσω μιας σημαντικής τετραπλάσιας αύξησης της ερυθροποιητίνης (Erythropoietin), η οποία βελτίωσε τις αιματολογικές παραμέτρους των θεραπευθέντων ξενιστών και ενδεχομένως διαδραμάτισαν έναν ζωτικής σημασίας ρόλο, στη ρύθμιση της αύξησης της κυτταρικής νεοπλασίας. Υπάρχουν, εντούτοις, στοιχεία ότι το μεταβαναδικό αμμώνιο, σε υψηλότερες ημερήσιες δοσολογίες των 0,01-0,1μg/mouse και καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, μπορεί να οδηγήσει σε μια σημαντική δόσο-εξαρτώμενη αύξηση των αριθμών των καρκινικών κυττάρων και σε μείωση της επιβίωσης των DL-φορέων επίμυων albino, που ακολουθείται από μια απότομη αύξηση της δραστηριότητας της ηπατικής γλουταθειόνης-S-τρανσφεράσης και από μια αριστερή μετατόπιση της αιχμής του περιεχομένου P450, στους βανάδιο-τροφοδοτηθέντες επίμυες. Υποδόριες χορηγίες ορθοβαναδικών, σε ημερήσια δοσολογία των 500μg/mouse και σε διάρκεια εννέα ημερών, κατέληξαν σε μια σημαντική - μέχρι 85-100%- μείωση της ανάπτυξης των όγκων MDAY-D2 σε επίμυες, η οποία πιθανώς οφειλόταν στην παραγωγή υδροξυλικών και άλλων δραστικών ριζών οξυγόνου, από τα βαναδικά (V) ανιόντα, [Cruz T.F., et al, 1995]. Διάφορες υπεροξει-βαναδικές (V) ενώσεις προκαλούν σημαντικές αντικαρκινικές δράσεις σε καρκινοπαθείς επίμυες και η δραστηριότητα τους εξαρτάται από την φύση του ετερο-υποκαταστάτη, [Djordjevic C., et al, 1995] και [Djordjevits C., et al, 1985]. Πρόσφατα εργαστηριακά μας αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι, τόσο το άλας **θειικό βαναδύλιο** (IV), όσο και το οργανικό σύμπλοκο του **βαναδίου με την κυστεΐνη**, που χορηγήθηκαν στοματικά, σε ημερήσια δοσολογία

χαμηλών συγκεντρώσεων βαναδίου, των 0,5mg/kg, αμφότερα επέφεραν σημαντικά θεραπευτικά αποτελέσματα στους καρκινοπαθείς **-με λειομυοσάρκωμα-** επίμυες **Wistar**, με το σύμπλοκο ωστόσο της βανάδιο(III)-κυστεΐνης, να είναι πλέον ισχυρό και λιγότερο τοξικό, από το άλας θειικού βαναδυλίου (IV), [Evangelou A., et al, Cancer Letters, 119(2), 221–25, 1997] και [Liasko R., et al, 2000]. Αναφέρθηκε επίσης ότι, η χορήγηση βαναδικών ενώσεων (V) στο διατροφικό ή πόσιμο ύδωρ, είχε μικρή ή και καμία επίδραση στον καρκίνο του παχέος εντέρου, των καρκινοπαθών επίμυων, που προκλήθηκε από την 1,2-διμεθυλο-υδραζίνη. Όμως τα βαναδοκένια και κυρίως το διχλωριούχο βαναδοκένιο, αποδείχθηκαν ισχυροί αντικαρκινικοί παράγοντες, ενάντια στον ενδοπεριτοναϊκό μαστικό όγκο ποντικών **TA3Ha**, [Djordjevits C., 1995]. Χορήγηση του **διχλωριούχου βαναδοκενίου** ενδοπεριτοναϊκά και σε δοσολογία 100-600mg/kg) στα ποντίκια, φορείς ασκητικών όγκων Ehrlich CF1, αποκάλυψε, ότι η κυτταροστατική δράση των βαναδοκενίων οφείλεται στη μοριακή αλληλεπίδραση, του βαναδίου με τα νουκλεϊνικά οξέα και ειδικότερα με το DNA. Επιπλέον, οι αντικαρκινικές επιδράσεις του διχλωριούχου βαναδοκενίου ενάντια στον καρκίνο του παχέος εντέρου και των πνευμόνων, του ανθρώπου που μεταμοσχεύθηκαν στα αθυμικά ποντίκια, αποδείχθηκε ότι οφείλονται στην: **α)-** συσσώρευση βαναδίου σε περιοχές πλούσιες με νουκλεϊνικά οξέα και **β)-** στην παρεμπόδιση της σύνθεσης των DNA και RNA στα καρκινικά κύτταρα, [Harding M.M., et al, 2000].

Συγκεντρωτικά, αυτές οι πειραματικές μελέτες αποδεικνύουν ότι οι διάφορες ενώσεις του βαναδίου ασκούν: **α)-** χημειο-προστατευτικές δράσεις, ενάντια στην χημικώς-προκληθείσα καρκινογένεση, κυρίως μέσω της αδρανοποίησης των καρκινο-παραγόμενων ενεργών μεταβολιτών, μέσω της διαμόρφωσης της συγκεντρώσεως και της δραστηριότητας, των διάφορων ηπατικών ξеноβιοτικών ενζύμων, καθώς και των υποστρωμάτων μεταβολισμού (P450) ή/και της αύξησης της αντιοξειδωτικής καταστάσεως των οργάνων-στόχων των καρκινογόνων ουσιών, οι οποίες ενεργούν κυρίως στη φάση I (έναρξης) και αφέτερου φάση II (προώθησης), της χημικής καρκινογένεσης, **(β)-** αντινεοπλασματικά αποτελέσματα στα ζώα-φορείς όγκων, είτε μέσω της συσσώρευσης του βαναδίου στις πλούσιες περιοχές νουκλεϊνικών οξέων, παρεμποδίζοντας τοιουτοτρόπως την σύνθεση των DNA και RNA, ή/και προκαλώντας την παραγωγή των δραστικών κυτταροτοξικών μορφών οξειγόνου στα καρκινικά κύτταρα. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι οι βαναδιούχες ενώσεις μπορούν επιπλέον, να ασκήσουν εξειδικευμένες συστημικές επιδράσεις, που ευνοούν την επιβίωση, ή/και που ρυθμίζουν την αύξηση όγκων, στα ζώα-φορείς καρκίνου. Επιπροσθέτως εκτεταμένες έρευνες, σε κυτταρικές σειρές φυσιολογικών και κακοήθων κυττάρων, έχουν παράσχει τις λεπτομερειακές αναλυτικές πληροφορίες, αναφορικά με τις διαφορετικές εκείνες οδούς, μέσω των οποίων οι βαναδιούχες ενώσεις, μπορούν να ασκήσουν τα αντικαρκινικά τους αποτελέσματά, (Εικόνα 4.1).

#### **4.6 ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΕΠΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

Η ιδανική αντικαρκινική αγωγή, με την χρήση οιασδήποτε χημικής ένωσης, θα πρέπει να εκπληρώνει ορισμένα κριτήρια και να επιφέρει τα ακόλουθα εκλεκτικά αποτελέσματα, στα κακοήθη κύτταρα: **α)-** μείωση του ρυθμού αύξησης κυττάρων (αντιπολλαπλασιαστική

επίδραση), **β**- κυτταροτοξικές ή/και κυτταροστατικές επενέργειες, που πραγματοποιούνται, είτε μέσω του νεκρωτικού, είτε μέσω προγραμματισμένου κυττάρικου θανάτου (apoptosis), **γ**- μείωση ή/και αναστολή της διεισδυτικής ή μεταστατικής δυνατότητας των κυττάρων και **δ**- μειωμένη, έως και ανύπαρκτη δυναμικότητα, στην πρόκληση κυτταρικής αντίστασης. Οι ενώσεις βαναδίου **κατέχουν όλες αυτές τις ιδιότητες**, που ασκούνται, είτε ανεξαρτήτως, είτε και ταυτοχρόνως, μέσω ποικίλων κυτταρικών μηχανισμών, που θα αναθεωρηθούν εν συντομία. Τόσο τα αντικαρκινικά αποτελέσματα, όσο και οι μηχανισμοί που ασκούνται από τις ενώσεις βαναδίου, έχουν ερευνηθεί σε μια ποικιλία κακοήθων κυτταρικών σειρών, μεταξύ των οποίων τα ανθρώπινα κυτταρικά λεμφώματα Β και τα λευχαιμικά κύτταρα Τα, [Kresja C.M., et al, 1997], η ερυθρολευχαιμία, η βασοφιλική λευχαιμία αρουραίων, τα λευχαιμικά κύτταρα L1210, [Djordjevic C., 1995], [Djordjevitc C., et al, 1985] και [Lissauer H., "Zwei Fälle von Leukaemie", 1865], HL-60 και M07e ηπατώματα ανθρώπων και αρουραίων, [Posner B.I., et al, 1994], [Kopf-Majer P., 1994], καρκίνωμα ανθρώπινων ωοθηκών, ορχικός καρκίνος, ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα, [Sakurai H., et al, 1995], λαρυγγικό καρκίνωμα, οστεοσάρκωμα, [Cortizo A.M., et al, 2000], καθώς επίσης και ασκτικό καρκίνωμα Ehrlich, [Cortizo A.M., et al, 2000], [El-Naggar M.M., et al, 1998], καρκινικά νευροβλαστώματα ποντικών και αρουραίων, γλοιώματα αρουραίων, [Faure R., et al, 1995], επιδερμικός καρκίνος ποντικών JB6 P+, [Posner B.I., et al, 1994], [Huang C., et al, 1998], [Ding M., et al, 1999], πνευμονικό καρκίνωμα Lewis και τα κύτταρα Hela [Aubrecht J., et al, 1999], είναι οι πλέον κοινά χρησιμοποιούμενες κυτταρικές σειρές.

#### **4.7 ΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΑΝΑΔΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟ.**

Έχει καταδειχθεί ότι οι σύμπλοκες ενώσεις του βαναδίου ασκούν είτε αντιπολλαπλασιαστική, είτε σε μερικές περιπτώσεις και πολλαπλασιαστική επίδραση, στους διάφορους τύπους κυττάρων. Παραδείγματος χάριν έχει διαπιστωθεί ότι, τα υπεροξυβαναδικά σύμπλοκα, μειώνουν την ταχύτητα του πολλαπλασιασμού, κυτταρικών καλλιιεργειών νευρο-βλαστωμάτων NB41 και γλοιωμάτων C6, [Faure R., et al, 1995], ενώ στους ινοβλάστες επίμυων C3H10T1, τα υπερβαναδικά, που δημιουργούνται in situ επιφέρουν ηυξημένη πολλαπλασιαστικότητα. Έχουν επίσης αναφερθεί διφασικές επιδράσεις διαφόρων βαναδιούχων αλάτων, όπως το μεταβαναδικό αμμώνιο ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ), το τριένυδρο θειικό βαναδύλιο ( $\text{VO}_4^{3-} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) και ορθοβαναδικό νάτριο ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ), στην in vitro αύξηση νεοπλασματικών αποικιών. Τα διάφορα βαναδιούχα άλατα σε επίπεδα χαμηλών ( $<10^{-10}\text{M}$ ) συγκεντρώσεων διεγείρουν, ενώ σε επίπεδα υψηλότερων ( $>10^{-10}\text{M}$ ) συγκεντρώσεων παρεμποδίζουν το σχηματισμό αποικιών, στα ανθρώπινα νεοπλάσματα. Τα αντιπολλαπλασιαστικά αποτελέσματα των βαναδιούχων ενώσεων πάνω σε φυσιολογικές και κακοήθεις κυτταρικές αποικίες φαίνεται να ασκούνται κυρίως, μέσω της αναστολής (arrest) του κυτταρικού κύκλου. Μετρήσεις σε φθορισμομετρικώς ενεργοποιηθέντα κυτταρικά δείγματα αποκάλυψαν ότι το μοριακό συγκρότημα των υπεροξειβαναδικών αναστέλλει μεν στις χαμηλές ( $\mu\text{M}$ ) συγκεντρώσεις και μη αντιστρεπτά σε υψηλότερες

συγκεντρώσεις, την μετάπτωση G2-M, του κυτταρικού κύκλου των καρκινικών κυττάρων, πράγμα που οδηγεί σε μια σημαντική καταστολή της ταχύτητας αύξησης αυτών, [Faure R., et al, 1995]. Η καταστολή του κυτταρικού κύκλου, που προκαλείται από την παρουσία βαναδιούχων συμπλόκων αλάτων, φαίνεται να πραγματοποιείται μέσω της αναστολής της PTP, η οποία στη συνέχεια αποφωσφορυλιώνει τις υπομονάδες του συμπλέγματος **κυκλίνης-B**. Η φωσφορυλίωση της υπομονάδας **p34<sup>cdc2</sup>** του συμπλέγματος p34<sup>cdc2</sup>-κυκλίνης είναι θεμελιώδους σημασίας στην πρόοδο και την εξέλιξη του φαινομένου της μίτωσης, [Tsiani E., et al, 1997]. Το μπλοκάρισμα του κυτταρικού κύκλου υπό των βαναδιούχων συμπλόκων, μπορεί επίσης να ασκείται μέσω της ενεργοποίησης της μιτογόνου-εξαρτώμενης πρωτεϊνικής κινάσης (της υπεροικογενείας MAPK), στην ενεργοποιημένη οδό διαβίβασης σήματος. Τα κατιόντα βαναδυλίου V(IV) ενεργοποιούν την **p38 MAPK** και προκαλούν αύξηση του πυρηνικού παράγοντα μεταγραφής-κΒ (**NF-κΒ**), ενός παράγοντα που περιλαμβάνεται, τόσο στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, όσο και στην απόπτωση, των ανθρώπινων βρογχικών επιθηλιακών κυττάρων, [Jaspers I., et al, 2000]. Οι βαναδιούχες ενώσεις μπορούν επίσης να προκαλέσουν, τόσο αντιπλασσιαστικά, όσο και κυτταροτοξικά αποτελέσματα, μέσω των αλληλεπιδράσεων με το **DNA**. Τα σύμπλοκα του βαναδοκενίου αλληλεπιδρούν με τις φωσφορο-νουκλεοτιδικές ομάδες του DNA, διαμορφώνοντας μια ευκίνητη και ασταθή εξωτερική σφαίρα συμπλέξεως, μέσω ενός μορίου ύδατος. Ο χαρακτήρας της αλληλεπίδρασης του διχλωροβαναδοκενίου με το DNA αποδεικνύεται διαφορετικός από εκείνον της cis-πλατίνας, η οποία σχηματίζει ομοιοπολικές ενώσεις προσθήκης με το DNA, οι οποίες είναι ενδεχομένως ισχυρά μεταλλαξιογόνα, [Djordjevitc C., 1995], [Kopf-Majer P., 1994] και [Rosenberg B., "Noble Metal Complexes in Cancer Chemotherapy", 1977]. Τα διχλωριούχα μεταλλοκένια, στα οποία συγκαταλέγεται και το διχλωρο-βαναδοκένιο προκαλούν τροποποιήσεις και αλλαγές στον μεταβολισμό των νουκλεϊνικών οξέων, [Sakurai H., et al, 1980] και σχηματίζουν μοριακά σύμπλοκα συγκροτήματα της μορφής μεταλλοκένιο-DNA, όπως έχει καταδειχθεί από υπερδομικές μελέτες, [Harding M.M., et al, 2000]. Ποικίλες βαναδιούχες ενώσεις βαναδίου, εξάλλου προκαλούν το σχίσσιμο του DNA in vivo και in vitro, [Lloyd D.R., et al, 1997] και [Lloyd D.R., et al, 1998]. Πολλές σειρές πειραματικών δεδομένων παρέχουν ενδείξεις, ότι τα άλατα των V(IV) και V(V) προκαλούν θραύση του DNA, όχι δι' απ' ευθείας αντιδράσεως με τα δομικά συστατικά του DNA, αλλά κυρίως εμμέσως, διά της παραγωγής εξόχως δραστικών μορφών οξυγόνου και ιδιαίτερα δραστικών υδροξυλικών ελευθέρων ριζών (**OH·**), που παράγονται εντός των κυττάρων. Επώαση του DNA με κατιόντα βαναδυλίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου, οδηγούν σε έντονη θραύση του DNA, που προκαλείται κυρίως από το (OH·), που παράγονται εντός των κυττάρων, κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων του κατιόντος βαναδυλίου και του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, όπως καταδεικνύεται με τεχνική ESR Spin Trapping (ST-ESR). DNA σπέρματος σολομών, που εκτίθεται σε κατεργασία μίγματος H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και κατιόντων V(III), προκάλεσαν θραύσεις μονών και διπλών ελίκων, με την μεσολάβηση αντιδράσεων Fenton. Η δημιουργία της 8-υδροξυ-2'-δεσοξυγουανοσίνης (**8-OHdG**) αποκάλυψε επίσης, έναν καλό συσχετισμό με το σχηματισμό θραυσμάτων διπλών ελίκων, πράγμα που εισηγείται ότι αυτές μπορούν να προκύψουν, από έναν παρόμοιο μηχανισμό, [Lloyd D.R., et al, 1998].



Οι αντιδράσεις Fenton εμπλέκονται επίσης στην παραγωγή των συνδέσεων των ελίκων του DNA, καθώς και των στρωματικών θραυσμάτων, που προκαλούνται υπό του βαναδίου (III) και άλλων μετάλλων μεταπτώσεως, όπως ανιχνεύονται από την ηλεκτροφόρηση πηκτωμάτων αгарόζης, στο DNA του σπέρματος των σολομών, [Lloyd D.R., et al, 1998]. Ένα πρόσφατα συνθετικό Vanadyl-1,10-Phenathroline σύμπλοκο  $[VO(phen)_2]^{+++}$ , που παρεμποδίζει την αύξηση των ανθρώπινων ρινοφαρυγγικών καρκινικών κυττάρων **KB**, βρέθηκε να διασπά αποτελεσματικά το υπερελικοειδές (supercoiled) πλασμίδιο **Col E1** DNA, όταν προστέθηκε υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η τεχνική ST-ESR, κατέδειξε ότι οι δραστικές μορφές, οι υπεύθυνες για την σχάση του DNA, ήταν ρίζες υδροξυλίου, που παρήχθησαν στο σύστημα  $[VO(phen)_2]^{+++} - H_2O_2$ , [Sakurai H., et al, 1995]. Τα κατιόντα βαναδυλίου (IV) προκαλούν την άμεση οξειδωτική καταστροφή του DNA, στα ανθρώπινα ηπατικά κύτταρα Chang -όπως καταδεικνύεται με τον οξειδο-αναγωγικό δείκτη κυανού του μεθυλενίου- υποβαθμίζοντας τις 2N και 4N φάσεις DNA στα G1, S και G2/M στάδια κυτταρικού κύκλου, όπως αποκαλύπτεται από τη αξιολόγηση των δεδομένων της κυτταρομετρικής ροής, στην εξειδικευμένης- κυκλικής φάσεως σύνθεση DNA. Εντούτοις δεν θα πρέπει να αποκλεισθούν οι άμεσες αντιδράσεις, μερικών οξειδίων του βαναδίου, με το DNA. Οι μελέτες με τη διάταξη μονοκύτταρης ηλεκτροφόρησης πηκτωμάτων (Comet Assay) και την μετανάστευση DNA, αποκάλυψαν ότι το πεντοξείδιο του βαναδίου ( $V_2O_5$ ) προκαλεί μονοστρωματικά θραύσματα DNA, **α)**- σε καλλιέργειες λευκοκυττάρων ολικού αίματος, **β)**- σε καλλιέργειες ανθρώπινων λεμφοκυττάρων, καθώς επίσης και **γ)**- σε καλλιέργειες ορχικών κυττάρων, μέσω μίας σαφώς δοσο-εξαρτώμενης αντίδρασης, [Altamirano-Lozano M., et al, 1999].

#### **4.8- ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΑΝΑΔΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.**

Η νέκρωση και η απόπτωση οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο, μέσω δύο μορφολογικά διακριτών τρόπων (οδών). Η **νέκρωση (necrosis)** είναι ένα αποτέλεσμα της κυτταρικής διογκώσεως, την οποία επιφέρουν: **α)**- κυτταροτοξικές επιδράσεις, χωρίς μορφολογικές πυρηνικές αλλοιώσεις και **β)**- κυτταρικό θάνατο, οφειλόμενο στην καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης, με συνέπεια την διαρροή των συστατικών, τόσο του κυτταροπλασματικού, όσο και του πυρηνικού περιεχόμενου. Η **απόπτωση (apoptosis)**, επίσης γνωστή ως προγραμματισμένος θάνατος των κυττάρων, χαρακτηρίζεται κυρίως από: **α)**- πυρηνική και κυτταροπλασματική συμπύκνωση, **β)**- πυρηνικό τεμαχισμό, **γ)**- πομφολυγοποίηση μεμβρανών, καθώς επίσης και **δ)**- από την εμφάνιση μικρών σφαιρικών, κυτταροσολικών θραυσμάτων, που περιέχουν πυκνωτικά κατάλοιπα των πυρήνων, τα οποία καλούνται αποπτωτικά σώματα. Εμπλέκεται σε ποικίλες φυσιολογικές διαδικασίες, αλλά η ακατάλληλη ρύθμιση της απόπτωσης, μπορεί να διαδραματίσει έναν σημαντικό ρόλο, σε πολλές παθολογικές καταστάσεις, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και ο καρκίνος. Υπάρχει μια ποικιλία των εξωκυττάρων και ενδοκυτταρικών ερεθισμάτων, που ρυθμίζουν: **α)**- τις κυτταρικές μεταβάσεις σημάτων, **β)**- τα μεταβατικά γεγονότα στον πυρήνα και **γ)**- προκαλούν κυτταρική απόπτωση.

Οι επιδράσεις που ασκούνται από τις ενώσεις βαναδίου: **α)**- τόσο στην ταχύτητα κυτταρικού πολλαπλασιασμού, **β)**- όσο και στην διαφοροποίηση κυττάρων, σε αντίθεση με την απόπτωση, δυνατόν να διαμεσολαβούνται, από τις ενδοκυττάριας ματάβασεις σημάτων και όχι πάντοτε. Η διαμόρφωση ορισμένων ενδοκυτταρικών διαβιβαστών, από το βανάδιο, μπορεί να επηρεάσει έναν αριθμό κυτταρικών λειτουργιών, μεταξύ των οποίων είναι: **α)**- η ταχύτητα αύξησης των κυττάρων, **β)**- η διαφοροποίηση των κυττάρων, **γ)**- ο μετασχηματισμός των κυττάρων, **δ)**- η μείωση της προσκόλλησης των κυττάρων και **ε)**- ο προγραμματισμένος θάνατος κυττάρων. Συγκεντρωτικές ενδείξεις καταδεικνύουν, ότι οι ενώσεις βαναδίου διαμορφώνουν την έκταση και την διάρκεια της φωσφορυλίωσης, ενός αριθμού πρωτεϊνών όπως οι AP-1, MEK-1, ERK-1, JNK-1, PI-3K και NF-κB, [Morinville A., et al, 1998], [Huang C., et al, 1998], [Ding M., et al, 1999], [Pandey S.K., et al, 1995] βασικές πρωτεϊνικές κλειδιά, στις οδούς των διαβιβαστών σήματος, που συνδέονται: **α)**- με την παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου και **β)**- με την καταστροφή του DNA. Η ενεργοποίηση των διαβιβαστών οδών των σημάνσεων των κυττάρων εξυπηρετείται, μέσω της φωσφορυλίωσης των τυροσινών, εξαρτώμενη από τη ενεργότητα των κυτταροσολικών πρωτεϊνικών φωσφατασών της τυροσίνης και των φωσφοκινασών, οι οποίες ρυθμίζουν την φωσφορυλίωση και αποφωσφορυλίωση των πρωτεϊνών εκείνων, που είναι κρίσιμες για τη μεταγωγή των σημάτων. Τόσο η αδρανοποίηση των φωσφατασών, όσο και η ενεργοποίηση των φωσφοκινασών οδηγούν στην: **α)**- συσσώρευση υπολειμμάτων, διαφόρων φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνικών τυροσινών, σε αρκετά κύτταρα, **β)**- στην παραγωγή των δεύτερων αγγελιοφόρων, **γ)**- στην ενεργοποίηση των down-stream κινασών και **δ)**- στην ενεργοποίηση διάφορων παραγόντων, μεταξύ των οποίων ο σημαντικότερος είναι ο NF-κB.

Η ενεργοποίηση του παράγοντα NF-κB ακολουθεί την φωσφορυλίωση της ανασταλτικής του υπομονάδος (IκB), σε δυο N-τερματικά υπολείμματα της σερίνης. Οι παράγοντες IκB μπλοκάρουν στο κυτταρόπλασμα των περισσότερων κυττάρων, την ακολουθία διακίνησης του παράγοντα μεταγραφής, του διμερούς συζεύξεως του DNA (NF-κB). Η φωσφορυλίωση της υπομονάδος IκB καταλήγει στην πρωτεολυτική της αποικοδόμηση και στην απελευθέρωση του NF-κB διμερούς, το οποίο μεταναστεύει εντός του πυρήνα, συνδέεται με τα εξειδικευμένα στοιχεία απόκρισης NF-κB και διαμορφώνει την μεταγραφή. Ο παράγων NF-κB ρυθμίζει την έκφραση ποικίλων γονιδίων, των οποίων τα προϊόντα διαμεσολαβούν στις ανοσοποιητικές αποκρίσεις φλεγμονών και ρυθμίζουν την πρόοδο των κυτταρικών κύκλων, πράγμα που οδηγεί: **α)**- είτε στην προστασία από την κυτταρική απόπτωση, **β)**- είτε στον κυτταρικό θάνατο, λόγω της απόπτωσης. Επομένως, φαίνεται ότι τα αντικαρκινικά αποτελέσματα των χημικών ενώσεων του βαναδίου, σε συνάρτηση με πρωτεϊνική φωσφορυλίωση της τυροσίνης και την ενεργοποίηση του NF-κB, εξαρτώνται από το εάν **α)**- ενεργοποιούνται τα θανατηφόρα ή **β)**- τα αποπτωτικά γονίδια- στόχοι. Το τελευταίο φαίνεται να εξαρτάται, είτε από τον τύπο του ενεργοποιηθέντος κυττάρου, είτε από την χημική φύση και την χορηγούμενη δόση, της ένωσης του βαναδίου, είτε και από τα δύο ταυτοχρόνως. Στα λεμφοκύτταρα, παραδείγματος χάριν, στα οποία οι ενώσεις του βαναδίου επάγουν πυρηνική μετανάστευση τύπου NF-κB, η σύμπλοκος ένωση δις-

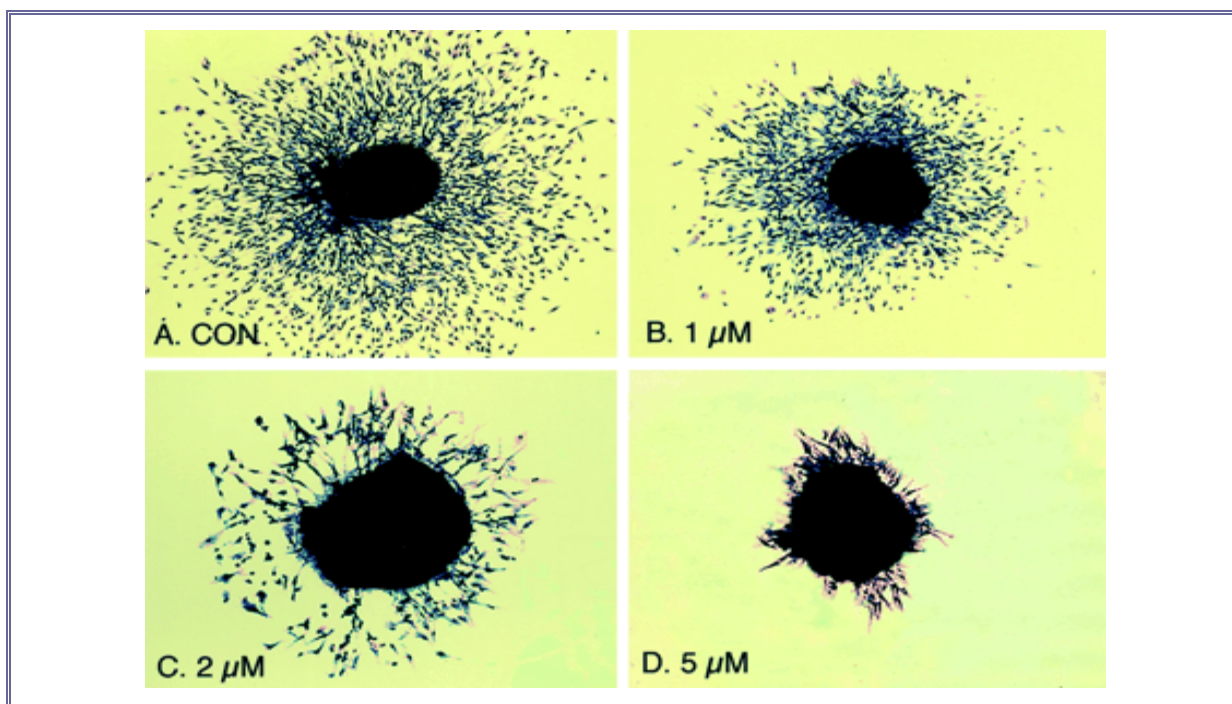
(μαλτολικό) - οξοβανάδιο (IV), προκαλεί επαγωγική απόπτωση, στις κυτταρικές σειρές, τύπου Β, αλλά ενισχύει την ενεργοποίηση των κυτταρικών σειρών, τύπου Τ .

Τέσσερις σύμπλοκες ενώσεις του βαναδίου, δηλαδή τα βαναδικά ανιόντα (V) τα κατιόντα βαναδυλίου vanadyl (IV), το δις-(μαλτολικό) - οξοβανάδιο (IV) και δις-(μαλτολικό) - οξοβανάδιο (V) [BMV], όλες ανεξαιρέτως προαγωγικοί παράγοντες της φωσφορυλίωσης των υπολειμμάτων τυροσίνης, σε διάφορες πρωτεΐνες των οστεο-βλαστωματικών κυττάρων, τύπου **MC3T3E1**, διήγειραν την αύξηση κυττάρων σε χαμηλές, αλλά την εμπόδισαν στις υψηλές συγκεντρώσεις, και προκάλεσαν ευδιάκριτες αλλαγές στην κυτταρική μορφολογία, μετά από μία ολονύκτια επώαση. Η φωσφορυλίωση της τυροσίνης ευνοήθηκε περισσότερο στις χαμηλές, από, στις υψηλές δόσεις BMV, το οποίο είναι ο πλέον ελάχιστος κυτταροτοξικός και ο ασθενέστερος επαγωγέας των μορφολογικών αλλαγών, παρουσίασε, στις χαμηλές συγκεντρώσεις (10μM), ένα μοντέλο φωσφορυλίωσης, παρόμοιο με αυτό της ινσουλίνης. Τα βαναδικά ανιόντα απέτρεψαν επίσης την απόπτωση, στα λευχαιμικά **M07e** κύτταρα, τα οποία καλλιεργήθηκαν για 24 ώρες, απουσία αυξητικών παραγόντων. Τα πειραματικά αποτελέσματα προτείνουν ότι, αποκαθίσταται μια ισορροπία μεταξύ των κινάσων της τυροσίνης και των φωσφατάσων της τυροσίνης, η οποία με την σειρά της καθορίζει, πότε ένα κύτταρο θα επιζήσει ή θα υποστεί απόπτωση. Οι φωσφατάσεις της φωσφοροτυροσίνης (PTPs) χρησιμεύουν ως οι σημαντικοί ρυθμιστές των οδών μεταγωγής σημάτων και είναι ευαίσθητοι στόχοι του οξειδωτικού στρες, [Liasko R., et al, 2000]. Το βανάδιο επιφέρει την ενδοκυττάρια αδρανοποίηση των PTPs, [Gordon J.A., 1991], [Gresser M.J., et al, 1990], [Kresja C.M., et al, 1998], μέσω μίας ποικιλίας βιοχημικών μηχανισμών, που εξαρτώνται κυρίως από την οξειδωτική κατάσταση του βαναδίου.

Εντούτοις, τα πρόσφατα στοιχεία στην in vivo παρεμπόδιση των PTPs, από τις ενώσεις του βαναδίου, δείχνουν ότι μπορούν ή δεν μπορούν να συσχετίζονται με την κυτταρική απόπτωση. Η αύξηση της φωσφορυλίωσης της τυροσίνης, στις κυτταρικές μεμβράνες, οφειλόμενη στην παρεμπόδιση των μεμβρανικών φωσφατάσων της τυροσίνης, υπό των υπερβαναδικών ανιόντων αναφέρθηκε, για την περίπτωση των ανθρωπίνων επιθηλιακών κυττάρων του προστάτη, ενώ τα βαναδικά ανιόντα επιλεκτικά παρεμποδίζουν τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες της τυροσίνης, στην περίπτωση των συμπαγών ηπατικών κυττάρων των αρουραίων. Τα ορθοβαναδικά ανιόντα, σε περιοχή συγκεντρώσεων 1-10μM, εμπόδισε αποτελεσματικά τα PTPs, στα κύτταρα **BALB/3T3**, προάγοντας τον μετασχηματισμό κυττάρων, προ-κατεργασμένων με 3-μεθυλοχορανθρένιο (**Methyl-cholanthrene, MCA**). Έχει καταδειχθεί ότι διάφορες χημικές ενώσεις, τόσο του βαναδίου (IV), όσο και του βαναδίου (V), παρεμποδίζουν την ενεργότητα της αλκαλικής φωσφατάσης στα οστεοσαρκωματικά κύτταρα **UMR106** και στους οστεοβλάστες. Υπάρχουν επίσης τεκμηριωμένα στοιχεία, ότι τα ανόργανα άλατα του βαναδίου ενεργοποιούν τις φωσφορυλάσες της φωσφοτυροσίνης και συγκεκριμένα τα MAPKs, [Posner B.I., et al, 1994], [Huang C., et al, 1998], [Jaspers I., et al, 2000] και [Samet J.M., et al, 1998]. Τα MAPKs, που περιλαμβάνουν τη εξωκυττάρια σηματο-ρυθμιζόμενη πρωτεϊνική κινάση (**ERK**), την γ-Jun N-τερματική/ την –υπό του στρες ενεργοποιούμενη-πρωτεϊνική κινάση (**JNK/SARK**) και τις **p38** υποοικογένειες, είναι σημαντικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες,

μέσω των οποίων τα διάφορα εξωκυττάρια σήματα διαβιβάζονται ως ενδοκυττάρια γεγονότα. Είναι υπεύθυνοι για την φωσφορυλίωση διαφόρων πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των καθοδικών κινασών και των παραγόντων μεταγραφής, που ενεργοποιούνται από ποικίλα ερεθίσματα και διαφόρου τύπου κυτταρικά στρες, κυρίως από το οξειδωτικό στρες. Τόσο τα ERKs, όσο και οι οδοί σημάτων JNK/SARK εμπλέκονται επίσης στην ενεργοποίηση NF-κB, μέσω της φωσφορυλίωσης του αναστολικού παράγοντά αυτού **IκB**. Η φωσφορυλίωση του IκB διαμεσολαβεί κυρίως, από ένα ογκώδες σύμπλοκο-πολλαπλών υπομονάδων (IκB) κινάσης, του τύπου (IKK), που ενεργοποιείται από μια ανοδική κινάση, την NF-κB προκαλούσα κινάση, που στη συνέχεια, είναι μια ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση μιτογόνου(MAPK), η κινάση (MAPKKK). Οι κινάσεις JNK και ERK μπορούν, εντούτοις, να έχουν αντίθετα αποτελέσματα, επί της απόπτωσης. Υπάρχουν διάφορα πρόσφατα στοιχεία, που δείχνουν ότι οι ενώσεις του βαναδίου εμπλέκονται στην NF-κB ενεργοποίηση, σε φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα, μέσω της ενεργοποίησης των **MAPKs** διαβάσεων μεταγωγής σημάτων, που οδηγεί στην απόπτωση των κυττάρων, [Pandey S.K., et al, 1995] και [Samet J.M., et al, 1998]. Οι ενώσεις βαναδίου ενεργοποιούν την οικογένεια MAPKs, στα επιθηλιακά κύτταρα των ωοθηκών, [Huang C., et al, 1998], [Pandey S.K., et al, 1995] και των πνευμόνων και πλέον εξειδικευμένα στα p38, [Jaspers I., et al, 2000], με συνέπεια την ενεργοποίηση των NF-κB, στο κυτταρόπλασμα. Το V(IV) προκαλεί την σχάση των IκB, στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα αναπνευστικών οδών και την πυρηνική NF-κB αναμετάθεση. Ο Jaspers ανέφερε διαφωτιστικά, ότι η ενεργοποίηση των p38 MAPK από το άλας θειικού βαναδουλίου στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα αεραγωγών διαδρόμων, εξαρτάται από το V(IV)-επαγώμενο οξειδωτικό στρες και διαμεσολαβεί στην κB-εξαρτώμενη μεταγραφή, χωρίς να επηρεάζει την δυνατότητα πυρηνικής αναμετάθεση ή της σύνδεση DNA με NF-κB, πράγμα που καταδεικνύει ότι το V(IV) - προκληθέν οξειδωτικό στρες ενεργοποιεί τις παράλληλες διαβιβάσεις σημάτων, οι οποίες συγκλίνουν καθοδικά για να διαμορφώσουν συνεργειστικά, τη μεταγραφική ενεργότητα των NF-κB. Τα δις-υπεροξο-βαναδικά ανιόντα (brV), ένας ισχυρός ανασταλτικός παράγοντας PTPs, ενεργοποιεί τον NF-κB στα ανθρώπινα λεμφοκύτταρα **Tα**, συνδέοντας την **src** οικογένεια πρωτεϊνικών κινασών **p56<sup>lck</sup>** και τους καθοδικούς επιδραστικούς παράγοντες p56<sup>lck</sup>, όπως η syk οικογένεια πρωτεϊνικών κινασών **ZAP-70** και ο μοριακός προσαρμοστής **SLP-76**, [Jaspers I., et al, 2000]. Τα in vivo αποτελέσματα των βαναδοκενίων στην **α)**- καταστολή της αύξησης καρκινικών κυττάρων, **β)**- στην μείωση της υπερλιπιδαιμίας και **γ)**- στην μείωση της υπέρτασης, μέσω των οδών διαβίβασης σημάτων της τυροσινικής κινάσης, έχουν επίσης επαρκώς τεκμηριωθεί, [Djordjevitc C., 1995] και [Tsiani E., et al, 1997]. Υπάρχουν επίσης άλλες οδοί διαβίβασης σημάτων, που ενεργοποιούνται από τις ενώσεις του βαναδίου και δύνανται να οδηγήσουν στην απόπτωση. Παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου, από τις ενώσεις βαναδίου στο κυτταρόλυμα ή στα μιτοχόνδρια καταλήγουν στην μιτοχονδριακή καταστροφή και στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος-C, που ενεργοποιεί τις κασπάσες (**caspases**, cysteine-aspartic proteases). Οι κασπάσες αποτελούν την οικογένεια των κυστεϊνικών πρωτεασών, οι οποίες διαδραματίζουν θεμελιακό ρόλο στην πορεία της απόπτωσης. Ενεργοποιημένες κασπάσες, όπως η κασπάση-3 και η κασπάση-8, προκαλούν

την περαιτέρω μιτοχονδριακή καταστροφή και ενεργοποιούν τα κυτταρικά υποστρώματα, όπως η πολύ- (ADP-ριβοζο) - πολυμεράση (PARP), οδηγώντας το κύτταρο στην απόπτωση. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει, ότι η χορήγηση των διαφόρων αλάτων του βαναδίου, στα επιδερμικά κύτταρα ποντικών προκάλεσε απόπτωση, μέσω της παραγωγής του υπεροξειδίου υδρογόνου και άλλων δραστικών μορφών οξυγονου (ROS), που στη συνέχεια, ενεργοποιούν το p53, ένα γονίδιο καταστολής της ανάπτυξης όγκων, που εμπλέκεται στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, στην αποκατάσταση του DNA και στην κυτταρική απόπτωση.



**Εικόνα 4.2** Επιδράσεις του συμπλόκου Bis-(4,7-Dimethyl-1,10 Phenanthroline)-Sulfato-Oxovanadium (IV), (Metvan) στην μετανάστευση των κυττάρων, από αποικίες σφαιροειδών γλοιοβλαστωμάτων U373, διαμέτρων 200-356μm. Οι αποικίες κατεργάσθηκαν για 2 ώρες με: A)- 0,1% καθαρό διαλύτη DMSO (Έλεγχος), B)-1,0 μM διάλυμα Metvan, C)-2 μM διάλυμα Metvan, D)- 5,0 μM διάλυμα Metvan, (όλα σε 0,1% DMSO). Τα κύτταρα ελέγχου μετανάστευσαν σε απόσταση  $745 \pm 29 \mu\text{m}$ , ενώ η κατεργασία των σφαιροειδών με 1,0μM (B), 2,0μM (C) και 5,0μM (D) Metvan μείωσε τις αποστάσεις, σε: B)-  $311,1 \pm 54,4 \mu\text{m}$ , C)-  $214,9 \pm 25,7 \mu\text{m}$  και D)-  $32,6 \pm 8,4 \mu\text{m}$ , πράγμα που αντιστοιχεί σε: B)-  $58,3 \pm 7,3\%$ , C)-  $71,2 \pm 3,4\%$ , και D)-  $95,6 \pm 5,8\%$  αναστολή της μετανάστευσης, των καρκινικών κυττάρων.

Τα κυτταροτοξικά βαναδοκενικά παράγωγα προκαλούν, εντούτοις απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα ανθρώπου, με το να προκαλέσουν αποπτωτικό σήμα, όχι από την αρχική ζημία του DNA ή το να απαιτήσουν την επαγόμενη εκ του p53 επιδιόρθωση, απορρίπτοντας την υπόθεση ότι μηχανικιστικά προσομοιάζουν με την κυτταροτοξική δράση της cisplatin, [Morinville A., et al, 1998]. Πέντε διχλωρίδια μεταλλοκενίων, μεταξύ των οποίων το διχλωρίδιο του βαναδοκενίου, προκάλεσαν κυτταρική απόπτωση στις ανθρώπινες ορχικές σειρές καρκίνου, [Ghosh P., et al, 2000], [Sarsam S.W., et al, "Titanocene Anticancer Complexes and Their Binding Mode of Action to Human Serum Albumin: A Computational Study", Metallomics, Volume 3(2), 152-61, 2011]. Δεκαπέντε πρόσφατα συντεθείσες σύμπλοκες ενώσεις του οξοβαναδίου (IV), που εξετάστηκαν για την κυτταροτοξική

δραστηριότητά τους, σε δέκα τέσσερις διαφορετικές σειρές καρκινικών κυττάρων ανθρώπου προκάλεσαν απόπτωση, ειδικά η σύμπλοκη κατιοντική ένωση **VO(Me<sub>2</sub>-phen)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>**, [Narla R.K., et al, Clin. Cancer Res., 2000] και [Narla Rama Krishna, et al, Drugs of the Future, 2000], (Εικόνα 4.2).

Είναι επομένως, προφανές, από τα ερευνητικά στοιχεία, ότι οι ενώσεις βαναδίου ενεργοποιούν σε φυσιολογικά και καρκινικά κύτταρα, διαφορετικές διαβιβάσεις σημάτων ενεργώντας κυρίως, μέσω της αδρανοποίησης των PTPs ή/και της ενεργοποίησης των PTKs. Η ενεργοποίηση των κυτταρικών διαβιβαστών σήματος φαίνεται κυρίως να συγκλίνει στην NF-κB δυνατότητα πυρηνικής αναδιάταξης και της μεταγραφής, είτε των αποπτωτικών και θανατηφόρων, είτε των αντι-αποπτωτικών γονιδίων. Η ενεργοποίηση της απόπτωσης μέσω των μιτοχονδριακών κασπασών δεν πρέπει επίσης να αγνοηθεί. Η έρευνα που διεξάγεται, πιθανώς σύντομα, θα παράσχει σημαντικά στοιχεία, για τις χημικές ιδιότητες και τα βιοχημικά αποτελέσματα των ενώσεων βαναδίου, καθώς επίσης και τους διάφορους τύπους καρκινικών κυττάρων, πάνω στους οποίους το βανάδιο, που ενεργεί διακυτταρικά, μπορεί να ασκήσει εκλεκτικά, είτε τα αποπτωτικά, είτε τα θανατηφόρα αποτελέσματα.

#### **4.9- ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ, ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΙΤΑΙ ΥΠΟ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

Το βανάδιο (**V**) είναι ένα μεταβατικό στοιχείο, με διάφορες οξειδωτικές καταστάσεις και συνεπώς συμμετέχει σε αντιδράσεις σχηματισμού ελευθέρων ριζών, [Stochs S.J., et al, 1995]. Εντός του πλάσματος, το μέταλλο (V) στη μορφή των μεταβαναδικών ανιόντων ανάγεται ταχύτατα σε κατιόντα βαναδυλίου (IV), κυρίως από τα αντιοξειδωτικά του πλάσματος και μεταφέρεται συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες πλάσματος, ενώ το πεντασθενές βανάδιο συνήθως υπερτερεί στον εξωκυτταρικό χώρο, (δείτε ανωτέρω). Η θεωρητική δυνατότητα της εξωκυτταρικής παραγωγής ελεύθερων ριζών, υπό των σωματιδίων **V(IV)/V(V)**, που βρίσκονται κυρίως στα βιολογικά ρευστά, δεν πρέπει εντούτοις, να αγνοηθεί. Ενδοκυτταρικά, το βανάδιο ευρίσκεται κυρίως στην τετρασθενή κατάσταση οξείδωσης και είναι επίσης συνδεδεμένο με τα κυτταροσολικά (cytosolic) και πυρηνικά θραύσματα, αλλά μια μικρή αναλογία (σχεδόν 1%) μπορεί να βρεθεί σε μια αδέσμευτη μορφή. Επιπλέον, στα καρκινικά κύτταρα, που διαφέρουν από τα φυσιολογικά σε έναν αριθμό μεταβλητών παραμέτρων, στις οποίες υπάγονται: **1)**- ένα χαμηλότερο pH, **2)**- ένα αλλαγμένο επίπεδο αντιοξειδωτικών ενζύμων, **3)**- μία διαφορετική οξειδοαναγωγική κατάσταση, **4)**- μια υψηλότερη περιεκτικότητα σε ύδωρ και **5)**- μια σταθερή παραγωγή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, η παραγωγή ελεύθερων ριζών από το βανάδιο μπορεί εύκολα να πραγματοποιηθεί, μέσα από ποικίλες χημικές και βιοχημικές αντιδράσεις. Σε ασθενώς όξινα περιβάλλοντα, με pH περίπου στο 7, παρουσία του συστήματος **V(IV)/V(V)**, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και οξυγόνου, η παραγωγή ελεύθερων ριζών μπορεί να πραγματοποιηθεί κυρίως, από τις ακόλουθες διαδοχικές (αλυσιδωτές) αντιδράσεις, [Djordjevitc C., et al, 1995].



Η παραγωγή των ιδιαίτερα τοξικών ριζών υδροξυλίου (OH $\cdot$ ) μπορεί στη συνέχεια να προκαλέσει τις περαιτέρω αντιδράσεις ριζών, που οδηγούν στη σχετικά ηπιώτερη υπεροξειδική ανιονική ρίζα, η οποία διασπάται αυθόρμητα, από την δισμουτάση των υπεροξειδικών ανιόντων (SOD), σε οξυγόνο και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, τα οποία, εάν δεν μεσολαβήσει απρόβλεπτη διακοπή, μπορούν να αντιδράσουν με τα κατιόντα βαναδυλίου (VO<sup>2+</sup>) και να διαιωνίσουν την παραγωγή ριζών υδροξυλίου. Τα κατιόντα του V(IV) μπορούν in vivo, αντιδρώντας με το οξυγόνο να παραγάγουν υπεροξειδικά ανιόντα και το V(V). Αντιδράσεις τύπου Fenton μπορούν επίσης να πραγματοποιηθούν ενδοκυττάρια, κυρίως με το μη-δεσμευμένο βανάδιο, [Halliwell Barry, et al, 1985 και 1999] και [Lloyd D.R., et al, 1997 και 1998]. Έχει αποδειχθεί με φασματοσκοπία EPR, ότι αντιδράσεις όπως οι ανωτέρω πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της αναγωγής του V(V) στο V(IV), μέσω τριών χαρακτηριστικών NADPH-εξαρτώμενων φλαβονικών ενζύμων, **α**- αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GSHR), **β**- λιποϋλο-δεϋδρογονάσης και **γ**- οξειδοαναγωγάσης της φερρεδοξίνης-NADP, κατά τη διάρκεια των οποίων πραγματοποιείται η παραγωγή των ριζών υδροξυλίου, [Shi X., et al, 1992]. Ο ρίζα των υπεροξειδικών ανιόντων δεν εμπλέκεται σημαντικά στην ενζυματική αναγωγή του V(V) σε V(IV). Το μίγμα ένζυμο-βανάδιο-NADPH προκαλεί εν τούτοις, την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου και παράγει ρίζες υδροξυλίου, οι οποίες στη συνέχεια ενισχύονται από το εξωγενές H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ένα φαινόμενο το οποίο εισηγείται την ύπαρξη μιας αντίδρασης τύπου- Fenton, [Shi X., et al, 1992], [Kresja C.M., et al, 1997] και [Halliwell Barry, et al, 1985 και 1999]. Υπερ-οξειδικές και υδρο-υπεροξειδικές ρίζες του βαναδίου V(IV) μπορούν επίσης να σχηματισθούν εντός των κυττάρων, από το υπεροξειδίο που παράγεται από NADPH-οξειδάση. Η παρουσία του υποστρώματος NADPH της οξειδάσης, της αναπνευστικής έκρηξης είναι απαραίτητο, για τη σύνθεση του ανιόντος υπεροξειδίου, στα διάφορα κύτταρα. Το υπεροξειδίο προκαλεί στη συνέχεια το σχηματισμό της ρίζας του υπερ-οξειβαναδυλίου [V(IV)-OO $\cdot$ ] και της ρίζας του υδρο-υπεροξειδίου του βαναδυλίου [V(IV)-OH $\cdot$ ]. Τα υπεροξειδία του βαναδίου μπορούν επίσης να σχηματισθούν, μέσα από τις ακόλουθες αντιδράσεις, οι οποίες προάγονται από την παρουσία της NADPH:



Αντιδράσεις όπως οι παραπάνω απαιτούν επίσης NAD(P)H-εξαρτώμενα φλαβοένζυμα, [Shi X., et al, 1992]. Το υπερόξυ-βαναδύλιο (Αντίδραση 3, Εξίσωση 3), μπορεί στη συνέχεια να αφαιρέσει το υδρογόνο από το NADPH, και να οδηγήσει στην παραγωγή υδρο-υπεροξειδίου του βαναδυλίου. Το τελευταίο παρουσία H<sup>+</sup> μπορεί να αποσυντεθεί, παράγοντας H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και να αναπαραγάγει βαναδικά ανιόντα, ως εξής:



Αυτά τα υπεροξειδία προωθούν την αναστολή των φωσφορο-τυροσινών, με συνέπεια τη συσσώρευση τυροσινικών φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών (TPP's). Κρίσιμη συσσώρευση των TPP's ενεργοποιούν μια αναπνευστική έκρηξη, με την άφθονη παραγωγή του υπεροξειδίου, που στη συνέχεια καταλύει τον σχηματισμό πρόσθετων υπεροξειδίων του βαναδίου **V(IV)**, καθιερώνοντας έτσι έναν φαύλο κύκλο, [Trudel S., et al, 1991]. Οι

διάφορες μελέτες, πάνω στους μηχανισμούς των δράσεων, των ενώσεων βαναδίου δείχνουν επίσης, ότι το βανάδιο προκαλεί οξειδωτικό στρες, μέσω ενός αριθμού διάφορων τρόπων. Οι ενώσεις βαναδίου μπορούν, παραδείγματος χάριν, να τροποποιήσουν έμμεσα το οξειδωτικό στρες στα κύτταρα και τα ζώα, είτε απελευθερώνοντας από τους ιστούς, τα μέταλλα-γεννήτορες των ελευθέρων ριζών, είτε τροποποιώντας την ενζυματική και αντιοξειδωτική άμυνα. Υπάρχουν στοιχεία ότι V(IV), αλλά όχι το V(V) είναι σε θέση να κινητοποιεί *in vitro*, τον σίδηρο από την φερριτίνη, ο οποίος αποτελεί μια πηγή οξειδωτικών αντιδράσεων, στα βιολογικά συστήματα. Η απελευθέρωση του σιδήρου μπορεί να παρεμποδισθεί, παρουσία σχετικής περίσσειας της συγκέντρωσης του κατιόντος βαναδυλίου V(IV), της γλουταθειόνης (GSH) ή των βαναδικών ανιόντων V(V). Τα κατιόντα βαναδυλίου V(IV), αλλά όχι τα ανιόντα των βαναδικών ανιόντων V(V), προωθούν στη συνέχεια την υπεροξειδωση, των υπεροξο-σωματιδίων των φωσφολιπιδίων. Τα κατιόντα βαναδυλίου V(IV) και παρουσία του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, παράγουν ρίζες υδροξυλίου στις βαναδυλο-καταλυόμενες αντιδράσεις θραύσεως των λιπαρών οξέων και των υδροπεροξειδίων, τα οποία στη συνέχεια κινητοποιούν την διενική σύζευξη, κατά τη διάρκεια της V(IV)-καταλυόμενης λιπο-υπεροξειδωσης, [Keller R.J., et al, 1988]. Βαναδικά ανιόντα V(V), που χορηγούνται στους διαβητικούς και μη-διαβητικούς αρουραίους, προκαλούν σημαντικές μειώσεις στην αντιοξειδωτική ενεργότητα των ενζυμικών καταλάσεων (CAT) και στα επίπεδα της ανηγμένης GSH, στο συκώτι των ζώων. Αντίθετα η χορήγηση –για 4 έως 8 εβδομάδες– ποσίου ύδατος εμπλουτισμένου με βανάδιο, σε επίπεδα 0,2 έως 0,5μM κατέληξε σε μια σημαντική αύξηση των επιπέδων της GSH, με μια συνακόλουθη ανύψωση της ενεργότητας της S-τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST) στο συκώτι, στα μικρά και μεγάλα εντερικά βλενογόνα κύτταρα, καθώς και στους νεφρούς των αρουραίων, χωρίς οποιαδήποτε προφανή ένδειξη κυτταροτοξικότητας. Τα καρκινωμάτωδη κύτταρα, που συγκομίστηκαν από Ελβετικούς επίμυες Albino, στους οποίους μεταμοσχεύθηκαν ενδοπεριτοναϊκά κύτταρα ασκητικών καρκινωμάτων Ehrlich, παρουσίασαν μετά από την επεξεργασία με το βανάδιο (IV), μια σημαντική μείωση της υπεροξειδάσης, της γλουταθειόνης (GSH-Px) και της (GSH-R), με την συνακόλουθη αύξηση της ενεργότητας της SOD και της διυδρογενάσης της 6-φωσφο-γλυκόζης. Τόσο ο νεοπλασματικός όγκος, όσο και η βιωσιμότητα των κυττάρων υποβαθμίστηκαν σημαντικά, στους επίμυες που χορηγήθηκε αγωγή βαναδίου (IV), [El-Naggar M.M., et al, 1998]. Αυτές οι *in vivo* μελέτες αν και παρέχουν μερικά αλληλο-συγκρουόμενα αποτελέσματα είναι εν μέρει, σε αντίθεση με μερικές *in vitro* μελέτες, που εξετάζουν τις επιδράσεις του βαναδίου, πάνω στην δραστηριότητα των κύριων αντιοξειδωτικών ενζύμων, δηλαδή της υπεροξειδάσης, των καταλασών, της GSH-Px και της υπεροξειδικής δισμουτάσης. Τόσο τα κατιόντα βαναδυλίου V(IV), όσο και τα ανιόντα βαναδικών (V) με την οποιαδήποτε άμεση επίδραση στη ενεργότητα των παραπάνω κύριων αντιοξειδωτικών ενζύμων, εισηγούνται ότι πολλές βιολογικές και τοξικολογικές δράσεις των μεταλλικών ιόντων, μπορούν να υποστούν μεγαλύτερη διαμεσολάβηση από τις οξειδωτικές αντιδράσεις των ιόντων βαναδίου, καθώς και των συμπλόκων του, με σχετικά φυσιολογικά βιομόρια απ' ό,τι, από μια άμεση βιοχημική διαμόρφωση των ενζυματικών δραστηριοτήτων, [Serra M.A., et al, 1992]. Τα στοιχεία συσσώρευσης δείχνουν ότι:



**A)-** το βανάδιο-προκαλούμενο οξειδωτικό στρες και **B)-** η παραγωγή ελευθέρων ριζών εμπλέκονται ισχυρά, στην πλειοψηφία των αντικαρκινικών, τοξικών και μοριακών δράσεων, των ενώσεων βαναδίου, όπως είναι:

**α)-** Η παρεμπόδιση των PTPs και η ενεργοποίηση των PTKs, [Cortizo A.M., et al, 2000], [Djordjevits C., et al, 1985], [Gresser M.J., et al, 1990], [Kresja C.M., et al, 1997], [El-Nagar M.M., et al, 1998], [Kresja C.M., et al, 1998] και [Trudel S., et al, 1991].

**β)-** Η MAPKs-εξαρτώμενη μεταγωγή σημάτων, [Pandey S.K., et al, 1995], [Kresja C.M., et al, 1998] και [Samet J.M., et al, 1998].

**γ)-** Η NF-κB δυνατότητα διακίνησης, [Huang C., et al, 1998] και [Jaspers I., et al, 2000].

**δ)-** Η σχάση DNA και οι θραύσεις σκελών, [Sakurai H., et al, 1995], [Huang C., et al, 1998] και [Lloyd D.R., et al, 1997 και 1998].

**ε)-** Οι εκφράσεις γονιδίων και ογκογονιδίων, [Ding M., et al, 1999].

**στ)-** Η κυτταρο-τοξικότητα, [Cortizo A.M., et al, 2000], [Sabbioni E., et al, 1993], [Shi X., et al, 1992], [Stochs S.J., et al, 1995], [Keller R.J., et al, 1988] και [Ciomei M., et al, 1995].

Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται από τις ενώσεις του βαναδίου και κυρίως οι δραστικές μορφές οξυγόνου, μπορούν επίσης να ασκήσουν γενικά συστηματικά αποτελέσματα στους οργανισμούς, μέσω **α)-** της μεμβρανικής λιπο-υπεροξειδωσης, **β)-** της πρωτεϊνικής μετουσίωσης και **γ)-** της καταστροφής του DNA.

#### **4.10- ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**

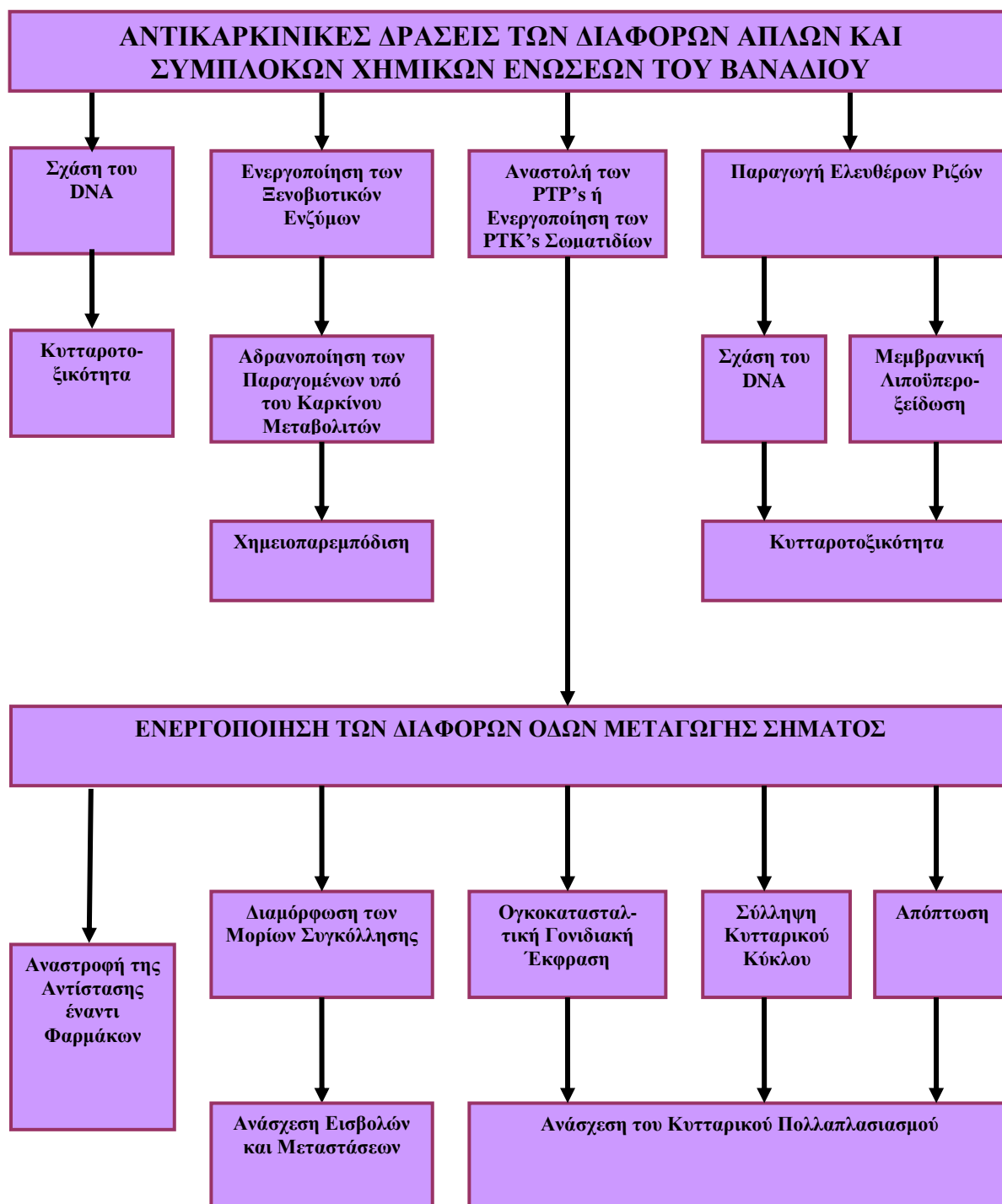
Η φωσφορυλίωση των τυροσινικών πρωτεϊνών, που προκαλείται από τις ενώσεις βαναδίου, μπορεί επίσης να επηρεάσει την διεισδυτική και μεταστατική δυναμική των καρκινικών κυττάρων, που ρυθμίζουν την προσκόλληση κυττάρου-υποστρώματος, τις επαφές κυττάρου-κυττάρου και ακτινικές κυτταρο-σκελετικές μεταβολές, [Dharwan S., et al, 1997]. Οι συγκολλητικές πρωτεΐνες, κυττάρου-με κύτταρο ή κυττάρου- με μήτρα, περιλαμβάνονται στην διαδικασία της καρκινικής μετάστασης και της εισβολής του καρκίνου, [Zhou J., et al, 2000]. Οι ενώσεις βαναδίου μπορούν επίσης **να αποτρέψουν την αιματογενή διασπορά του καρκίνου**, με την ενεργοποίηση της όγκος-προκληθείσας ενδογενούς φιβρινόλυσης και την παρεμπόδιση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων, διαδικασίες που αμφότερες περιλαμβάνονται στην αιματογόνο μετάσταση του καρκίνου, [Zhou J., et al, 2000] και [Tsuruo T., et al, 1986]. Τα υπερβαναδικά ανιόντα έχει αποδειχθεί ότι, αναστέλλουν την επαγωγή της προσκόλλησης των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών **ICAM-1**, **V -CAM-1** και **ELAM-1** στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτή η παρεμπόδιση πιθανώς ασκήθηκε, μέσω της αδρανισμού των PTPs και της συνεπαγόμενης καθοδικής διαμόρφωσης (Down-modulation), του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (**TNF**), που είναι ένας από τους σημαντικότερους επαγωγείς, των διάφορων

μορίων προσκόλλησης, στα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η αναστολή των PTPs, υπό των υπερβαναδικών ανιόντων παρεμπόδισε επίσης, την σύνδεση (πρόσφυση) των μονοκυττάρων, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, [Dharwan S., et al, 1997]. Επιπλέον η επαύξηση της τυροσινικής φωσφορυλίωσης, υπό των βαναδικών ανιόντων, οδήγησε στην αναστολή της συσσώρευσης (προσκόλλησης κυττάρου-κυττάρου), που διαμεσολαβείται από την καδερίνη (**Cadherin**), στα κύτταρα **3Y1** των επίμυων, μετασχηματισθέντων με **v-src** και διπλά μετασχηματισθέντων κυττάρων με **v -fos** (SR3Y1 και fos-εκφραστής SR3Y1 κύτταρα, με την ενισχυμένη την επίκτητη μεταστατική δυναμική). Η παρατεταμένη αγωγή με την χορήγηση υπερ-βαναδικών ανιόντων, στα κύτταρα που εκφράζουν τις μεταλλάξεις, των παραγώνων της E-καδερίνης, που προγενέστερα κλωνοποιήθηκαν από διάχυτο γαστρικό καρκίνωμα, οδήγησαν στην απώλεια της επαφής κύτταρο-σε κύτταρο και προκάλεσαν ακτινικές κυτταροσκελετικές μεταβολές και αποδόθηκαν, στην τυροσινική φωσφορυλίωση, των συστατικών του συμπλόκου προσκόλλησης κυττάρων. Κατεργασία των κυττάρων υψηλής μεταστατικότητας, του καρκινώματος των πνευμόνων **Lewis A11**, με ορθοβαναδικό νάτριο κατέληξε σε μία δόσο- και χρονο-εξαρτημένη καταστολή της εξάπλωσης των κυττάρων, σε διάφορες εξωκυττάρια μήτρες, όπως η Matrigel, η Fibronectin, η Λαμινίνη και το Κολλαγόνο τύπου IV, αλλά αυτό δεν ανέστειλε σημαντικά τη σύνδεση των κυττάρων, σε αυτά τα υποστρώματα. Η καταστολή της εξάπλωσης των κυττάρων, εντούτοις δεν οφειλόταν άμεσα στην αναστολή της αύξησης των κυττάρων, που προκαλείται από τα ορθοβαναδικά ανιόντα. Επίσης αποδείχθηκε ότι τα βαναδικά ανιόντα, ενεργώντας ως αναστολέας της φωσφατάσης μπορούν να υποκινήσουν τον ενεργοποιητή πλασμογόνου- τύπου ουροκινάσης- στα **LM3** κύτταρα του μυοειδούς μαστικού όγκου, εξυπηρετώντας τοιουτοτρόπως την θρόμβωση του αίματος.

Επιπλέον τα ορθοβαναδικά ανιόντα, μπορούν να μειώσουν την συσσώρευση αιμοπεταλίων, πράγμα που προκαλείται από την ενεργοποίηση των υποδοχέων θρομβίνης και να παρεμποδίσουν την integrin-εξαρτημένη τυροσινική αποφωσφορυλίωση των P38 και P140 και την σύνδεση των αιμοπεταλίων στο ινωδογόνο, ενός φαινομένου που εμπλέκονται στην θρόμβωση των αιμοπεταλίων και στην μετάσταση των όγκων. Τα βαναδικά ανιόντα είναι επίσης ένας παράγοντας- αναστολέας της κολλαγόνο-επαγόμενης θρόμβωσης αιμοπεταλίων και της αντίδρασης αποδέσμευσης, σε μια εξαρτημένη από τη συγκέντρωση πορεία. Η ενεργότητα του συστήματος αιμοπετάλια- μόρια προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων φαίνεται επίσης να διαμορφώνεται μέσω της αναστολής της δράσης της φωσφατάσης, που προκαλείται από τα ορθοβαναδικά ανιόντα, [Famiglietti J., et al, 1997]. Τα πρόσφατα ερευνητικά μας αποτελέσματα, δείχνουν ότι η στοματική χορήγηση ενός πρόσφατα απομονωθέντος συμπλόκου βαναδίου (III) - κυστεΐνης, σε ημερήσιες δόσεις χαμηλών συγκεντρώσεων βαναδίου (0,5mg/kg b.w.), σε καρκινοπαθείς επίμυες- φορείς **Λειο-μυο-σαρκοματικών όγκων** (leiomyo-sarcoma), κατέληξαν σε μια σημαντική αναστολή των πνευμονικών μεταστάσεων (μέχρι 80%), σε σύγκριση με τις ομάδες αναφοράς, καθώς και τις ομάδες, στις οποίες χορηγήθηκε το θειικό βαναδύλιο (IV), προσλαμβάνουσες στοματικά τις ίδιες χαμηλές δόσεις βαναδίου, [Liasko R., et al, Anticancer Research, 18(5A), 3609-13, 1998].

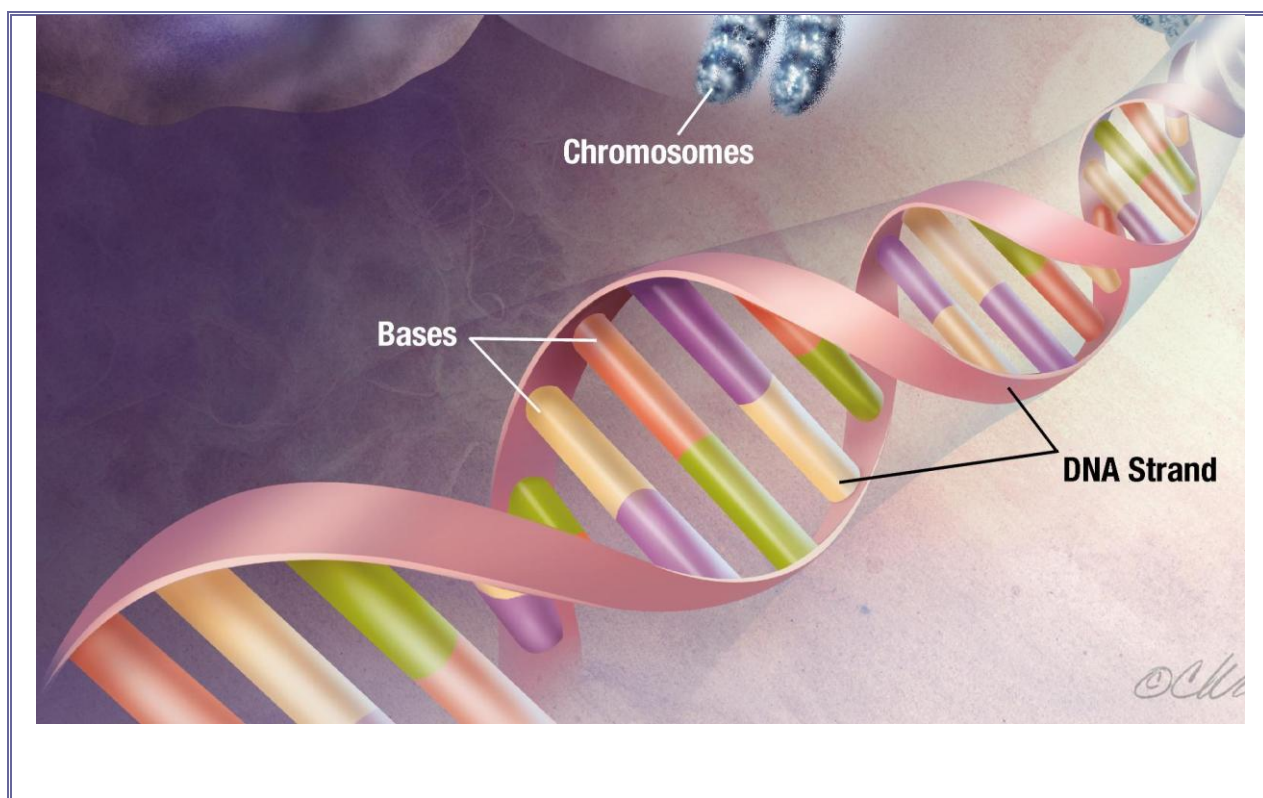
#### 4.11- ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΒΑΝΑΔΙΟΥ

Η π-γλυκο-πρωτεΐνη (**P-gp**), ένα μέλος της οικογένειας ABC των πρωτεϊνών μεταφοράς, παρέχει πολλαπλή αντίσταση φαρμάκων, λειτουργώντας ως μια ATP-εξαρτώμενη αντλία ροής φαρμακευτικών ενώσεων, εντοπισμένη στην μεμβράνη πλάσματος, των καρκινικών κυττάρων.



**ΕΙΚΟΝΑ 4.3** Σχηματική Αναπαράσταση των Βιοχημικών Μηχανισμών, μέσω των οποίων Πραγματοποιούνται οι Αντικαρκινικές Δράσεις των Χημικών Ενώσεων του Βαναδίου, είτε με την Αδρανοποίηση των PTP's (Protein Tyrosine Phosphatases), είτε με την Ενεργοποίηση των PTK's (Protein Tyrosine Kinases).

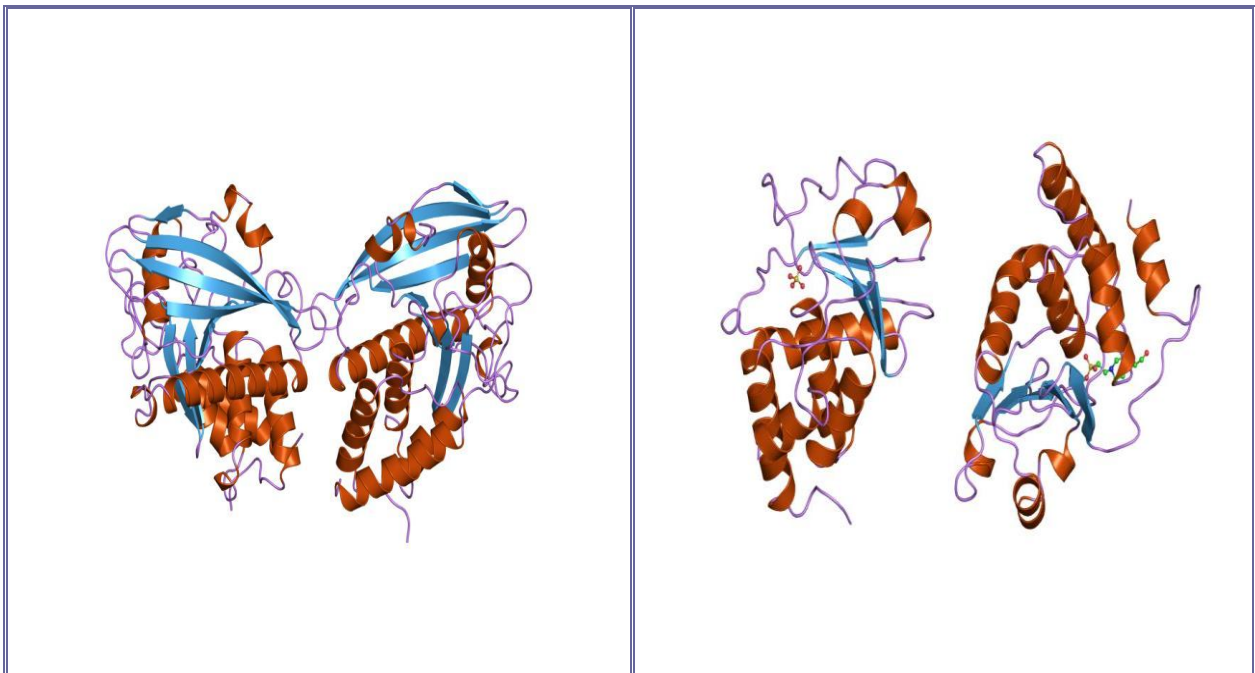
Η P-gp χρησιμοποιεί ενέργεια από την υδρόλυση ATP, ώστε να αντλήσει τις κυτταροτοξικές ενώσεις, ενάντια σε μια ενέργεια συγκέντρωσης, [Martin C., et al, 2000]. Η τροποποιημένη κυτταρική συσσώρευση των αντικαρκινικών ενώσεων, θεωρείται έτσι ως ο κύριος παράγων, στην επίκτητη και ενδογενή αντίσταση των καρκινικών κυττάρων, στην χημειοθεραπεία. Η αντίσταση στο βαναδίο έχει βρεθεί σε ορισμένους μικροοργανισμούς, όπως οι σακχαρομύκητες και οι *Candida*, που είναι είτε μεταλλάξεις, που επιβεβαιώνουν τις αλλαγές στον έλεγχο αύξησης της πρωτεϊνική φωσφορυλίωση, είτε φανερώσουν ελαττωματική ATP-αση των μεμβρανών πλάσματος. Υπάρχουν εντούτοις ενδείξεις, ότι οι ενώσεις βαναδίου μπορούν να ευαισθητοποιήσουν καρκινικά κύτταρα πολύ-φαρμακευτικής ανθεκτικότητας, στα κυτταροτοξικά αποτελέσματα, των διάφορων αντινεοπλαστικών παραγόντων, που εμποδίζουν την δράση της ATP-ασης. Η παρεμπόδιση της ATP-ασης μειώνει την άντληση των φαρμάκων από την P-gp, μειώνοντας πιθανώς την ικανότητα συνδέσεων του μεταφερθέντος υποστρώματος, [Martin C., et al, 2000].



**ΕΙΚΟΝΑ 4.4** Έγχρωμη αναπαράσταση της σπειροειδούς μορφής της διπλής έλικας (Strands) του DNA χώρο. Οι τέσσερις δομικές βάσεις (Bases: Θυμίνη, Κυτοσίνη, Αδενίνη και Γουανίνη), με τις οποίες συνδέονται οι έλικες μεταξύ των εμφανίζονται με τα χρώματα Μωβ, Πράσινο, Κίτρινο και Πορτοκαλλόχρωμο. Το DNA είναι ο φορέας των γενετικών πληροφοριών του κυττάρου.

Περαιτέρω τα βαναδικά ανιόντα μπορούν να καταστρέψουν τις κυτταροσκελετικές ακτινικές ίνες, των πολυφαρμακευτικής ανθεκτικότητας καρκινικών κυττάρων, όντας έτσι κυτταροτοξικά και ενδεχομένως ευεργετικά, ως αρωγοί στη χημειοθεραπεία των συμπαγών όγκων, [Capella L.S., et al, 2000]. Υπάρχουν επιπλέον στοιχεία, που δείχνουν ότι το ορθοβαναδικό νάτριο αντιστρέφει την αντίσταση των πολυφαρμακευτικών κυττάρων **CEM/VLB 100**, στην βινμπλαστίνη (VLB), όχι με την τροποποίηση των αντλιών **VLB**, αλλά πιθανώς με την κινητοποίηση της εισροής του, [Colin M., et al, 1994].

Η ενεργοποίηση ορισμένων πρωτεϊνικών κινασών, από μερικές ενώσεις του βαναδίου, όπως τα βαναδικά ανιόντα μπορούν, αντίθετα να αυξήσουν την αντίσταση στην βινμπλαστίνη, στα ανθεκτικά πολυφαρμακευτικά κύτταρα, που αυξάνουν την φωσφορυλίωση του πολυφαρμακευτικού μεταφορέα P-gp, στις κύστες των μεμβρανών πλάσματος, πιθανώς από **GTP**-ρυθμιζόμενη φωσφορυλίωση. Επιπλέον το βανάδιο παρουσία των χηλικών συμπλεκτικών ενώσεων ευαισθητοποίησε ανθρώπινα ωθηκικά καρκινικά κύτταρα, που είναι ανθεκτικά στο cis-platin, στα κυτταροτοξικά αποτελέσματα του cisplatin. Η αντίσταση των ανθρώπινων κυττάρων της μυοειδούς λευχαιμίας και των αδενοκαρκινωμάτων του απηυθησμένου, στην κυτταροτοξική δραστηριότητα της ταλλιμουστίνης **FCE 245517**, μειώθηκε από τις ενώσεις βαναδίου και τους άλλους αναστολείς των φωσφατασών και μειώθηκε επίσης, από τους αναστολείς των πρωτεϊνικών κινασών, πράγμα που υποδεικνύει ότι η δραστηριότητα μερικών εκ των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων εξαρτάται αυστηρά από την παρουσία φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών τυροσίνης, [Ciomei M., et al, 1995]. **Η παρεμπόδιση εντούτοις, της ενεργότητας των κυτταρικών φωσφατασών**, από το ορθοβαναδικό νάτριο, έχει αποδειχθεί, ότι προστατεύει τα καρκινικά κύτταρα, από τα κυτταροτοξικά αποτελέσματα των **TNF**, [Mishra S., et al, 1994].



**ΕΙΚΟΝΑ 4.5** Αριστερά: Structure of Yersinia Phosphotyrosine protein tyrosine phosphatases II και Δεξιά: Structure of the dual-specificity protein phosphatase VHR.

Τοιουτοτρόπως καθίσταται προφανές ότι οι επιδράσεις του βαναδίου στα πολυφαρμακευτικά ανθεκτικά κύτταρα, σε σχέση με τη χημειοθεραπεία του καρκίνου, εξαρτώνται από τον τύπο κυττάρου και τον αντινεοπλαστικό παράγοντα που ερευνάται, καθώς επίσης και από το αν υπερσχύει η αναστολή ή η προαγωγή της **φωσφορυλίωσης ορισμένων πρωτεϊνών**. Το τελευταίο συσχετίζεται εν μέρει, με τα χημικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των χημικών ενώσεων του βαναδίου.

## 4.12 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΛΟΙΠΩΝ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΤΟΥΣ ΣΕ ΒΙΟ-ΙΑΤΡΙΚΟΥΣ, ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ.

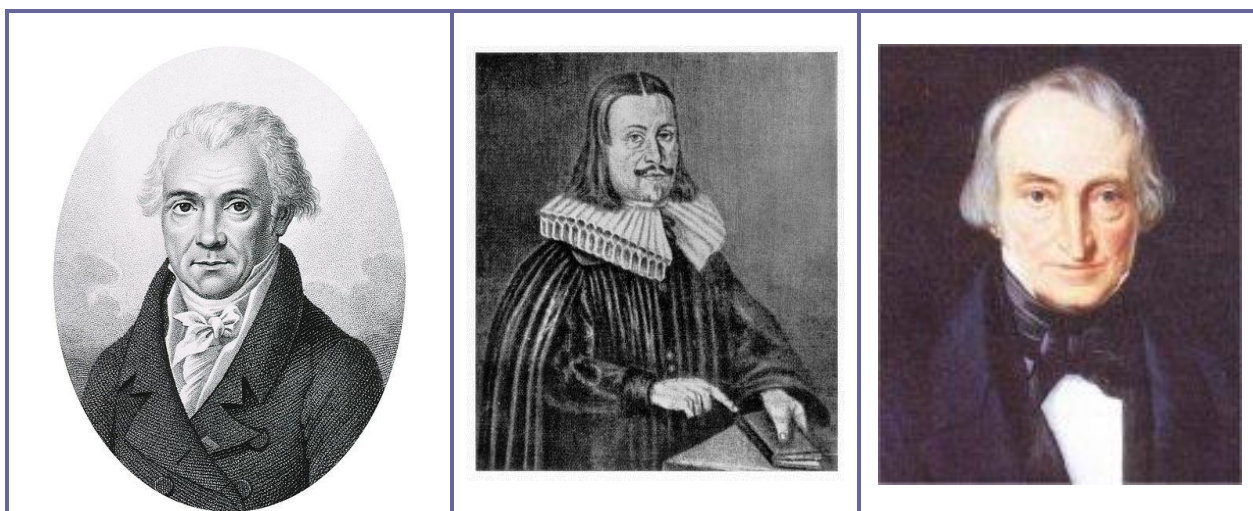
**4.12.1 ΓΕΝΙΚΗ ΘΕΩΡΗΣΗ.** Τα μεταβατικά μεταλλικά στοιχεία ή στοιχεία μεταπτώσεως κατέχουν μια σημαντική θέση μέσα στην Βιοϊατρική Φαρμακοχημεία. Η έρευνα έχει δείξει σημαντική πρόοδο στην χρησιμοποίηση των συμπλόκων ενώσεων των μετάλλων μεταπτώσεως, ως αντι-φλεγμονωδών και αντιδιαβητικών φαρμάκων, καθώς επίσης και στην θεραπεία και την αντιμετώπιση πολλών ασθενειών του ανθρώπου όπως: τα καρκινώματα, τα λεμφώματα, οι λοιμώξεις και οι νευρολογικές διαταραχές. Τα μέταλλα μεταπτώσεως παρουσιάζουν την ιδιότητα να διαθέτουν διαφορετικές καταστάσεις οξειδωσης, πράγμα που τα καθιστά ικανά να αλληλεπιδράσουν με μια σειρά από αρνητικά φορτισμένα μόρια και ιόντα. Αυτή η δραστηριότητα των μετάλλων μετάπτωσης έδωσε το έναυσμα, στην ανάπτυξη του μεταλλο-φαρμακευτικών προϊόντων, με ελπιδοφόρες ιατρο-φαρμακολογικές εφαρμογές και μοναδικές θεραπευτικές δυνατότητες, [Rafique Shazia, et al, "Transition Metal Complexes as Potential Therapeutic Agents", 2010].

Εικόνα 4.6. Απεικόνιση των χημικών στοιχείων, του περιοδικού συστήματος, με την έγχρωμη αντιστοιχία των διαφόρων ιατρο-φαρμακευτικών εφαρμογών τους.

■ : Διαγνωστικά   ■ : Βασικά Στοιχεία   ■ : Θεραπευτικά   ■ : Ραδιοθεραπευτικά

Στην Εικόνα 4.6 φαίνονται συγκεντρωτικά, οι φαρμακευτικές εφαρμογές των διαφόρων χημικών στοιχείων του περιοδικού συστήματος, στις τέσσερις μεγάλες κατηγορίες, ιατρικών θεραπευτικών, [Barry N.P.E., and Sadler P.J., "Exploration of the Medical Periodic Table: towards New Targets", 2013]. Τα μέταλλα κατέχουν μία περίοπτη θέση στην ιατρική χημεία. Τα μέταλλα μεταπτώσεως αντιπροσωπεύουν το  $d$  μπλοκ, το οποίο περιλαμβάνει τις ομάδες 3-12 στο περιοδικό πίνακα. Οι  $d$  στιβάδες αυτών βρίσκονται στην διαδικασία της σταδιακής πλήρωσης. Αυτή η ιδιότητα των μετάλλων μετάβασης οδήγησε στην ανακάλυψη των συμπλόκων ενώσεων. Ένα μεταλλικό σύμπλοκο ή μία ένωση συναρμογής είναι μια μοριακή δομή, που αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο μετάλλου, που στην άμεση γειτονία του περιβάλλεται από μια ευρύτερη ποικιλία των μορίων ή ανιόντων, χημικώς συνδεδεμένων με αυτό.

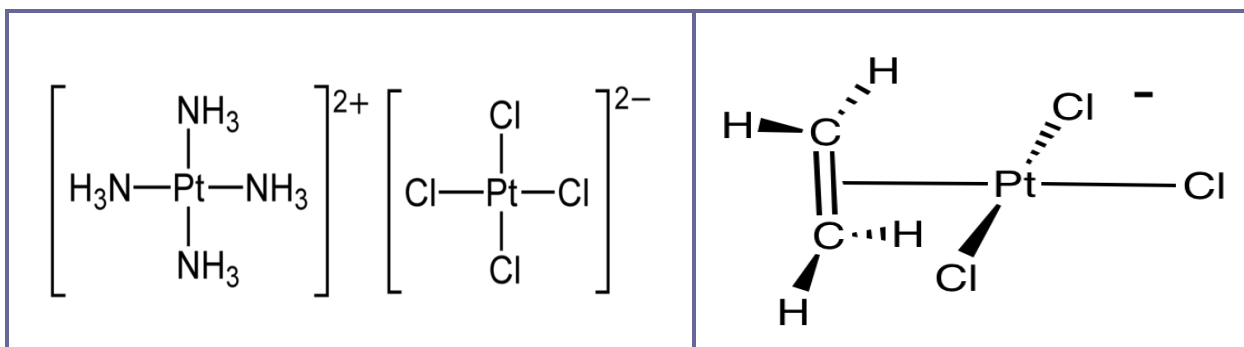
**4.12.2 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ**, [Χιωτέλλης Ε., κ.α., "Κεφάλαια Βιοανοργάνου Φαρμακοχημείας", Τετάρτη Έκδοση, ΑΠΘ, Τμήμα Φαρμακευτικής, Θεσσαλονίκη, 2011]. Ενώσεις συναρμογής ήταν γνωστές και είχαν χρήση από την αρχαιότητα. Η **Αλιζαρίνη** (Alizarin), χηλική ένωση της 1,2 διυδροξυανθρακινόνης με Ca ή Al, αναφέρεται ήδη από τον Ηρόδοτο (450 π.χ.). Χρησιμοποιήθηκε ως χρώμα κόκκινης απόχρωσης και ήταν γνωστή στους Πέρσες, τους Αιγύπτιους και τους Έλληνες. Αλιζαρίνη βρέθηκε στην Πομπηία, σε Αιγυπτιακά υφάσματα, από το 1567 π.Χ., και σε ευρήματα στον Ελλαδικό χώρο. Ένωση του **Τετραμινοχαλκού (II)**,  $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ , σύμπλοκο ιόν κυανού χρώματος, παρασκευάστηκε για πρώτη φορά, τυχαία, το 1597 από τον Andreas Libavius, Γερμανό παρακελσικό αλχημιστή, που ασχολήθηκε με την Ιατρική Φαρμακευτική Χημεία, [Libavius A., 1597].



Εικόνα 4.7. Πρωτοπόροι επιστήμονες στην χημεία των συμπλόκων ενώσεων. Αριστερά: Louis Nicolas Vauquelin (1763-1829), Γάλλος χημικός και φαρμακολόγος, Κέντρο: Andreas Libavius (1555–1616), Γερμανός ιατρός και χημικός και Δεξιά: William Christopher Zeise (1789-1847), Δανός οργανικός χημικός.

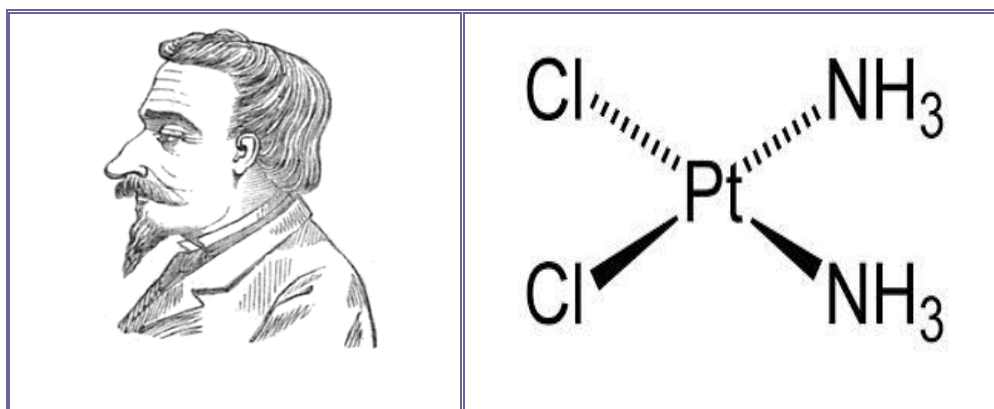
Το **Πρωσικό Κυανούν** (Prussian blue),  $[KCN.Fe(CN)_2.Fe(CN)_3]$ , παρασκευάστηκε επίσης τυχαία, το 1704, από τον Diesbach, κατά την κατεργασία αίματος βοδιού και χρησιμοποιήθηκε ως κυανή χρωστική, κυρίως στη φωτογραφία. Το 1798 ο Γάλλος Χημικός B.M. Tassaert παρασκεύασε **Χλωριούχο Εξαμινοκοβάλτιο (III)**,  $[Co(NH_3)_6]Cl_3$ , διαλύοντας χλωριούχο κοβάλτιο σε υδατικό διάλυμα αμμωνίας. Η παραχθείσα ένωση είχε διαφορετικές ιδιότητες από αυτές του  $CoCl_3$  όπως και της  $NH_3$ . Το **Τετραχλωρο-παλλαδικό(II)-Τετραμινοπαλλάδιο**,  $[Pd(NH_3)_4][PdCl_4]$ , έγινε γνωστό ως Vauquelin's Salt από τον Γάλλο χημικό Luis Nicolas Vauquelin (1763-1829) και ως Magnus Green Salt από τον Γερμανό Magnus Heinrich Guston, που το παρασκεύασε το 1813. Αργότερα ο Gmelin (1788-1853) παρασκευάζει διάφορες ενώσεις μεταξύ των οποίων, το 1822, το **Οξαλικό Εξαμινοκοβάλτιο (III)**,  $[Co(NH_3)_6]_2(C_2O_4)_3$ . Το 1827 απομονώθηκε τυχαία από τον Δανό οργανικό χημικό William Christopher Zeise (1789-1847) η πρώτη αλκενική οργανομεταλλική ένωση με ακόρεστο οργανικό υποκαταστάτη, το **Ένυδρο-Τριχλωρο-Αιθυλενο-Λευκοχρυσικό Κάλιο**,  $K[Pt(C_2H_4)Cl_3]$  γνωστό και ως Zeise's salt, [Zeise W.C., "De Chlorido Platinae et Alchhole Vini Sese Invicem Permutantibus Nec non de Novis Substantiis inde Oriundis", 1831]. Το 1847, ο Genth παρατήρησε, τυχαία, κατά τη διάρκεια

μιας εργαστηριακής άσκησης, τη δημιουργία έγχρωμων ενώσεων συναρμογής του Co με NH<sub>3</sub>. Το 1851 δημοσίευσε τις ενώσεις, που αντιστοιχούσαν στους γενικούς τύπους [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]X<sub>3</sub> και [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>H<sub>2</sub>O]X<sub>3</sub>.



**Εικόνα 4.8. Αριστερά: Συντακτικός τύπος του συμπλόκου άλατος Magnus Green Salt και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του οργανομεταλλικού, αλκενικού συμπλόκου Zeise's salt.**

Το 1866 ο Genth, σε συνεργασία με τον Αμερικανό Gibbs (1822-1908) δημοσίευσαν και περιέγραψαν τριάντα πέντε σύμπλοκες ενώσεις, που αντιστοιχούσαν στους γενικούς τύπους [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>Cl]X<sub>2</sub> και [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>]X<sub>2</sub>. Οι πρώτες προσπάθειες να εξηγηθεί η δομή των ενώσεων συναρμογής [Cu(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>X<sub>2</sub>] έγιναν, χωρίς επιτυχία, από τους Graham (1837) και Riesel (1844), οι οποίοι τις θεώρησαν ως προϊόντα υποκατάστασης της αμμωνίας. Το ίδιο σκεπτικό ακολούθησε και ο Hoffman το 1851.

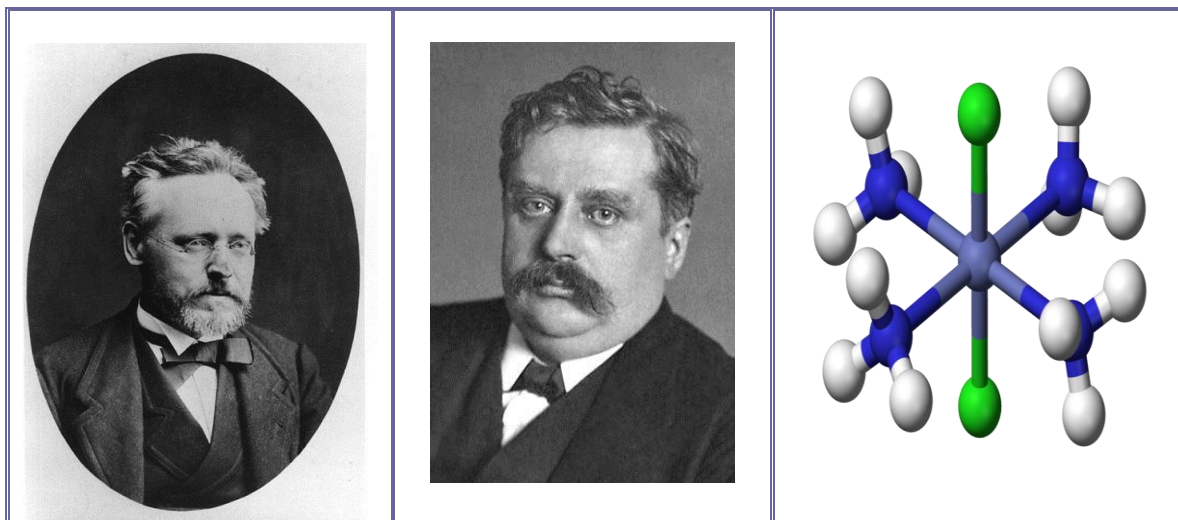


**Εικόνα 4.9. Αριστερά: Ο Michele Peyrone (1813–1883) και Δεξιά: Ο συντακτικός τύπος του συμπλόκου Cis-platinum.**

Ο Δανός χημικός Sophus Jorgensen στα μέσα της δεκαετίας του 1870, πρώτος συνέθεσε μεταλλικά προϊόντα σύζευξης. Με τις εργασίες του στην χημεία του λευκοχρύσου (Pt) και του ροδίου (Rh), θεωρείται ένας από τους πρωτοπόρους, της χημείας συμπλόκων ενώσεων (coordination chemistry). Το 1844 ο Michele Peyrone (1813–1883) παρασκευάζει τον cis-διαμινο-διχλωρο-λευκόχρυσο(II), [Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>], γνωστό και ως cis-platin, του οποίου η αντικαρκινική δράση διαπιστώθηκε μόλις το 1969. Οι πρώτες αναφορές σχετικά με τη θεραπευτική χρήση των μεταλλικών συμπλόκων μεταπτώσεως στον καρκίνο και στην λευχαιμία έγιναν τον δέκατο έκτο αιώνα. Το 1844 ανακαλύφθηκε η αντικαρκινική δραστηριότητα του ανόργανου συμπλόκου cis-Diammine-Dichloroplatinum-(II), (Cis-Platin), [Peyrone Michele, (Discoverer of Cis-platin), "Üeber die Einwirkung des Ammoniaks auf Platin-Chlorür", 1844]. Η Σισ-πλατινή έχει εξελιχθεί σε ένα ευρύτατα χρησιμοποιούμενο και



αποτελεσματικό **κυτταροστατικό φάρμακο**, στη θεραπεία των συμπαγών καρκινωμάτων, μέχρι και σήμερα.



Εικόνα 4.10. Αριστερά: Ο Sophus Jørgensen (1837-1914), Δανός χημικός. Κέντρο: Ο Alfred Werner (1866 -1919), Ελβετός χημικός. Δεξιά: Η οκταεδρική τετραμίνη του κοβαλτίου,  $\text{trans-}[\text{Co}(\text{NH}_3)_4 \text{Cl}_2]^+$

Το 1893 η μεγάλη επανάσταση συνέβη, όταν ο Ελβετός χημικός Alfred Werner (1866-1919) απομόνωσε και διερεύνησε μία σειρά συμπλόκων ενώσεων, οι οποίες περιείχαν κοβάλτιο, χλώριο και αμμωνία,  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ ,  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$  και  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2]\text{Cl}$  και παρατήρησε ότι ο αριθμός των ιόντων  $\text{Cl}^-$  που κατακρημνίζονταν με  $\text{AgNO}_3$ , σε κάθε ένωση ήταν διαφορετικός. Βασισμένος σ' αυτήν την παρατήρηση, ο Werner εξήγησε επιτυχώς τον τρόπο δημιουργίας των συμπλοκών ενώσεων διατυπώνοντας τη θεωρία του **πρωτεύοντος και δευτερεύοντος σθένους**. Επίσης ο Werner διέτυπωσε την έννοια της εσωτερικής και της εξωτερικής **σφαίρας εντάξεως** των συμπλόκων και συσχέτισε το δευτερεύον σθένος με την γεωμετρία των ενώσεων συναρμογής. Θεμελίωσε τις θεωρητικές βάσεις της χημείας των συμπλόκων ενώσεων και πρότεινε την οκταεδρική συμμετρία σε αυτών. Για τη θεωρία αυτή, ο Werner θεωρήθηκε ο πατέρας των ενώσεων συναρμογής και τιμήθηκε το 1913 με το βραβείο Nobel, [Werner A., "Beitrag zur Konstitution Anorganischer Verbindungen", 1893].

#### 4.12.3 ΜΗ ΛΕΥΚΟΧΡΥΣΙΚΑ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Ο λευκόχρυσος (Pt, Platinum) δεν είναι το μόνο μέταλλο μεταπτώσεως, που χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου, διότι και διάφορα άλλα μέταλλα μεταπτώσεως έχουν προταθεί ως αντικαρκινικά φάρμακα, [Chen D., et al, "Metal Complexes, their Cellular Targets and Potential for Cancer Therapy", 2009], [Ott Ingo, and Gust Ronald, "Non Platinum Metal Complexes as Anti-cancer Drugs", 2007] και [Bertini Ivano, et al, "Bioinorganic Chemistry", 1994].

**TITANIO, [Ti, Ti(IV)]**. Σύμπλοκα τιτανίου όπως το διχλωριούχο τιτανοκένιο έχει αναγνωρισθεί, ως δραστικό αντικαρκινικό φάρμακο, εναντίον των μαστικών και των γαστρεντερικών καρκινωμάτων, [Gielen Marcel and Tiekink Edward R.T., "Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine", 2005].

**ΛΑΝΘΑΝΙΟ, [La<sup>0</sup>, La(III)].** Τα σύμπλοκα του λανθανίου La(III) έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου, [Karoor S., "Lanthanum and its Rapidly Emerging Role as an Anti- Carcinogenic Agent", 2009].

**ΜΑΓΓΑΝΙΟ, [Mn<sup>0</sup>, Mn(II), Mn(III)].** Μελετήθηκαν μερικά σύμπλοκα του μαγγανίου Mn(III), τα οποία επάγουν όγκο-επιλεκτική απόπτωση των ανθρώπινων κυττάρων, [Ansari K.I., et al, "Manganese (III)-Salens Induce Tumor Selective Apoptosis in Human Cells", 2009].

#### **4.12.4 GOLD [Au<sup>0</sup>, Au(I), Au(III)] APOPTOSIS AND CANCER,.**

Τα σύμπλοκα του χρυσού επίσης επιδεικνύουν αντικαρκινική δραστηριότητα, η οποία εκδηλώνεται με διαφορετικό μηχανισμό, από εκείνον της cisplatin, [Au L., et al, "A Quantitative Study on the Photothermal Effect of Immuno Gold Nanocages Targeted to Breast Cancer Cells", 2008]. Η περιοχή -στόχος των συμπλόκων του χρυσού είναι τα μιτοχόνδρια και όχι DNA. Ορισμένα χρυσικά σύμπλοκα, με αρωματικούς υποκαταστάτες διπυριδυλίου έχουν δείξει κυτταροτοξικότητα κατά των καρκινικών κυττάρων, [Marcon G., et al, "Gold (III) Complexes with Bipyridyl Ligands: Solution Chemistry, Cytotoxicity and DNA Binding Properties", 2002]. Το σύμπλοκο 2-[(διμεθυλαμινο)-μεθυλ]-φαινολικός χρυσός (III) έχει επίσης αποδειχθεί, αντικαρκινικός παράγων έναντι ανθρώπινων όγκων, [Messori L., et al, "Gold (III) Complexes as Potential Antitumor Agents: Solution Chemistry, Cytotoxicity and DNA Binding Properties", 2000]. Εξ' άλλου νανοσωματίδια χρυσού όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με ράδιο- ή χημειοθεραπεία αυξάνουν τη βλάβη του DNA και καθιστούν τον στόχο της θεραπείας συγκεκριμένο, [Zheng Y., et al, "Gold Nanoparticles Enhance DNA Damage Induced by Anticancer Drugs and Radiation", 2009].

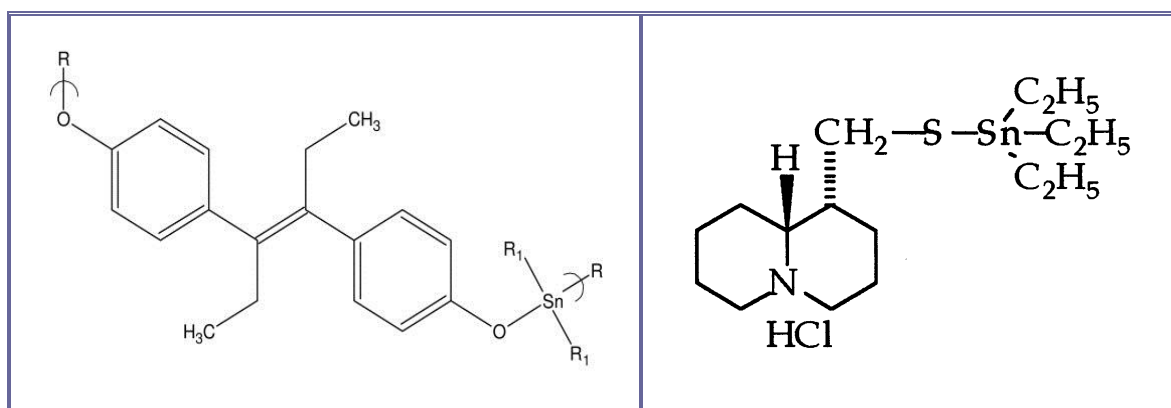
#### **4.12.5 TIN [Sn<sup>0</sup>, Sn(II), Sn(IV)], APOPTOSIS AND CANCER.**

Ο κασσίτερος Tin, Sn(II) είναι ένα βασικό βιολογικό στοιχείο (essential element) και λίγα μέχρι τώρα είναι γνωστά για την βιοχημεία του, [Winship K.A., "Toxicity of Tin and its Compounds", 1988] και [Alama Angela, et al, "Organometallic Compounds in Oncology: Implications of Novel Organotin as Antitumor Agents", Drug Discovery Today, 2009]. Ανασκόπηση των δυσμενών αλληλεπιδράσεων των οργανοκασσιτερικών ενώσεων, τριμεθυλο-κασσιτέρου (TMT) και τριαιθυλοκασσιτέρου (TET), πάνω στις βιολογικές ενεργές θέσεις του οργανισμού και στην επαγωγή νευροτοξικότητας, αποτελεί η εργασία [Aschner M., and Aschner J.L., "Cellular and Molecular Effects of Trimethyltin and Triethyltin: Relevance to Organotin Neurotoxicity", 1992].

Η έκθεση του ανθρώπου στις ενώσεις (TMT) και (TET) καταλήγει στην συσσώρευση αυτών των νευροτοξικών σωμάτων στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ. Η πρωταρχική βάση της νευροτοξικότητας τους είναι άγνωστη. Ωστόσο τόσο ο (TMT), όσο και ο (TET) είναι νευροτοξίνες του CNS, προσβάλλουσες τους νευρώνες της πυραμιδικής περιοχής ιπποκάμπου, του κροταφικού λοβού και της οδοντωτής περιτονίας, [Boyer I.J., "Toxicity of Dibutyltin, Tributyltin and Other Organotin Compounds to Humans and to Experimental Animals", 1989]. Η κλινική παθολογική εικόνα κυριαρχείται από νευρολογικές διαταραχές και οίδημα του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού. Η θεραπεία των θυμοκυττάρων αρουραίου, με μικρομοριακές συγκεντρώσεις **[τριβουτυλο-κασσιτέρου]** προκάλεσε

ταχεία αύξηση στη συγκέντρωση του ελευθέρου κυτταροπλασματικού ασβεστίου Ca(II). Η ανύψωση του κυτοσολικού Ca(II) συνδέεται με την εκτεταμένη κατάτμηση του DNA, η οποία αποτρέπεται με την προκατεργασία των κυττάρων, με οποιαδήποτε από τους δύο ενδοκυττάριους χηλικοποιητές του Ca(II), την quin-2 ή το 1,2-bis(2-amino-phenoxy)-ethane-N',N',N',N',-tetraacetic acid. Η απώλεια της βιωσιμότητας των θυμοκυττάρων, λόγω της κατάτμησης του DNA, ή οποία παρεμποδίζεται από τους χηλικοποιητές-συμπλέκτες του Ca(II) ή από την απομάκρυνση του εξοκυτταρικού Ca(II), με τον υποκαταστάτη αιθυλενογλυκόλη-δισ-(β-αμινο-αιθυλαιθέρα)-N,N'-τετραοξικό οξύ.

Το μοντέλο της κατάτμησης του DNA είναι χαρακτηριστικό εκείνου που παράγεται από ουσίες οι οποίες ενεργοποιούν μια ασβεστίο Ca(II)- και μαγνησιο (MgII)-εξαρτώμενη ενδογενή ενδονουκλεάση, κατά την απόπτωση ή τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Πρόσθετες μελέτες έδειξαν ότι άλλες οργανο-κασσιτερικές ενώσεις, περιλαμβανομένου του τριμεθυλοκασσιτέρου, του τριφαινυλο-κασσιτέρου και του διβουτυλοκασσιτέρου είχαν ελάχιστη επίδραση στο κυτοσολικό Ca(II), στην κατάτμηση του DNA και στην κυτταρική βιωσιμότητα. Αυτά τα αποτελέσματα αποκαλύπτουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα των θυμοκυττάρων, έναντι του τριβουτυλο-κασσιτέρου και παρέχουν την βάση, για την κατανόηση της επιλεκτικής του ανοσοτοξικότητας in vivo, [Aw T.Y., et al, "Tributyltin Stimulates Apoptosis in Rats Thymocytes", 1990].



**Εικόνα 4.11.** Αριστερά: Συντακτικός τύπος των αντικαρκινικών φαρμάκων πολυμερικά σύμπλοκα του Dibutyltin και του Tributyl Tin με την Dienestrol. Δεξιά: Συντακτικός τύπος του αντικαρκινικού φαρμάκου Triethyltin(IV)-Lupinylsulfide- Hydrochloride (IST-FS 29).

Μία εκτεταμένη πηγή επιστημονικής πληροφόρησης της θεραπευτικής δυναμικής, πολλών μεταλλοθεραπευτικών φαρμάκων, παραγώγων του κασσιτέρου, καθώς και διαφόρων διαγνωστικών κασσιτερικών ενώσεων αποτελεί η πραγματεία των, [Gielen M., and Tiekink E.R.T. (Editors), "Tin Compounds and Their Therapeutic Potential", in "Metallotherapeutic Drugs and Metal Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine", John Wiley and Sons, Chichester, United Kingdom, 2005] και το άρθρο ανασκοπήσεως των, [Hadjikakou S.K. and Hadjiliadis N., "Antiproliferative and Anti-tumor Activity of Organotin Compounds", Coordination Chemistry Reviews, Volume 253, pp. 235-249, 2008].

Διάφορες οργανοκασσιτερικές ενώσεις έχουν παρουσιάσει κυτταροτοξικές ιδιότητες, έναντι ενός αριθμού καρκινικών κυτταρικών σειρών, [Barot Girish, et al, "Synthesis, Structural Characterization and Ability to Inhibit Cancer Growth of Organotin Poly-Ethyleneglycols", 2007]. Στην εργασία αυτή συντέθηκε το σύμπλοκο άλας **[Triethyltin(IV)-**

**lupinylsulfide- hydrochloride]** (IST-FS 29), ένα κινολιζιδινικό παράγωγο, το οποίο εμφάνισε ισχυρές αντινεοπλασματικές ιδιότητες, (Εικόνα 4.11). Το νέο κασσιτεरिकό σύμπλοκο έχει δυναμικά αντι-πολλαπλασιαστικά αποτελέσματα, έναντι τριών διαφορετικών σειρών καλλιέργειών, ανθρωπίνων καρκινικών λυττάρων: **α)**-το τερατοκαρκίνωμα ωοθηκών (PA-1), **β)**-το κολονικό καρκίνωμα (HCT-8) και **γ)**-το γλοιοβλάστωμα (A-172). Η κυτταροτοξική δραστηριότητα εκτιμήθηκε με MTT και ανάλυση απαρίθμησης κυττάρων κατά τη διάρκεια πειραματικών δοκιμασιών. Αναφέρεται σημαντική αναστολή στην ανάπτυξη των κυττάρων HCT-8, μέχρι και 95%, μετά από δράση 72h και η οποία επέμενε μετά την αλλαγή του μέσου, χωρίς την παρουσία του κασσιτερικού φαρμάκου, σε όλες τις κυτταρικές σειρές.

Επιπλέον, οι κυτταροτοξικές δράσεις που ασκούνται από την ουσία IST-FS 29 λειτούργησαν συνεπέστερα με νέκρωση ή με καθυστερημένο κυτταρικό θάνατο, παρά με πορεία απόπτωσης, όπως φαίνεται από τις μικροσκοπικές μορφολογικές παρατηρήσεις, από την ανάλυση κατακερματισμού του DNA και από την κυτταρομετρία ροής. Στην προσπάθεια να αποσαφηνιστεί εάν η ένωση αυτή μπορεί να επηρεάσει τα γονίδια, παίζοντας ρόλο στην G1:S μεταβατική φάση και στις εκφράσεις των p53, p21 και WAF1. Η κυκλίνη D1 και Rb, που εμπλέκονται κατά κύριο λόγο στην απόκριση του stress-κατεστραμένου DNA, αναλύθηκαν με την κηλίδα Western, [Barbieri Federica, et al, "Cytotoxicity In Vitro and Preliminary Antitumor Activity In Vivo of a Novel Organotin Compound", Anticancer Research, 2000] και [Barbieri Federica, et al, "Antiproliferative Activity and Interactions with Cell-cycle Related Proteins of the Organotin Compound Triethyltin(IV)-Lupinylsulfide-Hydrochloride", Chemico-Biological Interactions, 2001].

Απομονώθηκαν πολλά οργανοκασσιτερικά, πολυαιθερικά σύμπλοκα, με το συνθετικό οιστρογόνο **Διαιθυλο-σιλβεστρολή**, σε μέτριες αποδόσεις και με κυμαινόμενα μήκη αλυσίδας, από 20 έως 200 επαναλαμβανόμενες μονάδες, με την εφαρμογή της διεπιφανειακής διαδικασίας πολυσυμπύκνωσης. Διαπιστώθηκαν δεσμοί Sn-O και πλήρης απουσία δεσμών -OH και μελετήθηκαν οι βιοχημικές ιδιότητες αυτών, σε διάφορες κυτταρικές σειρές. Όλα τα πολυμερή οργανομεταλλικά σύμπλοκα εμφανίζουν μέτρια έως καλή αναστολή, σε ομάδες κυτταρικών σειρών καρκίνου, του παχέος εντέρου, του μαστού και του προστάτη. Πολλά από αυτά παρουσιάζουν σημαντικές τιμές CI<sub>50</sub> και δείχνουν προτίμηση αναστολής των καρκινικών κυτταρικών σειρών κατά προτίμηση, έναντι των φυσιολογικών κυτταρικών σειρών, [Carragher C.E., et al, "Synthesis and Initial Cell Lines Result of Organotin Polyethers Containing Diethylstilbestrol", 2008].

Ο **[Sn<sup>IV</sup>-ethyl-etiopurpurin]**, (Purlytin) είναι ένας φωτο-ευαίσθητο-ποιητής (660nm), στην φωτο-δυναμική θεραπευτική αντιμετώπιση της ψωρίασης και της επαναστένωσης των αγγείων, (restenosis, φάση II), [Narciso Hugh L. Jr., et al, "Retention of Tin Ethyl Etiopurpurin (SnET2) by Atheromatous Plaques: Studies in vitro and in vivo Rabbit", 1994]. Συντέθηκε και ταυτοποιήθηκε το νέο σύμπλοκο άλας του κασσιτέρου **[Δις-Φαινυλο- Δις-(2,4- Διφθορο-Βενζολο-Υδροξαματο)-Sn(IV)]**, (DPDFT), ένα νέο μοριακό συγκρότημα με υψηλή in vivo και in vitro αντικαρκινική δραστηριότητα και σχετικώς χαμηλή τοξικότητα, (Εικόνα 4.12). Έχουν επίσης αναφερθεί έξι σύμπλοκα του Sn(IV), με υποκαταστάτες τα ο- και p-Hydroxybenzoic Acids, των οποίων επιλύθηκε και ταυτοποιήθηκε η χημική δομή. Μελετήθηκε επίσης η κυτταροτοξικότητά τους, εναντίον καρκινικών σαρκωματικών κυττάρων μεσεγχυματικού ιστού, επίμυων Wistar και διαπιστώθηκε ότι τα κασσιτερικά αυτά σύμπλοκα έχουν υψηλές δραστηριότητες έναντι

αυτών των κυτταρικών σειρών, [Abdellah M.A., et al, "Synthesis, Characterization, and Biological Studies of Organotin(IV) Derivatives with o- or p-Hydroxybenzoic Acids", 2009]. Αναπτύχθηκε επίσης μία ταχεία, ευαίσθητη και εκλεκτική χρωματογραφική **μέθοδος HPLC**, για τον in vivo αναλυτικό προσδιορισμό της ουσίας DPDFT, σε πλάσμα ποντικών, με στήλη διαχωρισμού Diamonsil ODS και διάταξη ανιχνευτή φωτοδιόδου. Σε μήκος κύματος 228nm ελήφθη γραμμική καμπύλη αναφοράς, για περιοχή συγκεντρώσεων της ουσίας 0,1-25 μg/mL, ( $r=0,9993$ ). Η αντικαρκινική ουσία χορηγήθηκε με εφάπαξ ενδοφλέβιες ενέσεις, σε δοσολογίες των 5, 10, 15 mg/kg των αρουραίων, [Yunlan Li, et al, "Pharmacokinetic Study of Di-Phenyl-Di-(2,4-Difluorobenzohydroxamate)-Tin(IV): Novel Metal-Based Complex with Promising Antitumor Potential", 2012].

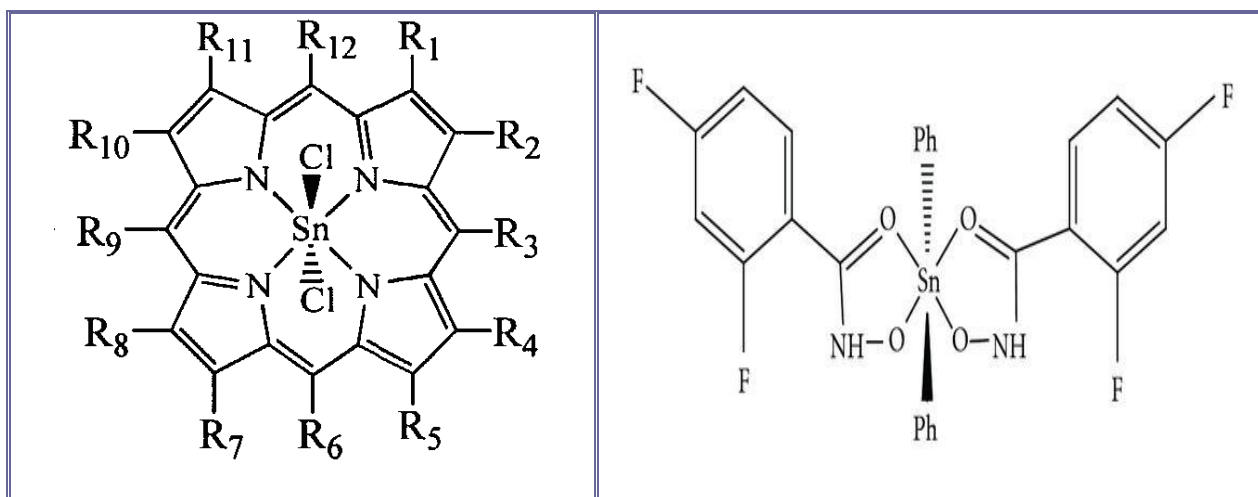
Απομονώθηκαν οι σύμπλοκες ανώσεις  $[SnPh_3(3-MPA)]$ ,  $[SnPh_3(4-MPA)]$ ,  **$[SnPh_3(DMFU)]$** ,  $[SnPh_3(BZDO)]$ ,  $[SnPh_2(3-MPA)_2]$ ,  $[SnPh_2(4-MPA)_2]$ ,  $[SnPh_2(DMFU)_2]$  και  $[SnPh_2(BZDO)_2]$ , κατόπιν αντιδράσεως των οργανοκασσιτερικών (IV) αλάτων:  $Ph_2SnCl_2$  και  $Ph_3SnCl$ , με τους υποκαταστάτες-καρβοξυλικά οξέα: (3-MPAH=3-methoxyphenylacetic acid), (4-MPAH=4-methoxyphenylacetic acid), (DMFUH=2,5-dimethyl-3-furoic acid) και (BZDOH=1,4-benzodi-oxane-6-carboxylic acid).

Ελέγχθηκε η κυτταροτοξική δραστηριότητα των νέων καρβοξυλικών συμπλόκων του Sn(IV), έναντι καρκινικών κυτταρικών σειρών: ανθρώπινου αδenoκαρκινώ-ματος **HeLa**, ανθρώπινης μυελογενούς λευχαιμίας **K562**, ανθρώπινου κακοήθους μελανώ-ματος **Fem-x**, φυσιολογικών ανοσο-ικανών κυττάρων και μονοκύτταρων περιφερικού αίματος **PBMC**. Τα τριφαινυλοκασσιτερικά-(IV) παράγωγα εμφανίζουν υψηλότερες δραστηριότητες από τα διφαινυλοκασσιτερικά -(IV) παράγωγα. Την ισχυρότερη αντικαρκινική δράση εμφάνισε το σύμπλοκο άλας  **$[SnPh_3(DMFU)]$** , [Gómez-Ruiz Santiago, et al, "Study of the Cytotoxic Activity of di- and tri-Phenyltin(IV)- Carboxylate Complexes", 2008].

Συντέθηκε μία νέα διμεταλλική ένωση η  **$[Tri-Phenyl-Tin-Benzimidazolethiol-Copper Chloride, TPT-CuCl_2]$**  και μελετήθηκε στη ρύθμιση της απόπτωσης, σε κύτταρα HeLa, κύτταρα MCF-7 και σε in vivo μοντέλα αρουραίων Wistar. Η ένωση προκαλεί σημαντική απόπτωση στην κυτταρική σειρά HeLa, που χαρακτηρίζεται από κατακερματισμό του DNA και χρωμοσωματική συμπύκνωση.

Η δοκιμασία Comet αποκάλυψε ότι το σύμπλοκο  $[TPT-CuCl_2]$  στοχεύει και προκαλεί σοβαρή βλάβη στο DNA. Κατεργασία των κυττάρων HeLa με  $[TPT-CuCl_2]$  αποτρέπει την συσσώρευση της p53, από την καταστολή του ανθρώπινου θηλώματος-ιού E6, με αποτέλεσμα μία δραματική αυξητική ρύθμιση του Bax και Bak και μία μειωτική ρύθμιση, του αντιαποπτωτικού παράγοντα Σουρβιβίνη.

Η αποπτωτική επαγωγή από το  $[TPT-CuCl_2]$  φάνηκε να μεσολαβεί, με έναν p53-εξαρτώμενο τρόπο. Η απώλεια του p53 μειώνει την απελευθέρωση κυτοχρώματος c και του Smac Diablo, από τα μιτοχόνδρια στο κυτταρόπλασμα. Επιπλέον in vivo μελέτες με τη χρήση C6 γλοιοβλαστώματος ξενομοσχεύματος, σε μοντέλα αρουραίων απεκάλυψαν ότι το  $[TPT-CuCl_2]$  διαθέτει σημαντική αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα, έναντι της ανάπτυξης των όγκων, με ελάχιστη κυτταροτοξικότητα κατά της φυσιολογίας των πειραματικών αρουραίων, [Höti Naseruddin, et al, "p53-Dependent Apoptotic Mechanism of a New Designer Bimetallic Compound Tri-phenyl Tin Benzimidazolethiol Copper Chloride (TPT-CuCl<sub>2</sub>): In Vivo Studies in Wistar Rats as well as In Vitro Studies in Human Cervical Cancer Cells", 2004]



Εικόνα 4.12. Αριστερά: Ο συντακτικός τύπος του συμπλόκου  $\text{Sn}^{\text{IV}}$ -ethyl-etiopurpurin (Purlytin), Δεξιά: Ο συντακτικός τύπος του συμπλόκου Di-phenyl-di-(2,4-difluorobenzohydroxamato)-Tin(IV), (DPDFT).

Μια εκτεταμένη ανασκόπηση της κυτταροστατικής δράσεως αρκετών σειρών οργανοκασσιτερικών ενώσεων, που συντέθηκαν στο Ελεύθερο Πανεπιστήμιο των Βρυξελλών, έχει αναφερθεί από τον Marcel Gielen. Έγιναν δοκιμές *in vitro* έναντι του μαστικού όγκου **MCF-7** και του κολονικού καρκινώματος **WiDr**. Πολλοί δι-και οι ενώσεις τριοργανοκασσιτέρου παρουσιάζουν πολύ ελπιδοφόρα δράση κατά των όγκων, *in vitro*. Η δράση του συμπλόκου **[Δις-η-βουτυλοκασσιτέρου- δις- (2,5-διϋδροξυβενζοϊκού)]** είναι τόσο ενεργή, όση και η δράση της σισπλατίνης έναντι καρκινώματος **Colon-26** ποντικού, *in vivo*, [Gielen Marcel, "Tin-based Antitumour Drugs", 1996].

Αναφέρθηκε η σύνθεση και ο χαρακτηρισμός των **οργανοκασσιτερικών κυστεϊνικών ενώσεων**  $[(n\text{-C}_4\text{H}_9)_2\text{Sn}(\text{cys})](1)$ ,  $[(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Sn}(\text{cys})](2)$ ,  $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Sn}(\text{Hcys})\cdot(\text{H}_2\text{O})](3)$ ,  $\{[(\text{CH}_3)_2\text{Sn}(\text{Kcys})_2]\cdot 2(\text{H}_2\text{O})\}(4)$ ,  $\{[(n\text{-C}_4\text{H}_9)_2\text{Sn}(\text{Kcys})_2]\cdot 2(\text{H}_2\text{O})\}(5)$  και  $\{[(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Sn}(\text{Kcys})_2]\cdot 2(\text{H}_2\text{O})\}(6)$ , (όπου  $\text{H}_2\text{cys} = \text{L-cysteine}$ ), με στοιχειακή ανάλυση και φασματοσκοπικές τεχνικές FT-IR, UV-VIS,  $^1\text{H-NMR}$  και Mössbauer. Απόπειρα ανακρυσταλλώσεως από μίγμα DMSO/μεθανόλης απέδωσε απροσδόκητα, μετά από αρκετές ημέρες, την διμερή ένωση δις- (τρι-phenyltin)-σουλφίδιο  $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{Sn}]_2\text{S}$  (7), το οποίο έχει χαρακτηριστεί με ανάλυση ακτίνων-Χ.

Η δομή του μητρικού συμπλόκου (2), καθώς και ο μηχανισμός της αποσύνθεσης της κυστεϊνης είναι υπό διερεύνηση. Μελετήθηκε *in vitro* η αντικαρκινική δραστηριότητα των συμπλόκων (1)-(6), έναντι των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων: ήπατος (Bel7402), στομάχου (BGC823), λευχαιμίας (HL60), καρκινώματος επιθηλιακού τραχήλου (HELA), ρινοφαρυγγικού καρκινώματος (KB) και του πνευμονικού καρκινώματος (PG).

Τα πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν ότι τα σύμπλοκα (1), (2) και (5) εμφανίζουν υψηλή κυτταροτοξικότητα, έναντι των HeLa, ενώ τα σύμπλοκα (1), (3) και (6) εμφανίζουν υψηλή κυτταροτοξικότητα έναντι των BGC, σε συγκεντρώσεις συμπλόκων 10  $\mu\text{M}$  και με επιβιώσεις κυττάρων, μικρότερες του 10%, [Chasapis C.T., et al, "Organotin(IV) Derivatives of L-Cysteine and Their In Vitro Anti-Tumor Properties", Bioinorganic Chemistry and Applications, 2004].

Αναφέρθηκε μια επισκόπηση της ανάπτυξης των αντικαρκινικών οργανοκασσιτερικών παραγώγων και της *in vitro* δραστηριότητας αυτών, μερικές φορές στα επίπεδα της δοξορουβικίνης. Η διαλυτότητα αυτών των συμπλόκων ενώσεων στο ύδωρ είναι ένα

σημαντικό θέμα, που δεσπόζει στις in vivo δοκιμές αυτών, με πολλές υποσχόμενες in vitro ιδιότητες. Αρκετές υδατοδιαλυτές οργανοκασσιτερικές ενώσεις έδωσαν τις καλύτερες in vitro αντικαρκινικές δραστηριότητες. Νέες και χρήσιμες αντικαρκινικές οργανοκασσιτερικές ενώσεις θα πρέπει να σχεδιαστούν, με βελτιωμένες διαλυτότητες στο ύδωρ, [Marcel Gielen, et al, "Synthesis, Characterization and in vitro Antitumor Activity of di- and tri-organotin Derivatives of Polyoxa- and Biologically Relevant Carboxylic Acids", 2000].

Συντέθηκε η σύμπλοκη κασσιτερική ένωση, **[Triethyl-Tin(IV)-Lupinyl-Sulfide-Hydrochloride]**, η οποία μαζί με άλλες σύμπλοκες ενώσεις του χρυσού μελετήθηκαν έναντι τεσσάρων κυτταρικών σειρών καρκινικών κυττάρων, ανθρωπίνων ωοθηκών: SW 626, IGROV 1, OVCAR-3 και PA-1.

Αυτή η σύμπλοκη ένωση εμφάνισε σημαντική αντιπολλαπλασιαστική δράση, σε όλες τις παραπάνω κυτταρικές σειρές (mean IC<sub>50</sub>=1,3 and 0,7 microM, αντιστοίχως), συγκρινόμενες με την cis-platin (mean IC<sub>50</sub>=4,8μM), [Cagnoli M., et al, "Synthesis and Biological Activity of Gold and Tin Compounds in Ovarian Cancer Cells", 1998] και [Alama Angela, et al, "In vitro Cytotoxic Activity of Tri-n-butyltin(IV)-lupinyl-sulfide Hydrogen Fumarate (IST-FS 35) and Preliminary Antitumor Activity in vivo", 2009].

Οι διάφορες οργανοκασσιτερικές ενώσεις έδειξαν ισχυρότερη αντινεοπλαστική δραστηριότητα έναντι της λευχαιμίας P388 σε ποντικούς, από ό, τι οποιαδήποτε άλλη κατηγορία ενώσεων. Ωστόσο δεν έχουν αξιωθεί της ίδιας προσοχής, όπως οι ενώσεις λευκόχρυσου. Στην παρούσα εργασία συντέθηκε η νέα ένωση, **[Et<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>·L] όπου L=N-(2-πυριδυλμεθυλενιο)-4-τολουϊδίνη** (OTC), έδειξε ένα μήκος δεσμού Sn-N 2,46Å το οποίο, λόγω του ότι είναι μεγαλύτερο από 2,39Å, αναμένεται να επιτύχει καλύτερο σχηματισμό των συμπλοκών κασσιτέρου-DNA.

Έχουν προηγουμένως αναφερθεί τα σχετικά με την σύνθεση και την βιολογική δραστηριότητα αυτής της ένωσης, καθώς και η ικανότητα της να προκαλεί καθυστέρηση στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και ανταλλαγές των αδελφών χρωματιδίων, σε κύτταρα μυελού οστών ποντικού. Πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω έρευνες για τις αντιπολλαπλασιαστικές και την αντικαρκινική δράση της OTC, σε σχέση με τα κυτταρικά επίπεδα της γλουταθειόνης (GSH), τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο, στον κυτταρικό μηχανισμό άμυνας.

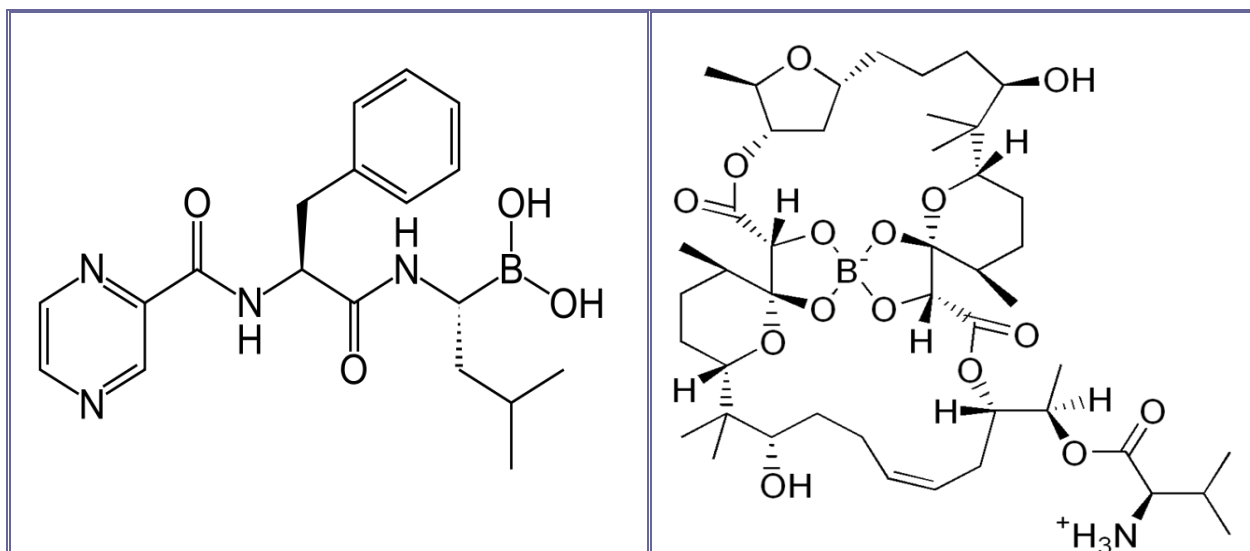
Το σύμπλοκο OTC επάγει σημαντική καθυστέρηση στον κυτταρικό κύκλο, στα κύτταρα μυελού οστών ποντικού και όταν τα επίπεδα της GSH είναι χαμηλά, η έκταση αυτής της καθυστέρησης μειώνεται. Η αντικαρκινική δραστηριότητα προσδιορίστηκε σύμφωνα με το NCI πρότυπο πρωτόκολλο, για τον προκαταρκτικό έλεγχο του λεμφώματος του Dalton (**DL**), που διατηρήθηκε με σειριακή ενδοπεριτοναϊκή μεταμόσχευση. Ο λόγος (επεξεργασία/έλεγχος) T/K (treated/control) ήταν 146%, όταν η οργανοκασσιτερική υποβλήθηκε σε επεξεργασία μετά τη μεταμόσχευση.

Αυτό βελτιώθηκε σημαντικά όταν 24 ώρες πριν από την επίδραση του κασσιτέρου εισάγεται η Buthionine Sulfoximine (BSO), ένας GSH- καταστροφικός παράγοντας. Τα πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν ότι η παρούσα ένωση κασσιτέρου [Et<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>·L] διαθέτει αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα και μπορεί να αυξήσει το προσδόκιμο επιβίωσης των ποντικών, που φέρουν **DL**.

Το ενδογενές επίπεδο GSH επηρεάζει το αποτέλεσμα της ένωσης κασσιτέρου, [Syng-Ai C., et al, "Inhibition of Cell Proliferation and Antitumor Activity of a Novel Organotin Compound", 2001].

#### 4.12.6 BORON, [B<sup>o</sup>, B(III)] APOPTOSIS AND CANCER.

Το διπεπτιδίο του βορονικού οξέος: **Βοριοτεζονίδη** (Bortezomib, Velcade) γνωστό και ως PS-341, LDP-341 και MLM341) είναι ο πρώτος ισχυρός και εκλεκτικός αναστολέας του κυτταρικού συμπλόκου πρωτεασώματος, ενός πολυκαταλυτικού ενζύμου, που μεσολαβεί σε πολλά κυτταρικά ρυθμιστικά σήματα, αποικοδόμησης ρυθμιστικών πρωτεϊνών (p53) ή των αναστολέων τους.



Εικόνα 4.13. Αριστερά: Συντακτικός τύπος του αντικαρκινικού φαρμάκου, της Βοριοτεζομιδης Bortezomib και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του αντιβιοτικού φαρμάκου, της Βοριομυκίνης.

Έχει εμφανίσει ισχυρή δραστηριότητα *in vitro* και *in vivo*, έναντι μιας ποικιλίας κακοηθειών, συμπεριλαμβανομένου του μυελώματος, της χρόνιας λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας, του καρκίνου του προστάτη, του παγκρεατικού καρκίνου και του καρκίνου του παχέος εντέρου. Το φάρμακο Βοριοτεζονίδη είναι ένα πολυδύναμο αντικαρκινικό φάρμακο, που επιφέρει την αναστρέψιμη και δοσοεξαρτώμενη αναστολή του πρωτεασώματος, αποβάλλεται ταχέως από το αγγειακό σύστημα, [Adams Julian, and Kauffman Michael, "Development of the Proteasome Inhibitor Velcade (Bortezomib)", Cancer Investigation, 2004]. Η Boromycin είναι ένα γνωστό ισχυρό βακτηριοκτόνο αντιβιοτικό, τύπου πολυαιθέρα-μακρολιδο-αντιβιοτικού. Αρχικά απομονώθηκε βιοσυνθετικά, από τα στελέχη του *Streptomyces Antibioticus* και είναι αξιοσημείωτο, ότι είναι το **πρώτο φυσικό προϊόν**, που βρέθηκε να περιέχει το στοιχείο **βόριο**, (Εικόνα 4.13). Είναι αποτελεσματικό κατά των περισσότερων Gram-θετικών βακτηριδίων, αλλά αναποτελεσματική κατά των Gram-αρνητικών βακτηρίων. Η Boromycin σκοτώνει τα βακτηρίδια επηρεάζοντας αρνητικά την κυτταροπλασματική τους μεμβράνη, με αποτέλεσμα την απώλεια των ιόντων καλίου από το κύτταρο.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η boromycin διαθέτει επίσης ισχυρή αντιρετροϊκή (Anti-HIV) δραστηριότητα. Αναστέλλει ισχυρά την αντιγραφή των κλινικώς απομονωθέντων στελεχών HIV-1, καθώς επίσης και τα στελέχη καλλιέργιών *in vitro*. Ο μηχανισμός δράσεως για την Anti-HIV δραστηριότητα της boromycin αποδίδεται στο γεγονός ότι παρεμβαίνει στοτελευταίο στάδιο της λοίμωξης HIV και ενδεχομένως στο στάδιο της ωρίμανσης για την αντιγραφή του HIV, [Kohno J., et al, "Boromycin, An Anti-HIV Antibiotic", 1996].



#### **4.12.7 ΡΟΥΘΗΝΙΟ, [Ru<sup>0</sup>, Ru(III)] APOPTOSIS AND CANCER.**

Πολλά σύμπλοκα ρουθηνίου μελετήθηκαν τα οποία επέδειξαν αντι-πολλαπλασιαστικά αποτελέσματα, σε καρκίνους ανθρώπινων ωοθηκών. Σύμπλοκα ρουθηνίου με κατάσταση οξειδωσης 2 ή 3 δείχνουν αντικαρκινική δράση κατά της μετάστασης των όγκων. Παράγωγα του ρουθενοκενίου (RuthenoCene) δρουν ως αντι-οιστρογόνα, [Pigeon Pascal, et al, "Selective Estrogen Receptor Modulators in the Ruthenocene Series. Synthesis and Biological Behavior", 2005].

Η σχετική δέσμευση των παραγώγων ruthenocene ήταν πολύ υψηλές και ακόμη καλύτερα από εκείνη της υδροξυλο-ταμοξιφένης, η οποία είναι ανταγωνιστής οιστρογόνων, [Clarke M.J., "Ruthenium Metallorharmaceuticals", 2003]. Πολλά ρουθηνικά (Ru) σύμπλοκα εμφανίζουν αντι-οιστρογόνες ιδιότητες, παρόμοιες με εκείνες που παρατηρούνται για το αντι-οιστρογόνο ταμοξιφένη, [Vessieres Anne, et al, Selective Estrogen Receptor Modulators in the Ruthenocene Series, 2005]. Σύμπλοκα Ruthenocene με αρωματικούς υποκαταστάτες αντιπροσωπεύουν μια σχετικά νέα ομάδα ενώσεων, με αντικαρκινική δραστηριότητα. Τα σύμπλοκα Ru(III)-ιμιδαζολίου και Ru(III)-ινδαζολίου εμφανίζουν αντικαρκινικές ιδιότητες, [Allardyce C.S., and Dyson P.J., "Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects", 2001]. Ο Galanski και οι συνεργάτες του μελέτησαν τις αντικαρκινικές ιδιότητες των συμπλόκων του Ru(III) με αρένια (arenes), [Galanski M., et al, "Recent Development in the Field of Tumor Inhibiting Metal Complexes", Curr. Pharm., 2003].

Σύμπλοκα ρουθενοκενίων-κουμενίου έχουν αποδείξει ότι βλάπτουν το DNA, με το σχηματισμό μονολειτουργικών προϊόντων προσθήκης, επιλεκτικά με τα μόρια των βάσεων γουανίνης. Τα σύμπλοκα παράγωγα των ρουθενοκενίων εμφανίζουν αντιπολλαπλασιαστική επίδραση στις MCF-7 κυτταρικές γραμμές (ER-θετικό), μαστικού καρκίνου, [Allardyce C.S., and Dyson P.J., "Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects", 2001], [Allardyce C.S., et al, "[Ru(eta(6)-p-cymene)Cl<sub>2</sub>(pta)], (pta=1,3,5-Triaza-7-phosphatricyclo[3,3,1,1]-Decane): A Water Soluble Compound that Exhibits pH Dependent DNA Binding Providing Selectivity for Diseased Cells", 2001] και [Alessio E., et al, "Ruthenium Antimetastatic Agents", 2004].

#### **4.12.8 ΣΙΔΗΡΟΣ [Fe, Fe(II), Fe(III)], APOPTOSIS AND CANCER.**

Σύμπλοκα μετάλλων μεταπτώσεως, όπως του σιδήρου (Fe<sup>II</sup> και Fe<sup>III</sup>) έχουν δείξει αξιοσημείωτη αντι-πολλαπλασιαστικές ιδιότητες, [Lange T.S., et al, 2008], [Ray S., et al, 2007] και [Sun R.W., et al, 2007]. Τα φερροσιφένια (Ferrocifenes) εμφανίζουν αντικαρκινική δραστηριότητα έναντι των ορμονο-εξαρτώμενων και ορμονο-ανεξάρτητων μαστικών καρκίνων, [Top S., et al, 2003]. Τα παράγωγα φερροκενίου, που διαθέτουν υδροξυλομάδες στον δακτύλιο του φαινυλίου εμφανίζουν υψηλή συγγένεια προς τους υποδοχείς οιστρογόνων. Πολλά οργανομεταλλικά σύμπλοκα, ανάλογα της ταμοξιφένης χρησιμοποιήθηκαν ως όχημα, για την εισαγωγή άλλων κυτταροτοξικών παραγόντων, εντός των καρκινικών κυττάρων, [Kiat H.C., et al, 2006]. Κανονικά, οι καρκίνοι διαγιγνώσκονται σε ένα στάδιο της νόσου όταν συμβαίνουν κάποιες ανατομικές αλλαγές στο σώμα, με τη μορφή των καλώς εντοπισμένων όγκων. Αυτές οι μάζες μπορούν να αφαιρεθούν με χειρουργική επέμβαση, ωστόσο αυτή η μέθοδος δεν είναι κατάλληλη για τη θεραπεία των μικρών ή των κρυμμένων όγκων.

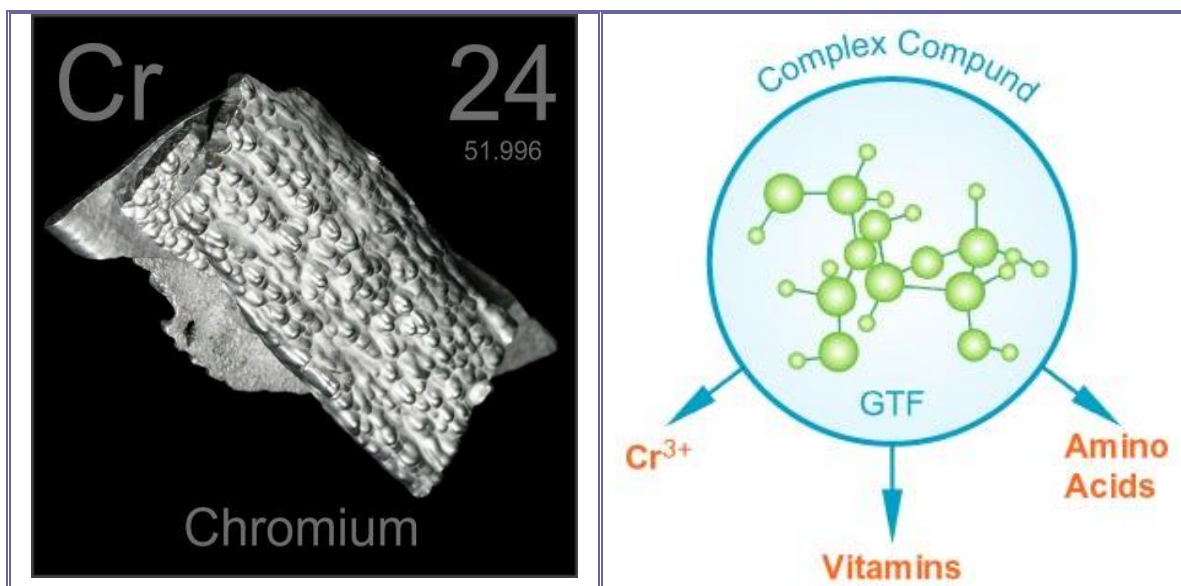
Η νανοτεχνολογία προσφέρει δυναμικές λύσεις, στο πρόβλημα της θεραπείας διαφόρων τύπων καρκίνου. Χρησιμοποιήθηκε επίσης η τεχνολογία νανοκυψελίδων (nanoshells) διοξειδίου του **πυριτίου- χρυσού**, για τη θερμική αφαιρετική θεραπεία του καρκίνου, [Hirsch L.R., et al, 2003]. Οι νανοκυψελίδες των μετάλλων είναι μια κατηγορία νανοσωματιδίων, με ρυθμιζόμενους οπτικούς συντονισμούς, τα οποία έχουν ιδιαίτερα ευνοϊκές οπτικές και χημικές ιδιότητες, τόσο για την βιοϊατρική απεικόνιση, όσο και για τις θεραπευτικές εφαρμογές.

Οι νανοκυψέλες αυτές απορροφούν στο εγγύς υπέρυθρο φάσμα, πράγμα που επιτρέπει την χρησιμοποίησή τους, στην διάδοση και μεταφορά μιας θεραπευτικής δόσης θερμότητας, χρησιμοποιώντας μετρίως χαμηλές δοσολογίες έκθεσης, στην εξωσωματικά εφαρμοζόμενη εγγύς υπέρυθρη (NIR) ακτινοβολία. Έχει αναφερθεί επίσης ότι τα **νανοσωματίδια αργύρου** εμφανίζουν αντι- πολλαπλασιαστική δραστηριότητα, [Asharani P.V., et al, 2009]. Αναφέρθηκαν αρκετά παραδείγματα διαγνωστικών και θεραπευτικών σχημάτων, με βάση τις νανοκυψελίδες, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης των βιοσυζευγμένων νανοκυψελίδων, για τη μοριακή απεικόνιση. Οι **μερκαπτοπουρίνες** είναι γνωστά αντι-λευχαιμικά φάρμακα αλλά η χρήση τους έχει περιορισθεί, λόγω της βραχείας ημίσειας ζωής τους, [Loo C., et al, 2004]. Αυτό το πρόβλημα έχει ξεπεραστεί με τη χρήση των νανοσωματιδίων χρυσού, σε συνδυασμό με τις μερκαπτοπουρίνες. Σε συνδυασμένες θεραπείες με ταυτόχρονη χρήση 6-μερκαπτο-πουρίνης και νανο-σωματιδίων χρυσού, όχι μόνο ενισχύεται η αντι-λευχαιμική και αντι-φλεγμονώδης δράση της, αλλά επίσης μειώνεται δραστικά η ποσότητα της δοσολογίας, καθώς και οι παρενέργειες του φαρμάκου, [Podsiadlo P., et al, 2008]. Άλλα μέταλλα όπως το γάλλιο, το γερμάνιο, ο κασσίτερος, βισμούθιο, τιτάνιο, ρουθίνιο, ρόδιο, ιρίδιο, μολυβδαίνιο, χαλκό, χρυσό αποδείχθηκαν αποτελεσματικά, έναντι διαφόρων όγκων του ανθρώπου και των ζώων, [Sessler J.L., et al, "Medicinal Inorganic Chemistry", 2005], [Lorisean P.M., et al, "Pharmaco-modulation of New Organometallic Complexes of Ir, Pt, Os, Rh, Pd: In vivo and in vitro Trypanocidal Study Against Trypanosoma Brucci Brucci", 1992].

#### **4.12.9 CHROMIUM [Cr<sup>0</sup>, Cr(III)], GT FACTOR, APOPTOSIS AND CANCER (GTF).**

Το χρώμιο ανήκει στα απαραίτητα ιχνοστοιχεία για τη διατροφή των ανθρώπων και των ζώων. Ήδη από το 1959 παρατηρήθηκε σε αρουραίους, ότι η νέκρωση του ήπατος και η δυσανεξία στη γλυκόζη, θα μπορούσαν να αντιστραφούν από ένα βιολογικό συστατικό, που περιέχει χρώμιο και βρέθηκε σε ζυμομύκητες, κρέατα και άλλα τρόφιμα, τον λεγόμενο παράγοντα ανοχής γλυκόζης (Glucose Tolerance Factor, **GTF**). Η ακριβής δομή του παράγοντα ανοχής της γλυκόζης παραμένει άγνωστη. Ωστόσο έχει διαπιστωθεί, ότι περιέχει τρισθενές χρώμιο, [Vincent John B., "The Biochemistry of Chromium", 2000] και [Schwarz K., and Mertz W., "Chromium(III) and the Glucose Tolerance Factor", 1959].

Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι το χρώμιο συμπλέκεται από το νικοτινικό οξύ και θειο-αμινοξέα, πιθανόν την κυστεΐνη του μικρού πεπτιδίου της γλουταθειόνης. Αυτό το σύμπλοκο μπορεί να είναι ένα αναπόσπαστο μέρος των υποδοχέων μεμβράνης, για την ορμόνη ινσουλίνη. Ένα άλλο βιομόριο, που περιέχει χρώμιο είναι η chromodulin, ένα ολιγοπεπτίδιο, το οποίο σχηματίζεται από τα αμινοξέα: ασπαραγίνη, γλουταμίνη, γλυκίνη και κυστεΐνη και περιέχει τέσσερις ανιόν-γεφυρωμένα κατιόντα χρωμίου. Η Chromodulin είναι μέρος του συστήματος αυτο-ενίσχυσης του σήματος ινσουλίνης.



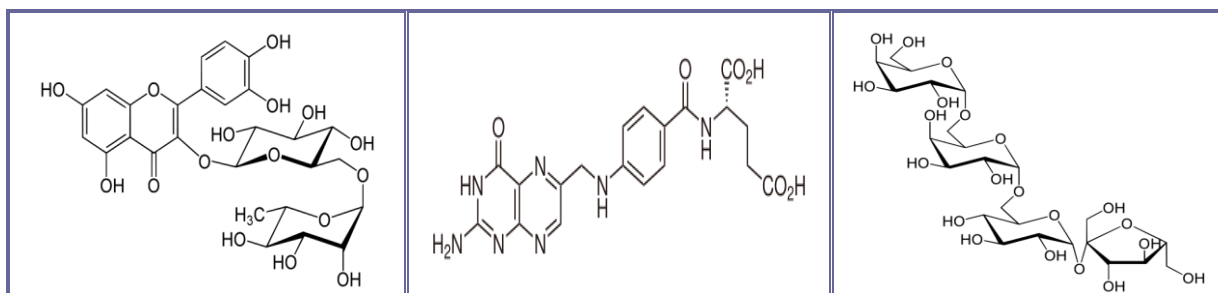
Εικόνα 4.14. Αριστερά: Το μεταλλικό στοιχειακό χρώμιο, με Α.Α=24 και Δεξιά: Η σχηματική αναπαράσταση της συμπλόκου ενώσεως του χρωμίου με τον παράγοντα GTF.

Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι το χρώμιο συμπλέκεται από το νικοτινικό οξύ και θειοαμινοξέα, πιθανόν την κυστεΐνη του μικρού πεπτιδίου της γλουταθειόνης. Αυτό το σύμπλοκο μπορεί να είναι ένα αναπόσπαστο μέρος των υποδοχέων μεμβράνης, για την ορμόνη ινσουλίνη. Ένα άλλο βιομόριο, που περιέχει χρώμιο είναι η chromodulin, ένα ολιγοπεπτίδιο, το οποίο σχηματίζεται από τα αμινοξέα: ασπαραγίνη, γλουταμίνη, γλυκίνη και κυστεΐνη και περιέχει τέσσερις ανιόν-γεφυρωμένα κατιόντα χρωμίου. Η Chromodulin είναι μέρος του συστήματος αυτο-ενίσχυσης του σήματος ινσουλίνης.

Απομονώθηκε και καθарίσθηκε η **χρωμιοντουλίνη (chromodulin)**, από τα όργανα ενός μη-θηλαστικού ζώου, ενός πτηνού. Είναι γνωστή και ως: χαμηλού μοριακού βάρους βιολογική ουσία, δεσμευμένη με το χρώμιο (low-molecular-weight chromium-binding substance, LMWCr). Είναι ένα ινσουλινομιμητικό ολιγοπεπτίδιο, συμπλοκοποιημένο με το χρώμιο και έχει αποδειχθεί ότι διδραματίζει σπουδαίο ρόλο, τόσο στη σηματοδότηση της ινσουλίνης, όσο και στη μεταφορά του χρωμίου, στα θηλαστικά. Φασματοσκοπικές και φυσικοχημικές μελέτες, για τον χαρακτηρισμό του απομονωθέντος βιολογικού υλικού, απέκάλυψαν ότι η ουσία αυτή είναι ένα συγκρότημα ολιγοπεπτιδίου, με ένα σύστημα πολυπυρηνικών συζεύξεων- γεφυρών χρωμίου, μέσω καταληκτικών ακρομορίων ασπαρτικού και γλουταμικού οξέος. Η δομή της ουσίας αυτής κατά πολύ προσομοιάζει με τα ομόλογα της, τα προερχόμενα εκ των θηλαστικών. Η βιολογική δραστηριότητα της απομονωθείσης ουσίας είναι ανάλογη και παρόμοια, με εκχυλίσματα LMWCr, από άλλες πηγές, [Viera Margarita, and Davis-McGibony C.M., "Isolation and Characterization of Low-Molecular-Weight Chromium-binding Substance (LMWCr) from Chicken Liver", 2008].

**Εξιχνίαση της δομής της χρωμιοντουλίνης.** Η βιολογικώς δραστηκή μορφή, του απαραίτητου ιχνοστοιχείου χρωμίου πιστεύεται ότι είναι το ολιγοπεπτίδιο- πολυπυρηνικό συγκρότημα chromodulin. Η χρωμιοντουλίνη συμπλέκεται με τέσσερα κατιόντα χρωμίου (III) κοντά στα ενεργά βιολογικά κέντρα, τα οποία ενεργοποιούν τους υποδοχείς της ινσουλίνης και στη συνέχεια ενισχύουν την δραστηριότητα της τυροσινικής κίνησης των υποδοχέων. Χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό **α)**-της περίθλασης ακτίνων-Χ, **β)**-της ηλεκτρονικής φασματοσκοπίας παραμαγνητικού συντονισμού και **γ)**-των μετρήσεων

μαγνητικής επιδεκτικότητας μεταβλητής θερμοκρασίας, διαπιστώθηκε ότι η Holochromodulin διαθέτει ένα αντισιδερομαγνητικώς συζευγμένο, συγκρότημα τριπυρηνικών μεταλλικών κέντρων, τα οποία αλληλεπιδρούν ασθενώς, πιθανώς με ένα τέταρτο κέντρο χρωμίου.

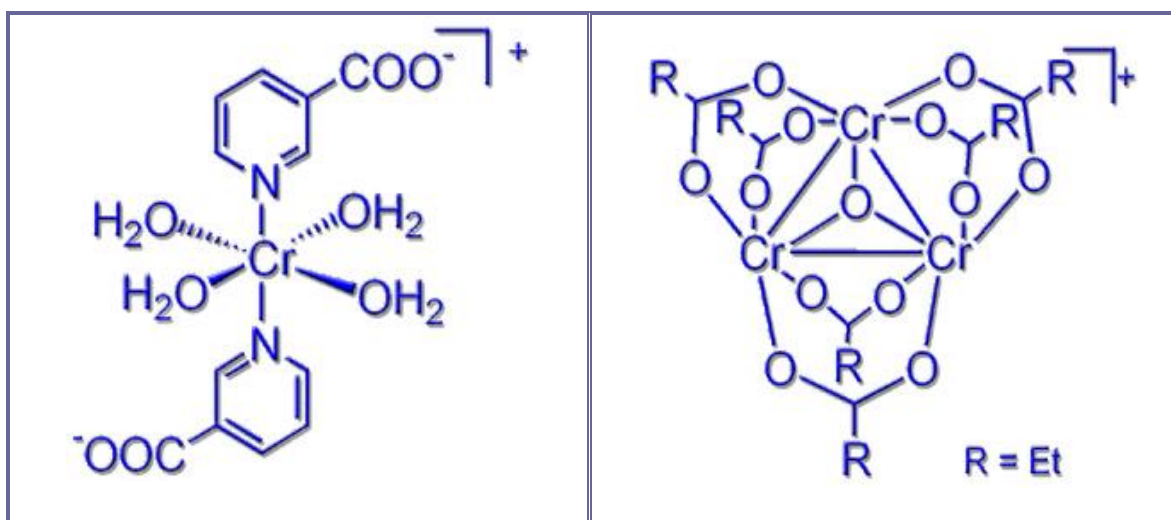


**Εικόνα 4.15. Αριστερά Συντακτικός τύπος της Ρουτίνης (Rutin), Κέντρο Συντακτικός τύπος του Φολικού Οξέος (Folic acid) και Δεξιά Συντακτικός τύπος της Σταχυόζης (Stachyose).**

Τα κέντρα χρωμίου διαθέτουν οκταεδρική διευθέτηση εντάξεως, με καρβοξυλικούς οργανικούς υποκαταστάτες, προερχόμενους κυρίως από τις καρβοξυλικές ομάδες, του ολιγοπεπτιδίου. Διαπιστώνεται επίσης ότι οι θειολικές ομάδες της κυστεΐνης, δεν συμπλοκοποιούνται πάνω στα μεταλλικά κέντρα του χρωμίου. Έτσι η χρωμιοντουλίνη διαθέτει ένα μοναδικό μοντέλο πολυπυρηνικών συγκροτημάτων, τα οποία διαφοροποιούνται σαφώς από εκείνα, που απαντώνται στα υπόλοιπα βιο-ανόργανα συστήματα, [Jacquemet L., et al, "Characterization of Chromodulin by X-ray Absorption and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopies and Magnetic Susceptibility Measurements", 2003].

Συντέθηκαν για πρώτη φορά τα **νέα σύμπλοκα του τρισθενούς χρωμίου [Cr(III)]**, με τρεις οργανικούς υποκαταστάτες: α)-το φλαβονοειδές γλυκοσίδιο ρουτίνη, β)-το βιταμινικό B<sub>9</sub> φολικό οξύ και γ)-τον τετρασακχαρίτη σταχυόζη και ελέγχθηκε εάν αυτά διαθέτουν παρόμοια συμπεριφορά, στην αντι-υπεργλυκαιμική τους δραστηριότητα, καθώς και στην οξεία τοξικολογική κατάσταση. Η αντι-υπεργλυκαιμική δραστηριότητα των νέων συμπλόκων: χρωμιο-ρουτινικού συμπλόκου (CrRC), χρωμιο-φολικού συμπλόκου (CrFC) και του χρωμιο-σταχυοζικού συμπλόκου (CrSC), μελετήθηκαν σε διαβητικούς επίμυες, με αλλοξανιο-προκληθέντα διαβήτη, κατόπιν per os ημερήσιας χορήγησης δόσεων 0,5–3,0mg Cr/kg, για περίοδο δύο εβδομάδων. Οι οξείες τοξικότητες των συμπλόκων CrRC, CrFC και CrSC μελετήθηκαν σε επίμυες ICR, με από στόματος καθετηριασμό.

Για δόσολογίες 1,0–5,0g/kg και για περίοδο δύο εβδομάδων, οι τιμές LD<sub>50</sub> για τα δύο πρώτα σύμπλοκα ήταν μεγαλύτερες των 5,0 g/kg, ενώ για το σύμπλοκο CrSC ήταν 1,0 g/kg. Οι βιολογικές δραστηριότητες των νέων συμπλόκων ενώσεων απέκαλυψαν ότι μόνον τα δύο σύμπλοκα CrRC και CrFC οδήγησαν σε μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα, σε μείωση της δράσης της ασπαρτικής τρανσαμινάσης, της αλανινικής τρανσαμινάσης, της αλκαλικής φωσφατάσης και στην αύξηση των επιπέδων γλυκογόνου στο ήπαρ. Τελικώς μόνον το σύμπλοκο CrFC αποδεικνύεται το καλύτερο διατροφικό συμπλήρωμα χρωμίου, με χαμηλή τοξικότητα και με ισχυρή θεραπευτική αντιδιαβητική δράση, στον έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης του αίματος, [Li Fang, et al, "Comparing Anti-hyperglycemic Activity and Acute Oral Toxicity of Three Different Trivalent Chromium Complexes in Mice", 2012].



Εικόνα 4.16. Αριστερά:  $[\text{Cr}(\text{Nicotinate})_2(\text{OH}_2)_4]^+$ , ως ένα μερικό δομικό μοντέλο της ουσίας glucose tolerance factor και Δεξιά: η σύμπλοκη ένωση  $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{Propionate})_6(\text{OH}_2)_3]^+$ , ως ένα μερικό δομικό ικρίωμα της χρωμιοδουλίνης.

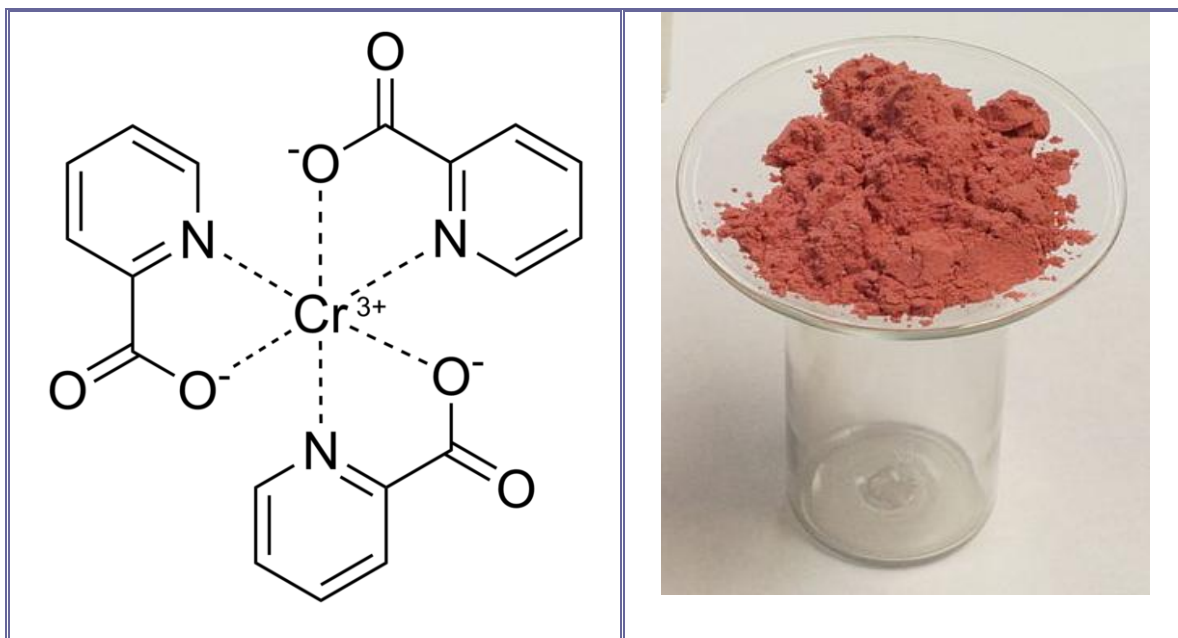
Αν και το **πικολινικό χρώμιο ( $[\text{Cr}(\text{pic})_3]$ )** και όλα τα υπόλοιπα χρωμιούχα συμπληρώματα διατροφής της είναι περισσότερο γνωστά στο ευρύ κοινό, ως παράγοντες κατάλληλοι για την απώλεια περιττού βάρους και την οικοδόμηση μυώδους σωματοδομής, εν τούτοις τα συμπληρώματα αυτά δεν έχουν ουσιαστική επίδραση στη σύνθεση του σώματος. Σε φαρμακολογικά επίπεδα, μπορούν να έχουν ευεργετικά αποτελέσματα, στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και συγκεκριμένα στα επίπεδα τόσο της ινσουλίνης, όσο και της χοληστερόλης, με συνεπακόλουθη μείωση των επιπέδων της γλυκόζης του ορού.

Τα ευεργετικά αποτελέσματα πιθανόν να προκύψουν από κάθε ένωση που χρησιμεύει ως πηγή του Cr(III) και όχι από κάποια εγγενή δραστικότητα, του υπολοίπου μορίου της συμπλόκου ενώσεως. Επιβλαβή αποτελέσματα και ιδιαίτερη ανησυχία, των φαρμακολογικών δόσεων, επί του παρόντος φαίνεται να αφορούν την σύμπλοκη ένωση  $[\text{Cr}(\text{pic})_3]$ , σε σύγκριση με άλλα συμπληρώματα Cr, ενώ ευεργετικές επιδράσεις έχουν παρατηρηθεί με από άλλες πηγές Cr. Η χαμηλή διαλυτότητα τόσο του  $[\text{Cr}(\text{pic})_3]$ , όσο και του πολυνικοτινικού χρωμίου (chromium polynicotinate) περιορίζει δραστικά την απορρόφηση τους.

Το μεταλλικό κέντρο Cr(III) του χλωριούχου χρωμίου ( $\text{CrCl}_3$ ) μπορεί να χηλικοποιείται διά συμπλέξεως, με μεγάλα βιομόρια, σχηματίζοντας διάφορα γεφυρωμένα, ολιγομερή υδροξο- σύμπλοκα άλατα –ειδικότερα στο βασικό pH των εντέρων- περιορίζοντας έτσι μερικώς την απορρόφηση των. Ωστόσο τα απλά ανόργανα άλατα του χρωμίου, είναι πρόδρομοι ουσίες -σημαντικά λιγότερο δαπανηρές- στην σύνθεση του πολυνικοτινικού, του πικολινικού χρωμίου  $[\text{Cr}(\text{pic})_3]$  και πολλών άλλων ινσουλινομιμητικών συμπλόκων, παραγώγων του χρωμίου, με ικανοποιητική απορροφητικότητα και χωρίς πιθανές ανεπιθύμητες παρενέργειες.

Η παρουσία της νιασίνης στα νικοτινικά σύμπλοκα αυξάνει ραγδαία την βιοδιαθεσιμότητα του χρωμίου στον ανθρώπινο οργανισμό. Αυτά τα σύμπλοκα άλατα και ίσως και άλλα οργανικά σύμπλοκα του χρωμίου χωρίς επιβλαβείς παρενέργειες μπορούν να έχουν ελπιδοφόρο μέλλον, στην θεραπεία των συμπτωμάτων, τόσο του επίκτητου διαβήτη των ενηλίκων, όσο και παρεμφερών παθογενών καταστάσεων, [Vincent J.B., "Chromium(III)

Complexes", *Drugs of the Future*, Volume 28(11), pp. 1079, 2003], [Olin K.L., et al, "Comparative Retention/ Absorption of  $^{51}\text{Cr}$  from  $^{51}\text{Cr}$  Chloride,  $^{51}\text{Cr}$  Nicotinate and  $^{51}\text{Cr}$  Picolinate in a Rat Model", 1994] και [Staniek Halina, et al, "Evaluation of the Acute Oral Toxicity Class of Trinuclear Chromium(III) Glycinate Complex in Rat", 2011].



**Εικόνα 4.17.** Αριστερά: ο συντακτικός τύπος του χηλικού συμπλόκου άλατος του χρωμίου (III), **Tris-(picolinate)-chromium(III)**, ή **Chromium Picolinate** και Δεξιά: η κρυσταλλική μορφή του βαθέως ερυθρού συμπλόκου.

Ο φυσιολογικός ρόλος του χρωμίου (III) στον σακχαρώδη διαβήτη (diabetes mellitus) έχει μια περιοχή ασαφούς έρευνας, επί πολλά χρόνια. Είναι πολύ ενδιαφέρον να διερευνήσει τις αλληλεπιδράσεις γίνονται από χρώμιο (III) για να πάρετε μια καλύτερη εικόνα για το ρόλο τους στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Για να κατανοηθεί η μοριακή βάση της δράσης του χρωμίου πραγματοποιήθηκαν φασματοσκοπικές και κρυσταλλογραφικές έρευνες επί της συνδέσεως του χηλικού συμπλόκου **[Cr(III)-Salen] μετά της ινσουλίνης**, δεδομένου ότι η παρουσία του συμπλόκου έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της δραστηριότητας ινσουλίνης. Ο σχηματισμός της απ'ευθείας συμπλέξεως του Cr(III), με το μόριο της ινσουλίνης παρακολούθηθηκε σε δύο pH, δηλαδή: 3,5 και 9,0 με την βοήθεια φθορισμομετρικών και UV-Vis μελετών. Εξ' άλλου η κρυσταλλογραφική ανάλυση των εμποτισμένων κυβικών κρυστάλλων ινσουλίνης, με το σύμπλοκο [Cr(III)-Salen], χρησιμοποιώντας την μέθοδο ανώμαλων διαφορών Fourier, αποκάλυψε ότι η θέση σύνδεσης του χρωμίου(III), πάνω στο μόριο της ινσουλίνης είναι η B21 Glu, [Sreekanth R., et al, "Molecular Basis of Chromium Insulin Interactions", 2008].

Εξετάστηκαν οι επιδράσεις του χλωριούχου χρωμίου, του νικοτινικού χρωμίου και του πικολινικού χρωμίου, πάνω στην πορεία διεισδυτικότητας-διέλευσης (internalization) της ινσουλίνης, μέσω των κυτταρικών μεμβρανών, σε καλλιέργειες κυττάρων σκελετικού μυός αρουραίου. Η διεισδυτικότητα της ινσουλίνης ήταν σημαντικά αυξημένη, σε κύτταρα που καλλιεργήθηκαν, εντός θρεπτικού μέσου, που περιείχε πικολινικό χρώμιο και ο αυξημένος ρυθμός της διαπερασιμότητας συνοδεύτηκε από μία σημαντική αύξηση, στην πρόσληψη

τόσο της γλυκόζης, όσο και της λευκίνης. Το αποτέλεσμα αυτό είναι εξειδικευμένο για το πικολινικό χρώμιο, δεδομένου ότι ούτε πικολινικός ψευδάργυρος, ούτε οποιαδήποτε από τις άλλες μορφές του χρωμίου, που δοκιμάστηκαν ήταν αποτελεσματική. Ο αυξημένος ρυθμός διέλευσης της ινσουλίνης προκύπτει από μια αύξηση στην ρευστότητα της μεμβράνης, αφού κυρίως το πικολινικό χρώμιο και σε μικρότερο βαθμό το νικοτινικό χρώμιο, αυξάνουν την ρευστότητα των συνθετικών λιποσωματικών μεμβρανών, [Evans G.W., and Bowman T.D., "Chromium Picolinate Increases Membrane Fluidity and Rate of Insulin Internalization", 1992], [Evans G.W., and Pouchnik D.J., "Composition and Biological Activity of Chromium-Pyridine Carboxylate Complexes", 1993].

Το χρώμιο (III) θεωρείται ως ένα ουσιαστικό στοιχείο και παίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και των λιπιδίων, γι' αυτό και διάφορες χημικές μορφές του στοιχείου αυτού χρησιμοποιούνται ευρέως, σε συμπληρώματα διατροφής. Συντέθηκαν νέα τρι-πυρηνικά σύμπλοκα του Cr(III): Το **γλυκινικό- τριπυρηνικό- σύμπλοκο,  $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2)_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{NO}_3$**  και το αντίστοιχο προπιονικό- τριπυρηνικό- σύμπλοκο- (CrGly), ως πιθανές πηγές συμπληρωμάτων Cr. Αξιολογήθηκε η οξεία τοξικότητα της κατηγορίας CrGly σε αρουραίους Wistar, με εφαρμογή της διαδικασίας του ΟΟΣΑ 423. Σε αρσενικούς και θηλυκούς αρουραίους Wistar (n=12, 6♀ και 6♂) δόθηκαν με καθετηριασμό, είτε μία απλή δόση CrGly 2000mg/kg βάρους σώματος (ισοδύναμη με 300mg Cr(III)/kg βάρους σώματος, σε υδατικό διάλυμα) ή ισοδύναμοι όγκοι απεσταγμένου ύδατος και κατά βούληση διατροφή commercial Labofeed B. Κατεγράφησαν προσεκτικές παρατηρήσεις για 14 ημέρες, στη συνέχεια τα ζώα θυσιάστηκαν, για τη συλλογή του αίματος και των εσωτερικών οργάνων, για βιοχημικές και ιστολογικές εξετάσεις. Δεν υπήρξαν θανατηφόρα περιστατικά, δεν παρατηρήθηκαν ανωμαλίες στη συμπεριφορά των ζώων, στην αύξηση της σωματικής μάζας, στην ιστολογία ακαθάριστου οργάνου, ή στην μορφολογία και τη βιοχημεία του αίματος. Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η LD<sub>50</sub> του CrGly είναι μεγαλύτερη από 2000mg/kg, όταν χορηγείται από στόματος σε αρουραίους. Έτσι αυτή η ένωση φαίνεται να ανήκει στην πέμπτη κατηγορία του συστήματος GHS ή στην τέταρτη κατηγορίας του σύστημα ταξινόμησης της Ευρωπαϊκής Ένωσης, [Staniek Halina, et al, "Evaluation of the Acute Oral Toxicity Class of Trinuclear Chromium(III) Glycinate Complex in Rat", 2011].

Το πικολινικό χρώμιο (III) είναι η χημική ένωση που πωλείται ευρέως, ως συμπλήρωμα διατροφής, για την πρόληψη ή τη θεραπεία της ανεπάρκειας του χρωμίου. Η κατά IUPAC ονομασία του είναι **[tris-(picolinate)-chromium(III)]**. Πρόκειται για μία χηλική σύμπλοκη ένωση του χρωμίου, όπου τα τρία αρνητικά φορτία των τριών ιονισμένων υποκαταστατών αντισταθμίζουν τα τρία θετικά φορτία του κεντρικού κατιόντος. Είναι ένα βαθυ-κόκκινο κρυσταλλικό χηλικό σύμπλοκο άλας του χρωμίου (III), (Εικόνα 4.17) μηδενικού φορτίου, με μοριακό τύπο  $[\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_6\text{Cr}]$  ή  $\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3$ , με M.B.= 418,33 g/mol, με περιορισμένη διαλυτότητα στο ύδωρ και ικανοποιητική διαλυτότητα σε λιπαρούς διαλύτες (lipophilic compound). Απομονώνεται δια μακράς παραμονής υδατικού διαλύματος πικολινικού οξέος και τρι-χλωριούχου χρωμίου, με pH=5 περίπου.

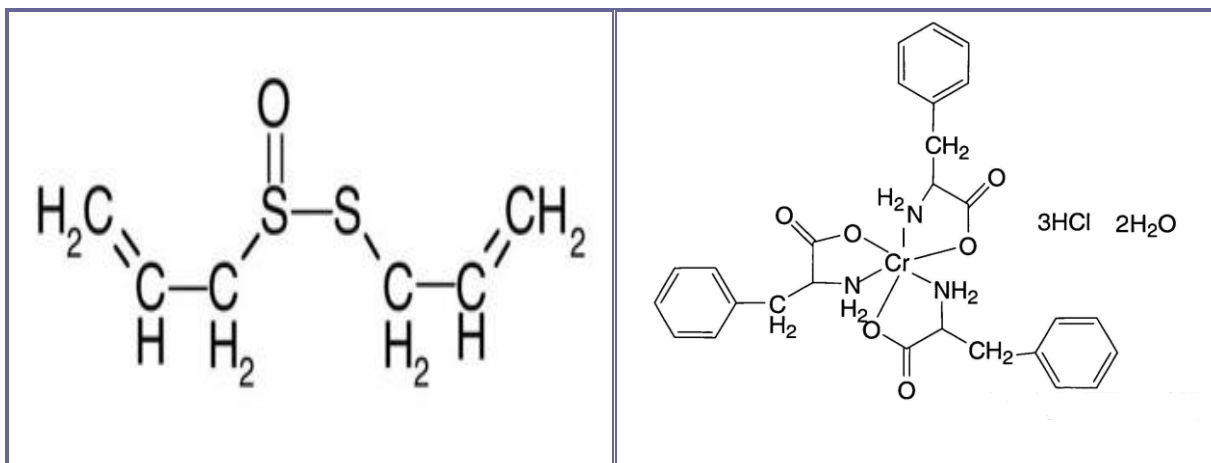
Μικρές ποσότητες χρωμίου απαιτούνται για τη διάσπαση της γλυκόζης από την ινσουλίνη σε φυσιολογικά επίπεδα υγείας, αλλά η ανεπάρκεια είναι εξαιρετικά σπάνια και έχει παρατηρηθεί μόνο σε ασθενείς νοσοκομείων, σε μακροχρόνιες αυστηρές δίαιτες. Ο ορθοκολονικός καρκίνος, λιγότερο επίσημα γνωστός ως καρκίνος του παχέος εντέρου, είναι ένας καρκίνος που χαρακτηρίζεται από νεοπλασία του παχέος εντέρου, ή του ορθού, ή της

σκωληκοειδούς απόφυσης. Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι κλινικά διακριτός από τον καρκίνο του πρωκτού και επηρεάζει άμεσα τον πρωκτό. Ο καρκίνος του παχέος εντέρου ξεκινά συνήθως στον βλενογόνο του εντέρου. Εάν αφεθεί χωρίς θεραπεία, μπορεί να επεκταθεί μέσα στα στρώματα των υποκείμενων μυών και να διαβρώσει τα τοιχώματα του εντέρου. Οι περισσότεροι αρχίζουν ως μία μικρή διόγκωση στο τοίχωμα του εντέρου, ή ως ένα ορθοκολονικό αδένωμα ή ως ένας πολύποδας. Το χηλικό τρι-πικολινικό χρώμιο, σε αλληλεπίδραση με την Avastin, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα –παράγωγο του DNA - χρησιμοποιείται επιτυχώς, στις περιπτώσεις διαφόρων κακοήθων νεοπλασμάτων, του γαστρεντερικού καρκίνου, του καρκίνου του εντέρου, του καρκίνου του παχέος εντέρου και στις περιπτώσεις του καρκίνου του ορθού, με ενθαρρυντικά συνήθως αποτελέσματα, [Wikipedia, tris-(picolinate)-chromium(III)].

Το πικολινικό χρώμιο [ $\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_3$ ], ( $\text{CrPic}_3$ ), το οποίο ευρύτατα χρησιμοποιείται, τόσο στα συμπληρώματα διατροφής, όσο και στη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2, έχει τελευταία αποκτήσει μεγάλη προσοχή, **λόγω της κυτταροτοξικότητάς του**. Αυτή η μελέτη αξιολόγησε τα αποτελέσματα των επιδράσεων του ( $\text{CrPic}_3$ ), επί της βιωσιμότητας των ινοβλαστών (CEF), του εμβρύου όρνιθας, χρησιμοποιώντας την δοκιμασία του βρωμιούχου 3-(4,5-διμεθυλο-θειαζολ-2-υλ)-2,5-διφαινυλοτετραζολίου, τις μορφολογικές ανιχνεύσεις και την κυτταρομετρία ροής. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις του ( $\text{CrPic}_3$ ), (8 και 16 $\mu\text{M}$ ) δεν έβλαψαν την βιωσιμότητα των CEF ( $p>0,05$ ). Ωστόσο υψηλότερες συγκεντρώσεις του χηλικού συμπλόκου ( $\text{CrPic}_3$ ), (400 και 600 $\mu\text{M}$ ) εμφάνισαν πολύ σημαντική επίδραση, στην παραγωγή ενδοκυτταρικών δραστικών μορφών οξειδωτικού και αλλοιώσεις του μιτοχονδριακού δυναμικού μεμβράνης, της ενδοκυτταρική συγκέντρωση κατιόντων ασβεστίου και του ποσοστό απόπτωσης ( $p<0,01$ ), σε αντίθεση με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις του ( $\text{CrPic}_3$ ), (8 και 16 $\mu\text{M}$ ) και την ομάδα ελέγχου. Επιπλέον οι αποπτωτικές μορφολογικές μεταβολές, που προκαλούνται από τις διαδικασίες αυτές στους CEF επιβεβαιώθηκαν, χρησιμοποιώντας την χρώση Hoechst 33258. Ο κυτταρικός θάνατος που επέρχεται από τις υψηλότερες συγκεντρώσεις του ( $\text{CrPic}_3$ ) προκλήθηκε από έναν αποπτωτικό και νεκρωτικό μηχανισμό, ενώ ο βασικός μηχανισμός της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας, προκαλούμενης υπό του οξειδωτικού στρες, ήταν αποπτωτικός θάνατος, [Bai Y., et al, "Effects of Chromium Picolinate on the Viability of Chick Embryo Fibroblast", 2014].

Το κυριότερο βιολογικό ενεργό συστατικό του εκχυλίσματος, που παραλαμβάνεται από πολτοποιημένες σκελίδες φυσικού σκόρδου είναι η αλλυλο-θειο-ένωση **Allicin**. Η Αλλισίνη είναι ένα ισχυρό κυτταροστατικό χημικό μόριο, αναστέλλει την αύξηση των κυττάρων και επιφέρει απόπτωση στα γλοιβλαστωματικά κύτταρα U87MG του ανθρώπου, μέσω μίας ERK-εξαρτώμενης οδού. Η Αλλισίνη επίσης επιφέρει αποπτωτικό θάνατο στα κολονικά καρκινικά κύτταρα (colon cancer cells), μέσω μίας **Nrf2**-εξαρτώμενης οδού, (Εικόνα 4.18). Κατά την αντίδραση της με το σύμπλοκο [δισ-(L-Cys)-χρώμιο(III)], σε βασικό περιβάλλον, δίνουν s-[αλλυλο-μερκαπτο-κυστεινατο-σύμπλοκα] του χρωμίου (III). Η μελέτη περιλαμβάνει επίσης την παρασκευή μερικών συμπλόκων χρωμίου, του τύπου: cis-[ $\text{Cr}(\text{C}_2\text{O}_4)_2(\text{HL})_2$ ] $\cdot\text{H}_2\text{O}$  όπου ( $\text{HL}=\text{L-κυστεΐνη}$ , **γλυκίνη** και **γλουταμινικό οξύ**), από την αντίδραση cis-K[ $\text{Cr}(\text{C}_2\text{O}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_2$ ] $\cdot 0,2\text{H}_2\text{O}$  με τα αμινοξέα, L-κυστεΐνη, γλυκίνη και γλουταμινικό οξύ, μέσω κανονικής διαδικασίας θέρμανσης.





**Εικόνα 4.18.** Αριστερά: Ο συντακτικός τύπος της κυτταροστατικής βοτανικής ουσίας Αλλισίνης, του σκόρδου, Δεξιά: Το χημικό σύμπλοκο της φαινυλο-αλανίνης [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>], με το χρώμιο(III).

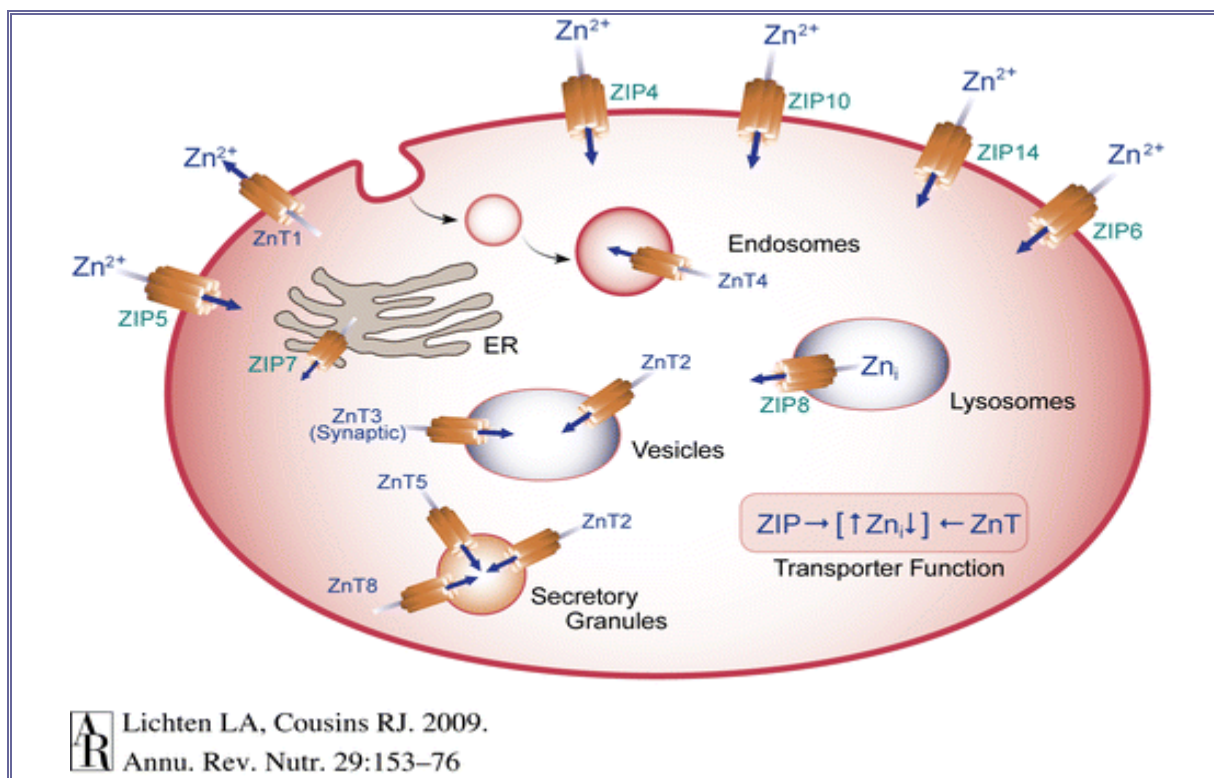
Παρασκευάστηκαν κάποια νέα σύμπλοκα του χρωμίου-(III) με τρι- και τετρα-σουλφιδό-υποκαταστάτες, από την αντίδραση του κυανού συμπλόκου δις-(L-κυστεινато)-χρωμίου(III), με διαλλυλο- και διμεθυλο-σουλφίδιο και προτάθηκαν κατάλληλοι μηχανισμοί για αυτές τις νέες αντιδράσεις. Η χημική δομή των παρασκευασθέντων συμπλόκων έχει επιλυθεί, με στοιχειακή ανάλυση και φασματοσκοπία, ηλεκτρονικού, υπερύθρου και πρωτονίου NMR. Οι βιολογικές μελέτες δείχνουν ότι ορισμένα από τα παρασκευασθέντα σύμπλοκα άλατα έχουν αντι-μικροβιακή και κυτταροστατική δραστηριότητα, [Abdullah M.A. and Tofiq D.I., "Synthesis and Characterization of a Novel Biological Mixed Organometallic Chromium (III) Complex of Potential Allyl -Sulfur Compounds of Garlic, Allicin", 2002] και [Bat-Chen W., et al, "Allicin Purified from Fresh Garlic Cloves Induces Apoptosis in Colon Cancer Cells via Nrf2", 2010].

**4.12.10 ZINC [Zn<sup>0</sup>, Zn(II)], APOPTOSIS, AND CANCER.** Ο ψευδάργυρος είναι ένα **απαραίτητο μικροδιατροφικό ιχνοστοιχείο** (essential micronutrient trace element) που παίζει έναν κρίσιμο ρόλο, σε ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών βιοχημικών κυτταρικών διεργασιών, όπως στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, στη διαφοροποίηση και στην άμυνα κατά των ελευθέρων ριζών [Ho E., "Zinc Deficiency, DNA Damage and Cancer Risk", 2004] και [Stefanidou M., et al, "Zinc: A Multipurpose Trace Element", 2006]. Ο Zn(II) δρα ως ένα βασικό δομικό συστατικό σε πολλές πρωτεΐνες και ένζυμα, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων μεταγραφής, των κυτταρικών πρωτεϊνών σηματοδότησης και των ενζύμων επιδιόρθωσης του DNA, [Prasad A.S., "Zinc: An Overview", 1995] και [Prasad A.S., and Kucuk O., "Zinc in Cancer Prevention", 2002]. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι ο Zn(II) παίζει κρίσιμο ρόλο, στη ρύθμιση της απόπτωσης σε κύτταρα θηλαστικών, [Fraker P.J., and Lill-Elghanian D.A., "The Many Roles of Apoptosis in Immunity as Modified by Aging and Nutritional Status", 2004]. Ωστόσο, ο ακριβής ρόλος του Zn(II), στην διαμόρφωση αυτής της απόκρισης φαίνεται να είναι εξειδικευμένος για τα κύτταρα, εξαιρετικά πολύπλοκος και χωρίς βεβαιωμένη τεκμηρίωση, [Franklin R.B., and Costello L.C., "The Important Role of the Apoptotic Effects of Zinc in the Development of Cancers", 2009].

Σε πολλούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των επιθηλιακών κυττάρων



φαίνεται να στερούνται απτών συμπερασμάτων και εξαρτάται από τον τύπο του όγκου, [Franklin RB, and Costello L.C., "The Important Role of the Apoptotic Effects of Zinc in the Development of Cancers", 2009], [Federico A., et al, "Effects of Selenium and Zinc Supplementation on Nutritional Status in Patients with Cancer of Digestive Tract", 2001] και [Prasad A.S., et al, "Nutritional and Zinc Status of Head and Neck Cancer Patients: An Interpretive Review", 1998].



Εικόνα 4.20. Οι μηχανισμοί διείσδυσης, συσσώρευσης, αποθήκευσης και δράσεως των κατιόντων Zn(II), μέσα στα επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα του προστάτη.

Τα επίπεδα συγκεντρώσεων του ψευδαργύρου βρέθηκαν μειωμένα, σε ασθενείς που έχουν προσβληθεί με καρκίνο του ήπατος, της χοληδόχου κύστης, του πεπτικού συστήματος και του προστάτη [Chakravarty P.K., et al, "Zinc in Human Malignancies", 1986] και [Gupta S.K., et al, "Copper, Zinc, and Cu/Zn Ratio in Carcinoma of the Gallbladder", 2005], σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού βρέθηκαν μειωμένα, ενώ στον ορό του αίματος και στους κακοήθεις ιστούς, τα επίπεδα συγκεντρώσεων του Zn(II) βρέθηκαν αυξημένα, [Chakravarty P.K., et al, "Zinc in Human Malignancies", 1986], [Margalioth E.J., et al, "Copper and Zinc levels in Normal and Malignant Tissues", 1983] και [Schwartz A.E., et al, "Trace Elements in Normal and Malignant Human Breast Tissue", 1974].

Συγκλίνουσες ενδείξεις εισηγούνται ότι τα επίπεδα **έκφρασης των μεταφορέων** Zn(II), συνδέονται με την εξέλιξη του καρκίνου, [Murakami M., and Hirano T., "Intracellular Zinc Homeostasis and Zinc Signalling", 2008] και [Zhao H., and Eide D., "The Yeast ZRT1 Gene Encodes the Zinc Transporter Protein of a High-affinity Uptake System Induced by Zinc Limitation", 1996]. Αδιάσιστα στοιχεία έχουν αναφερθεί, τα οποία συνδέουν τον μεταφορέα ZIP4 πρόσληψης Zn(II), με την ανάπτυξη του καρκίνου του παγκρέατος, [Franklin RB, and Costello L.C., "The Important Role of the Apoptotic Effects of Zinc in the

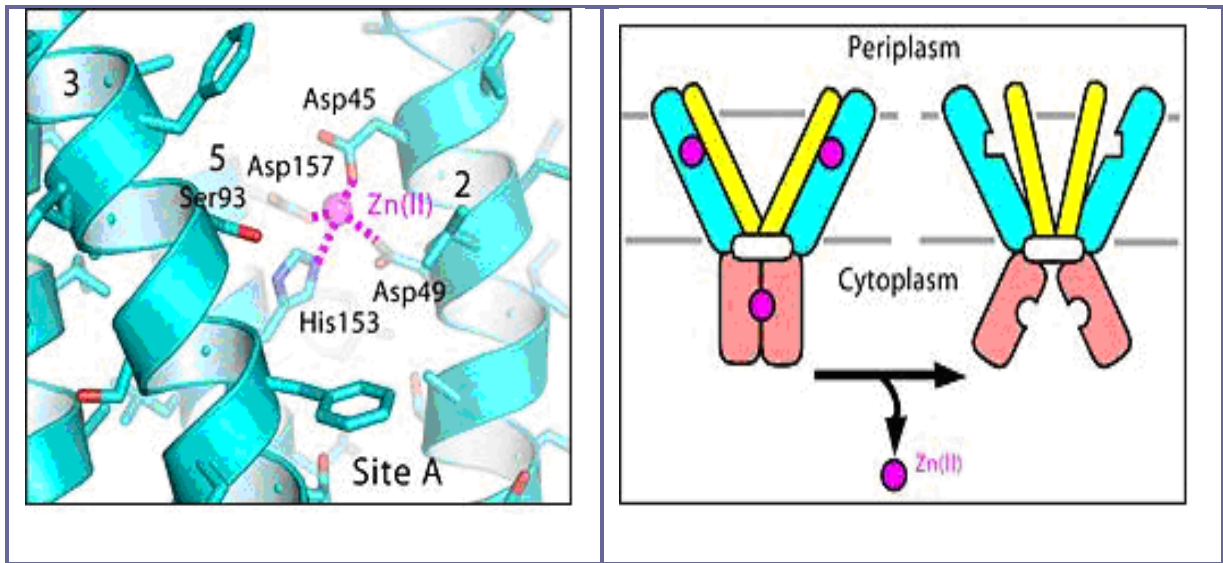
Development of Cancers", 2009] και [Li M., et al., "Aberrant Expression of Zinc Transporter ZIP4 (SLC39A4) Significantly Contributes to Human Pancreatic Cancer Pathogenesis and Progression", 2007].

Τόσο in vitro όσο και in vivo τα πειραματικά στοιχεία συγκλίνουν στο ότι μια αύξηση στην έκφραση ZIP4 σχετίζεται με ηυξημένες προσλήψεις Zn(II), ηυξημένους κυτταρικούς πολλαπλασιασμούς και ηυξημένες αναπτύξεις όγκων, [Li M., et al, "Aberrant Expression of Zinc Transporter ZIP4 (SLC39A4) Significantly Contributes to Human Pancreatic Cancer Pathogenesis and Progression", 2007]. Επιπροσθέτως έχει αναφερθεί, ότι ο μεταφορέας ZIP1 ενεργεί ως ογκο-κατασταλτικός παράγων στον καρκίνο του προστάτη, [Costello L.C., and Franklin R.B., "The Clinical Relevance of the Metabolism of Prostate Cancer; Zinc and Tumor Suppression: Connecting the Dots", 2006], ενώ ο μεταφορέας ZIP6 εμπλέκεται στην εξέλιξη και στην μετάσταση του μαστικού καρκίνου, [Manning D.L., et al, "Oestrogen Regulated Genes in Breast Cancer: Association of pLIV1 with Lymph Node Involvement", 1994] και [Taylor K.M., et al, "The Emerging Role of the LIV-1 Subfamily of Zinc Transporters in Breast Cancer", 2007].

Η αύξηση των επιπέδων Zn(II), μέσα στα επιθηλιακά καρκινικά κύτταρα του προστάτη επιφέρει ισχυρά ογκοκατασταλτικά αποτελέσματα στην εξέλιξη της κακοήθους διαδικασίας, διότι: **α)**- ανακόπτει τον κύκλο του Krebs, **β)**- αναστέλλει την κιτρική οξειδωση και **γ)**- αναστέλλει την αναπνοή και την τερματική οξειδωση των μιτοχονδρίων του προστάτη. Αυτές οι μεταβολικές επιδράσεις έχουν βιο-ενεργειακές και βιο-συνθετικές συνέπειες, στα νεοπλασματικά κύτταρα. Ο Zn(II) ευαισθητοποιεί τα κακοήθη κύτταρα του προστάτη σε απόπτωση, μέσω της αναστολής του NF-kB, που προκύπτει από την άμεση επίδρασή του στην μιτοχονδριακή απελευθέρωση του κυτοχρώματος- C και που ακολουθείται από ενεργοποίηση του καταρράκτη κασπάσης και τελικά από την απόπτωση. Η συσσώρευση του Zn(II) αναστέλλει: **α)**- την ανάπτυξη, **β)**- τον πολλαπλασιασμό των κακοήθων κυττάρων του προστάτη, **γ)**- την δυνατότητα διείσδυσης και **δ)**- την δυνατότητα μετανάστευσης των κακοήθων κυττάρων, σε ιστούς υποδοχής και μεταστάσεων, [Lichten L.A., and Cousins R.J., "Mammalian Zinc Transporters: Nutritional and Physiologic Regulation", 2009].

Η πρόοδος της έρευνας για τον καθορισμό των μηχανισμών, πώς ο ψευδάργυρος Zn(II) μεταφέρεται μέσα και έξω από τα κύτταρα και τα οργανίδια έχει αυξηθεί εκθετικά τα τελευταία χρόνια. Η έρευνα έχει προχωρήσει μέσω της εφαρμογής των μοριακών τεχνικών συμπεριλαμβανομένης της γονιδιωματικής ανάλυσης, της κυτταρικής επιμόλυνσης, της παρεμβολής RNA, της κινητικής ανάλυσης της μεταφοράς ιόντων και της εφαρμογής των κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, σε αποικίες πειραματικών επίμυων. Η γνωστική βάση έχει διευρυνθεί, σε περισσότερα από 10 μέλη της οικογένειας ZNT και 14 μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών (ZIP), τύπου-Zrt και τύπου- Irt. Άμεση σχέση στην αντιμετώπιση του διατροφικού Zn(II) έχουν: η συμμετοχή της ZnT1, της ZIP4 και ZIP5 στην εντερική μεταφορά του Zn(II), η συμμετοχή της ZIP10 και της ZnT1 στην νεφρική επαναρόφηση του Zn(II), καθώς και οι ρόλοι που διαδραματίζουν η ZIP5, η ZnT2 και η ZnT1 στην παγκρεατική απελευθέρωση του ενδογενούς Zn(II). Αυτά τα γεγονότα είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες, στην ρύθμιση της ομοιόστασης του Zn(II). Άλλα βασικά ευρήματα της πρόσφατης έρευνας είναι η συμμετοχή της ZnT2 στην γαλουχία, της ZIP14 στην υποψευδαργυραιμία της φλεγμονής, της ZIP6, της ZIP7 και της ZIP10 στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού και της ZnT8, τόσο στην διαχείριση της ινσουλίνης, όσο και ως αυτό-

αντιγόνου στον σακχαρώδη διαβήτη, [Lichten L.A., et al, "Mammalian Zinc Transporters: Nutritional and Physiologic Regulation", 2009], (Εικόνες 4.20 και 4.21).



**Εικόνα 4.21.** Αριστερά: Σχηματική αναπαράσταση της χημικής συμπλέξεως των κατιόντων ψευδαργύρου πάνω στην πρωτεΐνη μεταφορέα YjiP, μία από τις έξι κατηγορίες ZIP-πρωτεϊνών-μεταφορέων Zn(II). Το μέταλλο εντάσσεται, με μία τετραεδρική γεωμετρία, πάνω στα καρβοξύλια τεσσάρων ενεργών κέντρων-ακρομορίων των αμινοξέων, τριών μορίων ασπαραγίνης και ενός μορίου ιστιδίνης. Δεξιά: Αναπαράσταση του τρόπου κατά τον οποίο η πρωτεΐνη –φορέας διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη και εγκαταλείπει τα άτομα του κατιόντος Zn(II), εντός του κυτταροπλάσματος.

Έχει αναφερθεί ότι η έκφραση ZIP1 -που προσδιορίζεται με RT in situ PCR- στον αδενικό επιθήλιο του προστάτη ήταν χαμηλή σε Αφρο-Αμερικανούς άρρενες, σε σύγκριση με Καυκάσιους άρρενες. Το συμπέρασμα ήταν ότι η γενετική φυλετική διαφορά θα μπορούσε να ευθύνεται για την μεγαλύτερη ευαισθησία των Αφρο- Αμερικανών, στον καρκίνο του προστάτη. Επίσης προσδιορίστηκαν η in situ έκφραση και οι στάθμες επιπέδων της ZIP1 και του Zn(II), τόσο σε κακοήθειες, όσο και στα μη κακοήθεις ιστούς, αδένων του προστάτη.

Τα αποτελέσματα έδειξαν την σταθερή καθοδική ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου ZIP1, την μείωση της πρωτεΐνης- μεταφορέα ZIP1 και την εξάντληση των κυτταρικών επιπέδων Zn(II), στα κακοήθη έναντι των μη κακοήθων αδένων. Ως εκ τούτου, εφ' όσον υπάρχει δραστηριότητα μεταφοράς ZIP1, που οδηγεί σε υψηλή συγκέντρωση Zn(II), τα κατασταλτικά αποτελέσματα του Zn(II), επί των όγκων αποτρέπουν τις κακοήθεις δραστηριότητες των νεοπλασματικών κυττάρων. Ως εκ τούτου είναι εύλογο η ZIP1 να περιγραφεί ως: τα "ογκοκατασταλτικά γονίδια στον καρκίνο του προστάτη", [Rishi I., et al, "Prostate Cancer in African American Men is Associated with Downregulation of Zinc Transporters", Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology, Volume 11, pp. 253-260, 2003 ] και [Garrou Diletta, and Montanaro Alice, "Zinc and Prostate Cancer", Wikigenes Collaborative Publishing, Nature Genetics, 12/04/2012], (Εικόνα 4.20). Διάφορες μελέτες έχουν επίσης δείξει θετικά αποτελέσματα στη δημιουργία ενός μοριακού δεσμού μεταξύ STAT3, ZIP6 και Snail, κατά τη διάρκεια της επιθηλιακής μεσεγχυματικής μετάπτωσης EMT, η οποία ενδεχομένως είναι ένας παράγοντας, που συμβάλλει στην εισβολή των καρκινικών κυττάρων και στην μετάσταση, [Christiansen J.J., and

Rajasekaran A.K., "Reassessing Epithelial to Mesenchymal Transition as a Prerequisite for Carcinoma Invasion and Metastasis", 2006].

Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι ο μεταφορέας ψευδαργύρου ZIP10 εμπλέκεται στην μετανάστευση και την μετάσταση των μαστικών καρκινικών κυττάρων και συνεπώς αυτή η επεμβατική συμπεριφορά θα μπορούσε να ανασταλεί, με την κατάρρευση της έκφρασης ZIP10, [Murakami M., and Hirano T., "Intracellular Zinc Homeostasis and Zinc Signalling", 2008]. Οι μελέτες αυτές συσχετίζονται με τα ευρήματα σε κλινικά δείγματα και δείχνουν ότι οι μαστικοί καρκίνοι, με λεμφαδενικές μεταστάσεις έδειξαν σημαντικώς υψηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων ZIP10, από εκείνα που δεν συνδέονται με λεμφαδενικές μεταστάσεις. Τοιουτοτρόπως τροποποιημένες εκφράσεις των μεταφορέων Zn(II), μπορούν να παίξουν ένα βασικό ρόλο, στην ανάπτυξη του καρκίνου, διαταράσσοντας την κανονική ενδοκυτταρική λειτουργία και κατανομή.

Εκτός από τον κρίσιμο ρόλο που παίζει ο Zn(II) στα βιολογικά συστήματα, οι μοναδικές ιδιότητες του Zn(II), του έχουν χάρισει την διακεκριμένη δυνατότητα να συμπεριληφθεί στα δυνητικώς ισχυρά αντικαρκινικά μέσα, [Murakami M., and Hirano T., "Intracellular Zinc Homeostasis and Zinc Signalling", 2008] και [Kagara N., et al, "Zinc and its Transporter ZIP10 are Involved in Invasive Behavior of Breast Cancer Cells", 2007]. Στην Εικόνα 4.21 αναπαριστάνεται το δομικό μοτίβο του δακτυλωτού ψευδαργύρου (Zinc-Finger Motif), [ZnCys<sub>2</sub>His<sub>2</sub>], που αποτελείται από μια α-έλικα και ένα αντιπαράλληλο β- φύλλο.

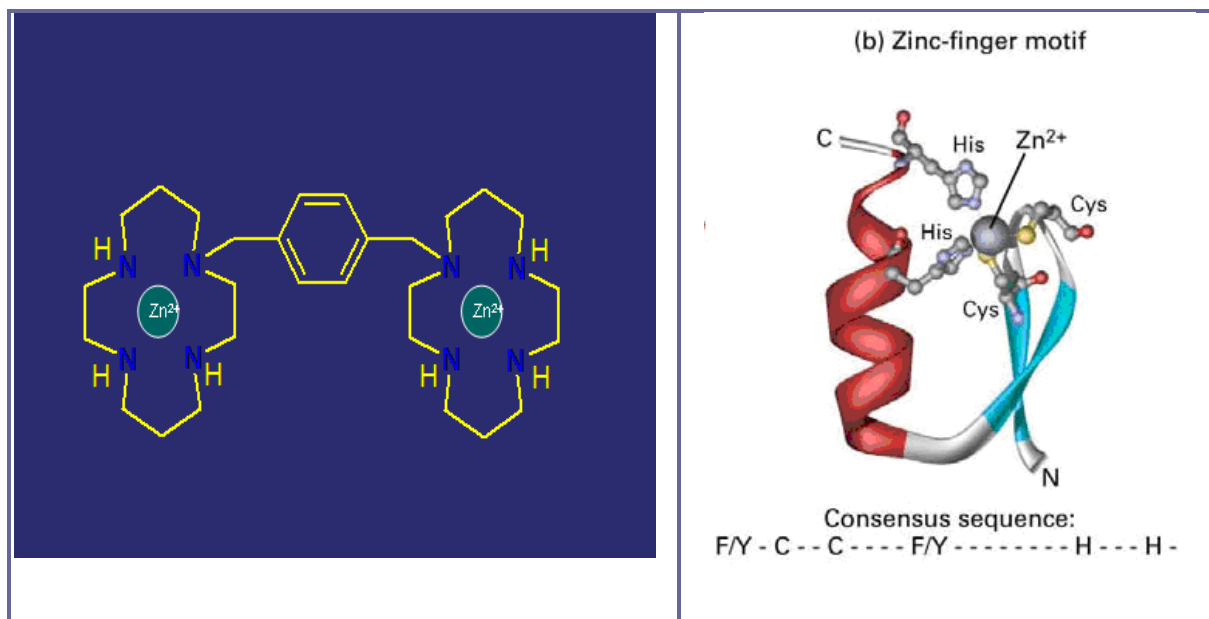
Το κατιόν του ψευδαργύρου Zn(II), (Γκρι) εντάσσεται με δύο ακρομοριακά υπολείμματα ιστιδίνης και δύο ακρομοριακά υπολείμματα κυστεΐνης. Ένας δακτυλωτός Zn(II) είναι το δομικό μοτίβο μιας μικρής πρωτεΐνης, που χαρακτηρίζεται από την σύνδεση εντάξεως ενός ή περισσοτέρων κατιόντων Zn(II), προκειμένου να σταθεροποιηθεί η αναδιπλωμένη πρωτεΐνη.

Αρχικά επινοήθηκε για να περιγράψει την δακτυλωτή εμφάνιση μιάς υποθετικής δομής του μεταγραφικού παράγοντα IIIA, από τον *Xenopus laevis*, οπότε το όνομα του δακτυλωτού Zn(II) έχει πλέον συμπεριλάβει μια ευρεία ποικιλία, διαφορετικών πρωτεϊνικών δομών. Από την αρχική ανακάλυψή τους και τη διαλεύκανση της δομής τους, αυτοί οι σχηματισμοί πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων έχουν αποδειχθεί σχεδόν πανταχού παρόντες στον βιολογικό κόσμο.

Έχουν επίσης αποδειχθεί εξαιρετικά χρήσιμοι, σε διάφορες θεραπευτικές και ερευνητικές προοπτικές. Η βιοχημική μηχανική διεργασία παρασκευής των δακτύλων ψευδαργύρου, ώστε **α)**- να έχουν μια συγκεκριμένη βιοχημική συγγένεια, **β)**- να απευθύνονται σε μια εξειδικευμένη βιοχημική ακολουθία, **γ)**- να συνιστούν νουκλεάσες ψευδαργυρικού δακτύλου και **δ)**- να αποτελούν μεταγραφικούς παράγοντες δακτύλου Zn(II), αποτελούν τους σύγχρονους στόχους της έρευνας αιχμής, [Klug A., "The Discovery of Zinc Fingers and their Applications in Gene Regulation and Genome Manipulation", 2010].

NMR μελέτες διαλυμάτων του συμπλόκου **Zn(II)-δικυκλάμης** έδειξε ότι η προσθήκη οξικών, ως μιμητικού της αλληλεπίδρασης, με τις καρβοξυλικές πλευρικές αλυσίδες CXCR4, επιφέρει σημαντικές δομικές αλλαγές, που καταλήγουν σε μια cis-V/trans-I διευθέτηση, ως την μείζονα διαμόρφωση. Μελέτες σύνδεσης ενός τέτοιου cis-V/trans-I συμπλόκου Zn(II)-δικυκλάμης, επί ενός ομολόγου μοντέλου του CXCR4 έδειξε ότι συγκεκριμένες δεσμικές αλληλεπιδράσεις της θέσεως cis-V, με το κέντρο Asp262 (σύμπλεξης του Zn) και με το κέντρο Glu288 (διπλού δεσμού -H), καθώς επίσης και του κέντρου trans-I με την θέση Asp171 (σύμπλεξης του Zn) θα μπορούσε να σχηματιστεί. Αυτές οι συνδυασμένες

αλληλεπιδράσεις, θα μπορούσαν να επιτρέψουν μια ισχυρή επαγόμενη αναγνώριση προσαρμογής (induced-fit recognition) και συνηγορούν υπέρ της υψηλής αντι-ιικής δραστηριότητας της συμπλόκου ενώσεως Zn(II)-δικυκλάμης, (Εικόνα 4.22).



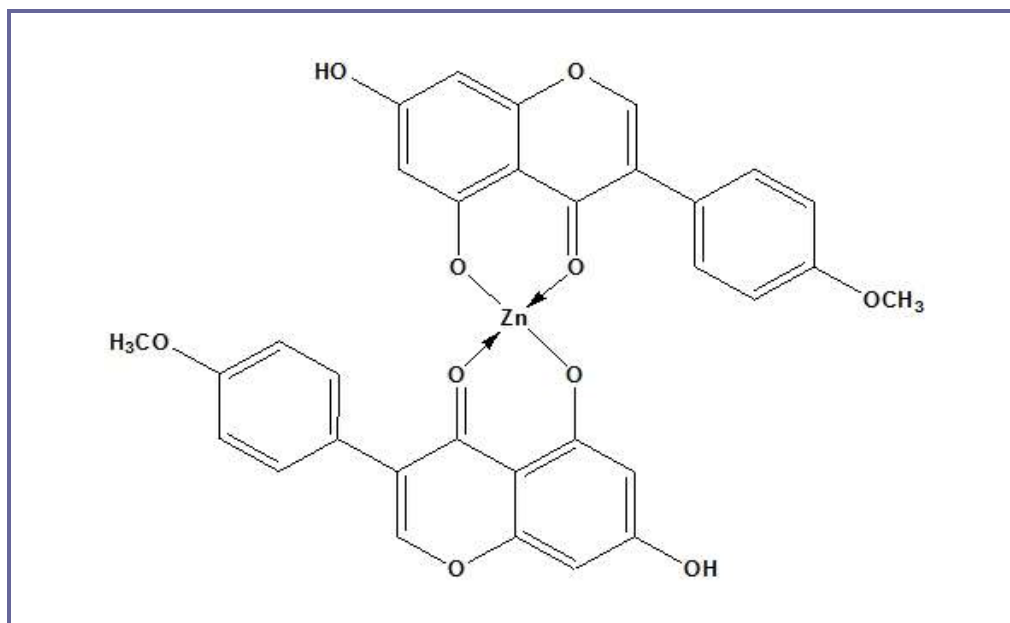
**Εικόνα 4.22. Αριστερά: Συντακτικός τύπος του συμπλόκου Zinc-(bi)cyclam και Δεξιά: Αναπαράσταση της μοριακής διαμόρφωσης του ψευδαργυρικού πρωτεϊνικού συμπλόκου, Zinc-Finger Motif.**

Περαιτέρω πειράματα έδειξαν ότι η διαμόρφωση του συμπλόκου, σε υδατικό διάλυμα είναι ισχυρά ανιόν- εξαρτώμενη και ότι η προσθήκη οξικών σταθεροποιεί όντως, την μάλλον ασυνήθιστη διαμόρφωση cis-V. Η σημασία του συνδυασμού των άμεσων δεσμών συμπλέξεως και των συμπληρωματικών αλληλεπιδράσεων δεσμών υδρογόνου διαφωτίζεται περαιτέρω από την επίλυση της κρυσταλλικής δομής του συμπλόκου Zn(II)-δικυκλάμης και οξικών, στην οποία οι δύο δακτύλιοι της κυκλάμης εντοπίζονται στην cis-V διαμόρφωση, [Liang X.Y., et al "Structure and Dynamics of Metallomacrocycles: Recognition of Zinc Xylyl-bicyclam by an HIV Coreceptor", 2002], [Liang X.Y., et al, "Selective Recognition of Configurational Substates of Zinc Cyclam by Carboxylates: Implications for the Design and Mechanism of Action of Anti-HIV Agents", 2003] και [De Clercq E., "The Bicyclam AMD3100 Story", 2003].

Ως ισχυροί και πολυδυναμικοί αντικαρκινικοί παράγοντες έχουν αναφερθεί τα μεταλλικά σύμπλοκα των σεμικαρβαζονών με ψευδάργυρο, Zn(II). Τα πειραματικά αποτελέσματα απέκαλυψαν ισχυρές αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες, ακόμη ισχυρότερες εκείνων της cis-platin. Τα σύμπλοκα ανέστειλαν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, μέσω της σύλληψης του κυτταρικού κύκλου, στη φάση S, [Stanojkovic T.P., et al, "Zinc(II) complexes of 2-acetyl- pyridine 1-(4- fluorophenyl)- piperazinyl- thiosemicarbazone: Synthesis, Spectroscopic Study and Crystal Structures – Potential Anticancer Drugs", 2010].

Στην ομάδα της **[p-isopropyl benzaldehyde thiosemicarbazone]** τα σύμπλοκα του Zn(II) εμφάνισαν εξειδικευμένη κυτταροτοξική δραστηριότητα, σε κυτταρικές σειρές εναντίον των **Pam-ras** καρκινικών κυττάρων, η οποία αποδίδεται στον αποπτωτικό

θάνατο των κυττάρων. Τα σύμπλοκα αυτά θεωρούνται ισχυροί αντικαρκινικοί παράγοντες, δεδομένου ότι επάγουν απόπτωση στις **ras**-μετασχηματισμένες κυτταρικές σειρές, [Perez J.M., et al, "Synthesis and Characterization of Complexes of p-Isopropyl benzaldehyde and Methyl 2- pyridyl- ketone- thiosemicarbazones with Zn(II) and Cd(II) Metallic Centers. Cytotoxic Activity and Induction of Apoptosis in Pam-ras Cells", 1999].



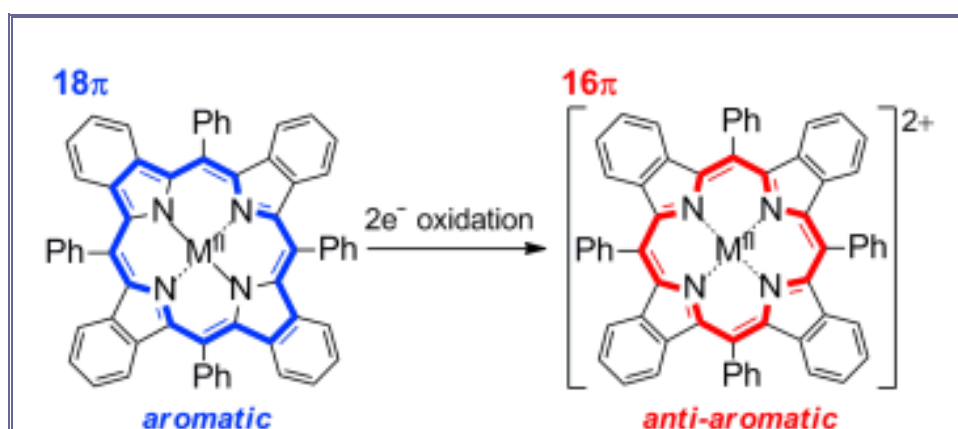
**Εικόνα 4.23.** Συντακτικός τύπος της σύμπλοκης χηλικής ένωσης του ψευδαργύρου, με τον υποκαταστάτη Zinc(II) complex of 4'-methoxy-5,7-dihydroxy-isoflavone

Επί πλέον έχουν συντεθεί και ελεγχθεί σύμπλοκες ενώσεις του Zn(II), με τα μη προστατευμένα- N-glycosyl saccharide, παραγόμενα από το **[4-phenyl-thiosemicarbazide]**. Δύο τέτοια σύμπλοκα είχαν IC<sub>50</sub> τιμές, χαμηλότερες από την cisplatin, στο μοντέλλο καρκινωμάτων των Ehrlich Ascites, σε Swiss albino επίμυες. Προτάθηκαν ως ασφαλέστερα μελλοντικά αντικαρκινικά φάρμακα, [Sathisha M.P., et al, "Synthesis, Structure, Electrochemistry and Spectral Characterization of (D- glucopyranose)-4-phenyl-thiosemi-carbazide Metal Complexes and their Antitumor Activity against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice", 2010]. Ενδιαφέροντα είναι επίσης τα μεταλλικά σύμπλοκα των σεληνιο-σεμικαρβαζονών (selenosemicarbazones), τα οποία εμφανίζουν διαφόρων τύπων δεσμικές διαμορφώσεις με τα d-μεταλλικά στοιχεία. Για το σύμπλοκο του ψευδαργύρου Zn(II) διαπιστώθηκε δόσο-εξαρτώμενη κυτταροτοξική δραστηριότητα. Επιβεβαιώνεται και σ'αυτήν την οικογένεια ότι τα σύμπλοκα αυτού του τύπου είναι δυναμικοί και ισχυροί αντικαρκινικοί παράγοντες, [Gligorijevic N., et al, "Synthesis and Characterization of New Pt(II) and Pd(II) Complexes with 2-Quinolinecarboxaldehyde-selenosemicarbazone: Cytotoxic Activity Evaluation of Cd(II), Zn(II), Ni(II), Pt(II) and Pd(II) Complexes with Heteroaromatic Selenosemi-carbazones", 2009]. Επιπροσθέτως σύμπλοκα του Zn(II) με τους αναστολείς των Cyclin-εξαρτώμενων κινασών (CDKs) εμφανίζουν ισχυρή αντικαρκινική δράση. Οι δομές των αναστολέων παρήχθησαν από το μόριο της **[6-Benzylaminopurine]**. Οι διαταραχές στα καρκινικά κύτταρα οδηγούν στην υπερ-ενεργοποίηση των CDKs. Τέσσερα σύμπλοκα του ψευδαργύρου



τέτοιων παραγώγων των 3,6,9-τρις-υποκατεστημένων πουρινών, εμφάνισαν σημαντική κυτταροτοξική δραστηριότητα, έναντι των ελευθέρων υποκαταστατών τους, [Travnicek Z., Krystof V., and Sipl M., "Zinc(II) Complexes with Potent Cyclin-dependent Kinase Inhibitors Derived from 6-benzylaminopurine: Synthesis, Characterization, X-ray Structures and Biological Activity", 2006].

Ενδιαφέροντα σύμπλοκα μεταλλικά άλατα ελήφθησαν με το παράγωγο των ισο-φλαβονών, τον υποκαταστάτη **[4'-methoxy-5,7-dihydroxy-isoflavone]**. Το σύμπλοκο άλας του Zn(II) εμφάνισε μία μέτρια αντικαρκινική ενεργότητα in vitro, ωστόσο η δραστηριότητα του συμπλόκου ήταν κατά πολύ υψηλότερη, από εκείνη, τόσο του ελευθέρου μετάλλου, όσο και του ελευθέρου υποκαταστάτη. Η χημειο-θεραπευτική του δραστηριότητα ευρέθη μικρότερη εκείνης της cisplatin, [Chen X., et al, "Syntheses, Characterization and Antitumor Activities of Transition Metal Complexes with Isoflavone", Journal of Inorganic Biochemistry, Volume 104, pp. 379-384, 2010].



Εικόνα 4.24. Ο ηλεκτροχημικός μηχανισμός της οξειδοανασύνθεσης του νέου συμπλόκου του ψευδαργύρου Zn(II), με την αντι-αρωματική ένωση tetraphenyl-tetrabenzoporphyrin.

Τελευταία έχουν απομονωθεί διάφορα ενδιαφέροντα σύμπλοκα του ψευδαργύρου Zn(II), με ογκώδεις υποκαταστάτες (Hima, Benzofused-porphyrin) και αυτό-οργανούμενες διαμορφώσεις και μεταλλο-ρυθμιζόμενες χωροταξικές και ηλεκτροχημικές τοπολογίες και συμπεριφορές. Το ανιονικό σύμπλοκο του Zn(II) με την tetraphenyl-tetrabenzoporphyrin, (Εικόνα 4.24), με αντι-αρωματικό πυρήνα 16π-ηλεκτρονίων παρασκευάζεται με μία ήπια πορεία  $2e^-$ -οξείδωση, του ουδέτερου αρχικού, αρωματικού συγκροτήματος των 18π-ηλεκτρονίων και με οξειδωτικό παράγοντα τον εξαφθορο-αντιμονικό άργυρο  $[AgSbF_6]$ . Έγινε δομικός χαρακτηρισμός του συμπλόκου αυτού, καθώς και εκτεταμένες φασματοσκοπικές μελέτες, με σκοπό την εξιχνίαση των αντι-αρωματικών ιδιοτήτων, του νέου 16π-electron πορφυρινικού συμπλόκου, [Sugawara S., et al, "Synthesis, Characterization, and Spectroscopic Analysis of Antiaromatic Benzofused Metalloporphyrins", 2012] και [Wang Y.T., et al, "Metal-Controlled Assembly Tuning the Topology and Dimensionality of Coordination Polymers of Ag(I), Cd(II) and Zn(II) With the Flexible 2-(1H-Imidazole-1-yl)-Acetic Acid (Hima)", 2007].

#### 4.12.11 GALLIUM [Ga<sup>0</sup>, Ga(III)], APOPTOSIS, AND CANCER.

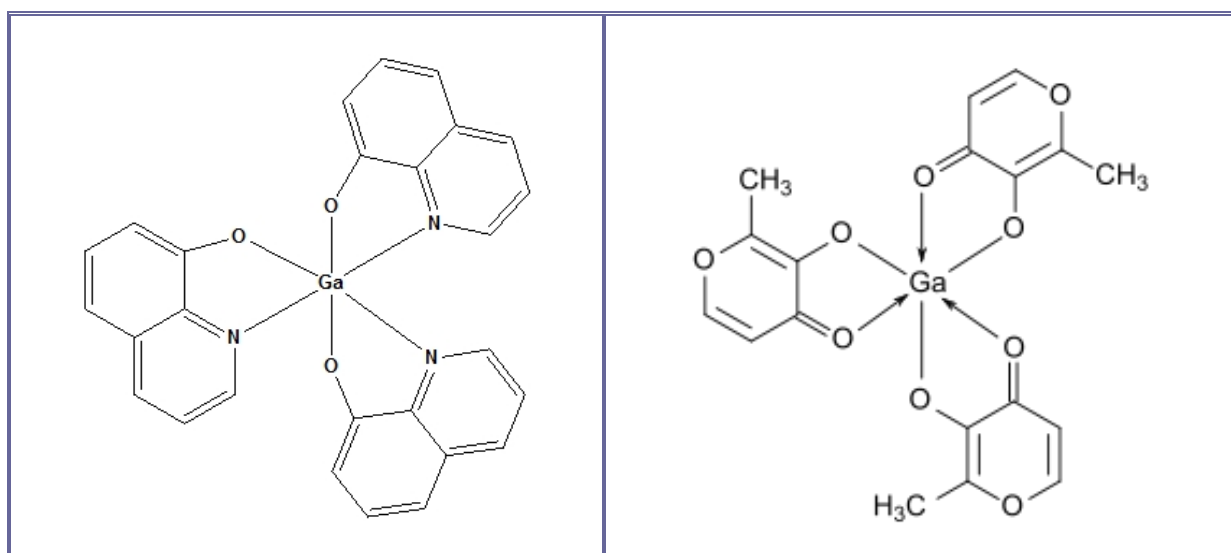
Η χημεία εντάξεως του γαλλίου [Ga(III)], έχει καταστεί μια περιοχή αυξημένης ερευνητικής δραστηριότητας, λόγω της συνάφειάς της, με την επιστήμη, τόσο των υλικών, όσο και των βιοϊατρικών εξελίξεων [Jurisson S., et al, "Coordination Compounds in Nuclear Medicine", Chemical Reviews, 1993] και [Jakupec M.A., et al, "Antitumour Metal Compounds: More than Theme and Variations", 2008]. Στον τομέα της επιστήμης των υλικών, για παράδειγμα, το σύμπλοκο [Ga<sub>2</sub>(saph)<sub>2</sub>Q<sub>2</sub>], όπου: [saph<sup>2-</sup>] είναι ο αποπρωτονιωμένος υποκαταστάτης- βάση Schiff [bis-(salicylidene-o-aminophenolate<sup>-2</sup>) και όπου: [Q<sup>-1</sup>] είναι η διασταθείσα [8-υδροξυκινολίνη<sup>-1</sup>], είναι ένα πολύ καλό υποψήφιο ως νέο υλικό μεταφοράς ηλεκτρονίων και εκπομπής φωτός, στις οργανικές διόδους (OLEDs), [Qiao J., et al, "Synthesis, Crystal Structure, and Luminescent Properties of a Binuclear Gallium Complex with Mixed Ligands", 2004]. Επίσης η ένωση [GaQ<sub>3</sub>] είναι ένα πολλά υποσχόμενο υλικό ηλεκτροφωταύγειας, που παρουσιάζει υψηλότερη απόδοση ισχύος, από την αντίστοιχη του αλουμινίου, [AlQ<sub>3</sub>], [Burrows P.E., et al, "Metal Ion Dependent Luminescence Effects in Metal Tris-quinolate Organic Heterojunction Light Emitting Devices", 1994].

Το βιολογικό ενδιαφέρον του Ga(III) προέρχεται από την ενσωμάτωση των ραδιονουκλιδίων <sup>67</sup>Ga(III) και <sup>68</sup>Ga(III) αυτού, σε διαγνωστικά ραδιο-φαρμακευτικά σκευάσματα, [Jurisson S., et al, 1993]. Επιπλέον, τα άλατα του γαλλίου [GaCl<sub>3</sub>] και [Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], καθώς και μερικά σύμπλοκα Ga(III), [Bernstein L.R., et al, 2000], [Collery P., et al, 1996] έχουν επιδείξει αντικαρκινική δραστηριότητα, ενώ το [Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] και μερικά σύμπλοκα [GaCl<sub>3</sub>L], (όπου L= διάφορα υποκατεστημένα αζολικά παράγωγα) έδειξαν in vitro αντι-HIV (όπου HIV= ο ιός της ανθρώπινης ανοσο-ανεπάρκειας), [Kratz F., et al, "Synthesis and Characterization of Potential Antitumour and Antiviral Gallium(III) Complexes of N-Heterocycles", 1992]. Η βιολογική δραστηριότητα των συμπλόκων του γαλλίου Ga(III) έχει συχνά αποδοθεί στο γεγονός, ότι το γάλλιο (III) είναι το διαμαγνητικό σιδηρο(III)-μιμητικό βιολογικό υλικό, [Collery P., Keppler B., et al, "Gallium in Cancer Treatment", Critical Reviews in Oncology and Hematology, 2002].

Αξίζει να σημειωθεί ότι το ουδέτερο χηλικό σύμπλοκο **[GaQ<sub>3</sub>]**, το οποίο είναι τρέχοντος ενδιαφέροντος, στην επιστήμη των υλικών, έχει επίσης αξιολογηθεί σε κλινικές δοκιμές, μαζί με άλλα σύμπλοκα του Ga(III), όπως το **μαλτολικό γάλλιο** [tris-(3-hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-onato)-gallium(III)], (Εικόνα 4.25), για την αντικαρκινική τους δραστηριότητα, [Frezza M., et al, "The Therapeutic Potential of Gallium-based Complexes in Antitumor Drug Design", 2007]. Το γενικότερο επιστημονικό και ερευνητικό ενδιαφέρον, στην χημεία συμπλόκων ενώσεων του Ga(III), εστιάζεται στη σύνθεση, στον δομικό χαρακτηρισμό, στην φυσικο-χημική και φασματοσκοπική μελέτη των νέων ενώσεων εντάξεως, που συνεχώς απομονώνονται και στην αξιολόγηση της βιολογικής και βιο-ιατρικής (αντικαρκινικής και αντι-ιικής) δραστηριότητας των συμπλόκων του Ga(III), καθώς και της κλινικο-εργαστηριακής αντιπολλαπλασιαστικής συμπεριφοράς αυτών, με υποκαταστάτες, άλλοτε συναφείς και άλλοτε μη βιολογικά συναφείς, [Chitambar C.R., "Gallium Compounds as Antineoplastic Agents", 2004], [Chikh Z., et al, "Gallium Uptake by Transferrin and Interaction with Receptor 1", 2007] και [Cvitkovic F., et al, "Randomized, Double-blind, Phase II Trial of Gallium Nitrate Compared with Pamidronate for Acute Control of Cancer-related Hypercalcemia", 2006].

Συντέθηκε το ουδέτερο χηλικό σύμπλοκο του Ga(III), **[Tris-(8-hydroxyquinolinato)-Ga(III)]**, (Εικόνα 4.25) ταυτοποιήθηκε κρυσταλλογραφικά και φυσικο-χημικά και

εξετάσθηκε για την αντικαρκινική και κυτταροτοξική του δραστηριότητα, σε κυτταρικές σειρές ανθρώπινου καρκίνου. Ο λιπόφιλος χαρακτήρας του χηλικού συμπλόκου επιτρέπει την μεταφορά του στους ιστούς, σε ανεκτές και προ-καθορισμένες συγκεντρώσεις. Εφαρμόσθηκε με επιτυχία σε κλινικές δοκιμές νεφρικού καρκίνου. Προτείνεται ο βιοχημικός μηχανισμός δράσεως αυτού, κατά τον οποίον μεγάλες συγκεντρώσεις του συμπλόκου, μεταφέρονται απ' την κυκλοφορία και συσσωρεύονται αυτούσιες εντός των καρκινικών κυττάρων, στην συμπλοκοποιημένη μορφή, όπου η σταδιακή αποδέσμευση των ιόντων γαλλίου (III) μπλοκάρει την σύνθεση του DNA και στη συνέχεια επέρχεται απόπτωση, μέσω της μιτοχονδριακής οδού. Το συγκρότημα του μοριακού χηλικού συμπλόκου διαθέτει ισχυρή δραστηριότητα με τιμές IC=0,85 έως 10,40  $\mu\text{M}$ . Το χηλικό σύμπλοκο του γαλλίου (III) αποδείχθηκε ιδιαίτερα δραστικό σε όλες τις εξετασθείσες καρκινικές κυτταρικές σειρές, εκτός από τη γραμμή 5637. Η μέση συγκέντρωση δραστηριότητας στις ευαίσθητες κυτταρικές γραμμές ήταν 6,61 $\mu\text{M}$ . Η χαμηλότερη δραστηριότητα παρατηρήθηκε στις κυτταρικές σειρές, του καρκίνου του παχέος εντέρου HT29, με τιμή IC=10,40 $\mu\text{M}$ , [Buczowska Magdalena Karolina, "Synthesis, Characterization, Antitumor and Antimicrobial Activities of Heterocyclic Transition Metal Complexes", PhD Thesis, Greifswald, Bundesrepublik Deutschland, May 2011].



**Εικόνα 4.25.** Αριστερά: Συντακτικός τύπος του χηλικού συμπλόκου [Tris-(8-hydroxyquinolino)-Ga(III)], Δεξιά : Συντακτικός τύπος του χηλικού συμπλόκου Gallium maltolate, Tris(3-hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one)gallium.

Στα πλαίσια της έρευνας στην Βιο-ανόργανη Χημεία συντέθηκαν και ταυτοποιήθηκαν τρία νέα σύμπλοκα του Ga(III), με τρεις υποκαταστάτες, **αζολικά παράγωγα**: [2,1,3-benzothiadiazole, btd], [1,2,3-benzotriazole, btaH] και [1-methyl-4,5-diphenylimidazole, L], τα σύμπλοκα [GaBr<sub>3</sub>(btaH)<sub>2</sub>] (**1**), [GaCl<sub>3</sub>(btd)<sub>2</sub>] (**2**) και (LH)<sub>2</sub>[GaCl<sub>4</sub>] (**3**). Τα νέα σύμπλοκα άλατα χαρακτηρίστηκαν με επίλυση δομής ακτίνων-X και άλλες φυσικο-χημικές μεθόδους και μελετήθηκε η αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα αυτών. Εξ'αυτών των συμπλόκων, την μεγαλύτερη σπουδαιότητα παρουσίασε το (3) [(LH)<sub>2</sub>(GaCl<sub>4</sub>)Cl], [C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>Cl<sub>5</sub>Ga], το οποίο περιέχει το ανιονικό τετραχλωρο-γαλλικό σύμπλοκο [GaCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup> και δύο πρωτονιωμένες [1-methyl-4,5-diphenylimidazolic] ιμιδαζολικές ομάδες και το οποίο μόνον αυτό εμφάνισε ισχυρή αντικαρκινική δράση, σε διάφορες σειρές κυτταρικών καλλιεργειών,

με μειούμενη σειρά δραστηριότητας: HeLa > MCF-7 > T47D > L929 > HT29 > OAW-42. Το σύμπλοκο 3 δεν αναστέλλει τη σύνθεση του DNA, σε συγκεντρώσεις μέχρι 100μM, όπου, η σύνθεση του DNA δεν αναστάλλεται στις κυτταρικές σειρές των HT29, HeLa, MCF-7 και L929, [Zanias Stergios, et al, "Synthesis, Structure, and Antiproliferative Activity of Three Gallium(III) Azole Complexes", 2010].

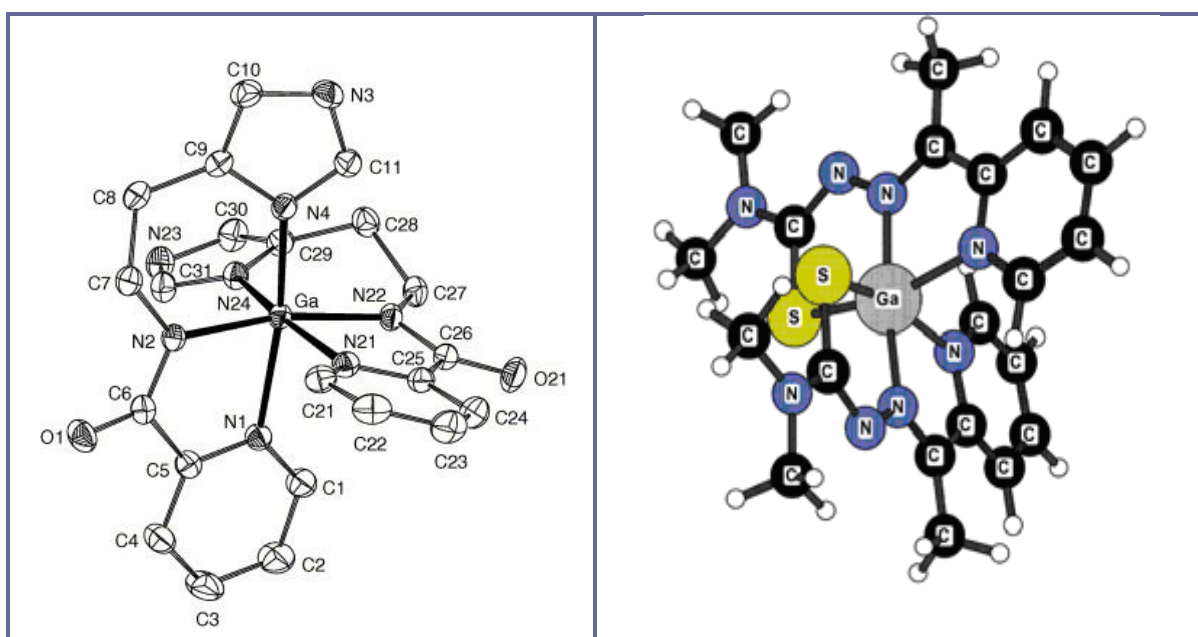
Συντέθηκε και ταυτοποιήθηκε η ουδέτερη χηλική σύμπλοκη ένωση, **Μαλτολικό Γάλλιο** (III), (Gallium maltolate, GaM), [tris(3-hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-onato)gallium], μία στοματικά δραστική ουσία, για θεραπευτικούς σκοπούς, (Εικόνα 4.25). Έχει μέτρια διαλυτότητα στο ύδωρ: (10,7±0,9 mg/mL στους 25°C) και συντελεστή κατανομής στην οκτανόλη 0,41±0,08. Το μόριο του συμπλόκου ως αφόρτιστο είναι ουδέτερο, σε pH~7, ενώ αραιά υδατικά διαλύματα (2,5x10<sup>-5</sup> M) εμφανίζουν ελαχίστη διάσταση σε pH=5,5-8,0. Περίθλαση μονοκρυστάλλου ακτίνων-Χ, κατέδειξε ότι οι τρεις δισχιδείς μαλτολικοί υποκαταστάτες συμπλέκονται ταυτοχρόνως και με τις δύο ενεργές ομάδες των κινονική και υδροξυλική), επί του μεταλλικού κατιόντος, παρέχοντας μια ορθορομβική κρυσταλλική κατάσταση Pbc<sub>a</sub>, με διαμόρφωση προπέλλας, στο χώρο. Χορηγήσεις του συμπλόκου σε δοσολογίες των 100, 200, 300 και 500mg, σε εθελοντές ανθρώπους απεδείχθησαν πολύ καλώς ανεκτές. Η στοματική βιο-διαθεσιμότητα του γαλλίου(III) υπολογίσθηκε στα 25-57%, συγκρινόμενη με εκείνη, της ενδοφλεβίως χορηγηθείσα ποσότητας διαλυμάτων [Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]. Η per os χορήγηση του συμπλόκου GaM οδηγεί σε ολική δέσμευση του γαλλίου με την τρανσφερρίνη στο πλάσμα, ενώ η ενδοφλέβια χορήγηση [Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] οδηγεί στον σχηματισμό του ανιονικού υδροξο-συμπλόκου [Ga(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>], το οποίο ταχέως αποβάλλεται στα ούρα.

Τα δεδομένα αυτά συνηγορούν στην ευνοϊκή προοπτική χορηγήσεως του συμπλόκου GaM, ως δραστικής θεραπευτικής ουσίας, από στόματος. Επιπλέον η αντινεοπλασματική δραστηριότητα του συμπλόκου GaM ενισχύεται τα μέγιστα, καθώς τα περισσότερα καρκινικά κύτταρα είναι ιδιαίτερα επιρρεπή, προς το τρανσφερινο-δεσμευμένο Ga (GaM), σε σχέση με άλλες ελεύθερες μορφές του Ga(III), [Bernstein Lawrence R., et al, "Chemistry and Pharmacokinetics of Gallium Maltolate, A Compound With High Oral Gallium Bioavailability", 2000], [Jakupec M.A., and Keppler B.K., "Gallium in Cancer Treatment", 2004] και [Samson M.K., et al, "Phase I-II Clinical Trial of Gallium Nitrate (NSC-15200)", 1980].

Οι διάφορες οργανοκασσιτερικές ενώσεις έδειξαν ισχυρότερη αντινεοπλαστική δραστηριότητα έναντι της λευχαιμίας P388 σε ποντικούς, από ό, τι οποιαδήποτε άλλη κατηγορία ενώσεων. Ωστόσο δεν έχουν αξιωθεί της ίδιας προσοχής, όπως οι ενώσεις λευκόχρυσου. Στην παρούσα εργασία συντέθηκε η νέα ένωση, **[Et<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>·L] όπου L=N-(2-πυριδυλμεθυλενιο)-4-τολουϊδίνη** (OTC), έδειξε ένα μήκος δεσμού Sn-N 2,46Å το οποίο, λόγω του ότι είναι μεγαλύτερο από 2,39Å, αναμένεται να επιτύχει καλύτερο σχηματισμό των συμπλοκών κασσιτέρου-DNA. Έχουν προηγούμενα αναφερθεί τα σχετικά με την σύνθεση και την βιολογική δραστηριότητα αυτής της ένωσης, καθώς και η ικανότητα της να προκαλεί καθυστέρηση στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και ανταλλαγές των αδελφών χρωματιδίων, σε κύτταρα μυελού οστών ποντικού. Πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω έρευνες για τις αντιπολλαπλασιαστικές και την αντικαρκινική δράση της OTC, σε σχέση με τα κυτταρικά επίπεδα της γλουταθειόνης (GSH), τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο, στον κυτταρικό μηχανισμό άμυνας. Το σύμπλοκο OTC επάγει σημαντική καθυστέρηση στον κυτταρικό κύκλο, στα κύτταρα μυελού οστών ποντικού και όταν τα

επίπεδα της GSH είναι χαμηλά, η έκταση αυτής της καθυστέρησης μειώνεται. Η αντικαρκινική δραστηριότητα προσδιορίστηκε σύμφωνα με το NCI πρότυπο πρωτόκολλο, για τον προκαταρκτικό έλεγχο του λεμφώματος του Dalton (**DL**), που διατηρήθηκε με σειριακή ενδοπεριτοναϊκή μεταμόσχευση. Ο λόγος (επεξεργασία/έλεγχος) T/K (treated/control) ήταν 146%, όταν η οργανοκασσιτερική υποβλήθηκε σε επεξεργασία μετά τη μεταμόσχευση. Αυτό βελτιώθηκε σημαντικά όταν 24 ώρες πριν από την επίδραση του κασιτέρου εισάγεται η Buthionine Sulfoximine (BSO), ένας GSH- καταστροφικός παράγοντας.

Τα πειραματικά δεδομένα αποδεικνύουν ότι η παρούσα ένωση κασιτέρου [Et<sub>2</sub>SnCl<sub>2</sub>·L] διαθέτει αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα και μπορεί να αυξήσει το προσδόκιμο επιβίωσης των ποντικών, που φέρουν **DL**. Το ενδογενές επίπεδο GSH επηρεάζει το αποτέλεσμα της ένωσης κασιτέρου, [Syng-Ai C., et al, "Inhibition of Cell Proliferation and Antitumor Activity of a Novel Organotin Compound", 2001].



**Εικόνα 4.26.** Αριστερά: Η κρυσταλλική δομή ακτίνων-Χ του μονοπυρηνικού συμπλόκου [Ga(pyrepH)<sub>2</sub>]Cl·2H<sub>2</sub>O, συνθετικού αναλόγου προς τα σύμπλοκα των μεταλλο-μπλεομυκινών και Δεξιά: Το σύμπλοκο [Bis-(2-acetylpyridine-N,N-dimethyl-thiosemi-carbazonato)-N,N,S-Ga(III)]-hexafluoro-phosphate.

Απομονώθηκαν τα σύμπλοκα του πεπτιδικού υποκαταστάτη **[N-(2-(4-imidazolyl)-ethyl)-pyridine-2-carboxamide]-** [pyrepH<sub>2</sub>], που προσομοιάζουν με το θραύσμα της ενεργής θέσεως, της συμπλέξεως των μετάλλων, πάνω στις μπλεομυκίνες (BLMs), (Εικόνα 4.26). Η αντίδραση του [pyrepH<sub>2</sub>] με το άλας [(Et<sub>4</sub>N)<sup>+</sup>(GaCl<sub>4</sub>)<sup>-</sup>] και [Ga(acac)<sub>3</sub>], όπου [acac= το ακετυλακετονικό (-1) ανιόν] δίνει το μονοπυρηνικό σύμπλοκο [Ga(pyrepH)<sub>2</sub>]Cl·2H<sub>2</sub>O και το τετραπυρηνικό σύμπλοκο [Ga<sub>4</sub>(acac)<sub>4</sub>(pyrep)<sub>4</sub>]·4,4H<sub>2</sub>O, αντιστοίχως.

Αμφότερα τα σύμπλοκα χαρακτηρίστηκαν με κρυσταλλογραφία μονοκρυστάλλου ακτίνων-Χ, φασματοσκοπία IR, φασματοσκοπία <sup>1</sup>H-NMR και με τα δεδομένα θερμικής αποσύνθεσης. Τα μεταλλικά κέντρα γαλλίου(III) είναι εξα-εντεταγμένα και τα σύμπλοκα αυτά είναι τα πρώτα συνθετικά ανάλογα των metallobleomycins με Ga(III), που δίδονται

στην βιβλιογραφία, [Manessi A., et al, "Synthetic Analogue Approach to Metallobleomycins: Syntheses, Structure and Properties of Mononuclear and Tetranuclear Gallium(III) Complexes of a Ligand that Resembles the Metal-binding Site of Bleomycin", 2004]. Στην εργασία αυτή συντέθηκε μια μεγάλη σειρά συμπλόκων ενώσεων με υποκαταστάτες της οικογένειας: των **alpha-N-heterocyclic-chalcogen-semicarbazones** και συγκεκριμένα παράγωγα των: α)-σεμικαρβαζονών, β)- θειο-σεμικαρβαζονών και γ)-σελενο-σεμι-καρβαζονών, μετά των κατιόντων Ga(III), Fe(III) και Ru(III) και με αντισταθμιστικά ανιόντα:  $[PF_6^-]$ ,  $[NO_3^-]$  και  $[FeCl_4^-]$ .

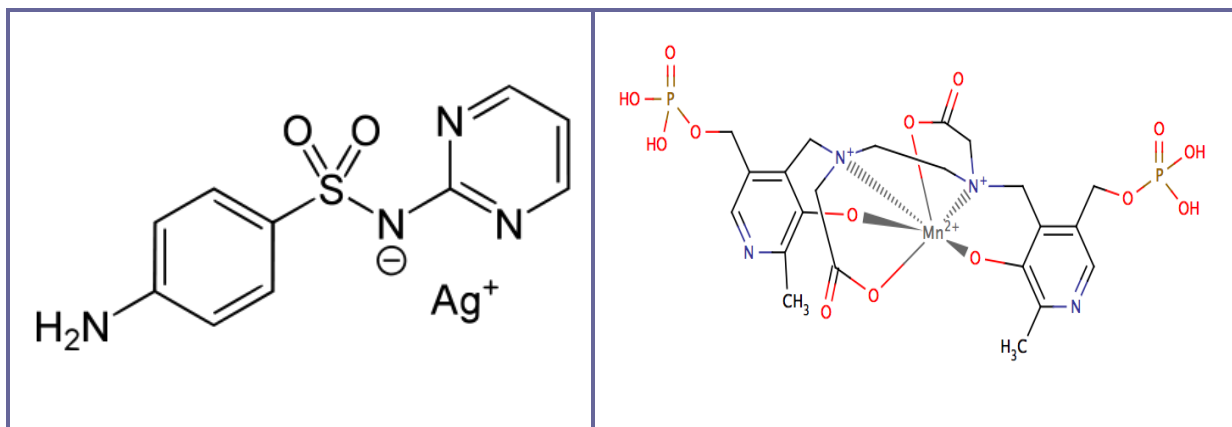
Για το γάλλιο(III) συντέθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με επίλυση δομής ακτίνων-Χ, με πολλές άλλες φυσικο-χημικές μετρήσεις και με ηλεκτροχημεία τα σύμπλοκα: α)-[Bis-(2-acetylpyridine-N-p-Nitrophenyl-thio-semicarbazonato)-N,N,S-Ga(III)]-nitrate-mono-hydrate, β)-[Bis-(acetyl-pyrazine-N-Phenyl-thio-semicarbazonato)-N,N,S-Ga(III)]-nitrate-mono-hydrate, γ)-[Bis-(acetyl-pyrazine-N-p-Nitrophenyl-thio-semicarbazonato)-N,N,S-Ga(III)]-nitrate-mono-hydrate-methanol solvate, δ)-[Bis(2-acetylpyridine-N-Phenyl-thio-semicarbazonato)-N,N,S-Ga(III)]-hexafluoro-phosphate-mono-hydrate και ε)-[Bis-(2-acetylpyridine-N,N-dimethyl-thio-semicarbazonato)-N,N,S-Ga(III)]-hexafluoro-phosphate, (Εικόνα 4.26). Η μελέτη κυκλικής βολταμετρίας αποκαλύπτει, για τα σύμπλοκα του γαλλίου, δύο ζεύγη -περίπου αντιστρεπτών- κορυφών, κοντά στην γειτονία του 0,0V (-0,40V).

Τα σύμπλοκα αυτά παρουσιάζουν ισχυρή κυτταροτοξικότητα και αντινεοπλαστική δραστηριότητα, καθώς και ικανότητα αναστολής της αναγωγής του ριβοσο-νουκλεοτιδίου. Η δοκιμασία κυτταροτοξικότητας σε διάφορες ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές: SW480, SK-BR-3 και 41M κατέδειξε ότι αυτά τα σύμπλοκα του γαλλίου (III) είναι προικισμένα εξαιρετικές αντικαρκινικές ιδιότητες. Η in vitro κυτταροτοξική δραστηριότητα υπερβαίνει εκείνη, όλων των άλλων γνωστών συμπλόκων του γαλλίου(III), που έχουν μέχρι τώρα δοκιμαστεί και είναι ελαφρώς υψηλότερη, από εκείνη των ελευθέρων υποκαταστατών, [Kowol Christian R., et al, "An Electrochemical Study of Antineoplastic Gallium, Iron and Ruthenium Complexes with Redox Noninnocent α-N-Heterocyclic Chalcogen-semicarbazones", 2008].

#### 4.12.12 ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΩΣ ΑΝΤΙ-ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Το μεταβατικό μέταλλο **άργυρος** (Ag) έχει χρησιμοποιηθεί επι σειρά ετών ως δραστικός αντι μικροβιακός παραγόντων. Ο άργυρος έχει χαμηλή τοξικότητα, σε σύγκριση με πολλά άλλα μέταλλα μεταπτώσεως. Ήδη από τον μεσαίωνα οι οφθαλμοί νεογέννητων βρεφών αποστειρώνονται με διάλυμα νιτρικού αργύρου, για την παρεμπόδιση την ανάπτυξη της γονοκοκκικής λοίμωξης Νεογνικής Επιπεφυκίτιδας, γνωστής και ως Οφθαλμίας των Νεογνών (Neonatal Conjunctivitis, ή Ophthalmia Neonatorum), που προκαλείται από την Chlamydia Trachomatis.

Η ένωση **σουλφαζινικός άργυρος** [Ag(I)- Sulfazinate] είναι μία ευρύτατα χρησιμοποιούμενη αλοιφή, στην αντιμετώπιση σοβαρών εγκαυμάτων, για την αποτροπή βακτηριακών λοιμώξεων, [Clarke A.M., et al, 1971] και [Clarke A.M., 1975]. Ο Χλωροεξιδινικός και Σουλφαδιαζινικός άργυρος είναι ένα αντι-μολυσματικό μεταλλικό σύμπλοκο, κατά των μολύνσεων των καθετηριάσεων in vivo, [Bassetti S., et al, 2001].



Εικόνα 4.27. Αριστερά: Συντακτικός τύπος του ανατιβακτηριακού φαρμάκου Silver Sulfadiazine (Silvadene) και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του ιατροφαρμακευτικού διαγνωστικού σκευάσματος Manganese Dipyridoxal Diphosphate Trisodium Salt, Mangafodipir (Teslascan), [Rocklage S.M., et al, "Manganese(II) N,N'-dipyridoxyl-ethylenediamine-N,N'-diacetate-5,5'-bis-(phosphate). Synthesis and Characterization of a Paramagnetic Chelate for Magnetic Resonance Imaging Enhancement", 1989].

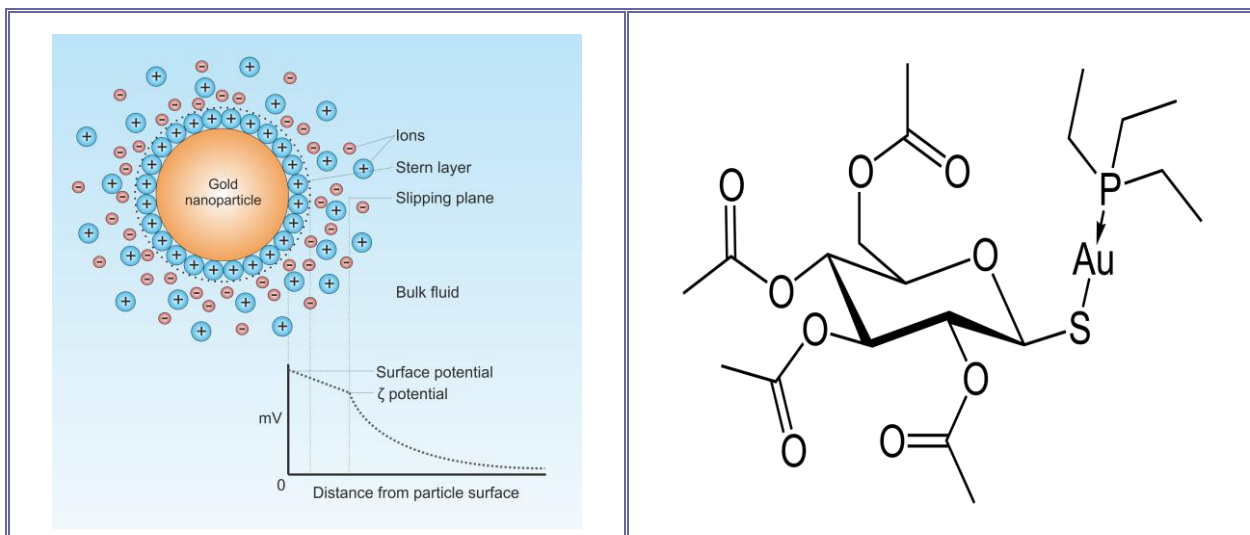
Οργανομεταλλικά σύμπλοκα των **λευκοχρύσου Pt**, **ροδίου Rh**, **ιριδίου Ir**, **παλλαδίου Pd** και **οσμίου Os**, με ενεργά οργανικά μόρια έχουν αναφερθεί, ότι παρουσιάζουν δραστηριότητα κατά της αφρικανικής τρυπανοσωμίας, προκαλούμενης υπό των πρωτοζωικών παρασίτων *Trypanosoma brucei* και *Trypanosoma cruzi*, [Lorisean P.M., et al, 1992]. Μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών και κλινικών μελετών δείχνει την ευεργετική χρήση των αλάτων και συμπλόκων του **ψευδαργύρου (Zn)**, στη θεραπεία της διάρροιας, [Hoque K.M., et al, 2009]. Ο Φουκουσίμα μελέτησε επίσης τον ρόλο του ψευδαργύρου σε ασθενείς, που υποβάλλονται σε αιμοκάθαρση, λόγω νεφρικής ανεπάρκειας, [Fukushima T., et al, Zinc Deficiency Anemia and Effects of Zinc Therapy in Maintenance Hemodialysis Patients, 2009].

Σύμπλοκα του **μαγγανίου (II)** με μακροκυκλικούς υποκαταστάτες αζώτου έχουν δείξει αντι- μικροβιακή δραστηριότητα. Έχει επιβεβαιωθεί η οκταεδρική γεωμετρία για αυτά τα σύμπλοκα με φασματοσκοπική ανάλυση. Επίσης πολλά σύμπλοκα του **μαγγανίου** έχουν εφαρμοσθεί στην αντιμετώπιση ενός αριθμού παθογόνων μυκήτων και βακτηριδίων, σχετικά με την αξιολόγηση της ανάπτυξης και της δυναμικότητας των, [Singh R.V., et al, 2004]. Μεταλλικά σύμπλοκα του **λευκοχρύσου Pt(II)** και **ρουθηνίου Ru(II)** με τους υποκαταστάτες ο- βανιλίνη- (4-μεθυλο-θειοσεμικαρβαζόνη) και ο-vinillin-(4-φαινυλο-θειοσεμικαρβαζόνη) έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί με χημικές μεθόδους. Μελετήθηκαν επίσης για τις αντιβακτηριακές, αντι-μυκητιασικές και antiamoebidal δραστηριότητες των και έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά φάρμακα, στην καταπολέμηση μολυσματικών παραγόντων, [Offing O.E., et al., 1996]. Τα μέταλλα μεταπτώσεως έχουν επίσης αποδειχθεί χρήσιμα σώματα, στην θεραπεία της ελονοσίας. Το στέλεχος *Plasmodium Falciparum* έχει καταστεί ανθεκτικό, στα ισχυρά ανθελονοσιακά φάρμακα όπως κινολίνες. Ωστόσο τα μεταλλικά σύμπλοκα των **γαλλίου Ga(III)**, **αργιλίου Al(III)** και **σιδήρου Fe(III)** βρέθηκαν να είναι δραστικά φάρμακα, έναντι της ελονοσίας. Μεταλλικά σύμπλοκα της ο-βανιλίνης-(4-μεθυλο-θειοσεμικαρβαζόνης) και της ο-βανιλίνη-(4-φαινυλο-θειοσεμικαρβαζόνης) εμφανίζουν ισχυρή ανθελονοσιακή δράση, σε ποντίκια μολυσμένα με *Plasmodium Berghei*. Υποδείχθηκαν εφικτές θεραπευτικές δοσολογίες, στα

επίπεδα μέχρι 60mg/kg, αλλά με θανατηφόρες τοξικές επιδράσεις, σε υψηλότερες δόσεις, [Singh R.V., et al, 2004].

#### 4.12.13 ΤΑ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΩΣ ΑΝΤΙ-ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ (FREE RADICAL QUENCHERS).

Η αγγειογένεση δηλαδή ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων είναι θεμελιώδους σημασίας στην ανάπτυξη και εξέλιξη των καρκινικών όγκων. Αυτή η διαδικασία είναι επίσης σημαντική στην προώθηση και συντήρηση άλλων παθήσεων, όπως η νεοπλασία και η ρευματοειδής αρθρίτις. Τα μέταλλα μεταπτώσεως έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως αντι-φλεγμονώδεις και αντι-αρθριτικοί παράγοντες, [Arayne M.S., et al, 2009], (Εικόνα 4.28). Αρκετά ενέσιμα σύμπλοκα χρυσού, όπως το χρυσο-θειομηλικό νάτριο, χρυσο-θειογλυκοζικό νάτριο και το χρυσοθειο-προπανολικό νάτριο χρησιμοποιούνται κλινικά, για τη θεραπεία βαρέων και σοβαρών περιπτώσεων ρευματοειδούς αρθρίτιδας, [Lippard S.J., and Berg J.M., "Principles of Bioinorganic Chemistry", 1994]. Νανοσωματίδια χρυσού και αργύρου, συζευγμένα με διάφορα ηπαρινικά παράγωγα έχουν ισχυρές αντι-αγγειογενετικές ιδιότητες, [Kemp M.M., et al, 2009]. Τα νανοσω-ματίδια αργύρου χρησιμοποιούνται στην παρασκευή σκευασμάτων αντιμικροβιακής γέλης, για τοπική χρήση, [Jain J., et al, 2009]. Τα σύμπλοκα χρυσού έχουν χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία της περιφερικής ψωριασικής αρθροπάθειας, [Nash P., et al, 2005]. Ως ένα δραστικό παραπροϊόν του μεταβολισμού του οξυγόνου, τα ανιόν υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ) μπορεί να πυροδοτήσει οξειδωτικές βλάβες των ιστών.

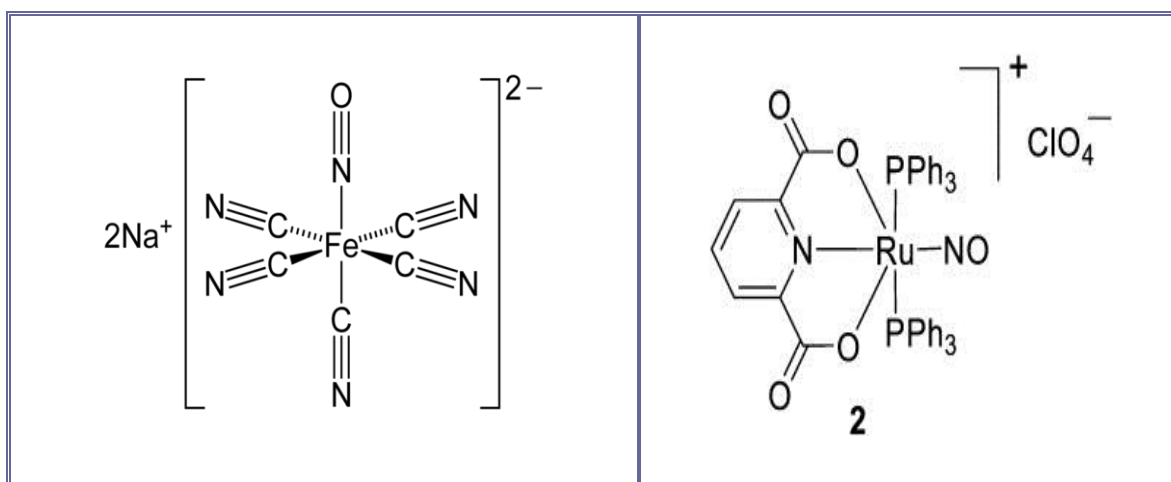


**Εικόνα 4.28. Αριστερά: Νανοσωματίδια χρυσού, σε κolloειδή διασπορά, εντός υδατικού περιβάλλοντος, παρουσία ηλεκτρολυτών και το δυναμικό-ζ. Δεξιά: Το αντιαρθρικό χρυσικό φάρμακο Aurano-fin (Ridaura), Gold(+1)-3,4,5-triacetyloxy-6-(acetyloxymethyl) oxane-2-thiolate-triethylphosphanium.**

Έχει προταθεί ότι αυτή η δραστηριότητα σχετίζεται με τις βλάβες επαναιμάτωσης (Reperfusion injury), με την σύντηξη των κυστιδίων και με την ανάπτυξη της κυτταρικής μεμβράνης, διαδικασίες που εμπλέκονται στις φλεγμονικές νόσους, καθώς και στις νευρολογικές διαταραχές, όπως η νόσος του Πάρκινσον και η νόσος του Αλτσχάϊμερ. Στα



έμβια συστήματα ένα φυσικό σύστημα άμυνας έναντι των υπο του υπεροξειδίου προκαλούμενων οξειδωτικών βλαβών περιλαμβάνει τα Sod's (Superoxide Dismutases), ένζυμα που καταλύουν την μετατροπή του υπεροξειδικού ανιόντος σε οξυγόνο και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η αγωγή με εναιωρήματα μεταλλικού χρυσού μειώνει τον πολλαπλασιασμό των φλεγμονωδών κυττάρων, στην κάκωση του εγκεφάλου, [Pedersen M.O., et al, 2009]. προκαλεί πόνο και πυρετό. Υπάρχουν ορισμένες παρενέργειες με τη χρήση Au(I), ως επί το πλείστον όταν οξειδώνεται σε Au(III) με ορισμένες από τις δυνητικά ισχυρά οξειδωτικά όπως το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> διατίθεται σε φλεγμονώδεις καταστάσεων, (Εικόνα 4.28). Υπερβολική χρήση των συμπλόκων του Au(I), για την θεραπεία της νεανικής ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οστεοαρθρίτιδας προκαλεί πόνο και πυρετό. Παρατεταμένη χρήση των σαλικυλικών και τα πυραζολονικών παραγώγων του χρυσού προκαλούν δερματικά συμπτώματα δυσανεξίας, κνίδωσης και αγγειο-οιδήματος, [Rethy L.A., et al, 2004]. Τα μεταλλικά σύμπλοκα του τολφεναμικού οξέος, έχουν μελετηθεί ως αντι-φλεγμονώδεις, αντιπολλαπλασιαστικοί παράγοντες, καθώς και αναστολείς ελευθέρων ριζών, [Kovala-Demertzi D., et al, 2009]. Αρκετά σύμπλοκα άλατα των μετάλλων μεταπτώσεως **χαλκού** Cu και **σιδήρου** Fe είναι ισχυροί καταλύτες της αποσύνθεσης του ανιόντος υπεροξειδίου. Επιπλέον, τα σύμπλοκα αυτών των μετάλλων δεν δεσμεύουν το αέριο NO, ενώ και αντιδρούν αργά με το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, επιδεικνύοντας μία εξειδίκευση προς το ανιόν του υπεροξειδίου. Τόσο το NO, όσο και το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> είναι μοριακά τοξικά σώματα και μπορούν να προκαλέσουν υψηλή αρτηριακή πίεση ή και να αποδυναμώσουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Αλληλεπίδραση των SOD-μιμητικών συμπλόκων αλάτων με τα NO και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, οδηγεί στην καθήλωση των επιπέδων συγκεντρώσεων, αυτών των επιβλαβών ουσιών, εντός του αίματος. Το οξείδιο του αζώτου NO είναι ένας εξαιρετικός υποκαταστάτης για τα μεταλλικά ιόντα μετάπτωσης και τα προκύπτοντα μεταλλικά νιτροζύλια (nitrosyls) διαθέτουν σημαντικές θεραπευτικές ιδιότητες.



Εικόνα 4.29. Νιτροδυλο-σύμπλοκα του Σιδήρου(III) και του Ρουθηνίου (III). Αριστερά: Συντακτικός τύπος του Νιτροπρωσικού Νατρίου και Δεξιά: Συντακτικός τύπος του συμπλόκου [Ru(L<sup>1</sup>)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(NO)](ClO<sub>4</sub>).

Το **νιτροπρωσικό νάτριο** είναι ένα κόκκινο κρυσταλλικό στερεό που, κρυσταλλώνεται με δύο μόρια ύδατος, [Na<sub>2</sub>Fe(CN)<sub>5</sub>(NO)]·2H<sub>2</sub>O. Διαλύεται σημαντικά στο ύδωρ και μέτρια στην αιθανόλη. Εν διαλύσει βρίσκεται υπό μορφή ανιόντος [Fe(CN)<sub>5</sub>NO]<sup>-2</sup>, ενώ η δραστηκή

του ομάδα είναι η σιδηρο-νιτροζυλο ομάδα. Το νιτροπρωσσικό νάτριο είναι ένα οκταεδρικό σύμπλοκο του  $Fe^{2+}$  χαμηλού spin, που περιέχει τη νιτρόζυλο- ομάδα ( $+N=O$ ). Η νιτρόζυλο- ομάδα συναρμόζεται με το σίδηρο δίνοντας το ελεύθερο ζεύγος ηλεκτρονίου, που διαθέτει το άζωτο προς το μέταλλο, ταυτόχρονα όμως συνδέεται με π-σύνδεση, όπου ο Fe επαναχορηγεί ηλεκτρονική πυκνότητα στο  $p^*$  κενό τροχιακό του νιτρόζο- κατιόντος. Αποδεσμεύει σταδιακά το **μονοξειδίο του αζώτου (NO)** και λόγω αυτής της ιδιότητας εμφανίζει αγγειοδιασταλτική δράση. Χορηγήθηκε κλινικά, στη θεραπεία των καρδιαγγειακών παθήσεων, σε επείγουσες περιπτώσεις υπέρτασης, εμφράγματος καθώς και στις εγχειρήσεις. Χρησιμοποιήθηκε κλινικά στις περιπτώσεις: στένωσης αορτικής βαλβίδας, ερυθρομελαλγίας, κισμών του οισοφάγου, βαριάς πυρεξίας, γαλακτικής οξέωσης, εμφράγματος μυοκαρδίου, κακοήθους νευροληπτικού συνδρόμου, πνευμονικής υπέρτασης, συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας νεογνών, σοκ εγκεφαλικού αγγειοσπασμού, εργοτισμού, ελαττωματικών κοιλιακών διαφραγμάτων και της στυτικής δυσλειτουργίας. Ωστόσο η σταδιακή αποδέσμευση των λίαν τοξικών κυανιούχων ( $CN^-$ ) ανιόντων περιόρισε δραστικά τις εφαρμογές του.

Η ανακάλυψη όμως των νέων συμπλόκων ενώσεων του **ρουθηνίου**, με νιτροδύλιο προσφέρουν ελπιδοφόρες βιολογικές εφαρμογές, [Cameron B.R., et al, 2003]. Υπερπαραγωγή του NO οδηγεί σε διάφορες ασθένειες, όπως σήψις, η αρθρίτις, ο διαβήτης και η επιληψία. Τα πολυαμινοκαρβοξυλικά σύμπλοκα του ρουθηνίου είναι αποτελεσματικοί εξουδετερωτές του NO, [Mosi R., et al, 2002], [Spasojevic I., et al, 2003] και [Clarke M.J., et al, 2003]. Πολλές ανθρώπινες ασθένειες συνδέονται με την υπερβολική παραγωγή ελευθέρων ριζών οξειδίου που προκαλούν βλάβη των κυττάρων. Ένα σύμπλοκο του **μαγγανίου** Mn(II), με [δισ-(cyclohexylpyridine)-υποκατεστημένους μακροκυκλικούς υποκαταστάτες] έχει σχεδιαστεί, ως ένα λειτουργικό μιμητικό της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) του ενζύμου, που κανονικά απομακρύνει αυτές τις ρίζες, [Li H., et al, 2002]. Σύμπλοκα του **μαγγανίου** έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία των οξειδωτικών βλαβών των κυττάρων και των ιστών, δρώντας ως καθαριστής υπεροξειδίου ανιόντος (Superoxide Anion Scavenger), [Failli P., et al, 2009].

Το **μαγνήσιο** Mg(II) χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του άσθματος παιδιών, [Bichara Marcela D., et al, 2009] και [Chande V.T., et al, "A Trial of Nebulized Magnesium Sulfate to Reverse Bronchospasm in Asthmatic Patients", 1992]. Ορισμένα σύμπλοκα **χαλκού** είναι επίσης δραστικά κατά διαφόρων φλεγμονών, αλλά η χρήση τους είναι περιορισμένη, [Angelusiu M.V., et al, 2009]. Τα σύμπλοκα του δισθενούς χαλκού Cu(II), εντός βιολογικών υγρών τείνουν να δίστανται και δεσμεύονται με φυσικούς υποκαταστάτες, όπως οι αλβουμίνες, [Halova-Lajoie B., et al, 2006] και [Ward P.P., et al, 2005]. Τα σύμπλοκα του **ψευδαργύρου** Zn(II) έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στην αναστολή των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, [Haddad J.J., 2009].

#### **4.12.14 ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ, ΩΣ ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΟΙ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΜΙΜΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

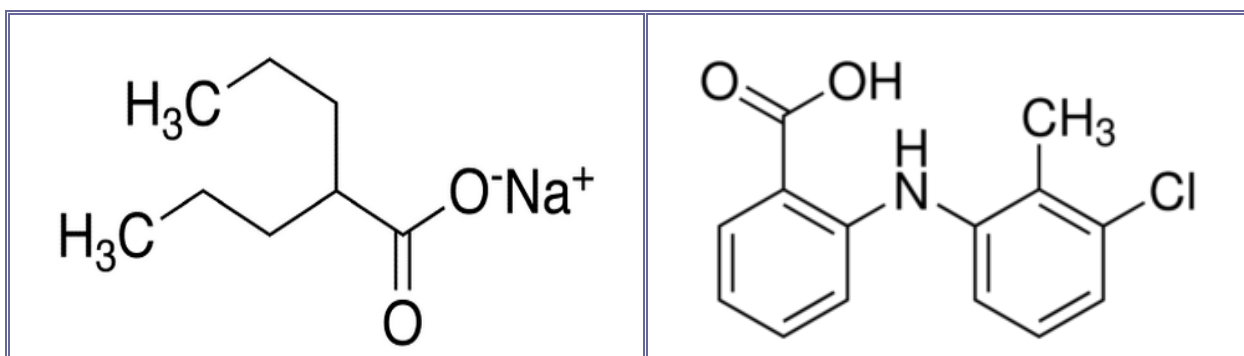
Πάνω από 2 έως 8 % του παγκόσμιου πληθυσμού πάσχει από **σακχαρώδη διαβήτη**, [Wild S., et al, 2004]. Είναι μια κατάσταση, κατά την οποία στο ανθρώπινο σώμα δεν παράγεται η ορμόνη ινσουλίνη, η οποία είναι απαραίτητη για την απορρόφηση της γλυκόζης στα κύτταρα, [Rother Kristina I., 2007]. Οι επιστήμονες ερευνούν για

εναλλακτικές προσεγγίσεις, αναφορικά με την θεραπεία του διαβήτη, [Nahas R., et al, 2009]. Έλεγχος των επιπέδων γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος έχει επιτευχθεί, με την χορήγηση ανόργανων αλάτων του βαναδίου και του ψευδαργύρου. Έχει αποδειχθεί ότι τα στοιχεία αυτά απορροφούνται ελάχιστα στις ανόργανες μορφές τους, γι'αυτό και απαιτούνται υψηλές δόσεις, οι οποίες όμως έχουν συσχετιστεί με ανεπιθύμητες παρενέργειες. Σύμπλοκα του βαναδίου με οργανικούς υποκαταστάτες έχουν αποδειχθεί λιγότερο τοξικές και με βελτιωμένη διαλυτότητα και λιποφιλικότητα.

Έχει αναπτυχθεί σημαντικός αριθμός συμπλόκων του βαναδίου, που όλα διαθέτουν ισοουλίνο- μιμητικές ιδιότητες, [Badmaev V., et al, 1999]. Ο μοριακός μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για τις δράσεις των συμπλόκων του τύπου-ισουλίνης, έχει προταθεί ότι περιλαμβάνει την ενεργοποίηση αρκετών βασικών στοιχείων των οδών σήμανσης της ισοουλίνης. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι η επίδραση του βαναδίου σε αυτά τα συστήματα σηματοδότησης είναι ανεξάρτητη της δραστηριότητας της πρωτεϊνικής τυροσινάσης, των υποδοχέων ισοουλίνης, αλλά συνδέεται με την αυξημένη **τυροσινική φωσφορυλίωση**, του υποστρώματος των υποδοχέων ισοουλίνης, [Mehdi M.Z., et al, 2006]. Συμπληρώματα διατροφής με σύμπλοκα χρωμίου σημαντικά βελτιώνουν την γλυκαιμία στους διαβητικούς ασθενείς, αλλά δεν δείχνουν σημαντική επίδραση στον μεταβολισμό της γλυκόζης, των υγιών ατόμων, [Balk E.M., et al, 2007]. Πρόσληψη υψηλότερων δόσεων ψευδαργύρου έχει επίσης συσχετιστεί, με ελαφρώς χαμηλότερο κίνδυνο διαβήτη τύπου 2, σε γυναίκες, [Sun Q., et al, 2009].

#### 4.12.15 ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ, ΩΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

Τα μεταλλικά σύμπλοκα μεταπτώσεως χρησιμοποιούνται επίσης στην αντιμετώπιση νευρολογικών διαταραχών, [Hashimoto R., et al, 2003]. Κλασική περίπτωση είναι τα απλά και σύμπλοκα **άλατα του λιθίου** Li(I), που έχουν χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία πολλών νευρολογικών διαταραχών, όπως η chorea του Huntington, η όψιμη δυσκινησία, το σπαστικό ραιβόκρανο, το σύνδρομο Tourette, η L-dopa επαγόμενη υπερκινησία, ο παρκινσονισμός, οι οργανικές διαταραχές του εγκεφάλου, οι - προκαλούμενες από ναρκωτικά- παραληρητικές διαταραχές, οι ημικρανίες και αθροιστικές κεφαλαλγίες, η περιοδική υπερυπνηλία, η επιληψία, η νόσος του Meniere και η περιοδική υποκαλιαϊμική παράλυση.



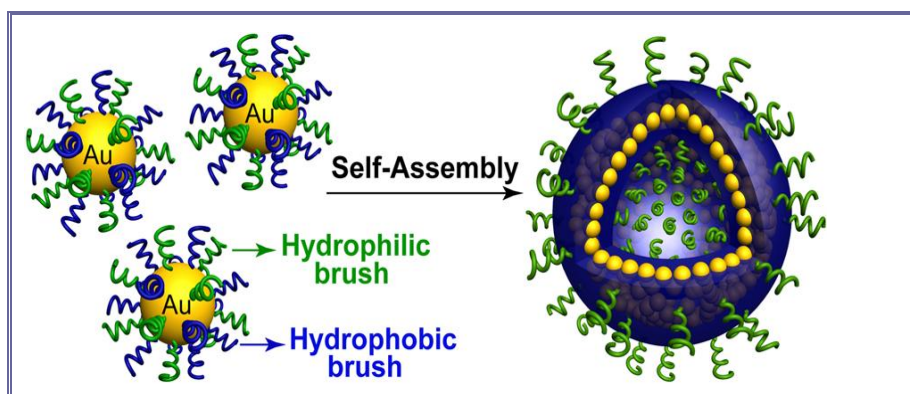
Εικόνα 4.30. Αριστερά: Ο συντακτικός τύπος του φαρμάκου Sodium Valproate και Δεξιά: Ο συντακτικός τύπος του φαρμάκου Tolfenamic Acid

Ο μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει την Li- αναστολή της οδού σάρωσης, για την σύλληψη της ινοσιτόλης στην ανασύνθεση των πολύ-φωσφο-ινοσιτιδίων στον εγκέφαλο, [Camins A., et al, 2009]. Η αγωγή με βαλπροϊκά άλατα του λιθίου καθυστερεί την έναρξη της νόσου, μειώνει τα νευρολογικά ελλείμματα και επιμηκύνει την επιβίωση σε μια αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση, πάνω σε μοντέλα ποντικών, (Σχήμα 4.30). Το βαλπροϊκό λίθιο έχει χρησιμοποιηθεί στις περιπτώσεις: επιληψίας, νευρικής ανορεξίας, προσβολής πανικού, διαταραχής άγχους, διαταραχής μετατραυματικού στρες, ημικρανίας και διπολικής διαταραχής, [Feng H.L., et al, 2008]. Άλλα μέταλλα μεταπτώσεως, όπως ο ψευδάργυρος εμπλέκονται ως πομποί στα νευρωνικά μονοπάτια σηματοδότησης. Ο **νευρωνικός ψευδάργυρος** Zn(II) χρησιμεύει ως μια σημαντική, εξαιρετικά οργανωμένη συνιστώσα σηματοδότησης, υπεύθυνη για την έναρξη της νευροπροστατευτικής οδού, [Aras M.A., et al, 2009].

#### **4.12.16 ΤΑ ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΑ ΜΕΤΑΛΛΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΙΑΤΡΟ-ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΙ ΩΣ ΠΟΛΥΤΙΜΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΕΡΓΑΛΕΙΑ.**

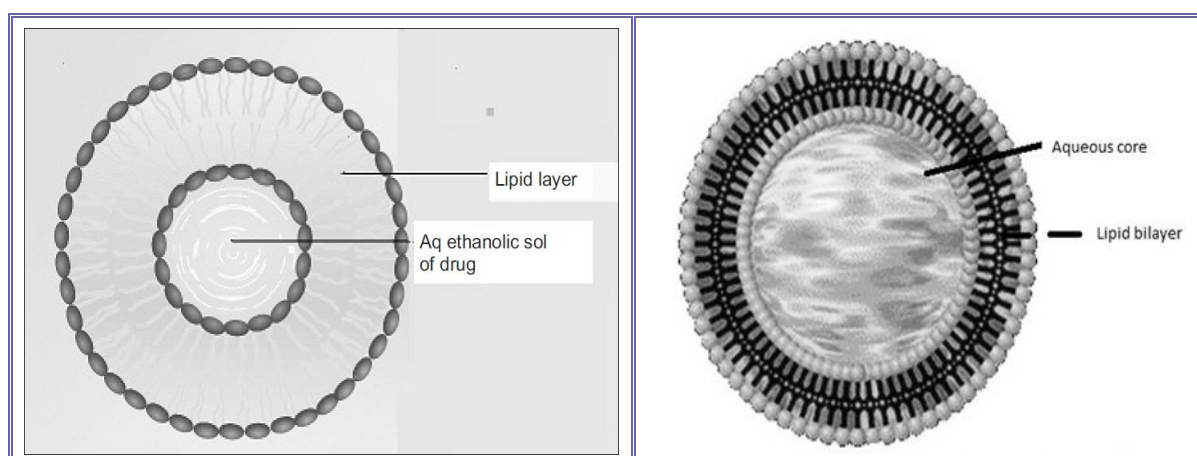
Τα μεταλλικά σύμπλοκα μεταπτώσεως μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν, εκτός των θεραπευτικών εφαρμογών, ως ισχυρά διαγνωστικά εργαλεία των βιολογικών λειτουργιών, [Khan G., et al, 2009], [Bartkowiak D., et al, "Radiation- and Chemoinduced Multidrug Resistance in Colon Carcinoma Cells", 2009]. Οι μοναδικές ιδιότητες των μετάλλων μεταπτώσεως, όπως οξειδο-αναγωγική δραστηριότητα, η οξύτητα κατά Lewis, η ηλεκτρονιο-φιλικότητα, ο μεταβλητός αριθμός οξειδώσεως, η γεωμετρία, οι μαγνητικές, φασματοσκοπικές και ραδιοχημικές ιδιότητες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μέτρηση των κυτταρικών λειτουργιών, [Ali H., et al, 1999] και [Radha N., et al, 2004]. Η επιτυχία της εφαρμογής των συμπλόκων μεταπτώσεως επιλεκτικής θεραπείας φαρμάκου εξαρτάται από το χρόνο αργής αποδέσμευσης και δράσεως του αποθεματικού φαρμάκου (drug's depot time), για την θεραπευτική αγωγή του στόχου. Σήμερα η χρονική διάρκεια της παρατεταμένης φαρμακο-λογικής δράσεως έχει παραταθεί, με την χρήση φαρμακευτικών σφαιριδίων έκλουσης (drug-eluting beads) ή φαρμακευτικών μικροσφαιριδίων (microspheres), για τις εσωτερικές εκλεκτικές ακτινο-θεραπείες, Εικόνα 4.31).

Η χρήση των μετάλλων μετάπτωσης, ως εργαλείων, για τον ραδιοφαρμακευτικό εντοπισμό των σωματιδίων, που έχουν εγχυθεί εντός των όγκων αυξάνεται μέρα με τη μέρα. Έχει αναφερθεί η χρήση νανοράβδων χρυσού (gold nanorods), για την φωτο-ακουστική μοριακή απεικόνιση, με ταυτόχρονη πολλαπλή στόχευση, [Luboldt W., et al, 2009]. Στην σημερινή πραγματικότητα καταδεικνύεται προοδευτικά η δυναμική των απαιτήσεων, για τη βελτίωση της διάγνωσης του καρκίνου, [Qutob S.S., et al, "Comparison of the X-radiation, Drug and Ultraviolet-Radiation Responses of Clones Isolated from a Human Colorectal Tumor Cell Line", 2004] και [Volkter W.A., et al, "Therapeutic Radiopharmaceuticals", 1999]. Έχουν παρασκευασθεί νανοσωματίδια χρυσού μέσα σε, κυστίδια (ethosomes), που αποτελούνται από φωσφολιπίδια, αιθανόλη και ύδωρ, τα οποία είναι πολύ αποτελεσματικά, στους μηχανισμούς κατανομής εντός του δέρματος, φαρμάκων και καλλυντικών, αλλά επίσης και ως διαγνωστικοί και πολυτροπικοί και πολυδύναμοι θεραπευτικοί παράγοντες, [De la Presa P., et al, 2009]. Ο χρυσός είναι ευγενές μεταλλικό στοιχείο και τα νανοσωματίδια αυτού δεν είναι τοξικά και δεν αλληλεπιδρούν με τα διάφορα βιολογικά υγρά.



**Εικόνα 4.31.** Η αυτό-οργάνωση των μικρο-σωματιδίων του κολλοειδούς μεταλλικού χρυσού, σε ασκίδια-εθοσωματίδια χρυσού.

Η εύκολη κατανομή και κυκλοφορία εντός του σώματος τα καθιστά ιδανικό όχημα μεταφοράς και διάθεσης του φαρμάκου, [Terentyuk G.S., et al, 2009] και [Verma Poonam, et al, "Therapeutic and Cosmeceutical Potential of Ethosomes: An Overview", 2010]. Τα νανοσωματίδια εγχυόμενα εντός των καρκινικών κυττάρων αυξάνει την ικανότητά τους να απορροφούν ακτινοβολία ειδικού μήκους κύματος. Αυτή η ιδιότητα έχει χρησιμοποιηθεί στην διαγνωστική απεικόνιση του καρκίνου του προστάτη, με ενισχυμένο μαγνητικό συντονισμό, λόγω της παρουσίας λεμφοτροπικών νανοσωματιδίων, [Ross R.W., et al, 2009]. Νανοσωματίδια χρυσού συζευγμένα με κατάλληλα αντισώματα έχουν χρησιμοποιηθεί για να προωθήσουν τις ανοσοσφαιρίνες στον αμφιβληστροειδή του ματιού κουνελιού, καθώς επίσης και στην in vivo φωτοακουστική μοριακή απεικόνιση, [Li P.C., et al, 2008] και [Hayashi A., et al, 2009], (Εικόνα 4.32). Υπερ-μικροσκοπικά σωματίδια μαγνητικού οξειδίου του σιδήρου ( $Fe_3O_4$ ) εμφανίζουν υπερ-παραμαγνητικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται ως παράγοντας αρνητικής αντίθεσης (negative contrast) κατά την μαγνητική απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI), η οποία βελτίωσε σημαντικά την ευαισθησία ανίχνευσης των φλεγμονωδών ιστών, [Radermacher K.A., et al, 2009].



**Εικόνα 4.32.** Αριστερά: Σφαιρικά Ασκίδια-Φορείς Εθοσωματιδίων Χρυσού (Gold Ethosomes) και Δεξιά: Σφαιρικά Ασκίδια-Φορείς, Φωσφολιπιδικής Διπλοστιβάδας.

Με την πρόοδο στον τομέα της ανόργανης χημείας ο ρόλος των μεταλλικών συμπλόκων των μεταπτώκων στοιχείων, ως θεραπευτικών ιατρο-φαρμακευτικών ενώσεων γίνεται

ολοένα και πιο σημαντική. Πρόσφατες προσπάθειες στην ανόργανη χημεία έχουν κάνει δυνατή την παρασκευή μεγάλου αριθμού συμπλόκων ενώσεων, των μετάλλων μεταπτώσεως με οργανικούς υποκαταστάτες υψηλής σημασίας, τα οποία μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικοί παράγοντες. Πέραν της σισπλατίνης σημαντική πρόοδος έχει γίνει πρόσφατα στην σύνθεση και απομόνωση νέων λευκοχρυσικών αντινεοπλαστικών, αντικαρκινικών φαρμάκων δεύτερης γενεάς, όπως η Carboplatin, Oxaliplatin, Satraplatin, Picoplatin, Nedaplatin και Triplatin, [Najajreh Y., et al, "Novel Soluble Cationic trans-Diaminedichloro-platinum (II) Complexes that are Active Against cisplatin Resistant Ovarian Cancer Cell Lines", 2002] και [Piulats J.M., et al, "Molecular Mechanisms Behind the Resistance of cis-platin in Germ Cell Tumours", 2009]. Παρά το γεγονός, ότι αυτά τα φάρμακα έχουν αποδειχθεί ότι είναι εξόχως αποτελεσματικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες, για τη θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνων, έχουν παρουσιάσει τα ίδια μειονεκτήματα, όπως και άλλα αντι-καρκινικά φάρμακα, τα οποία συνοπτικά είναι, [Lippard S.J., "Platinum, Gold and Other Metal Chemotherapeutic Agents", 1983]:

**(i)-** Αντοχή σε αυτά τα φάρμακα αναπτύσσεται, όταν τα κύτταρα που κάποτε κατεστράφησαν από ένα συγκεκριμένο φάρμακο, δεν ανταποκρίνονται πλέον σε θεραπευτικές αγωγές με το ίδιο φάρμακο. Όταν τα κύτταρα γίνονται ανθεκτικά στο φάρμακο, οι δόσεις θα πρέπει κλιμακωτά να αυξηθούν και τότε το φάρμακο καθίσταται σοβαρά τοξικό, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει στην καταστροφή πολλαπλών οργάνων, συνήθως των νεφρών και του μυελού των οστών.

**(ii)-** Η τοξικότητα του φαρμάκου δεν είναι στοχευμένη και ελεγχόμενη. Τότε τα φάρμακα αυτά δεν θα καταστρέψουν επιλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα, αλλά θα καταστρέψουν γρήγορα και τα φυσιολογικά διαιρούμενα κύτταρα, όπως συνήθως συμβαίνει στους θύλακες των τριχών.

Αρκετά νέα σύμπλοκα άλατα -παράγωγα της σισπλατίνης, έχουν προταθεί στην βιβλιογραφία, όπως η καρβοπλατίνη, η nedaplatin, η oxaplatin, οι οποίες είναι λιγότερο τοξικές και περισσότερο αποτελεσματικές, από την σισπλατίνη. Σύμπλοκες χημικές ενώσεις πολλών άλλων μετάλλων μεταπτώσεως, όπως Ru, Ti, Os, Au, Fe και του Co, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως αντικαρκινικά θεραπευτικά σκευάσματα. Η χρήση των μεταλλικών συμπλόκων ενώσεων των διαφόρων στοιχείων μεταπτώσεως, ως θεραπευτικών αντικαρκινικών ενώσεων έχει γίνει επιτακτικότερη επι των ημερών μας. Αυτά τα νέα μοριακά συγκροτήματα προσφέρουν μια μεγάλη ποικιλία στη ιατρο-φαρμακευτική τους δράση. Δεν διαθέτουν μόνον αντικαρκινικές ιδιότητες, αλλά έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί ως αντι-φλεγμονώδη, αντι-μολυσματικά και αντι-διαβητικά φάρμακα.

Η ανάπτυξη νέων συμπλόκων ενώσεων των μετάλλων μετάπτωσης, ως ιατρο-φαρμακευτικών σκευασμάτων δεν είναι ένα εύκολο έργο. Απαιτείται σημαντική προσπάθεια για να απομονωθεί κάποια νέα σύμπλοκη ένωση, με βιο-ιατρικό ενδιαφέρον και χωρίς σοβαρές παρενέργειες. Εκτός από όλα αυτούς τους περιορισμούς και τις παρενέργειες, τα σύμπλοκα άλατα των μετάλλων μετάπτωσης εξακολουθούν να είναι τα πλέον εκτεταμένως χρησιμοποιούμενα χημειοθεραπευτικά φαρμακευτικά υλικά, με μια μεγάλη συνεισφορά στην θεραπευτική ιατρο-φαρμακευτική, με έναν τρόπο, που είναι αδιανόητος λίγα χρόνια

πρωτύτερα, [Elder R.C., and Eidsness M.K., "Synchrotron X-ray Studies of Metal-based Drugs and Metabolites", 1987].

#### **4.12.17 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ**

Οι θεραπευτικές εφαρμογές των διαφόρων συμπλόκων ενώσεων των μεταβατικών μεταλλικών στοιχείων είναι μια αναπτυσσόμενη περιοχή, στα πλαίσια της επιστημονικής έρευνας και είναι γεμάτη ευκαιρίες-προκλήσεις, για περαιτέρω διερεύνηση και ανάπτυξη. Οι βασικές αρχές για την προσχεδιασμένη καθοδήγηση της σύνθεσης και της ανάπτυξης νέων φαρμακευτικών προϊόντων, συμπλόκων αλάτων των μετάλλων μεταπτώσεως εκλείπει. Ανάπτυξη νέων μεθοδολογιών, όπως της συνδυαστικής χημείας θα αποδειχθεί χρήσιμη, στη σύνθεση νέων ανοργάνων απλών και συμπλόκων ενώσεων, ως θεραπευτικών ιατρο-φαρμακευτικών παραγόντων. Ομοίως, η φαρμακοκινητική θεραπευτική δράση των μεταλλικών συμπλόκων, σε ολόκληρους ζωντανούς οργανισμούς αναμένεται να διαφέρει σε γενικές γραμμές, από τη δράση των μη μεταλλικών φαρμακευτικών ουσιών και μπορεί να προσφέρει μοναδικές ερευνητικές, διαγνωστικές και θεραπευτικές δυνατότητες και προοπτικές.

# **ΕΔΑΦΙΟ Β΄**

## **ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

- 5- ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΤΟΥ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**
- 6- ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΒΑΝΑΔΙΟΥ**
- 7- ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**
- 8- ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**
- 9- ΠΕΡΙΛΗΨΗ**
- 10- SUMMARY**
- 11- ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΝΑΔΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΑΥΤΩΝ

**5.0.1 Αντιδραστήρια** χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση, την κατεργασία και την διαλυτοποίηση των νέων συμπλόκων πολυβαναδικών ενώσεων.

Πενταένυδρο θειικό βαναδύλιο,	[VOSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O]	(>96%, Merck)
Πιπεραζίνη ελεύθερη βάση,	[C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> , free base]	(≥99.5% Sigma-Aldrich)
Καδαβερίνη ελεύθερη βάση,	[(H <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> )]	(>97% Sigma-Aldrich)
Διμεθυλοσουλφοξείδιο,	[DMSO, C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> OS]	(99,9 % Panreac)
d <sub>6</sub> -Διμεθυλοσουλφοξείδιο,	[d <sub>6</sub> -DMSO]	(99,5%, Merck)
Διμεθυλοφορμαμίδιο,	[HCON(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]	(99.5% Analar)
Αλκοόλη απόλυτη,	[Αιθανόλη, C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH]	(>97%, Fluka)
Οξικό Οξύ παγόμορφο,	[CH <sub>3</sub> COOH glacial]	(97%, Fluka)
Πυριδίνη ελεύθερη βάση,	[C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N]	(99.8% Sigma-Aldrich)
Μυρμηκικό οξύ,	[HCOOH, formic acid]	(>97%, Alfa Aesar)
Νικοτιναμίδιο,	[C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O]	(≥99.5% Sigma-Aldrich)
Αζίδιο Νατρίου,	[NaN <sub>3</sub> ]	(≥99.5% Sigma-Aldrich)
Ακετόνη,	[CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> ]	(>96%, Merck)
Μεθανόλη,	[CH <sub>3</sub> OH]	(>97%, Alfa Aesar)
Φορμαμίδιο,	[HCONH <sub>2</sub> ]	(99.5% Analar)
Υδροχλωρικό οξύ,	[HCl]	(97%, Fluka)
Απεσταγμένο ύδωρ,	[DW]	(d H <sub>2</sub> O)
Δισαπεσταγμένο ύδωρ,	[DDW]	(dd H <sub>2</sub> O)
Υδροξείδιο του Νατρίου	[NaOH, pellets]	(Merck, >97%)
Θειικό οξύ	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	(Merck, 95-97%)

**5.0.2 Συσκευές** που χρησιμοποιήθηκαν για τις πειραματικές μετρήσεις και τον αναλυτικό χαρακτηρισμό, των νέων συμπλόκων ενώσεων.

NMR-Φασματοόμετρο Bruker Avance 300, Τύπος AV-500.

Θερμοζυγός TGA-DTA (Perkin-Elmer, δυνατότητες μέτρησης από RT-500°C)

Φασματοόμετρο υπερύθρου (FT-IR), Model FT/IR -6200.

Συσκευή Περίθλασης Ακτίνων -X (XRD) για μονοκρυστάλλους.

Melting Point Apparatus, Electrothermal, Catalogue Number: IA-6304.

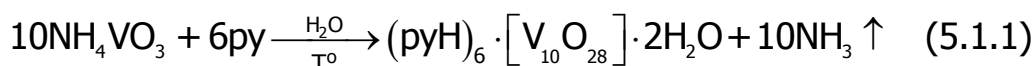


**ΕΙΚΟΝΑ 5.0.1:** Πάνω τα στερεά βαναδικά συμπλοκα, μέσα στους περιέκτες των. Μέση: Διαλύματα των νέων συμπλόκων σε DMSO και Κάτω: Τα διαφανή διαλύματα των πέντε υποκαταστατων στον ίδιο διαλύτη. Η σειρά των συμπλόκων στις επιμέρους εικόνες είναι ακριβώς η ίδια εξ' αριστερών: Nicotivan (2), Azivan (13), Pygivan (23), Pipervan (47) και Cadivan (225). Οι αριθμοί είναι τυχαίοι, βάσει των αρχικών πρωτοκόλλων συνθέσεως.

## 5.1- PYRIVAN. Η Παρασκευή και ο Χαρακτηρισμός του Νέου Πολυβαναδικού Συμπλόκου: *Pyrivan*, $\{(pyH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O\}$ .

Η παρατεταμένη θέρμανση υδατικού διαλύματος που περιείχε  $NH_4VO_3$  και πυριδίνη (py), η διήθηση του θερμού μίγματος της αντίδρασης και η εν συνεχεία αργή εξάτμιση του διηθήματος, σε θερμοκρασία δωματίου οδήγησε στον σχηματισμό και την αποβολή πορτοκαλόχρωμων κρυστάλλων.

Με τη βοήθεια κρυσταλλογραφίας ακτίνων  $-X$ , σε μονοκρύσταλλο του προϊόντος, διαπιστώθηκε ότι αυτό είναι το ιοντικό σύμπλοκο  $\{(pyH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O\}$ , (**Pyrivan**). Η απόδοση της αντίδρασης ήταν περίπου 40%. Η χημική εξίσωση της παρασκευής του συμπλόκου σκιαγραφείται στην Εξίσωση (5.1.1).



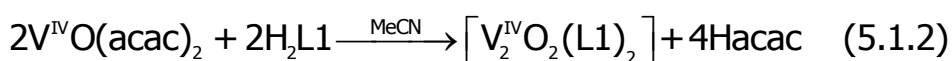
Το ιόν  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$  ανήκει στην κατηγορία των ισοπολυανιόντων ή ομοπολυανιόντων. Η διαφορά του από το ιόν  $[V_{10}O_{26}(OH)_2]^{4-}$  που υπάρχει στο σύμπλοκο nicotivan είναι, ότι σε αυτό δύο από τους 28 όξο- υποκαταστάτες έχουν πρωτονιωθεί. Η διαφορά στη χημική φύση των δεκαβαναδικών ανιόντων, που υπάρχουν στα σύμπλοκα *Pyrivan* και *Nicotivan* μπορεί να αποδοθεί στο διαφορετικό pH του υδατικού διαλύματος, κατά την έναρξη της κρυστάλλωσης.

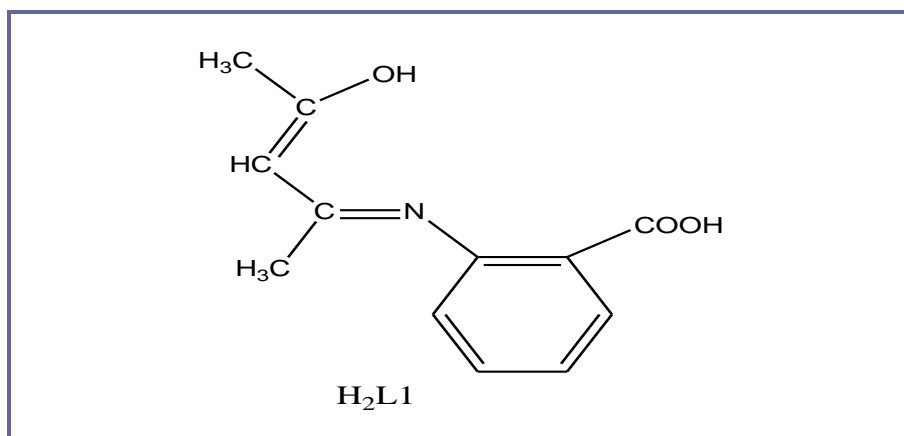
Τα ιόντα οξωνίου, που απαιτούνται για την πρωτονίωση των μορίων py και τη μετατροπή ιόντων οξειδίου (όξο υποκαταστατών), σε μόρια  $H_2O$  προέρχονται από την υδρόλυση των  $NH_4^+$ , (Χημική Εξίσωση 5.2.13), με την παρατεταμένη θέρμανση να συμβάλει στην απομάκρυνση της αερίου  $NH_3 \uparrow$  και τη δημιουργία του κατάλληλου pH, για το σχηματισμό του ιόντος  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ .

Η δομή του συμπλόκου ανιόντος της ένωσης *Pyrivan* παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.1.2. Στις Εικόνες 5.1.3 και 5.1.4 σκιαγραφούνται οι δεσμοί  $-H$ , που σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή της ένωσης. Στους Πίνακες 5.1.1-5.1.5 υπάρχουν δεδομένα για τη δομή του συμπλόκου ανιόντος, [Li J., et al, 2009].

Στη Βιβλιογραφία έχει αναφερθεί η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου *Pyrivan*, [Asgedom G., et al, 1997]. Το σύμπλοκο αυτό παρασκευάστηκε, με διαφορετική συνθετική πορεία, ύστερα από διάλυση σε πυριδίνη και την εν συνεχεία κρυστάλλωση της διμερούς ένωσης  $[V^{IV}_2O_2(L1)_2]$ . Όπου  $(L1^{2-})$  είναι το διανιόν της βάσης Schiff, (Εικόνα 5.1.1) που προκύπτει από την συμπύκνωση του 2-αμινοβενζοϊκού οξέος (ανθρανιλικό οξύ) με την 2,4-πεντανιοδιόνη (ακετυλοακετόνη, Hacac).

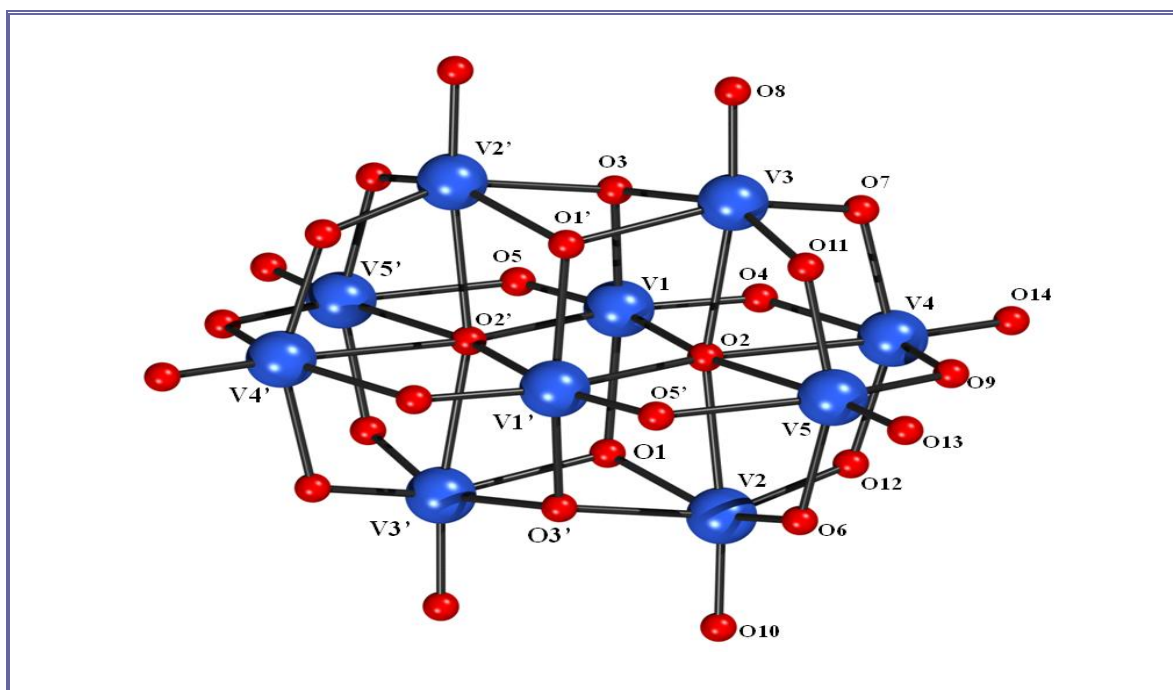
Η ένωση  $[V^{IV}_2O_2(L1)_2]$  παρασκευάστηκε από την αντίδραση του  $VO(acac)_2$  με τη βάση Schiff ( $H_2L1$ ), χημική εξίσωση (5.1.2). Είναι προφανές ότι η διάλυση του διμερούς συμπλόκου  $[V^{IV}_2O_2(L1)_2]$  σε πυριδίνη συνοδεύεται από οξειδωση του V(IV) προς V(V), υπό ταυτόχρονη απώλεια της βάσης Schiff.





**Εικόνα 5.1.1** Η βάση Schiff που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή της ένωσης  $[V^{IV}_2O_2(L1)_2]$ , από τη οποία προέκυψε το σύμπλοκο Ryrivan.

Η στοιχειομετρία, η διαμαγνητική φύση και τα μήκη δεσμού V-O αποδεικνύουν ότι όλα τα μεταλλικά κέντρα βρίσκονται στην οξειδωτική βαθμίδα +5. Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Ryrivan αποτελείται από ιόντα  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ , κατιόντα πυριδινίου και πλεγματικά μόρια  $H_2O$  σε αναλογία 1:6:2. Στο κέντρο του δεκαβαναδικού ιόντος υπάρχει κρυσταλλογραφικό κέντρο αναστροφής (κέντρο συμμετρίας), [Correia Isabel, et al, "Structural Studies of Decavanadate Compounds with Organic Molecules and Inorganic Ions in their Crystal Packing", *Inorganica Chimica Acta*, 357(15), 4476–4487, 2004].



**Σχήμα 5.1.2.** Η δομή του ανιόντος  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$  στο σύμπλοκο Ryrivan. Τα άτομα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο προκύπτουν από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας  $-x, -y, -z+2$ . Δεν έχουν αριθμηθεί όλα τα άτομα -O χάριν ευκρίνειας. Όλα τα άτομα -O ανήκουν σε όξο- ( $O^{2-}$ ) υποκαταστάτες.

Η δομή του ανιόντος αποτελείται από 10 οκταεδρικές μονάδες  $[VO_6]$  που έχουν κοινές ακμές. Αυτές οι μονάδες περιλαμβάνουν 2  $\mu_6-O^{2-}$  (O2, O2'), 4  $\mu_3-O^{2-}$  (O1, O1', O3, O3'), 14  $\mu_2-O^{2-}$  (O4, O5, O6, O7, O9, O11, O12 και τα συμμετρικά τους) και 8 τερματικά  $O^{2-}$  (O8, O10, O13, O14 και τα συμμετρικά τους). Τα μήκη δεσμών V-O (τερματικό) βρίσκονται

στην περιοχή 1,592(3)-1,607(3) Å, υποδηλώνοντας διπλό δεσμό V<sup>V</sup>=O, [Lee U., et al, 2003].

**Πίνακας 5.1.1 Μήκη δεσμού V-O (Å) για το σύμπλοκο (pyH)<sub>6</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]-2H<sub>2</sub>O<sup>a</sup>.**

V1-O1	1,952(2)	V3-O7	1,874(3)
V1-O2	2,092(2)	V3-O8	1,607(3)
V1-O3	1,937(2)	V3-O11	1,748(3)
V1-O4	1,671(3)	V4-O2	2,296(2)
V1-O5	1,685(3)	V4-O4	2,083(3)
V1-O2'	2,160(2)	V4-O7	1,940(3)
V2-O1	2,019(2)	V4-O9	1,819(3)
V2-O2	2,280(2)	V4-O12	1,849(3)
V2-O3'	2,001(2)	V4-O14	1,592(3)
V2-O6	1,817(3)	V5-O2	2,355(2)
V2-O10	1,603(3)	V5-O5'	2,035(3)
V2-O12	1,821(3)	V5-O6	1,845(3)
V3-O1'	1,989(2)	V5-O9	1,845(3)
V3-O2	2,224(2)	V5-O11	1,928(3)
V3-O3	2,067(2)	V5-O13	1,597(3)

<sup>a</sup> Τα άτομα των οποίων η αριθμηση είναι με τόνο δημιουργούνται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας -x, -y, -z+2.

Τα μήκη δεσμών των ιόντων V<sup>V</sup> με τα μ<sub>2</sub>-O κυμαίνονται στην περιοχή 1,671(3)-2,083(3) Å. Η μέση τιμή των μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-(μ<sub>3</sub>-O) είναι 1,994(2) Å και αυτή των μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-(μ<sub>6</sub>-O) είναι 2,234(2) Å.

**Πίνακας 5.1.2. Επιλεγμένες αποστάσεις V...V (Å) για το σύμπλοκο (pyH)<sub>6</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]-2H<sub>2</sub>O<sup>a</sup>.**

V1...V4	3,065(1)	V2...V3'	3,120(1)
V1...V5'	3,101(1)	V3...V5	3,105(1)
V2...V4	3,080(1)	V4...V5	3,073(1)
V2...V5	3,099(1)		

<sup>a</sup> Τα μεταλλικά κέντρα των οποίων η αριθμηση είναι με τόνο δημιουργούνται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας -x, -y, -z+2.

Οι παραπάνω τιμές είναι συνεπείς με την ανισότητα μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-O (τερματικό) < V<sup>V</sup>-O(μ<sub>2</sub>-O) < V<sup>V</sup>-(μ<sub>3</sub>-O) < V<sup>V</sup>-(μ<sub>6</sub>-O), όπως αναμένεται, [Jouffret L., et al, 2010]. Υπάρχουν τρεις τύποι μεταλλικών κέντρων ανάλογα με το οκταεδρικό περιβάλλον ένταξης. Ο πρώτος περιλαμβάνει τα V1 και V1' που το καθένα εντάσσεται με 2 μ<sub>6</sub>-O, 2 μ<sub>3</sub>-O και 2 μ<sub>2</sub>-O. Ο δεύτερος περιλαμβάνει τα V2, V2', V3 και V3' που το καθένα εντάσσεται με ένα τερματικό -O, 1 μ<sub>6</sub>-O, 2 μ<sub>2</sub>-O και 2 μ<sub>3</sub>-O. Ο τρίτος τύπος μεταλλικών κέντρων περιλαμβάνει τα V4, V4', V5 και V5', που το καθένα εντάσσεται με ένα τερματικό -O, 1 μ<sub>6</sub>-O και 4 μ<sub>2</sub>-O. Οι

αποστάσεις μεταξύ των κέντρων V<sup>V</sup> που συνδέονται με μονοατομικές γέφυρες -O είναι ~ 3,1 Å (Πίνακας 5.1.3), σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα για τα ιόντα {[H<sub>n</sub>V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>(6-n)-</sup>}.

**Πίνακας 5.1.3 Οι trans- οκταεδρικές γωνίες ένταξης O-V-O (°), για το νέο πολυβαναδικό σύμπλοκο Pygivan, {(pyH)<sub>6</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]·2H<sub>2</sub>O}<sup>a</sup>.**

O1-V1-O3	155,2(1)	O3-V3-O11	156,2(1)
O2-V1-O5	164,4(1)	O2-V4-O14	171,8(1)
O2'-V1-O4	166,3(1)	O4-V4-O9	156,6(1)
O1-V2-O6	154,8(1)	O7-V4-O12	155,1(1)
O2-V2-O10	174,0(1)	O2-V5-O13	176,0(1)
O3'-V2-O12	154,5(1)	O5-V5-O9	154,5(1)
O1'-V3-O7	154,3(1)	O6-V5-O11	153,7(1)
O2-V3-O8	172,2(1)		

<sup>a</sup> Τα άτομα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο δημιουργούνται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας -x, -y, -z+2.

Οι γεωμετρίες ένταξης των μεταλλικών κέντρων είναι παραμορφωμένες οκταεδρικές με τις trans γωνίες να κυμαίνονται (Πίνακας 5.1.4) στην περιοχή 154,3(1)-176,0(1)°.

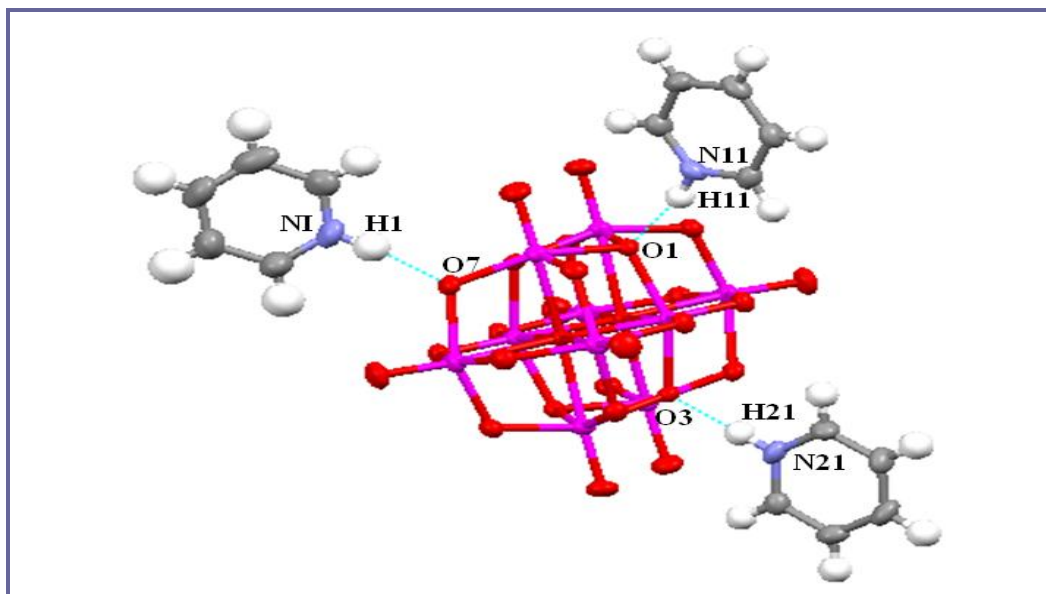
**Πίνακας 5.1.4 Οι γωνίες V-O-V (°) για το σύμπλοκο {(pyH)<sub>6</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]·2H<sub>2</sub>O}<sup>a</sup>.**

μ <sub>2</sub> -O <sup>2-</sup>		μ <sub>6</sub> -O <sup>2-</sup>	
V1-O4-V4	109,0(1)	V1-O2-V1'	102,1(1)
V1'-O5'-V5	112,6(1)	V1-O2-V2	93,7(1)
V2-O6-V5	115,6(1)	V1-O2-V3	92,1(1)
V3-O7-V4	112,4(1)	V1-O2-V4	88,5(1)
V4-O9-V5	114,0(1)	V1-O2-V5	171,1(1)
V3-O11-V5	115,2(1)	V1'-O2-V2	92,4(1)
V2-O12-V4	114,1(1)	V1'-O2-V3	96,1(1)
		V1'-O2-V4	169,2(1)
μ <sub>3</sub> -O <sup>2-</sup>		V1'-O2-V5	86,6(1)
V1-O1-V2	107,0(1)	V2-O2-V3	168,1(1)
V1-O1-V3'	106,4(1)	V2-O2-V4	84,6(1)
V2-O1-V3'	102,2(1)	V2-O2-V5	83,9(1)
V1-O3-V3	106,6(1)	V3-O2-V4	89,0(1)
V1-O3-V2'	108,9(1)	V3-O2-V5	85,3(1)
V2'-O3-V3	100,1(1)	V4-O2-V5	82,7(1)

<sup>a</sup> Τα άτομα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο δημιουργούνται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας -x, -y, -z+2.

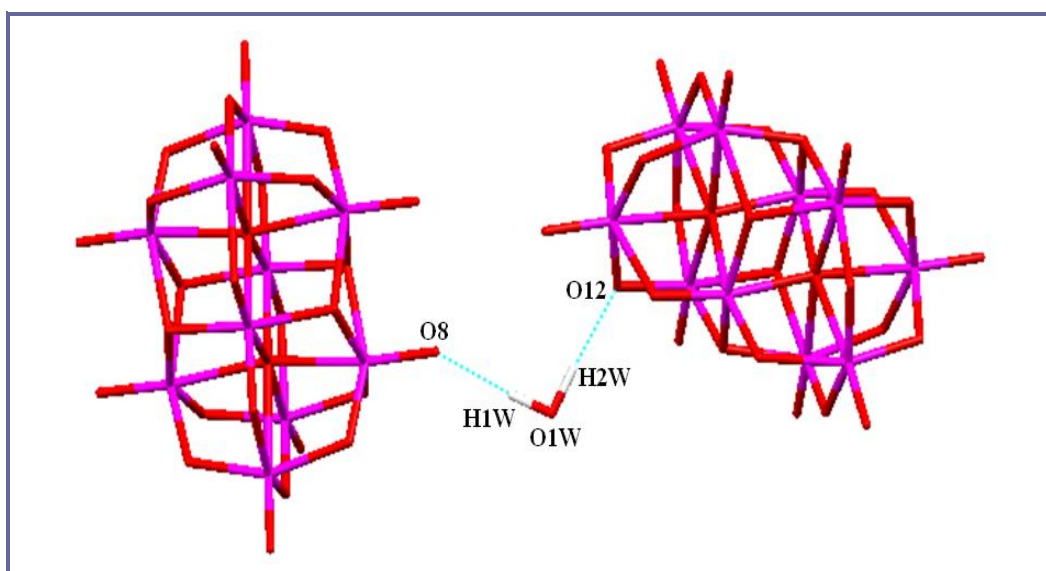
Όπως και στην περίπτωση του συμπλόκου Nicotivan, πιο μεγάλες [171,8(1)-176,0(1)°] είναι οι trans- γωνίες που περιλαμβάνουν τα τερματικά άτομα -O. Τα έξι κέντρα V<sup>V</sup> γύρω από το μ<sub>6</sub>-O (O2 και το συμμετρικό του) διευθετούνται στις κορυφές ενός παραμορφωμένου οκταέδρου, με τις trans- και cis- γωνίες V-O-V να κυμαίνονται στις

περιοχές 168,1(1)-171,1(1)° και 82,7(1)-102,1(1)°, αντίστοιχα (Πίνακας 5.1.4). Οι μέσες τιμές των γωνιών V-(μ<sub>2</sub>-O)-V και V-(μ<sub>3</sub>-O)-V είναι 113,3(1) και 105,2(1)°, αντίστοιχα, σε συμφωνία με τον τετραεδρικό υβριδισμό των όξο- υποκαταστατών.



**Εικόνα 5.1.3.** Οι δεσμοί H που σχηματίζονται ανάμεσα στα κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητα κατιόντα pyH<sup>+</sup> και στο ανιόν [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>6-</sup> στο συμπλοκο Rgivan.

Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου σταθεροποιείται από δεσμούς -H (Εικόνες 5.1.3 και 5.1.4). Υπάρχουν 5 τύποι κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητων δεσμών -H, των οποίων οι διαστάσεις συνοψίζονται στον Πίνακα 5.1.5.



**Εικόνα 5.1.4.** Η σύνδεση δύο ιόντων [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>6-</sup> με ένα μόριο πλεγματικού H<sub>2</sub>O μέσω δεσμών -H στην κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Rgivan.

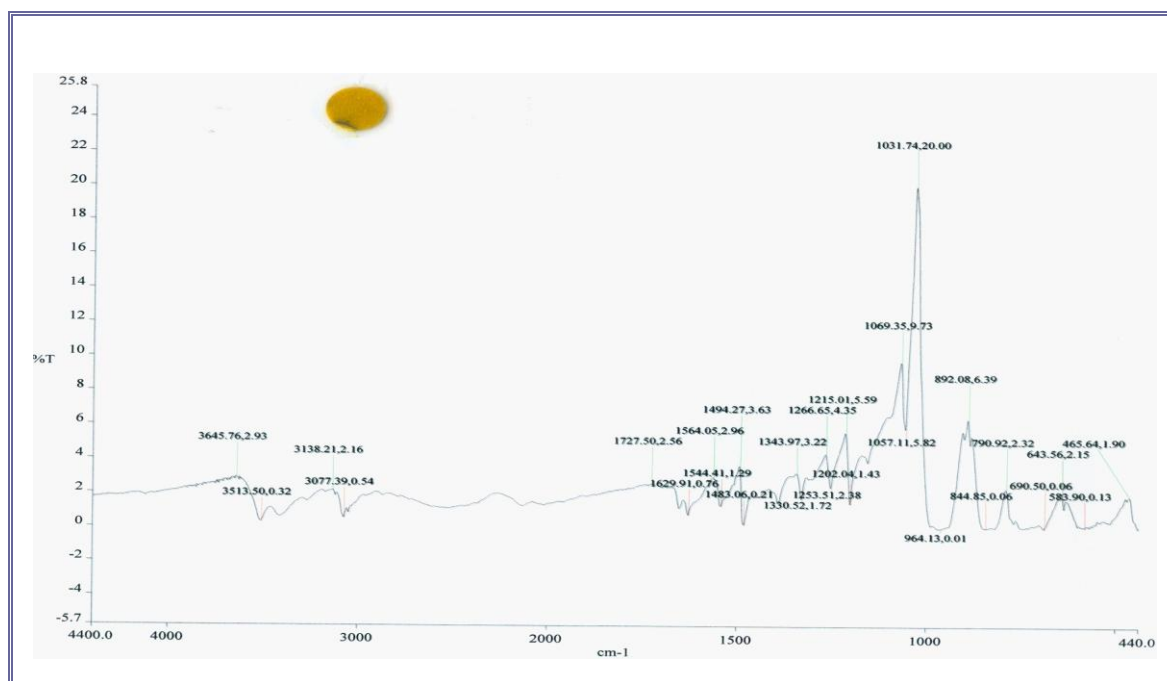
Οι δότες των δεσμών H- είναι τα ιόντα pyH<sup>+</sup> και το μόριο H<sub>2</sub>O, ενώ οι δέκτες είναι όξο-υποκαταστάτες (O1, O3, O7, O8, O12 και τα συμμετρικά τους). Κάθε μόριο πλεγματικού H<sub>2</sub>O συνδέει δύο ιόντα [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>6-</sup> και το συνολικό αποτέλεσμα είναι ένα 2D δίκτυο.

**Πίνακας 5.1.5 Διαστάσεις των κρυσταλλογραφικά ανεξάρτητων δεσμών -H που σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή του συμπλόκου (pyH)<sub>6</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]·2H<sub>2</sub>O<sup>a</sup>.**

D-H...A <sup>β</sup>	D...A (Å)	H...A (Å)	D-H...A (°)
N1-H1...O7	2,632	1,782	169,4
N11-H11...O1	2,652	1,813	164,6
N21-H21...O3	2,588	1,729	177,4
O1W-H1W...O8	2,888	1,932	171,9
O1W-H2W...O12	2,871	1,909	170,9

<sup>a</sup> Τα άτομα O1, O3, O7, O8 και O12 είναι όξο υποκαταστάτες, ενώ το άτομο O1W ανήκει στο κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητο μόριο H<sub>2</sub>O. Τα άτομα N1, N11 και N21 είναι τα άτομα N των κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητων ιόντων pyH<sup>+</sup>. <sup>β</sup> D = δότης (από την Αγγλική λέξη donor) και A = δέκτης (από την Αγγλική λέξη acceptor).

Το σύμπλοκο Pygivan είναι μέλος μιας οικογένειας ενώσεων [Cotton F.A., et al, 1999], [Arrieta J.M., 1992], [Sarkar A., et al, 2008], [Gong Y., et al, 2006], [Pessoa J.C., et al, 1998], [Shan Yongkui, et al, Journal of Chemical Crystallography, 29(1), 93-97, 1999] και [Shan Yongkui, et al, Angewandte Chemie International Edition, 111(12), 1864–1868, 1999], που περιέχουν το εξα-ανιοντικό δεκαβαναδικό ιόν [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>6-</sup>.

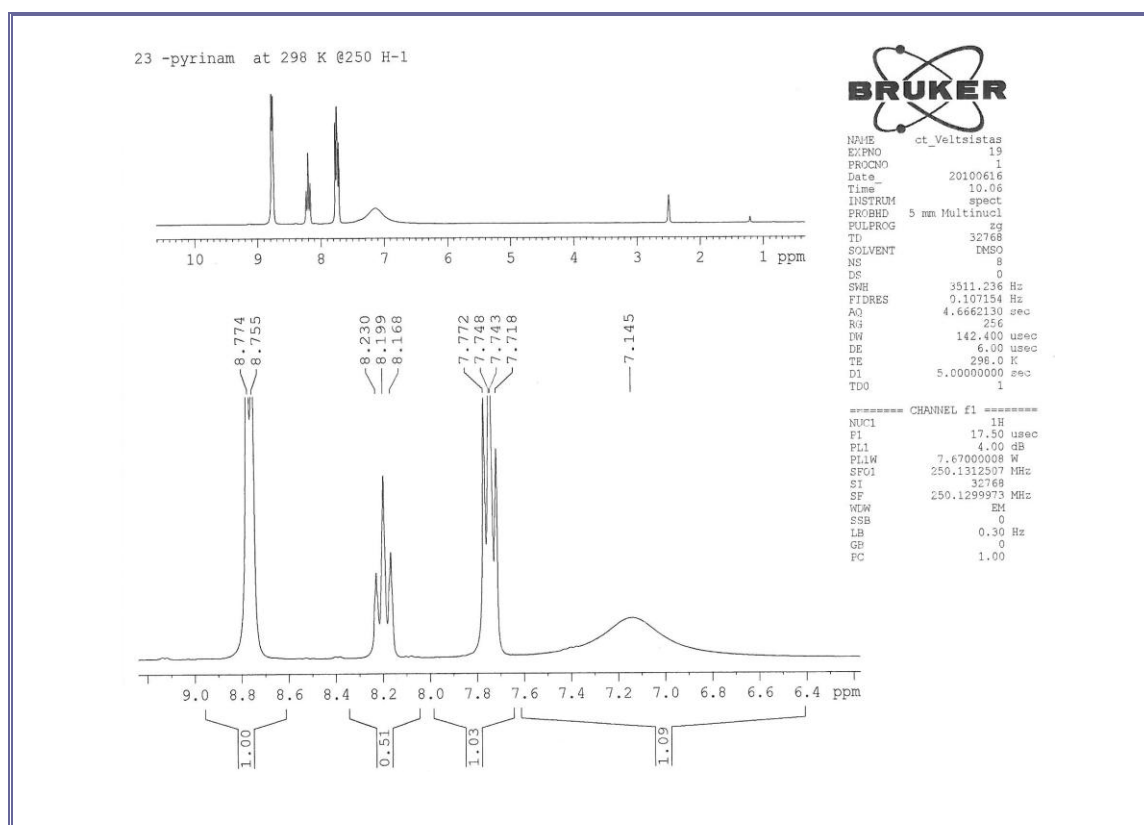


**Εικόνα 5.1.5 Το διάγραμμα του IR του νέου συμπλόκου Pygivan**

Το IR φάσμα του συμπλόκου Pygivan εμφανίζει ταινίες που οφείλονται στα μόρια του πλεγματικού H<sub>2</sub>O, στα κατιόντα pyH<sup>+</sup> και στο ανιόν [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>6-</sup>. Η ευρεία ταινία περί τα 3500 cm<sup>-1</sup> αποδίδεται [Perlepes S.P., et al, 1992] στη δόνηση τάσεως των δεσμών O-H, ι(OH), του πλεγματικού H<sub>2</sub>O. Η ταινία στα 3138 cm<sup>-1</sup> οφείλεται στη δόνηση τάσεως ι(NH<sup>+</sup>), του ιόντος pyH<sup>+</sup>, [AIST, "Spectral Data-base for Organic Compounds (SDBS)", Tokyo Japan, 2013]. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι αυτή η ταινία εμφανίζεται στα 3204 cm<sup>-1</sup> στο IR φάσμα του βρωμιούχου πυριδινίου, (pyH)Br. Η μέτριας έντασης ταινία στα 3077 cm<sup>-1</sup> αποδίδεται



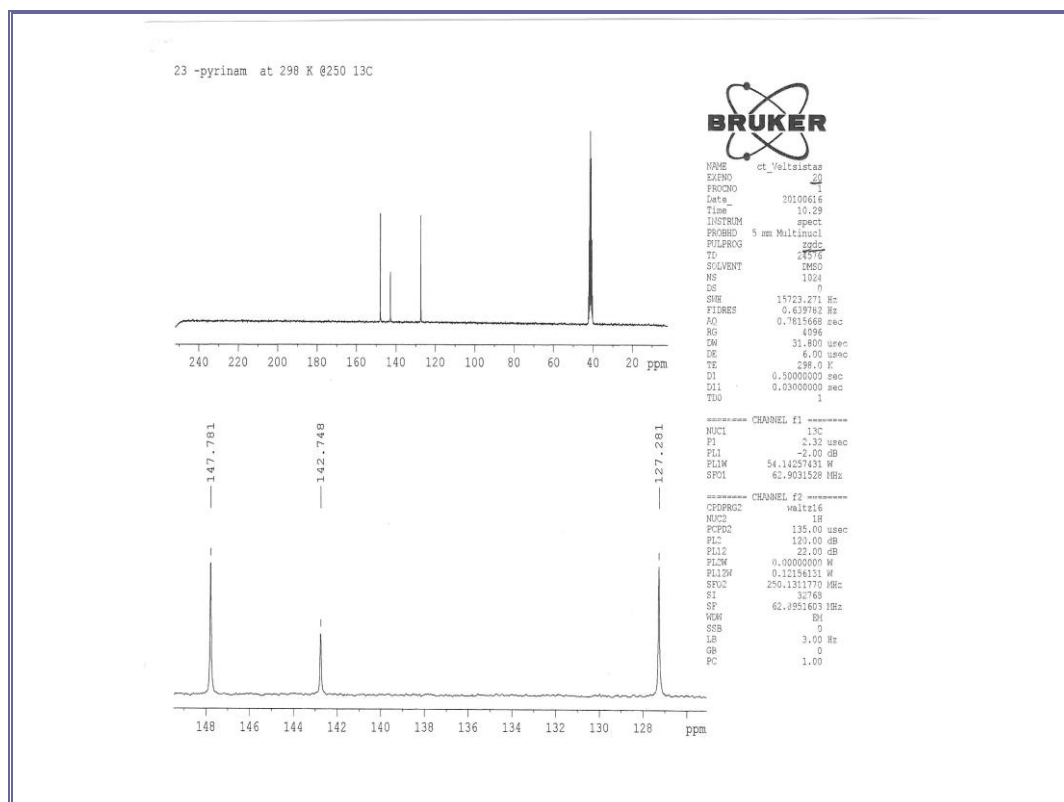
[Silverstein M., et al, 1981] στις δονήσεις τάσεως άνθρακα-υδρογόνου,  $\nu(\text{C-H})$ , του πυριδινικού δακτυλίου. Αναφέρουμε επίσης ότι, αυτή η ταινία εμφανίζεται στα  $3049\text{ cm}^{-1}$  στο IR φάσμα του βρωμιούχου πυριδινίου,  $(\text{pyH})\text{Br}$ . Στην περιοχή  $1630\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$  εμφανίζονται τέσσερις ταινίες που αποδίδονται στις δονήσεις τάσεως άνθρακα-άνθρακα,  $\nu(\text{C-C})$ , άνθρακα-άζωτου  $\nu(\text{C-N})$ , του πυριδινικού δακτυλίου. Στο IR φάσμα του άλατος  $(\text{pyH})\text{Br}$ , αυτή η τετράδα ταινιών εμφανίζεται στα  $1631, 1602, 1528$  και  $1480\text{ cm}^{-1}$ . Η ταινία στα  $691\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται σε δόνηση κάμψης εκτός επιπέδου των ομάδων C-H,  $\nu(\text{CCH})$ , του πυριδινικού δακτυλίου [Silverstein R.M., et al, 1981]. Η πολύ ισχυρή ταινία στα  $964\text{ cm}^{-1}$  οφείλεται στη δόνηση τάσεως του δεσμού V-O (τερματικό),  $\nu(\text{V=O})$ , ενώ οι ταινίες στα  $845$  και  $791\text{ cm}^{-1}$  μπορούν να αποδοθούν στις αντισυμμετρικές δονήσεις τάσεως των ομάδων V-O (γεφυρωτικό)-V,  $\nu_{\text{as}}(\text{V-O-V})$ , [Sarkar A., et al, 2008], [Yang J., et al, 2006] και [Gong Y., et al, 2006]. Η διαμαγνητική φύση του συμπλόκου Pygrivan επέτρεψε τη λήψη  $^1\text{H-NMR}$  και  $^{13}\text{C-NMR}$  φασμάτων σε διάλυμα, Εικόνες 5.1.6 και 5.1.7.



**Σχημα 5.1.6 Το 250 MHz  $^1\text{H-NMR}$  φάσμα του συμπλόκου Pygrivan,  $\{(\text{pyH})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}\}$ , στην περιοχή  $\delta=9,2\text{-}6,2\text{ ppm}$  σε  $\text{DMSO-d}_6$ .**

Το  $^1\text{H-NMR}$  φάσμα του συμπλόκου Pygrivan σε  $\text{DMSO-d}_6$  εμφανίζει τρία σήματα στην αρωματική περιοχή σε τιμές  $\delta=8,765$  (διπλή κορυφή),  $8,199$  (τριπλή κορυφή) και  $7,745$  (τετραπλή κορυφή) με αναλογία εμβαδών  $2:1:1$ . Και τα τρία σήματα οφείλονται στα C-H πρωτόνια του ιόντος  $\text{pyH}^+$ . Η διπλή κορυφή σε  $\delta=8,765\text{ ppm}$  αποδίδεται στα δύο ortho-πρωτόνια, η τριπλή κορυφή σε  $\delta=8,199\text{ ppm}$  στο para-πρωτόνιο και η τετραπλή κορυφή σε  $\delta=7,745$  στα δύο meta-πρωτόνια, [AIST, "Spectral Data-base for Organic Compounds (SDBS)", Tokyo Japan, 2013]. Η πολλαπλότητα των σημάτων και η σχέση ολοκλήρωσης

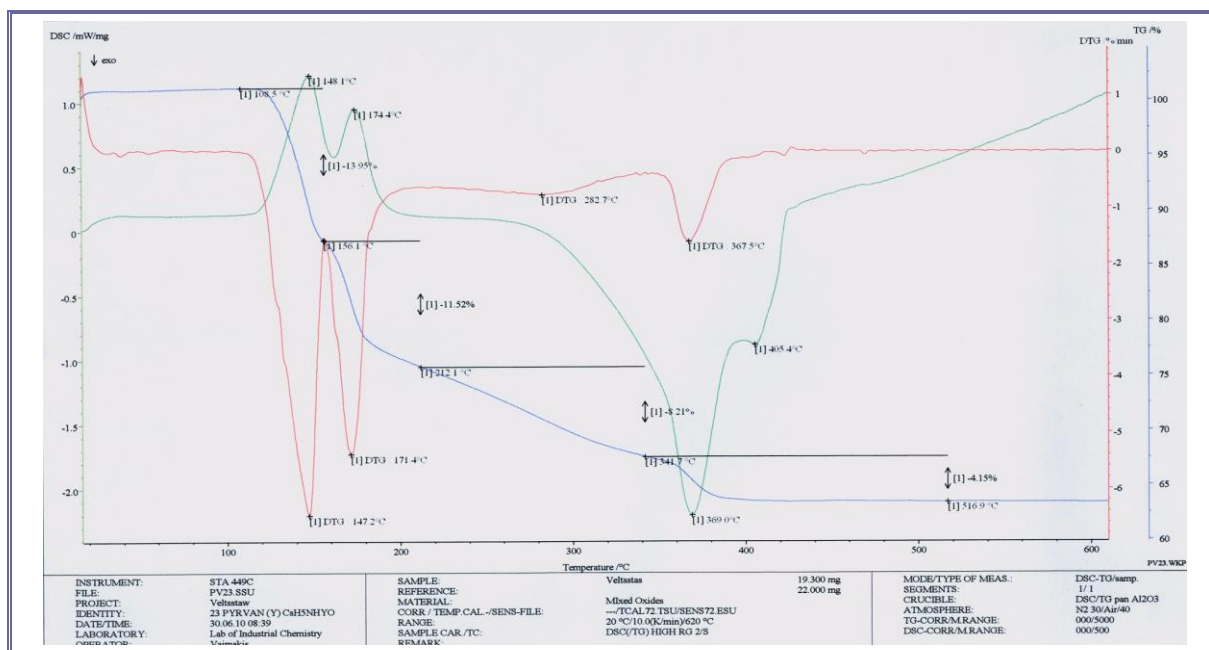
των σημάτων υποστηρίζουν αυτήν την ερμηνεία. Στο φάσμα υπάρχει και ένα ευρύ σήμα περί τα 7,15 ppm.



**Σχήμα 5.1.7 Το 63 MHz  $^{13}\text{C}$ -NMR φάσμα του συμπλόκου Pygivan,  $\{(\text{pyH})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}\}$ , στην περιοχή  $\delta = 9,2\text{-}6,2$  ppm. σε  $\text{DMSO-d}_6$ .**

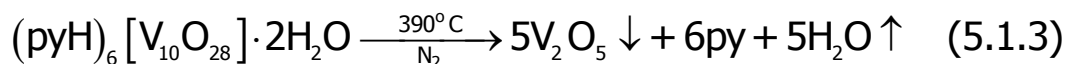
Αυτό οφείλεται στο πρωτόνιο του  $\text{pyH}^+$ , που είναι ενωμένο με το άτομο  $-\text{N}$ , [Silverstein R.M., et al, 1981]. Η ευρύτητα του σήματος οφείλεται στην ανταλλαγή του πρωτονίου του αζώτου με τα πρωτόνια του  $\text{H}_2\text{O}$ , που λαμβάνει χώρα με μικρή ή μέτρια ταχύτητα, [Silverstein R.M., et al, 1981]. Το  $^{13}\text{C}$ -NMR φάσμα του συμπλόκου Pygivan σε  $\text{DMSO-d}_6$  είναι απλό και αποτελείται από τρία σήματα, ενώ το πολλαπλό σήμα περί την τιμή  $\delta = 40$  ppm οφείλεται στη μικρή συγκέντρωση ομάδων  $-\text{CH}_3$  στο  $\text{DMSO-d}_6$ . Το σήμα στην τιμή  $\delta = 147,78$  ppm αποδίδεται στους ortho- άνθρακες, το σήμα στην τιμή  $\delta = 142,75$  ppm στον para- άνθρακα και το σήμα στην τιμή  $\delta = 127,28$  ppm αποδίδεται στους meta- άνθρακες του αντισταθμιστικού κατιόντος  $\text{pyH}^+$ , [AIST, "Spectral Data-base for Organic Compounds (SDBS)", Tokyo Japan, 2013], [Silverstein R.M., et al, 1981]. Το γεγονός ότι αυτά τα σήματα είναι μετατοπισμένα σε σχέση με εκείνα της ελεύθερης πυριδίνης ( $\delta = 150,2$  και  $135,9$  και  $123,9$  ppm, αντίστοιχα) οφείλεται στην πρωτονίωση του αρωματικού δακτυλίου, [Long K.R., et al, 1972] και [Pugmire R.J., et al, 1968]. Η θερμική διάσπαση του συμπλόκου Pygivan μελετήθηκε με τις τεχνικές TGA, DTG και DSC. Κάτω από ατμόσφαιρα  $\text{N}_2$ , δεν υπάρχει απώλεια βάρους μέχρι τους  $108$  °C. Η μη απομάκρυνση των πλεγματικών μορίων  $\text{H}_2\text{O}$  οφείλεται στο γεγονός ότι αυτά συγκρατούνται μέσω δεσμών  $-\text{H}$ , στο κρυσταλλικό πλέγμα (Σχήμα 5.1.8). Στη συνέχεια υπάρχουν δύο ταχείες ενδόθερμες απώλειες βάρους στις περιοχές  $109\text{-}156$  και  $158\text{-}212$  °C, που ακολουθούνται από μια

βραδεία απώλεια βάρους στην περιοχή 213-342°C και μια σχετικά ταχεία εξώθερμη απώλεια βάρους στη περιοχή 343-390 °C.



Εικόνα 5.1.8 Το διάγραμμα του θερμοζυγού, του νέου συμπλόκου Pyrgan.

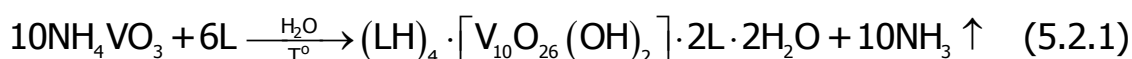
Η συνολική απώλεια βάρους μέχρι τους 390°C είναι 37,6%. Η πειραματική αυτή τιμή αντιστοιχεί ικανοποιητικά στη θεωρητική (34,6%), για την απομάκρυνση 6 moles py και 2 moles H<sub>2</sub>O ανά mole συμπλόκου. Η συμφωνία γίνεται καλύτερη (θεωρητική τιμή= 38,3%) αν δεχθούμε την απομάκρυνση 6 moles py και 5 moles H<sub>2</sub>O ανά mole συμπλόκου. Στην περιοχή 20-390°C δεν παρατηρείται πλατώ στην καμπύλη TG, που θα μπορούσε να αποδοθεί σε κάποιο θερμικά σταθερό ενδιάμεσο. Δεν υπάρχει περαιτέρω απώλεια βάρους στην περιοχή 390-600 °C. Το τελικό πειραματικό υπόλειμμα είναι 62,4%, που αντιστοιχεί εξαιρετικά στην αναμενόμενη τιμή (61,7%) για V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Τα παραπάνω πειραματικά γεγονότα είναι συνεπή με τη θερμική διάσπαση που εκφράζεται από την εξίσωση (5.1.3).



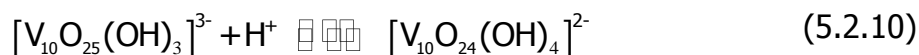
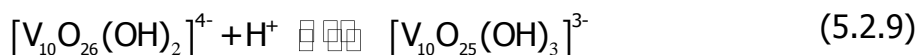
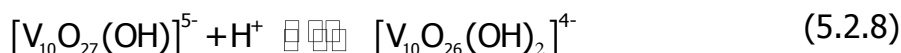
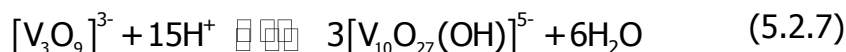
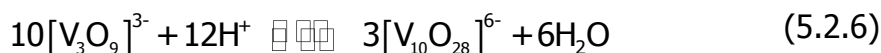
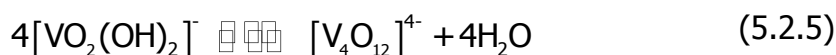
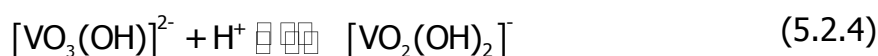
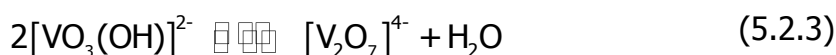
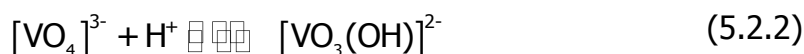
**Σημείο Τήξεως του συμπλόκου Pyrgan:** Μέχρι τους 310°C καμία εμφανής τήξη. Εισαγόμενο απ' ευθείας στους 310°C, συμβαίνουν μικρές εκτινάξεις, χωρίς όμως φαινόμενα τήξεως. Για θερμοκρασίες  $\geq 310^\circ C$  καμία εμφανής τήξη, ενώ λαμβάνει χώρα ισχυρή σταδιακή μελάνωση, λόγω απανθράκωσης.

## 5.2- NICOTIVAN. Η Παρασκευή και ο Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός του Πολυβαναδικού Συμπλόκου: $\{(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O\}$ .

Η παρατεταμένη θέρμανση υδατικού διαλύματος που περιείχε  $NH_4VO_3$  και υποκαταστάτη  $L$ =νικοτιναμίδιο, η διήθηση του θερμού μίγματος της αντίδρασης και η εν συνεχεία κρυστάλλωση του προϊόντος οδήγησε σε πορτοκαλόχρωμους, ευμεγέθεις μονοκρυστάλλους. Η ταυτότητα των κρυστάλλων διαπιστώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων-Χ σε μονοκρύσταλλο της ένωσης. Η τεχνική αυτή έδειξε ότι η ένωση είναι ένα ιοντικό σύμπλοκο με τύπο  $\{(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O\}$ , (Nicotivan). Η χημική εξίσωση της παρασκευής του συμπλόκου σκιαγραφείται στη χημική Εξίσωση (5.2.1).



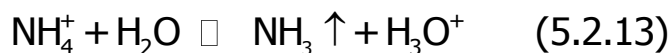
Το ιόν  $[V_{10}O_{26}(OH)_2]^{4-}$  ανήκει στην κατηγορία των πολυοξομεταλλικών συμπλόκων και πιο συγκεκριμένα στην τάξη των ισοπολυανιόντων, ή ομοπολυανιόντων, [Housecroft C.E., et al, 2008]. Ο σχηματισμός τέτοιων ανιοντικών συμπλόκων είναι χαρακτηριστικό της χημείας των V, Mo, W και σε μικρότερο βαθμό των Nb, Ta και Cr.



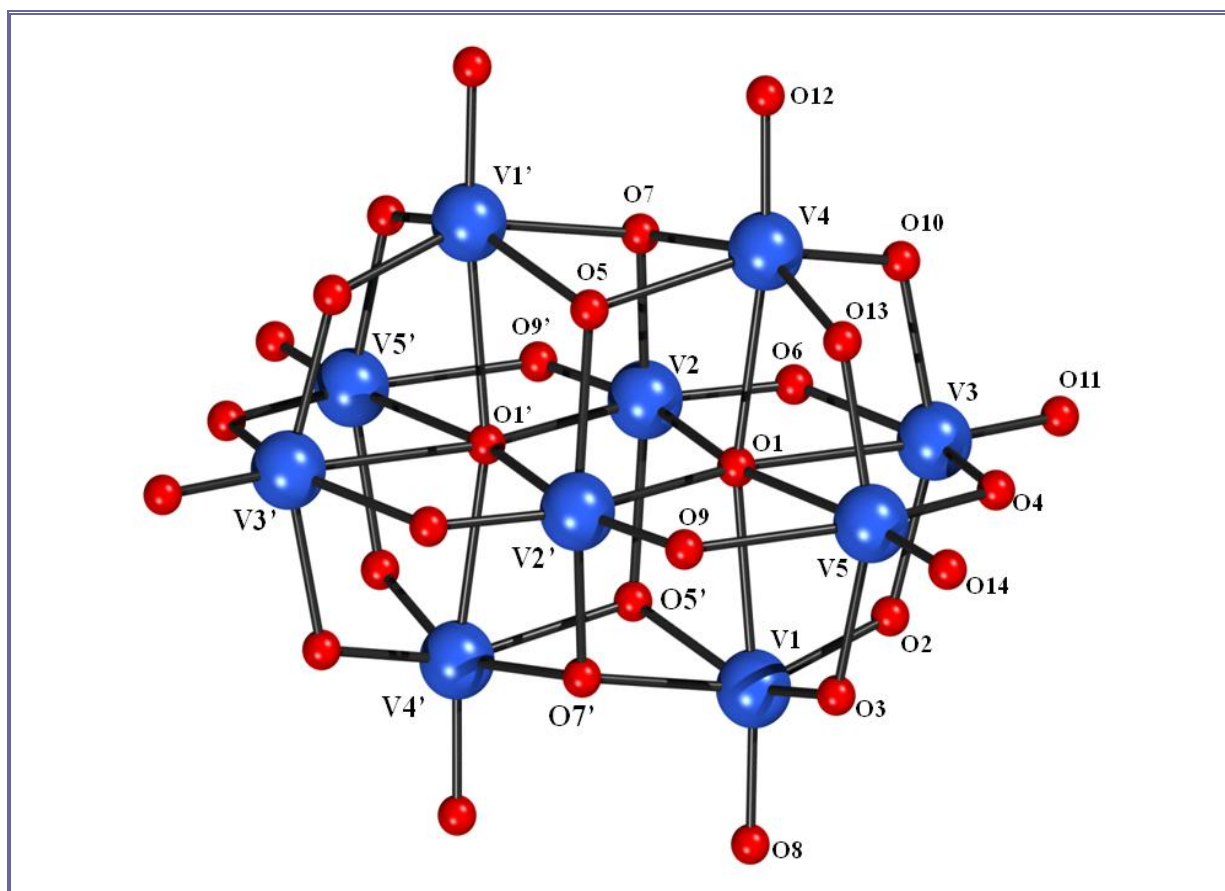
Η φύση των χημικών ειδομορφών V(V) σε υδατικά διαλύματα εξαρτάται από το pH. Σε πολύ μεγάλες τιμές pH (>13) το κύριο χημικό είδος είναι το βαναδικό ιόν,  $[VO_4]^{3-}$ . Καθώς η βασικότητα ελαττώνεται, λαμβάνουν χώρα πολύπλοκες ισορροπίες. Πρώτα σχηματίζεται το πρωτονιωμένο χημικό είδος  $[VO_3(OH)]^{2-}$  που στη συνέχεια "συσσωματώνεται" σε χημικά είδη μεγαλύτερης πυρηνικότητας, ανάλογα με τη συγκέντρωση και το pH, [Kepert D.L.,

1972], [Housecroft C.E., et al, 2008] και [Cotton F.A., et al, 1999]. Σε μικρές τιμές pH και στην περιοχή του μηδενός επικρατεί το ιόν του διοξοβαναδίου-(V),  $\text{VO}_2^+$ . Μερικές από τις ισορροπίες φαίνονται στις χημικές εξισώσεις (5.2.2) - (5.2.12). Στη στερεά κατάσταση έχουν απομο-νωθεί αρκετά σύμπλοκα άλατα - με ανόργανα και οργανικά κατιόντα- των συμπλόκων πολυβαναδικών ανιόντων, που αναφέρονται παραπάνω [Housecroft C.E., et al, 2008], [Cotton F.A., et al, 1999], [Chen Q., et al, 1992] και [Arrieta J.M., 1992].

Στην περίπτωση της δικής μας αντίδρασης, η υδρόλυση των ιόντων  $\text{NH}_4^+$ , με βάση την χημική εξίσωση (5.2.13), αλλά και η παρατεταμένη θέρμανση, για την απομάκρυνση της  $\text{NH}_3 \uparrow$ , δημιουργούν το κατάλληλο pH, για το σχηματισμό του ανιόντος  $[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$ .



Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφέρουμε ότι λόγω μη εντοπισμού των ατόμων -H σε πολλές κρυσταλλικές δομές, υπάρχει αβεβαιότητα, για το ποιά ανιόντα  $-\text{O}^{2-}$  είναι πρωτονιωμένα στα σύμπλοκα πουβαναδικά ανιόντα. Γι'αυτό και οι μονο-, δι-, τρι- και τετραπρωτονιωμένες μορφές του ιόντος  $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ , συχνά αναγράφονται ως  $[\text{HV}_{10}\text{O}_{28}]^{5-}$ ,  $[\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{4-}$ ,  $[\text{H}_3\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{3-}$  και  $[\text{H}_4\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{2-}$ , αντίστοιχα, [Roman P., et al, "Preparation and Solid State Characterization of Some Alkylammonium Decavanadates", 1991].



**Εικόνα 5.2.1** Η δομή του ανιόντος  $[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$  στο σύμπλοκο Nicotivan. Τα άτομα των οποίων η αριθμηση είναι με τόνο προκύπτουν από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας. Δεν έχουν αριθμηθεί όλα τα άτομα -O χάρην ευκρίνειας. Τα άτομα O5 και O5' είναι υδρόξο άτομα O (-OH), ενώ όλα τα υπόλοιπα είναι  $-\text{O}^{2-}$ .

Η δομή του συμπλόκου ανιόντος της ένωσης Nicotivan παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.2.1. Στις Εικόνες 5.2.2 και 5.2.3 σκιαγραφούνται οι δεσμοί -H, που σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή της ένωσης. Στους Πίνακες 5.2.1 έως και 5.2.4 υπάρχουν δεδομένα για τη δομή του συμπλόκου ανιόντος. Στη Βιβλιογραφία έχει αναφερθεί η κρυσταλλική δομή ενός συμπλόκου με ίδια ομάδα σημείου και παρόμοιες σταθερές κυψελίδας, [Pacigona S., et al, 2007]. Οι συγγραφείς έχουν αναφέρει το σύμπλοκο ως  $\{(LH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O\}$ . Επειδή στη δική μας δομή εντοπίστηκαν δύο άτομα -H μέσα στο σύμπλοκο ανιόν -αυτά που είναι ενωμένα με τα άτομα -O5 και -O5' προτείνουμε ως σωστό μοριακό τύπο του συμπλόκου, τον  $\{(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O\}$ . Η στοιχειομετρία και η διαμαγνητική φύση του συμπλόκου αποδεικνύουν ότι όλα τα μεταλλικά κέντρα βρίσκονται στην οξειδωτική βαθμίδα +5.

**Πίνακας 5.2.1. Μήκη δεσμού V-O (Å) για το σύμπλοκο  $\{(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O\}^a$ .**

V1-O1	2,256(2)	V3-O6	2,055(2)
V1-O2	1,870(1)	V3-O10	1,931(2)
V1-O3	1,748(2)	V3-O11	1,602(2)
V1-O5'	2,087(2)	V4-O1	2,240(2)
V1-O7'	1,977(1)	V4-O5	2,081(2)
V1-O8	1,617(2)	V4-O7	1,975(1)
V2-O1	2,118(1)	V4-O10	1,761(2)
V2-O1'	2,116(1)	V4-O12	1,611(2)
V2-O5'	1,994(2)	V4-O13	1,875(2)
V2-O6	1,688(1)	V5-O1	2,343(1)
V2-O7	1,893(2)	V5-O3	1,921(2)
V2-O9'	1,685(1)	V5-O4	1,835(2)
V3-O1	2,343(1)	V5-O9	2,061(2)
V3-O2	1,836(2)	V5-O13	1,837(2)
V3-O4	1,830(2)	V5-O14	1,602(2)

<sup>a</sup> Τα άτομα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο προέρχονται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας.

Η κρυσταλλική δομή του κεντροσυμμετρικού συμπλόκου Nicotivan αποτελείται από ιόντα  $[V_{10}O_{26}(OH)_2]^{4-}$ , κατιόντα νικοτιναμιδίου ( $LH^+$ ), πλεγματικά μόρια ουδέτερου νικοτιναμιδίου (L) και πλεγματικά μόρια  $H_2O$  σε αναλογία 1:4:2:2. Η πρωτονίωση των μορίων L έχει λάβει χώρα στο πυριδινικό άτομο -N, που είναι πιο βασικό. Η δομή του ανιόντος αποτελείται από 10 οκταεδρικές μονάδες  $[VO_6]$ , που περιλαμβάνουν 2  $\mu_6-O^{2-}$  (O1, O1'), 2  $\mu_3-O^{2-}$  (O7, O7'), 2  $\mu_3-OH^-$  (O5, O5'), 14  $\mu_2-O^{2-}$  (O2, O3, O4, O6, O9, O10, O13 και τα συμμετρικά τους) και 8 τερματικά  $-O^{2-}$  (O8, O11, O12, O14 και τα συμμετρικά τους).

Οι οκταεδρικές μονάδες [VO<sub>6</sub>] έχουν κοινές ακμές. Τα μήκη των δεσμών των ιόντων V<sup>V</sup> με τα τερματικά άτομα -O καλύπτουν την περιοχή 1,602(2) – 1,617(2) Å, με μέση τιμή ίση με 1,608(2) Å. Η μέση τιμή των μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-(μ<sub>3</sub>-O) είναι 1,948(1) Å και αυτή των μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-(μ<sub>6</sub>-O) είναι 2,236(2) Å. Τα μήκη των δεσμών των ιόντων V<sup>V</sup> με τα μ<sub>2</sub>-O κυμαίνονται στην περιοχή 1,685(1) – 2,061(2) Å με μέση τιμή ίση με 1,793(2) Å.

**Πίνακας 5.2.2 Επιλεγμένες αποστάσεις των δεσμών V··V (Å), για το σύμπλοκο {(LH)<sub>4</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>26</sub>(OH)<sub>2</sub>]·2L·2H<sub>2</sub>O}<sup>a</sup>.**

V1··V2'	3,112(2)	V2··V5'	3,091(2)
V1··V3	3,113(2)	V3··V4	3,107(2)
V1··V5	3,117(2)	V3··V5	3,085(2)
V2··V3	3,096(2)	V4··V5	3,101(2)
V2··V4	3,107(2)		

<sup>a</sup> Τα μεταλλικά κέντρα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο προέρχονται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας.

Οι παραπάνω τιμές είναι συνεπείς με την ανισότητα μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-O (τερματικό) < V<sup>V</sup>-(μ<sub>2</sub>-O) < V<sup>V</sup>-(μ<sub>3</sub>-O) < V<sup>V</sup>-(μ<sub>6</sub>-O), όπως αναμένεται [Jouffret L., et al, 2010]. Είναι επίσης συνεπείς με τα μήκη δεσμών, που δίνονται [Lv Yao-Kang, et al, 2012] για τα σύμπλοκα ανιόντα [H<sub>n</sub>V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>(6-n)-</sup>. Η μέση τιμή των μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-O5/O5' είναι 2,054(2) Å. Αυτή είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη, για τα μήκη δεσμού V<sup>V</sup>-O7/O7' [1,948(1) Å]. Το γεγονός αυτό αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι τα O5 και O5' ανήκουν σε υδρόξο υποκαταστάτες ενώ τα O7 και O7' είναι ιόντα O<sup>2-</sup>, δεδομένου ότι αναμένεται V<sup>V</sup>-(μ<sub>3</sub>-O<sup>2-</sup>) < V<sup>V</sup>-(μ<sub>3</sub>-OH<sup>-</sup>).

Ο κεντροσυμμετρικός αυτός τύπος πρωτονίωσης των επιφανειακών μ<sub>3</sub>-O είναι συνήθης, [Nakamura S., et al, 2001] και μπορεί να εξηγηθεί [Jouffret L., et al, 2010], από τη μεγαλύτερη βασικότητα των μ<sub>2</sub>- και μ<sub>3</sub>-O σε σχέση με τα τερματικά άτομα -O.

**Πίνακας 5.2.3 Οι trans- οκταεδρικές γωνίες ένταξης O-V-O (°) για το σύμπλοκο Nicotivan {(LH)<sub>4</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>26</sub>(OH)<sub>2</sub>]·2L·2H<sub>2</sub>O}<sup>a</sup>.**

O1-V1-O8	172,6(1)	O4-V3-O6	154,9(1)
O2-V1-O7'	152,9(1)	O1-V4-O12	172,0(1)
O3-V1-O5'	155,2(1)	O5-V4-O10	156,8(1)
O1-V2-O9'	165,1(1)	O7-V4-O13	153,9(1)
O1'-V2-O6	164,7(1)	O1-V5-O14	173,0(1)
O5'-V2-O7	155,4(1)	O3-V5-O13	154,0(1)
O1-V3-O11	173,1(1)	O4-V5-O9	155,0(1)
O2-V3-O10	154,3(1)		

<sup>a</sup>Τα άτομα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο προέρχονται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας.

Υπάρχουν τρεις τύποι μεταλλικών κέντρων ανάλογα με το οκταεδρικό περιβάλλον ένταξης [Yi Zhihui, et al, 2010]. Ο πρώτος περιλαμβάνει τα V2 και V2' που το καθένα εντάσσεται με 2  $\mu_6$ -O, 2  $\mu_2$ -O, 1  $\mu_3$ -O και 1  $\mu_3$ -OH. Ο δεύτερος περιλαμβάνει τα V1, V4, V1' και V4' που το καθένα εντάσσεται με 1 τερματικό -O, 1  $\mu_6$ -O, 2  $\mu_2$ -O, 1  $\mu_3$ -O και 1  $\mu_3$ -OH. Ο τρίτος τύπος μεταλλικών κέντρων περιλαμβάνει τα V3, V4, V3' και V4' που το καθένα εντάσσεται με 1 τερματικό O, 1  $\mu_6$ -O και 4  $\mu_2$ -O. Οι αποστάσεις μεταξύ των μεταλλικών κέντρων που συνδέονται με μονοατομικές γέφυρες -O είναι  $\sim 3,1\text{\AA}$  (Πίνακας 5.2.2), σε συμφωνία με βιβλιογραφικά δεδομένα για ισοπολυ-βαναδικά ιόντα [Bino Avi, et al, 1982].

Οι γεωμετρικές ένταξης των V1, V2, V3, V4 και V5 (και των συμμετρικών τους) είναι παραμορφωμένες οκταεδρικές με τις trans- γωνίες να κυμαίνονται στην περιοχή  $152,9(1) - 173,1(1)^\circ$ . Πιο μεγάλες ( $\sim 173^\circ$ ) εμφανίζονται οι trans- γωνίες, που περιλαμβάνουν τα τερματικά άτομα -O, π.χ. O14-V5-O1 =  $173,0(1)^\circ$ , [Lv Yao-Kang, et al, 2012].

**Πίνακας 5.2.4 Οι γωνίες V-O-V ( $^\circ$ ) για το σύμπλοκο  $\{(\text{LH})_4[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]\cdot 2\text{L}\cdot 2\text{H}_2\text{O}\}^a$ .**

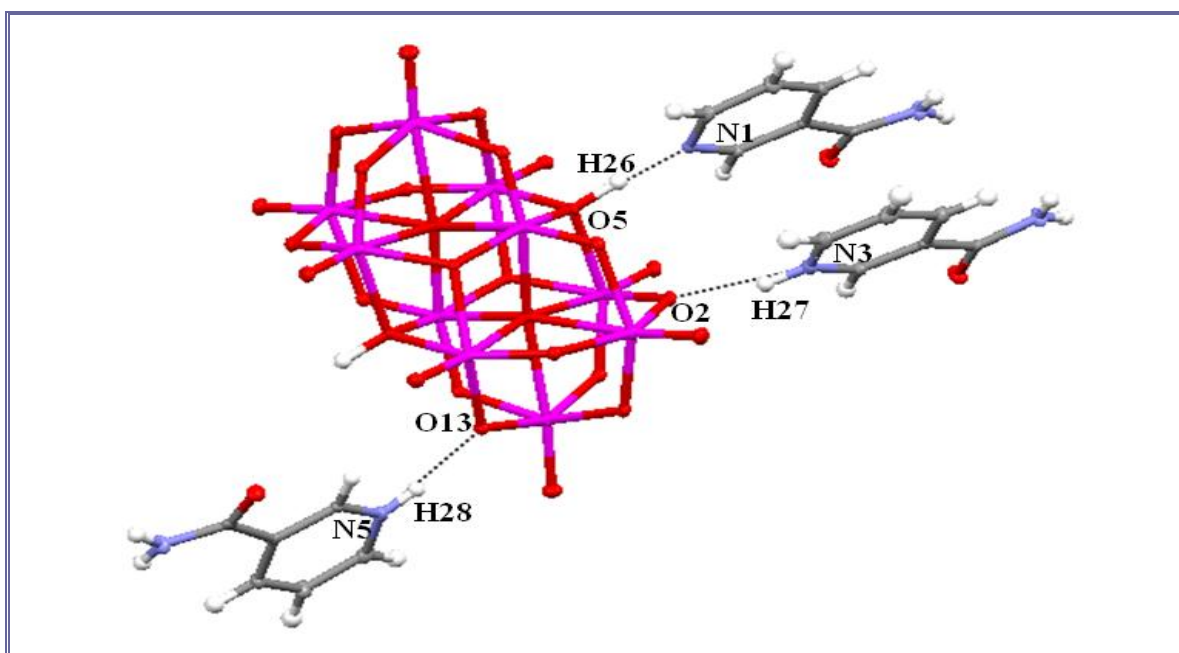
$\mu_2$ -O <sup>2-</sup>		$\mu_6$ -O <sup>2-</sup>	
V1-O2-V3	114,3(1)	V1-O1-V2	97,1(1)
V1-O3-V5	116,3(1)	V1-O1-V2'	90,7(1)
V3-O4-V5	114,7(1)	V1-O1-V3	85,2(1)
V2-O6-V3	111,3(1)	V1-O1-V4	167,4(1)
V2-O9-V5	110,8(1)	V1-O1-V5	85,3(1)
V3-O10-V4	114,5(1)	V2-O1-V2'	102,4(1)
V4-O13-V5	113,3(1)	V2-O1-V3	87,8(1)
		V2-O1-V4	90,9(1)
<u><math>\mu_3</math>-O<sup>2-</sup></u>		V2-O1-V5	169,6(1)
V2-O7-V4	106,9(1)	V2'-O1-V3	169,5(1)
V1'-O7-V2	107,1(1)	V2'-O1-V4	97,1(1)
V1'-O7-V4	105,6(1)	V2'-O1-V5	87,6(1)
		V3-O1-V4	83,4(1)
<u><math>\mu_3</math>-OH</u>		V3-O1-V5	82,4(1)
V1'-O5-V2'	106,9(1)	V4-O1-V5	85,1(1)
V1'-O5-V4	98,1(1)		
V2'-O5-V4	106,5(1)		

<sup>a</sup> Τα μεταλλικά κέντρα των οποίων η αρίθμηση είναι με τόνο προέρχονται από την κρυσταλλογραφική διεργασία συμμετρίας

Τα 6 μεταλλικά κέντρα γύρω από το O1 (και το συμμετρικό του) διευθετούνται οκταεδρικά με τις trans- και cis- γωνίες V-O-V να κυμαίνονται στις περιοχές  $167,4(1) - 169,6(1)^\circ$  και  $82,4(1) - 102,4(1)^\circ$ , αντίστοιχα. Οι μέσες τιμές των γωνιών V-( $\mu_2$ -O)-V, V-( $\mu_3$ -O)-V και V-( $\mu_3$ -OH)-V είναι (Πίνακας 5.2.4)  $113,6(1)$ ,  $106,5(1)$  και  $103,8^\circ$  αντίστοιχα, σε συμφωνία με

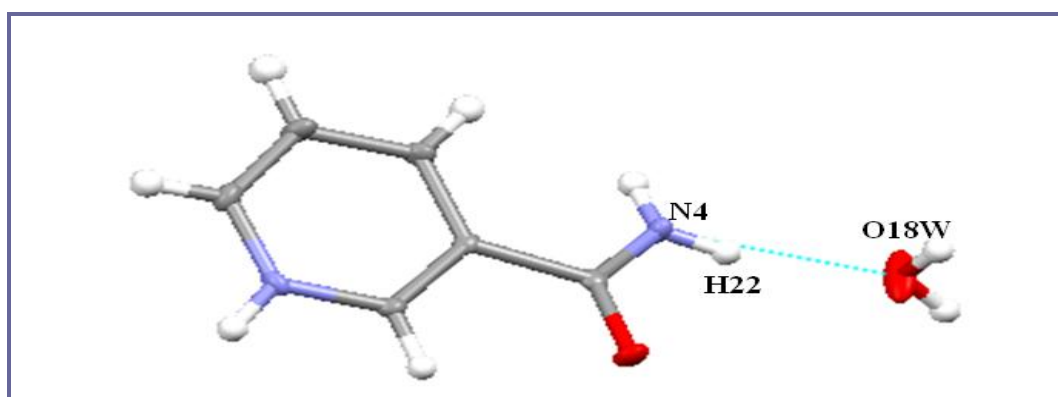


τον τετραεδρικό υβριδισμό των ατόμων O-. Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Nicotivan σταθεροποιείται από δεσμούς -H, (Εικόνες 5.2.2 και 5.2.3) και από π-π αλληλεπιδράσεις, μεταξύ των αρωματικών δακτυλίων. Έτσι σχηματίζεται ένα τρισδιάστατο (3D) δίκτυο. Δύο γειτονικά ιόντα  $[V_{10}O_{26}(OH)_2]^{4-}$  "γεφυρώνονται" από 2 μόρια  $H_2O$ , σχηματίζοντας αλυσίδες,



**Εικόνα 5.2.2** Οι τύποι δεσμών -H μεταξύ του ανιόντος  $[V_{10}O_{26}(OH)_2]^{4-}$  και του οργανικού μέρους ( $LH^+$ , L), που σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Nicotivan,  $(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O$ .

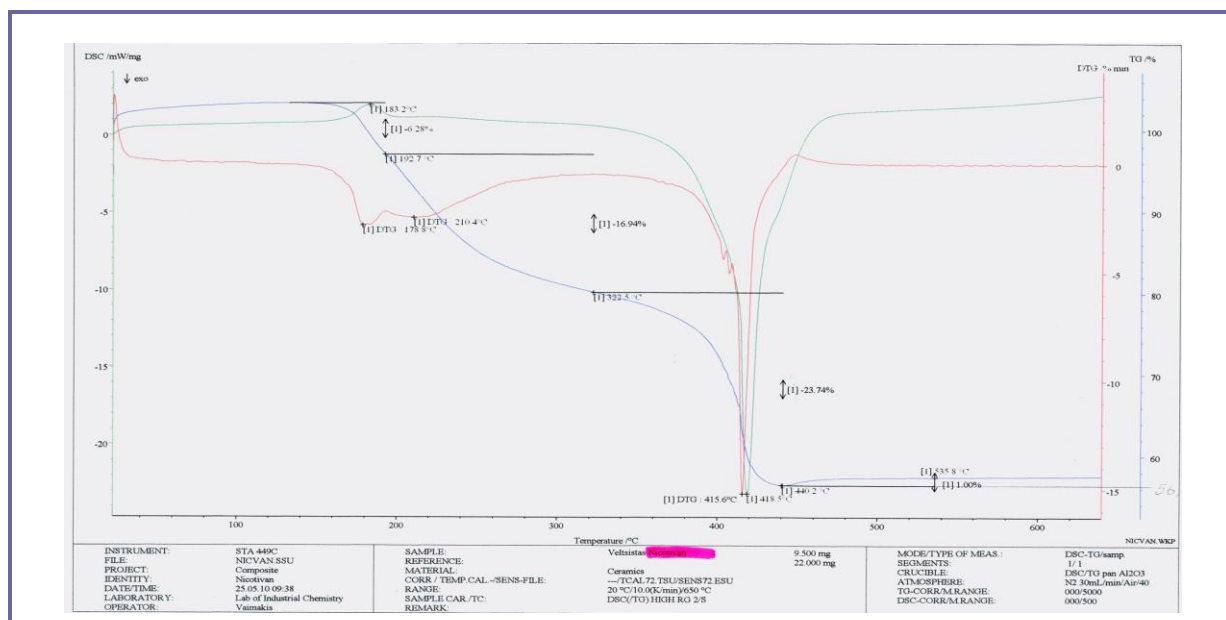
Κάθε πολυβαναδικό σύμπλοκο ανιόν βρίσκεται σε επαφή μέσω ισχυρών δεσμών -H με: 4 κατιόντα  $LH^+$ , που μόνο τα κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητα φαίνονται στην Εικόνα 5.2.2 και με 2 μόρια L, που μόνο το κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητο φαίνεται στην Εικόνα 5.2.2.



**Εικόνα 5.2.3** Ο τύπος δεσμών -H ανάμεσα στο κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητο πλεγματικό μόριο  $H_2O$  και σε ένα από τα κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητα κατιόντα στην κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Nicotivan,  $\{(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O\}$ .

Τα κατιόντα  $LH^+$  είναι "δότες" και τα άτομα -O2 και -O13 του ανιόντος είναι οι "δέκτες". Οι διαστάσεις των δεσμών -H είναι  $N3 \cdots O2 = 2,630 \text{ \AA}$ ,  $H27 \cdots O2 = 1,789 \text{ \AA}$ ,  $N3-H27 \cdots O2 = 169,8^\circ$  και  $N5 \cdots O13 = 2,688 \text{ \AA}$ ,  $H28 \cdots O13 = 1,810 \text{ \AA}$ ,  $N5-H28 \cdots O13 = 165,8^\circ$ . Τα μόρια L

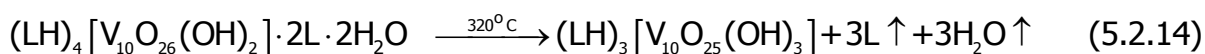
είναι "δέκτες", μέσω των πυριδινικών ατόμων -N και τα υδρόξο άτομα -OH και -OH' του συμπλόκου ανιόντος είναι "δότες". Οι διαστάσεις του δεσμού -H είναι: O5...N1 = 2,544 Å, H26...N1 = 1,525 Å, O5-H26...N1 = 175,1°. Ένας άλλος τύπος δεσμού -H που συμβάλλει στη σταθεροποίηση της δομής του συμπλόκου Nicotivan, είναι αυτός που φαίνεται στην Εικόνα 5.2.3. Τα ιόντα LH<sup>+</sup> συμπεριφέρονται ως "δότες", μέσω της πρωτοταγούς αμιδικής ομάδας -NH<sub>2</sub> και τα πλεγματικά μόρια H<sub>2</sub>O είναι οι "δέκτες". Οι διαστάσεις αυτού του τύπου δεσμού -H είναι: N4...O18W = 2,908 Å, H22...O18W = 2,114 Å, N4-H22...O18W = 165,3°. Τέλος αλυσίδες σχηματίζουν και τα κατιόντα LH<sup>+</sup> και τα μόρια L με τα αμιδικά άτομα -O να είναι οι "δέκτες" και οι ομάδες -NH<sub>2</sub> οι "δότες". Το σύμπλοκο Nicotivan είναι μέλος μιας οικογένειας ενώσεων [Arrieta J.M., 1992], [Jouffret L., et al, 2010], [Nakamura S., et al, 2001], [Bino Avi, et al, 1982] και [Yang J., et al, 2006], που περιέχουν το δεκαβαναδικό ανιόν [H<sub>2</sub>V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>4-</sup>. Επίσης ενώσεις που περιέχουν το κατιόν του νικοτιναμιδίου (LH<sup>+</sup>) έχουν χαρακτηριστεί δομικά [Athimoolam S., et al, "Bis- (Nicotinamidium)-Bis-[(2R,3R)-Tartrate] 1,25-Hydrate: Cations Incorporated into Hydrogen-Bonded Arrays of Anions and Water Molecules", Acta Crystallographica, E63(4), 1811-1813, 2007]. Η θερμική διάσπαση του συμπλόκου μελετήθηκε με τις τεχνικές της θερμοσταθμικής ανάλυσης (TGA) και της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (DSC), (Εικόνα 5.2.4). Κάτω από ατμόσφαιρα N<sub>2</sub>, δεν υπάρχει απώλεια βάρους μέχρι τους ~160°C. Η μη απομάκρυνση των πλεγματικών μορίων H<sub>2</sub>O πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι αυτά συγκρατούνται μέσω ισχυρών δεσμών H στο κρυσταλλικό πλέγμα, [Mojumdar S.C., et al, 1999].



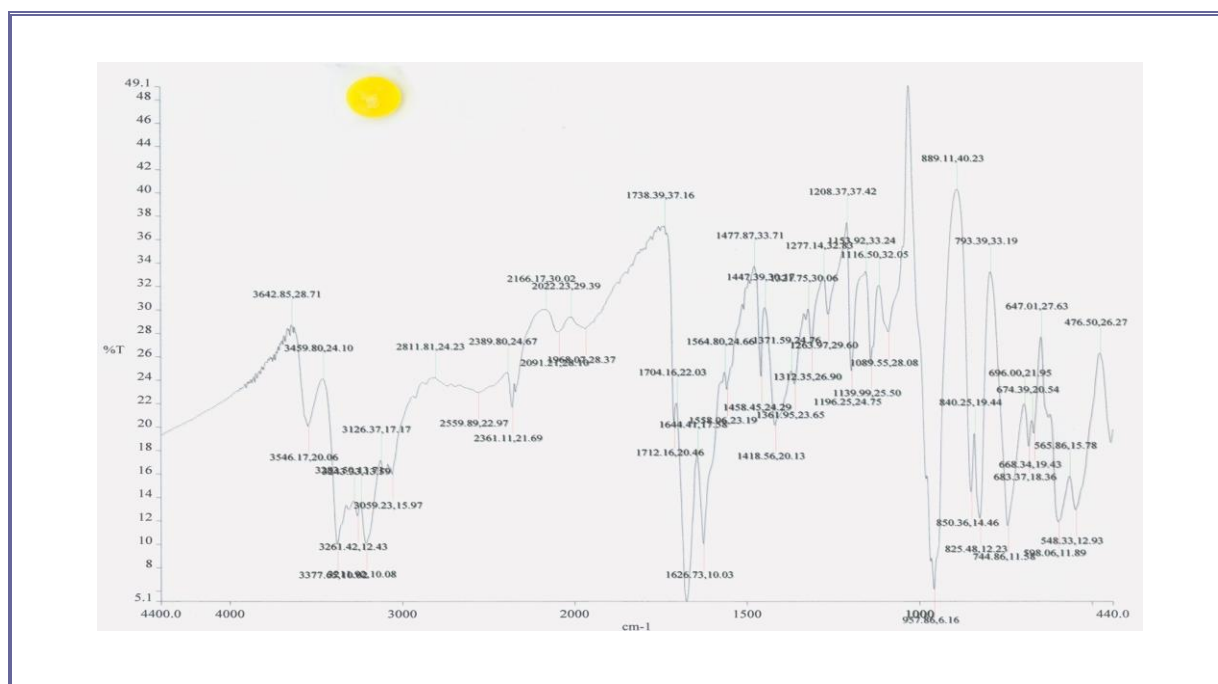
**Εικόνα 5.2.4 Το διάγραμμα του θερμοζυγού, για το πολυβαναδικό σύμπλοκο Nicotivan, (LH)<sub>4</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>26</sub>(OH)<sub>2</sub>]·2L·2H<sub>2</sub>O.**

Στη συνέχεια υπάρχει μια βραδεία απώλεια μάζας, η οποία επιταχύνεται σε θερμοκρασία υψηλότερη των 340°C και που τερματίζεται εν τέλει στους 436°C. Η μάζα του τελικού υπολείμματος αντιστοιχεί στο 53% της αρχικής και δείχνει ότι αυτό είναι V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (θεωρητική τιμή 52,5%). Το μέγιστο της καμπύλης DTG, αυτής της θερμικής διάσπασης βρίσκεται

στους 415,6°C, με την καμπύλη DSC να υποδηλώνει ότι αυτή η απώλεια μάζας είναι εξώθερμη. Η παρουσία 5 μεγίστων DTG στην περιοχή 160-430°C υποδηλώνει ότι η διάσπαση αυτή συντελείται σε αρκετά -πιθανώς αλληλεπικαλυπτόμενα- στάδια. Προσεκτική μελέτη της καμπύλης DTG αποκαλύπτει την ύπαρξη ενός μικρού πλατώ, στην περιοχή 300-320°C. Η συνολική πειραματική απώλεια μάζας, στην περιοχή 20-300°C είναι 20,2%, που είναι παρόμοια με τη θεωρητικώς αναμενόμενη τιμή: 20,8%, για απώλεια 2 moles H<sub>2</sub>O και 3 moles L, ανά mole συμπλόκου, πιθανά υποδηλώνοντας τη θερμική διάσπαση, που σκιαγραφείται στην Εξίσωση 5.2.14, με το ενδιάμεσο (LH)<sub>3</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>25</sub>(OH)<sub>3</sub>] να είναι ασταθές και να διασπάται περαιτέρω, με την άνοδο της θερμοκρασίας. Σημειώνεται ότι άλατα των ανιόντων [V<sub>10</sub>O<sub>25</sub>(OH)<sub>3</sub>]<sup>3-</sup> έχουν χαρακτηριστεί δομικά, [Nakamura S., et al, 2001].



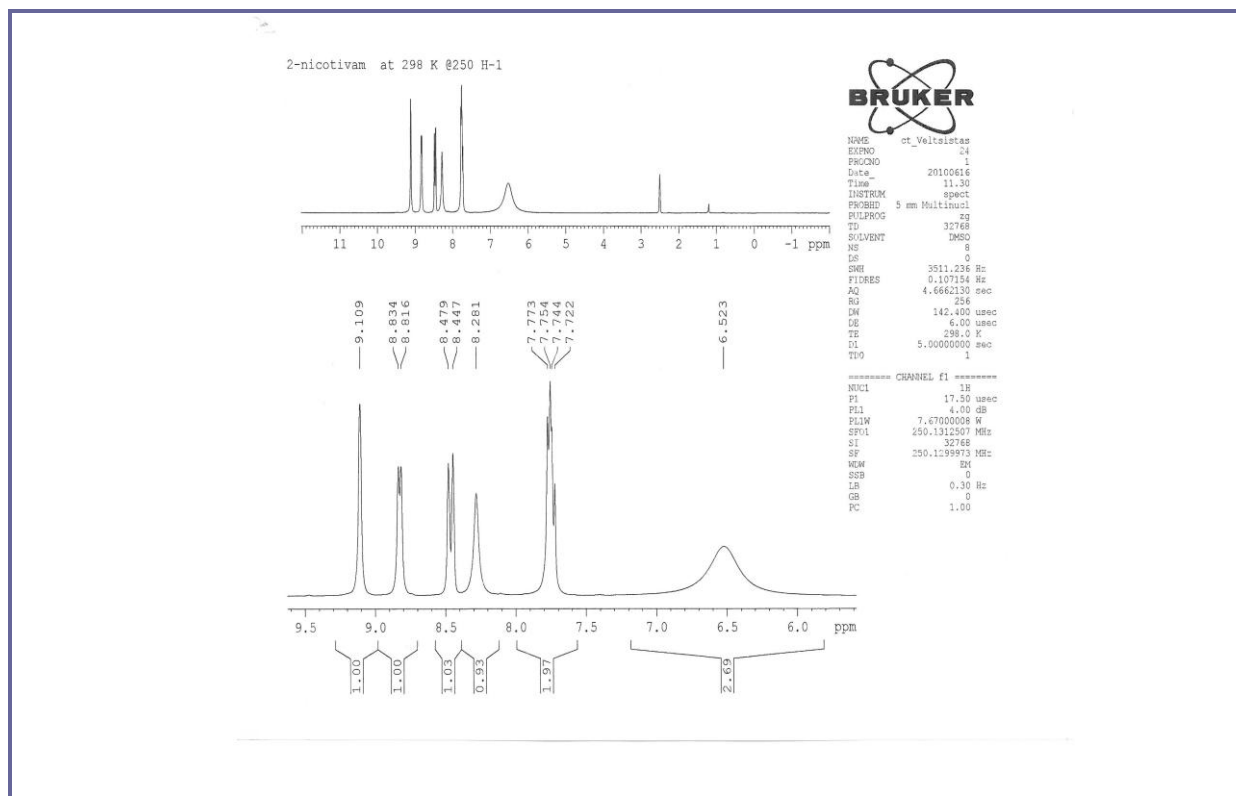
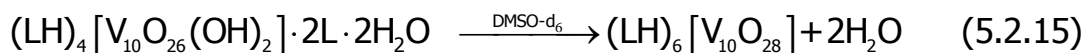
Το IR φάσμα του συμπλόκου Nicotivan παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.2.5. Η μέτριας έντασης ταινία στα 3546 cm<sup>-1</sup> αποδίδεται στη δόνηση τάσης ν(OH), του δεσμού O-H των υδρόξο- υποκαταστατών, που υπάρχουν στο σύμπλοκο ανιόν [V<sub>10</sub>O<sub>26</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>4-</sup>, χωρίς να αποκλείεται και η συνεισφορά από τη δόνηση ν(NH<sup>+</sup>) των κατιόντων LH<sup>+</sup>.



**Εικόνα 5.2.5 Το IR φάσμα (KBr, cm<sup>-1</sup>) του συμπλόκου Nicotivan, {(LH)<sub>4</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>26</sub>(OH)<sub>2</sub>]·2L·2H<sub>2</sub>O}.**

Οι ταινίες περί τα 3375 και 3200 cm<sup>-1</sup> αποδίδονται [Athimoolam S., et al, Acta Crystallographica, E63(4), 1811-1813, 2007] στις δονήσεις ν<sub>as</sub>(NH<sub>2</sub>) και ν<sub>s</sub>(NH<sub>2</sub>), αντίστοιχα της πρωτοταγούς αμιδικής ομάδας, των LH<sup>+</sup> και L. Η δόνηση ν(C=O) της πρωτοταγούς αμιδικής ομάδας των LH<sup>+</sup> και L εμφανίζεται ως ισχυρή ταινία, στα 1644 cm<sup>-1</sup>. Η πολύ ισχυρή ταινία στα 958 cm<sup>-1</sup> οφείλεται στη δόνηση τάσεως ν(V=O), του δεσμού V-O (τερματικό), ενώ οι ταινίες στα 825 και 745 cm<sup>-1</sup> μπορούν να αποδοθούν στις αντισυμμετρικές δονήσεις τάσεως ν<sub>as</sub>(V-O-V), των ομάδων V-O (γεφυρωτικό)-V, [Sarkar

A., et al, 2008], [Yang J., et al, 2006] και [Gong Y., et al, 2006]. Το  $^1\text{H-NMR}$  φάσμα του συμπλόκου Nicotivan, σε  $\text{DMSO-d}_6$  παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.2.6. Το ευρύ σήμα στη τιμή  $\delta = 6,52$  ppm αποδίδεται στα πρωτόνια της  $-\text{NH}_2$ , ενώ το σχετικά ευρύ σήμα σε  $\delta = 8,28$  ppm στο πρωτόνιο, που συνδέεται με το πυριδινικό άτομο  $-\text{N}$  των κατιόντων [Perlepes S.P., et al, 1986]. Τα αρωματικά πρωτόνια εμφανίζονται [Batterham T.J., 1973] σε τιμές  $\delta = 9,11$  και  $8,82$  και  $8,46$  και  $7,75$  ppm.



**Εικόνα 5.2.6** Το 250 MHz  $^1\text{H-NMR}$  φάσμα του συμπλόκου Nicotivan,  $\{(\text{LH})_4[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2] \cdot 2\text{L} \cdot 2\text{H}_2\text{O}\}$  σε  $\text{DMSO-d}_6$ .

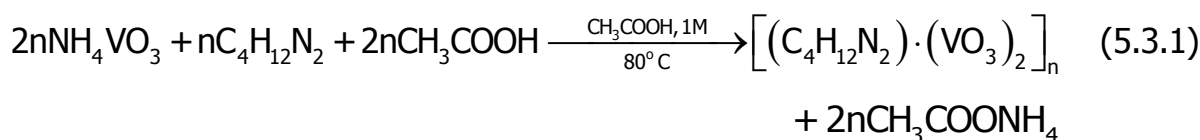
Η απλότητα του φάσματος και ο μη-εντοπισμός των υδρόξο-πρωτονίων του  $[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$  αποτελεί ισχυρή ένδειξη, ότι υπάρχει ένα είδος αρωματικών μορίων/ιόντων στο διάλυμα, με πιθανή δομική μετατροπή του συμπλόκου σε διάλυμα, σύμφωνα με την πορεία της χημικής Εξίσωσης (5.2.15).

**Ιδιότητες.** Το σύμπλοκο Nicotivan λαμβάνεται στη μορφή βαθέως πορτοκαλλέρυθρων, ευμεγέθων και διαφανών μονοκρυστάλλων, με απαστράπτουσες έδρες. Διαλύεται ελαφρά στην αιθανόλη, ικανοποιητικά στην μεθανόλη και αθρόα στο ύδωρ και το  $\text{DMSO}$ .

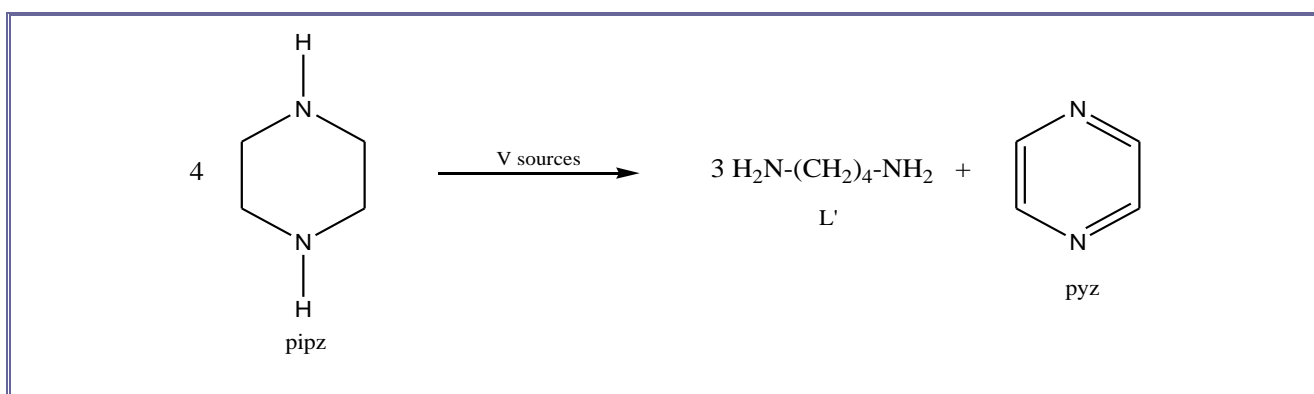
**Σημείο Τήξεως:** Μέχρι τους  $200\text{-}205^\circ\text{C}$  καμία εμφανής τήξη. Όμως επέρχεται σταδιακή μετατροπή, σε βαθύ πορτοκαλλόχρωμο έως βαθύ κεραμέρυθρο στερεό. Για θερμοκρασίες  $\geq 310^\circ\text{C}$  καμία εμφανής τήξη, ενώ λαμβάνει χώρα σταδιακή μελάνωση, λόγω ολικής απανθράκωσης.

### 5.3- PIPERVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του Ιοντικού Πολυμερούς Βαναδικού Συμπλόκου: Catena-Δις-[Τριοξοβαναδικό-(V)] -1,4-Διαμμωνιο-Βουτάνιο, $\{(L'H_2)(VO_3)_2\}_n$ .

Η αντίδραση μεταξύ του  $NH_4VO_3$  και της πιπεραζίνης (pipz, Εικόνα 5.3.1) σε  $CH_3COOH$  1M στους  $80^\circ C$  οδήγησε σε κίτρινο μικροκρυσταλλικό ίζημα, αφού το χρώμα της αντίδρασης μεταβλήθηκε από πορτοκαλί σε σκούρο καφεπράσινο, μέχρι να καταλήξει σε κίτρινο. Πορτοκαλί μονοκρυστάλλοι του προϊόντος καταβυθίστηκαν από πολύ αραιό διάλυμα ( $\sim 10^{-3}$  M) της αντίδρασης, (σύμπλοκο **pipervan**). Τα IR φάσματα, τόσο του κίτρινου μικροκρυσταλλικού ιζήματος, που καταβυθίστηκε αμέσως από πυκνό διάλυμα της αντίδρασης, όσο και των πορτοκαλί κρυστάλλων, που ήταν κατάλληλοι για κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ μονοκρυστάλλου ήταν ταυτόσημα, πιστοποιώντας ότι πρόκειται για το ίδιο προϊόν. Η απόδοση της αντίδρασης είναι  $\sim 85\%$  (με βάση το V). Προς μεγάλη μας έκπληξη, η επίλυση της δομής έδειξε ότι το προϊόν είναι ένα μονοδιάστατο, ανιοντικό πολυμερές του  $V^V$  με τύπο  $\{(L'H_2)(VO_3)_2\}_n$ , όπου  $L'H_2^{2+}$  είναι το δις-(πρωτονιωμένο)-1,4-διαμινο-βουτάνιο (Εικόνα 5.3.1)! Αφού σχηματισθεί το 1,4-διαμινοβουτάνιο ( $L'$ , πουτρεσκίνη,  $C_4H_{12}N_2$ ), ο σχηματισμός του συμπλόκου Pipervan σκιαγραφείται συγκεντρωτικά, στην παρακάτω χημική Εξίσωση 5.3.1:

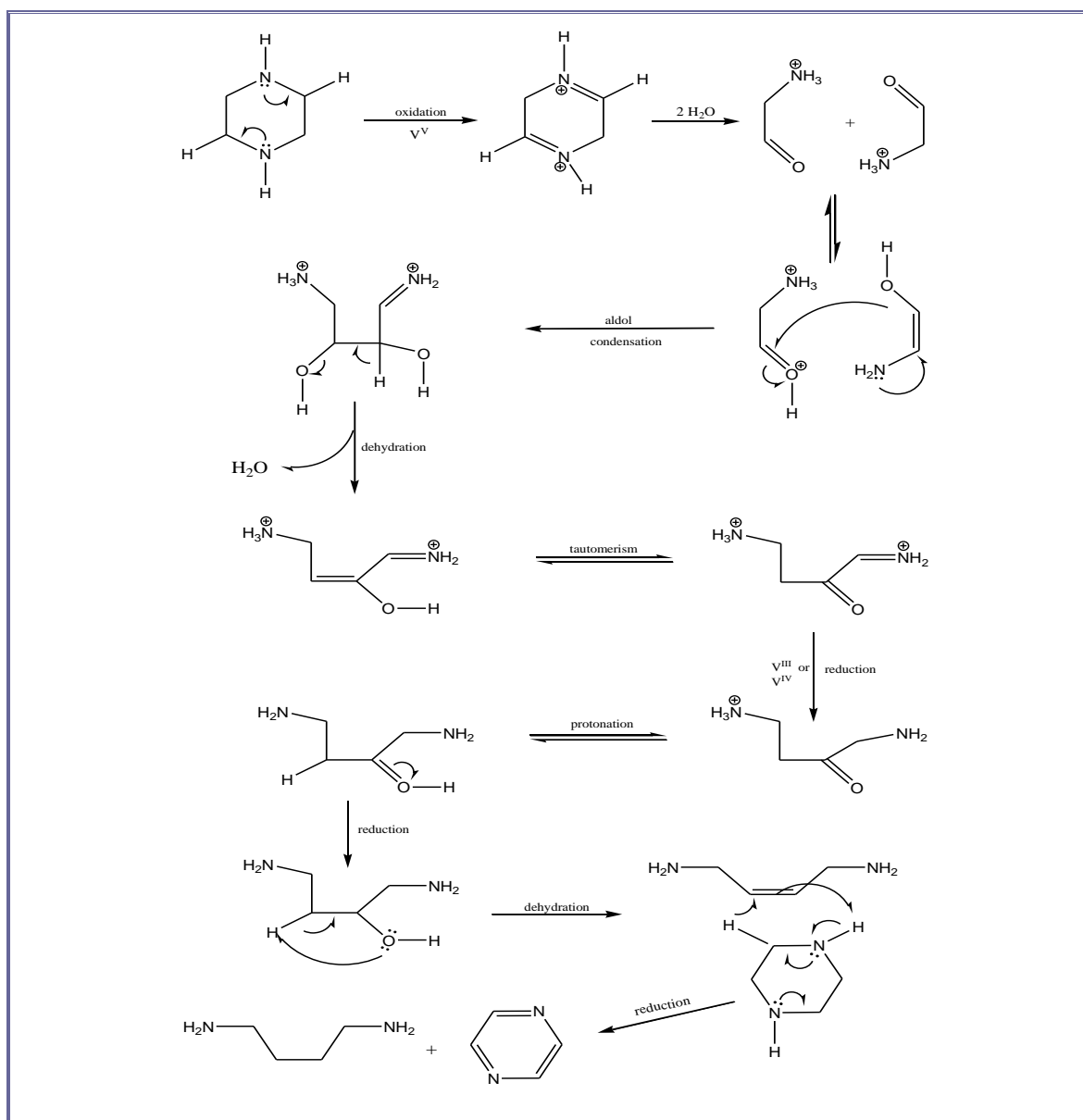


Τα άλατα του τύπου  $MVO_3$ , που περιέχουν το ανιόν  $VO_3^-$ , ( $M=NH_4, K, Rb, Cs$ ), ονομάζονται **μεταβαναδικά άλατα**, [Housecroft C.E., 2008]. Τα άλατα αυτά είναι ισόμορφα και αποτελούνται από άπειρες αλυσίδες τετραέδρων  $\{VO_4\}$ , που το καθένα "μοιράζεται" με δύο γειτονικά του δύο κορυφές. Μερικά εξ' αυτών, όπως το  $KVO_3 \cdot H_2O$  και το  $Sr(VO_3)_2 \cdot 4H_2O$  αποτελούνται από διπλές αλυσίδες, ενωμένων πολυέδρων  $\{VO_5\}$ , [Housecroft C.E., et al, 2008], [Cotton F.A., et al, 1999], [Wang Li, et al, "Syntheses, Structures and Properties of Three Heteonuclear Complexes Containing  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$  Units", 2008] και [Wang Xin, et al, "The Crystal Structure of the Addition Compound of Decavanadate and Guanidine", Polyhedron, 12(1), 77–81, 1993].



Εικόνα 5.3.1 Η οξειδοαναγωγική αντίδραση που μπορεί να περιγράψει τη μετατροπή της pipz σε  $L'$  κατά την παρασκευή του ανιοντικού πολυμερούς συμπλόκου Pipervan,  $\{(L'H_2)(VO_3)_2\}_n$ . Η χημική εξίσωση είναι πλήρως ισοσταθμισμένη, ως προς τις μάζες αντιδρώντων και προϊόντων.

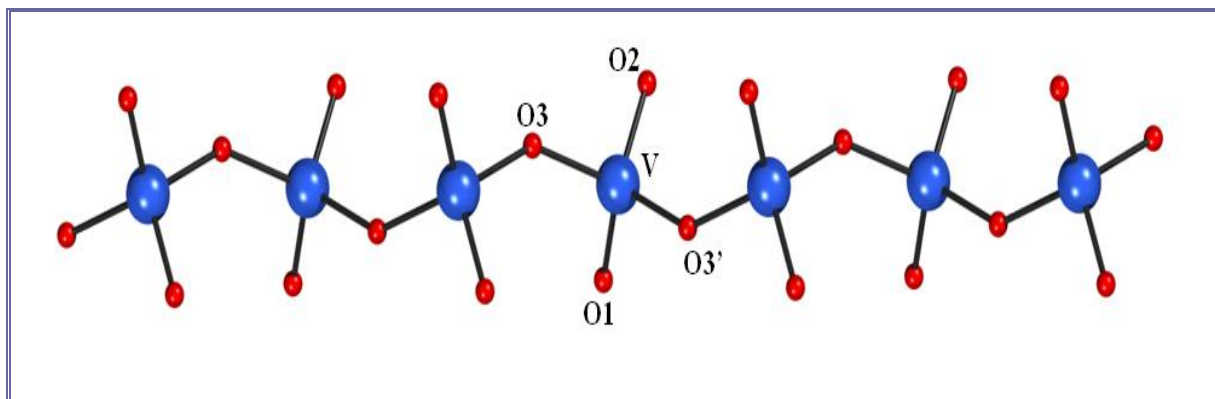
Η μετατροπή της πιπεραζίνης σε 1,4-διαμινοβουτάνιο δεν έχει αναφερθεί στη Βιβλιογραφία, μέχρι σήμερα, απ'όσο είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε. Πιθανά πρόκειται για μια πολύπλοκη αντίδραση οξειδοαναγωγής (Εικόνα 5.3.1), που ευνοείται ή προάγεται από την παρουσία πηγής V.



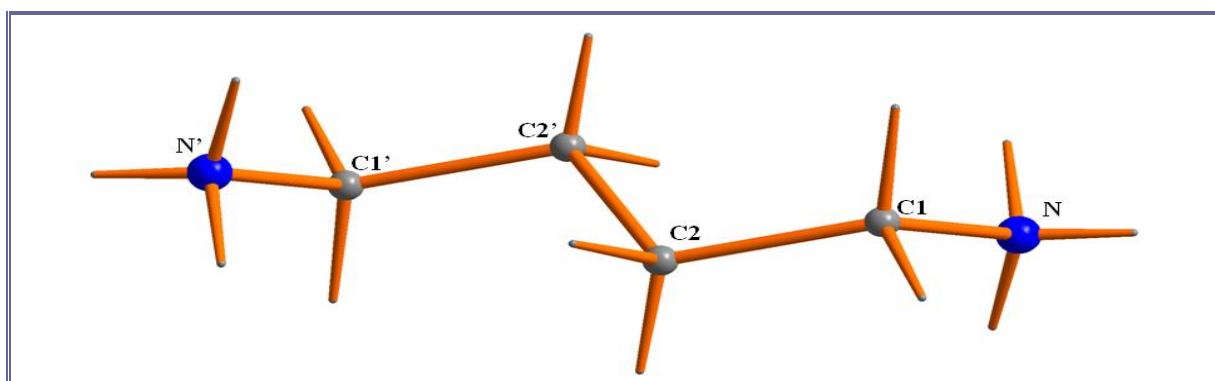
**Εικόνα 5.3.2 Ο προτεινόμενος μηχανισμός της ταυτόχρονης οξειδωσης και αναγωγής της πιπεραζίνης (pipz) κατά την παρασκευή του συμπλόκου Pipervan.**

Κατά την αντίδραση αυτή τρία (3) μόρια pipz ανάγονται προς τρία (3) μόρια L', που στη συνέχεια πρωτονιώνονται διπλά, ενώ το τέταρτο μόριο οξειδώνεται προς την αρωματική ένωση πυραζίνη (pyz). Η "οδηγούσα δύναμη" (driving force) της αντίδρασης αυτής είναι η παραγωγή ενός αρωματικού δακτυλίου, που δεν υπεισέρχεται στο προϊόν αλλά παραμένει στο διάλυμα. Στην αντίδραση οξειδωσης της πιπεραζίνης (pipz), το οξειδωτικό είναι το V'. Το προϊόν της οξειδωσης (εκτός από τη pyz) είναι πιθανά το V<sup>III</sup> ή το V<sup>II</sup>, και αυτά τα χημικά είδη μπορούν να προκαλέσουν την αναγωγή, [Cotton F.A., et al, 1999] των 3 μορίων πιπεραζίνης προς 3 μόρια L'. Ένας πιθανός μηχανισμός του μετασχηματισμού της

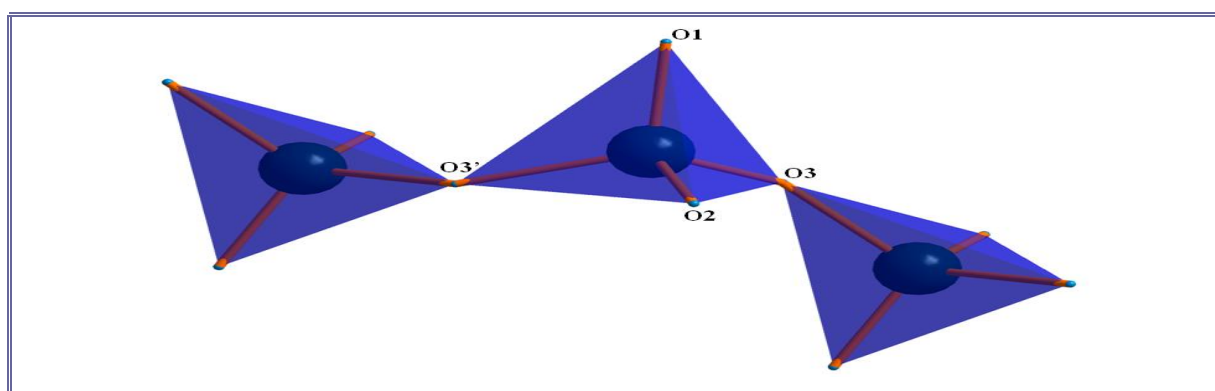
πιπεραζίνης (pipz) προτείνεται στην Εικόνα 5.3.2. Την διεξοδική μελέτη της ταυτόχρονης οξειδο-αναγωγής της πιπεραζίνης, παρουσία  $O_2$  και βαναδικών ανιόντων επιμελήθηκε ο Καθηγητής Οργανικής Χημείας, Διονύσιος Παπαϊωάννου, [Barlos K., Papaioannou D. and Voliotis S., 1988] και [Magoulas G.E., et al, 2010].



Εικόνα 5.3.3 Μικρό μέρος της ανιοντικής αλυσίδας  $\{[VO_3]\}^{n-}$  που υπάρχει στο σύμπλοκο Ρίπερβαν (αυτό το μέρος περιλαμβάνει 7 ιόντα  $V^V$ ). Υπάρχουν σύμβολα και αριθμοί για τη σφαίρα ένταξης μόνο ενός μεταλλικού κέντρου. Το άτομο  $-O3'$  έχει δημιουργηθεί από τη διεργασία συμμετρίας  $-x+1/2, y-1/2, -z+1/2$ .



Εικόνα 5.3.4 Το κατιόν 1,2-διαμμωνιοβουτάνιο(2+),  $L'H_2^{2+}$ , που υπάρχει στην κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Ρίπερβαν. Τα άτομα που αριθμούνται με τόνο έχουν προκύψει από τη διεργασία συμμετρίας  $-x, -y+1, -z+1$ .



Εικόνα 5.3.5 Οι τετραεδρικές σφαίρες ένταξης τριών διαδοχικών ιόντων V που υπάρχουν σε μια αλυσίδα του συμπλόκου Ρίπερβαν. Τα άτομα που αριθμούνται με τόνο έχουν προκύψει από τη διεργασία συμμετρίας  $-x, -y+1, -z+1$ .

Μετά από επίπονη προσπάθεια κατέληξε στον προτεινόμενο μηχανισμό του φαινομένου αυτού, της Εικόνας 5.3.2. Τα δομικά χαρακτηριστικά του συμπλόκου Piperivan αποτυπώνονται στις Εικόνες 5.3.3-5.3.6 και στους Πίνακες 5.3.1-5.3.3.

**Πίνακας 5.3.1 Μήκη των δεσμών (Å) και γωνίες των δεσμών (°), για το πολυμερές σύμπλοκο Piperivan,  $\{(L'H_2)([VO_3])_2\}_n$ .**

Μήκη δεσμών <sup>a</sup>			
V-O1	1,626(3)	C1-N1	1,476(6)
V-O2	1,628(3)	C1-C2	1,512(6)
V-O3	1,798(3)	C2-C2'	1,521(6)
V-O3'	1,803(3)		
Γωνίες δεσμών <sup>a</sup>			
O1-V-O2	110,1(2)	N-C1-C2	112,6(4)
O1-V-O3	106,6(2)	C1-C2-C2'	114,4(5)
O1-V-O3'	111,2(2)		
O2-V-O3	111,0(2)		
O2-V-O3'	105,8(2)		
O3-V-O3'	112,3(1)		
V-O3-V'	143,3(2)		

<sup>a</sup> Τα άτομα -O3', -C2' και -V' έχουν προκύψει από τις διεργασίες συμμετρίας (-x+ 1/2, y-1/2, -z+1/2), (-x, -y+1, -z+1) και (-x+1/2, y+1/2, -z+1/2), αντίστοιχα.

Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Piperivan αποτελείται από κατιόντα  $L'H_2^{2+}$  και από μονοδιάστατες (1D), zig-zag ανιοντικές αλυσίδες  $\{[VO_3]^{-}\}_n$ . Η ασύμμετρη μονάδα της δομής αποτελείται από μισό κατιόν  $L'H_2^{2+}$  και από μια ομάδα  $[VO_3]^{-}$  και έτσι ο συνολικός απλούστερος χημικός τύπος του πολυμερούς συμπλόκου είναι  $\{(L'H_2)([VO_3])_2\}_n$ . Η διαμαγνητική φύση της ένωσης και τα μήκη δεσμού V-O πιστοποιούν ότι το V είναι πεντασθενές. Στο κέντρο (μέσο απόστασης C2-C2') του  $L'H_2^{2+}$  υπάρχει κρυσταλλογραφικό κέντρο αναστροφής, δηλ. το αντισταθμιστικό κατιόν είναι κεντροσυμμετρικό.

**Πίνακας 5.3.2 Οι γωνίες στρέψης (°), για το πολυμερές πολυ-βαναδικό σύμπλοκο Piperivan,  $\{(L'H_2)([VO_3])_2\}_n$ .**

O1-V-O3-V'	141,4(3)
O2-V-O3-V'	21,5(4)
O3'-V-O3-V'	-96,6(4)

<sup>a</sup> Τα άτομα -O3' και -V' έχουν προκύψει από τις διεργασίες συμμετρίας (-x+ 1/2, y-1/2, -z+1/2) και (-x+1/2, y+1/2, -z+1/2), αντίστοιχα.



Η καθεμιά αλυσίδα περιέχει άπειρο αριθμό τετραέδρων  $\{V^VO_4\}$ , που το καθένα έχει δύο κοινές κορυφές ( $O_3, O_3'$ ) με τα δύο γειτονικά του. Κατά συνέπεια η ανιοντική αλυσίδα θα μπορούσε να παρασταθεί και ως  $\{[VO_{2/2}O_{2/1}]\}^{n-}$ . Τα μήκη δεσμού του V με τους τερματικούς όξο υποκαταστάτες είναι 1,626(3) και 1,628(3) Å υποδηλώνοντας διπλούς δεσμούς  $V^V=O$ . Όπως είναι φυσικό, αυτά τα δυο μήκη δεσμού είναι μικρότερα από τα μήκη δεσμού ανάμεσα στο V και στα γεφυρωτικά άτομα -O [1,798(3), 1,803(3) Å]. Τα τέσσερα μήκη δεσμού V-O βρίσκονται στην περιοχή 1,62-1,83 Å που έχει διαπιστωθεί για δομικά χαρακτηρισμένα μεταβαναδικά άλατα, [Roman P., et al, 1991] και [Smith M.D., et al, 2012]. Το περιβάλλον ένταξης γύρω από το μεταλλικό κέντρο είναι **τετραεδρικό** με τις γωνίες O-V-O να κυμαίνονται στην περιοχή 105,8(2)-112,3(1)°. Η περιοχή αυτή υποδηλώνει ελαφρά παραμορφωμένη γεωμετρία ένταξης. Η γωνία V-O3-V' [143,3(2)°] είναι τυπική για πολυμερείς μεταβαναδικές, ανιοντικές αλυσίδες. Για παράδειγμα, είναι ακριβώς ίδια με μία από τις δύο γωνίες V-O-V που υπάρχουν στην κρυσταλλική δομή του συμπλόκου  $\{(H_2dien)[VO_3]\}_2\}_n$ , όπου dien είναι το μόριο της διαιθυλενοτριαμίνης. Η απόσταση μεταξύ δύο γειτονικών ιόντων V στην αλυσίδα είναι 3,417 Å, τυπική για πολυμερή μεταβαναδικά ιόντα, [Roman P., et al, 1992].

**Πίνακας 5.3.3 Διαστάσεις των κρυσταλλογραφικά ανεξάρτητων δεσμών -H, που σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Piperivan,  $\{(L'H_2)([VO_3])_2\}_n$ .**

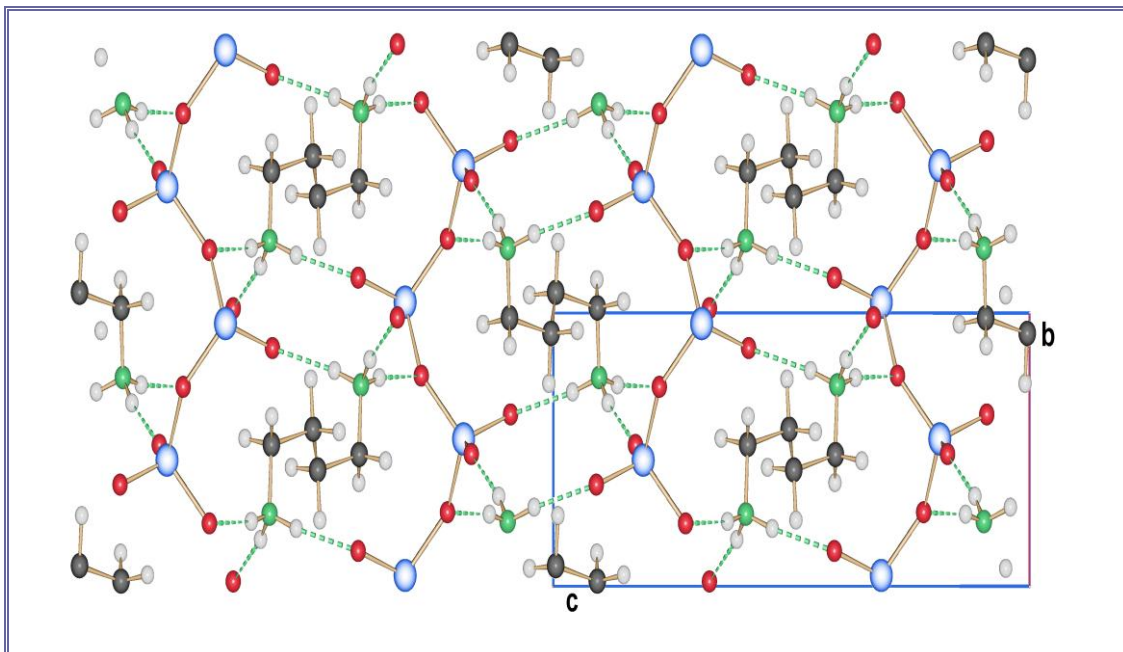
D-H...A <sup>a</sup>	D...A (Å)	H...A (Å)	D-H...A (°)	Κωδικός συμμετρίας του A
N-H1(N)...O1	2,749	1,869	169,4	x, y, z
N-H2(N)...O3	2,863	2,115	165,7	-x-1/2, y-1/2, -z+1/2
N-H3(N)...O2	2,801	1,923	168,2	x, y, z

<sup>a</sup> D= δότης (donor), A= δέκτης (acceptor).

Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Piperivan σταθεροποιείται από δεσμούς -H (Πίνακας 5.3.3, Εικόνα 5.3.6), που είναι μέτριας ισχύος ( $D...A = 2,749-2,801$  Å και  $D-H...A = 165,7-169,4^\circ$ ). Οι αλυσίδες  $\{[VO_3]\}^{n-}$  δημιουργούν "**τσέπες, pockets**", [Smith M.D., et al, 2012], στις οποίες βρίσκονται τα κατιόντα, της διπρωτονιωμένης πουτρεσκίνης  $LH_2^{2+}$ . Αυτή η διευθέτηση επιτρέπει το σχηματισμό δεσμών -H, ανάμεσα στους πιο ηλεκτρονιόφιλους δότες και τους πιο πυρηνόφιλους δέκτες. Το κάθε άτομο -N (που βρίσκεται υπό τη μορφή  $-NH_3^+$ ) συμμετέχει ως δότης σε 3 δεσμούς -H. Οι δέκτες είναι τα 3 άτομα -O της ομάδας  $[VO_3]^-$ . Οι δεσμοί -H με τους τερματικούς όξο-υποκαταστάτες ως δέκτες (O1,O3) είναι σαφώς ισχυρότεροι από το δεσμό -H, στον οποίο ενέχεται ως δέκτης το γεφυρωτικό άτομο -O (O3 και το συμμετρικό του), [Yraola F., et al, 2008] και [Zhu C.Y., et al, 2007].

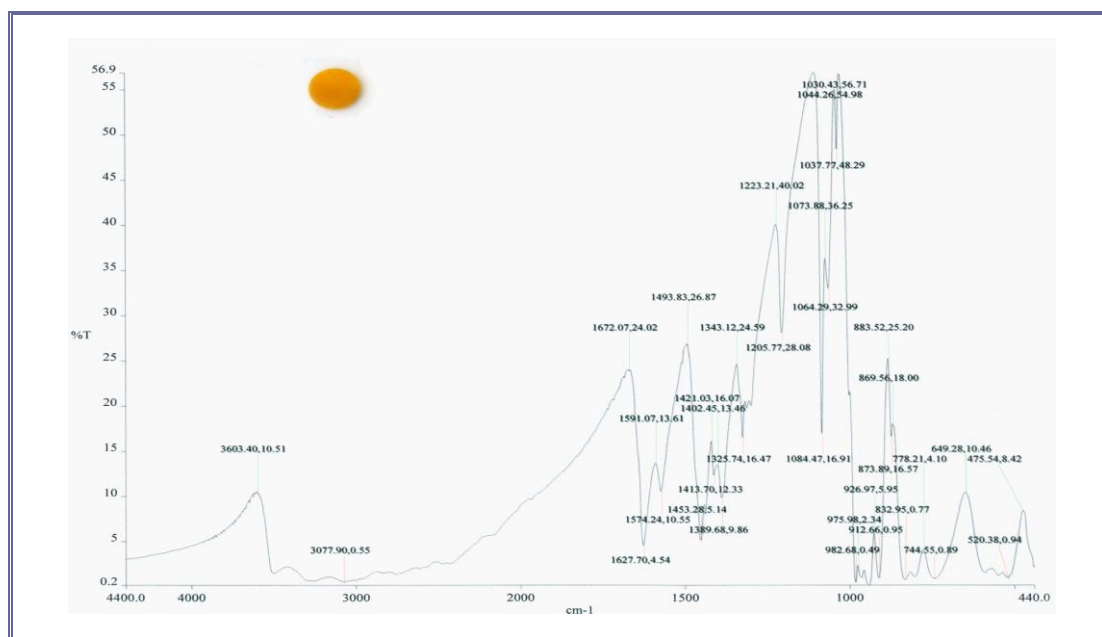
Το γεγονός αυτό οφείλεται στον ισχυρότερο πυρηνόφιλο χαρακτήρα, των τερματικά ενωμένων οξυγόνων, [Smith M.D., et al, 2012]. Το σύμπλοκο Piperivan είναι μέλος μιας οικογένειας 1D ανιοντικών πολυμερών συμπλόκων με γενικούς τύπους  $\{(\text{κατιόν})^+([VO_3])\}$  και  $\{(\text{κατιόν})^{2+}([VO_3])_2\}_n$ , στα οποία το κατιόν με φορτίο +1 και +2 μπορεί να είναι ανόργανο ή οργανικό, [Roman P., et al, 1992], [Smith M.D., et al, 2012], [Li Y.G., et al, 2002], [Averbuch-Pouchot M.T., et al, "Synthesis and Crystal Structure of Methyl

Ammonium Polyvanadate  $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{VO}_3$ ", 1994], [Averbuch-Pouchot M.T., et al, "Preparation and Crystal Structure of Hexa- Isopropyl-Ammonium-Decavanadate Tetrahydrate", 1994], [Wang J.P., et al, 2008], [Bensch W., et al, 1987], [Evans H.T., 1960], [Shannon R.D., et al, 1973], [Ganne M., et al, 1974], [Onodera S., et al, 1979], [Tabuteau A., et al, 1979] και [Ulicka L., et al, 1987].



**Εικόνα 5.3.6** Το δίκτυο δεσμών H που σταθεροποιεί την κρυσταλλική δομή του πολυμερούς συμπλόκου Ρίπερναν,  $\{(\text{L}'\text{H}_2)([\text{VO}_3]_2)\}_n$ .

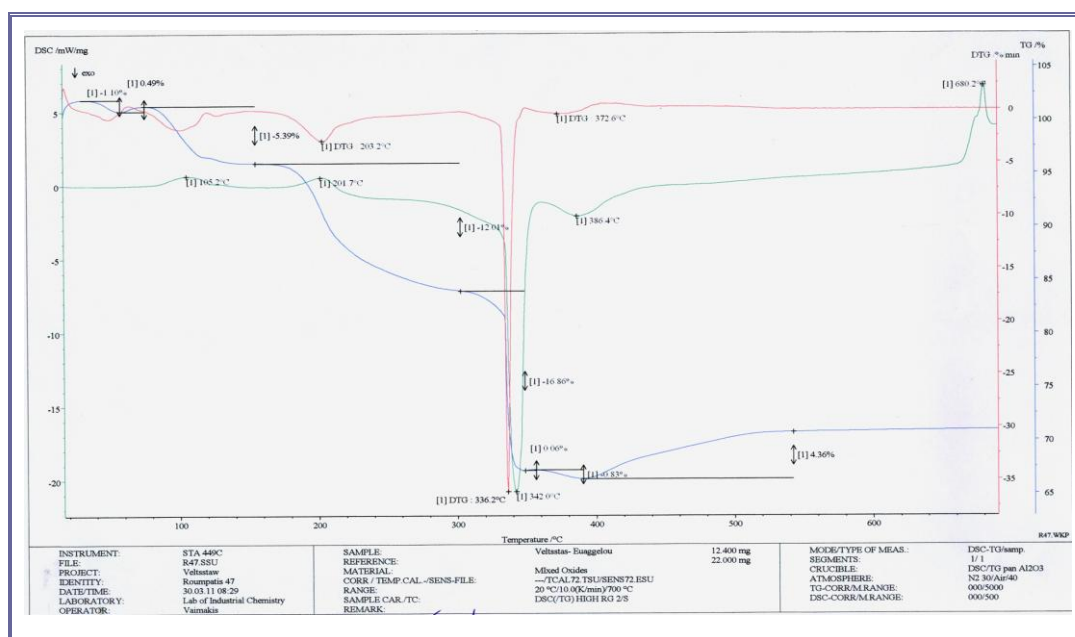
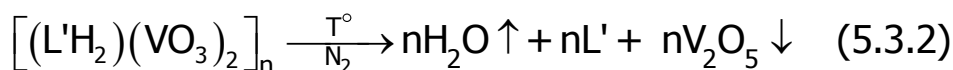
Το IR φάσμα του συμπλόκου Ρίπερναν παρουσιάζει τις χαρακτηριστικές ταινίες του μεταβαναδικού ιόντος και τις δονήσεις του  $\text{L}'\text{H}_2^{2+}$ .



**Εικόνα 5.3.7** Το φάσμα του IR, του νέου συμπλόκου Ρίπερναν,  $\{(\text{L}'\text{H}_2)([\text{VO}_3]_2)\}_n$ .

Οι ισχυρές ταινίες στα  $927$  και  $913 \text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται στη δόνηση  $\nu_s[\text{VO}(\text{τερματικό})_2]$ , ενώ οι ταινίες στα  $983$  και  $975 \text{ cm}^{-1}$  στη δόνηση  $\nu_{as}[\text{VO}(\text{τερματικό})_2]$ . Οι ταινίες στα  $649$  και

520 cm<sup>-1</sup> οφείλονται στις δονήσεις ν<sub>as</sub>(V-O-V) και ν<sub>s</sub>(V-O-V), αντίστοιχα. Η ταινία στα 476 cm<sup>-1</sup> οφείλεται σε ταινία παραμόρφωσης δ̄(OVO) ή δ̄(V-O-V), [Roman P., et al, 1992]. Οι ταινίες στην περιοχή 3250-2500 cm<sup>-1</sup> αποδίδονται στις δονήσεις ν(NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), ν<sub>as</sub>(CH<sub>2</sub>) και ν<sub>s</sub>(CH<sub>2</sub>), με την ευρύτητα και τη χαμηλή συχνότητα να αντικατοπτρίζουν τη συμμετοχή της πρωτονιωμένης αμινομάδας σε δεσμούς -H, γεγονός που διαπιστώθηκε κρυσταλλογραφικά. Οι ταινίες στα 1627, 1453, 1343, 1223 και 1206 cm<sup>-1</sup> αποδίδονται [Roman P., et al, 1991 and 1992], στις δονήσεις δ̄<sub>as</sub>(NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), δ̄<sub>s</sub>(NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), δ̄<sub>as</sub>(CH<sub>2</sub>), ν(HCH) και ν(C-C), αντίστοιχα. Η θερμική διάσπαση του συμπλόκου Pipervan (TG, DTG, DSC) είναι συνεπής με τη χημική Εξίσωση (5.3.2).



Εικόνα 5.3.8 Το διαγράμμα του θερμοζυγού, του νέου συμπλόκου Pipervan,  $\{(L'H_2)(VO_3)_2\}_n$ .

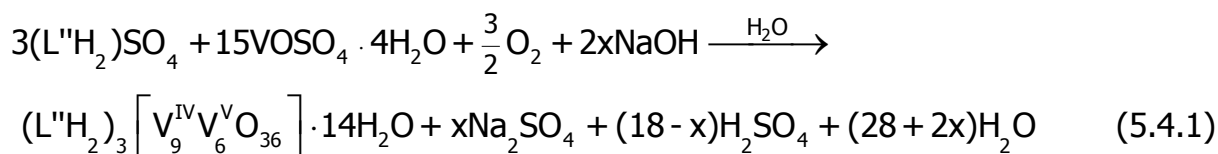
Η ενδόθερμη απώλεια του H<sub>2</sub>O ολοκληρώνεται στους ~130 °C. Στη συνέχεια υπάρχει ένα TG πλατώ στην περιοχή 130-180°C, (Εικόνα 5.3.8). Η απώλεια 1 mole L' ανά mole συμπλόκου λαμβάνει χώρα σε δύο διαδοχικά στάδια στις περιοχές 180-290 (ενδόθερμη πορεία) και 300-340°C (εξώθερμη πορεία). Το τελικό υπόλειμμα (> 390°C), που απομένει μετά την πυρολυτική διάσπαση του συμπλόκου είναι το V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, όπως δείχνουν οι ακριβείς υπολογισμοί της απώλειας βάρους.

**Σημείο Τήξεως του συμπλόκου Pipervan:** Μέχρι τους 310°C καμία εμφανής τήξη. Εισαγόμενο απ' ευθείας στους 310°C, συμβαίνουν μικρές εκτινάξεις, χωρίς όμως φαινόμενα τήξεως. Για θερμοκρασίες ≥310°C καμία εμφανής τήξη, ενώ λαμβάνει χώρα ισχυρή σταδιακή μελάνωση, λόγω απανθράκωσης.

### 5.4-CADIVAN. Παρασκευή και Χαρακτηρισμός του Συμπλόκου Δεκαπεντάκις-Οξο-Τρις- (μ<sub>2</sub>-Οξο)-Δεκαοκτάκις-(μ<sub>3</sub>-Οξο)-Δεκαπεντάκις-Βαναδικό (IV/V)- Τρις- 1,5-Διαμμωνιο-Πεντάνιο)- Δεκατετράκις-Εφυδατωμένο, $\{(L''H_2)_3[V^{IV}_9V^V_6O_{36}] \cdot 14H_2O \}$ .

Η παρατεταμένη θέρμανση μίγματος του θειϊκού άλατος του δικατιόντος του 1,5-διαμινοπεντανίου (L'', καθαβερίνη), ενύδρου θειϊκού βαναδυλίου (VOSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O) και NaOH σε νερό στους 80 °C, η διήθηση του μίγματος και η κρυστάλλωση του διηθήματος έδωσε πολύ σκούρους πράσινους (σχεδόν μαύρους) κρυστάλλους του προϊόντος. Η ταυτότητα των κρυστάλλων διαπιστώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ σε μονοκρύσταλλο της ένωσης. Η τεχνική αυτή έδειξε ότι η ένωση είναι ένα ιοντικό σύμπλοκο με τύπο (L''H<sub>2</sub>)<sub>3</sub>[V<sup>IV</sup><sub>9</sub>V<sup>V</sup><sub>6</sub>O<sub>36</sub>]<sub>3</sub>·14H<sub>2</sub>O (**Cadivan**).

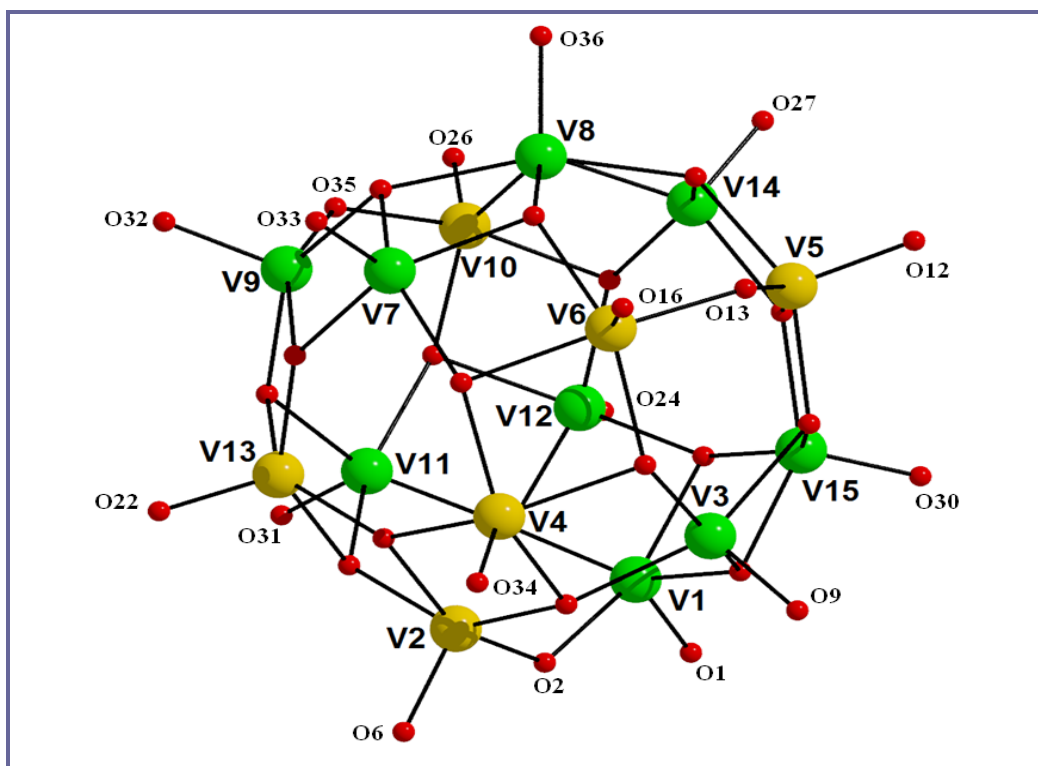
Η απόδοση της αντίδρασης κυμαίνεται σε 30-40%, με βάση το ολικώς διαθέσιμο βανάδιο. Για το σχηματισμό του προϊόντος λαμβάνει χώρα μερική οξειδωση του V(IV) προς V(V), με προφανές οξειδωτικό το ελεύθερο οξυγόνο της ατμόσφαιρας. Η χημική αντίδραση της παρασκευής του συμπλόκου σκιαγραφείται στην επόμενη χημική εξίσωση (5.4.1):



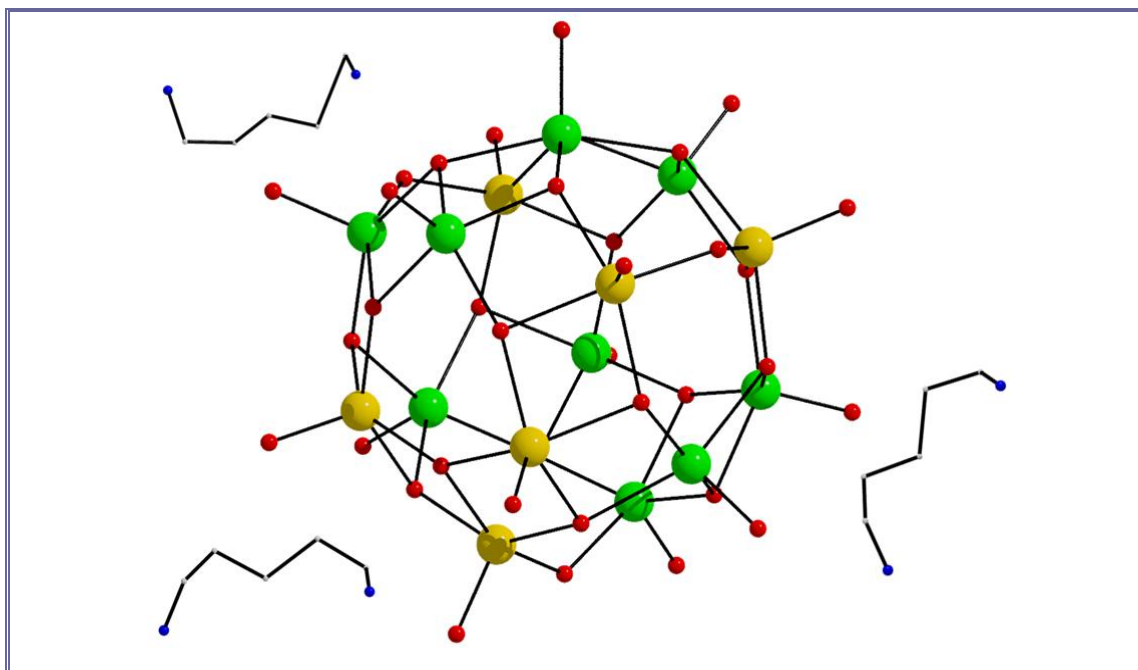
Στη χημική εξίσωση αυτήν, το x δεν μπορεί να εκτιμηθεί με ακρίβεια. Το pH του διηθήματος από το οποίο καταβυθίσθηκαν οι κρύσταλλοι ήταν περίπου 5. Διάφορες μελέτες, [Yi Zhihui, et al, CrystEngComm, 12, 242, 2010] έχουν δείξει σε τιμές pH >7, ~5 και ~4 οι δομικές μονάδες, που σχηματίζονται σε υδατικά διαλύματα βαναδικών είναι οι {VO<sub>4</sub>} (τετραεδρική), {VO<sub>5</sub>} (τετραγωνική πυραμιδική) και {VO<sub>6</sub>} (οκταεδρική), αντίστοιχα. Από αυτές τις δομικές ειδομορφές θα προκύψουν στη συνέχεια, τα διάφορα πολυοξομεταλλικά ανιόντα, του βαναδίου. Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Cadivan, (Εικόνες 5.4.1, 5.4.2 και 5.4.3), (Πίνακες 5.4.1, 5.4.2, 5.4.3 και 5.4.4) αποκαλύπτει ότι η ένωση αποτελείται από κατιόντα L''H<sub>2</sub><sup>2+</sup>, ιόντα [V<sub>15</sub>O<sub>36</sub>]<sup>6-</sup> και δεκα-τέσσερα πλεγματικά μόρια H<sub>2</sub>O σε αναλογία 3 : 1 : 14.

Οι οξειδωτικές βαθμίδες των κέντρων V υπολογίσθηκαν με βάση υπολογισμούς BVS (Πίνακας 5.4.2), [Brown I.D., and Alternat D., Acta Cryst., B41, 244, 1985]. Από τα 15 μεταλλικά κέντρα, τα 9 είναι V<sup>IV</sup> (V1, V3, V7, V8, V9, V11, V12, V14, V15) και τα 6 είναι V<sup>V</sup> (V2, V4, V5, V6, V10, V13). Η ίδια ανάλυση έδειξε ότι όλα τα άτομα -O είναι ιόντα οξειδίου (O<sup>2-</sup>).

Κατά συνέπεια το ιόν μπορεί να παρασταθεί ως [V<sup>IV</sup><sub>9</sub>V<sup>V</sup><sub>6</sub>O<sub>36</sub>]<sup>6-</sup> με συνέπεια τα τρία μόρια L'' να βρίσκονται υπό τη μορφή των δικατιόντων τους ώστε να υπάρχει εξισορρόπηση φορτίου. Δεν είναι δυνατή η άμεση πιστοποίηση της κατάστασης πρωτονίωσης του L'' γιατί τα άτομα -H της δομής δεν εντοπίστηκαν στους χάρτες ηλεκτρονικής πυκνότητας Fourier.



Εικόνα 5.4.1 Η σφαιρική δομή του ανιόντος  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  που υπάρχει στο ιοντικό σύμπλοκο Cadivan. Κώδικας χρωμάτων: κίτρινο ( $V^V$ ), πράσινο ( $V^{IV}$ ), κόκκινο ( $O^{2-}$ ). Χάρην σαφήνειας του σχήματος, από τους όξο υποκαταστάτες έχουν αριθμηθεί μόνο οι τερματικοί και οι διπλά γεφυρωτικοί.



Εικόνα 5.4.2 Η δομή του ανιόντος  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  και των τριών κατιόντων 1,5-διαμμωνιοπεντανίου ( $L''H_2^{2+}$ ) που υπάρχουν στο ιοντικό σύμπλοκο Cadivan. Κώδικας χρωμάτων: κίτρινο ( $V^V$ ), πράσινο ( $V^{IV}$ ), κόκκινο ( $O^{2-}$ ), μπλε (N) και γκρι (C). Χάρην απλότητας δεν έχουν αριθμηθεί τα άτομα.

**Πίνακας 5.4.1 Μήκη δεσμού V-O (Å) και γωνίες δεσμού O-V-O (°) στο σύμπλοκο  $\{(L''H_2)_3[V_{15}O_{36}] \cdot 14H_2O\}^a$ .**

V1 – O1	1,579(7)	V8 – O28	2,023(9)
V1 – O2	1,874(8)	V8 – O36	1,668(9)
V1 – O3	1,934(8)	V9 – O19	1,930(9)
V1 – O4	1,956(7)	V9 – O20	1,995(12)
V1 – O5	1,982(9)	V9 – O23	1,921(8)
V2 – O2	1,796(8)	V9 – O32	1,637(9)
V2 – O6	1,612(8)	V9 – O35	1,891(9)
V2 – O7	1,929(8)	V10 – O25	1,921(7)
V2 – O8	1,903(8)	V10 – O26	1,555(8)
V2 – O21	1,957(9)	V10 – O28	1,884(9)
V3 – O5	2,018(8)	V10 – O29	1,927(7)
V3 – O8	2,004(6)	V10 – O35	1,782(8)
V3 – O9	1,626(7)	V11 – O3	2,010(7)
V3 – O10	1,977(7)	V11 – O7	1,974(7)
V3 – O11	2,046(7)	V11 – O23	2,008(7)
V4 – O8	1,907(10)	V11 – O25	2,024(6)
V4 – O10	1,917(7)	V11 – O31	1,585(7)
V4 – O17	1,895(9)	V12 – O3	1,902(6)
V4 – O21	1,942(7)	V12 – O4	1,873(7)
V4 – O34	1,596(8)	V12 – O24	1,638(7)
V5 – O11	1,893(7)	V12 – O25	1,936(7)
V5 – O12	1,624(6)	V12 – O29	1,896(7)
V5 – O13	1,788(6)	V13 – O7	1,989(8)
V5 – O14	1,960(7)	V13 – O20	1,858(9)
V5 – O15	1,942(6)	V13 – O21	1,884(7)
V6 – O10	1,922(8)	V13 – O22	1,585(7)
V6 – O13	1,852(6)	V13 – O23	1,930(7)
V6 – O16	1,588(7)	V14 – O14	1,937(7)
V6 – O17	1,975(7)	V14 – O15	1,906(7)
V6 – O18	1,919(9)	V14 – O27	1,585(7)
V7 – O17	1,898(9)	V14 – O28	1,940(8)
V7 – O18	1,914(8)	V14 – O29	1,931(6)
V7 – O19	1,883(11)	V15 – O4	1,906(7)
V7 – O20	1,928(9)	V15 – O5	1,903(7)
V7 – O33	1,638(8)	V15 – O11	1,926(7)
V8 – O14	1,942(7)	V15 – O15	1,902(7)
V8 – O18	2,001(9)	V15 – O30	1,596(6)
V8 – O19	2,017(8)		

O1 – V1 – O2	102,6(4)	O18 – V8 – O28	156,9(4)
O1 – V1 – O3	105,5(3)	O18 – V8 – O36	104,1(4)
O1 – V1 – O4	99,9(4)	O19 – V8 – O28	96,3(3)
O1 – V1 – O5	104,9(4)	O19 – V8 – O36	101,8(4)
O2 – V1 – O3	90,2(3)	O28 – V8 – O36	99,0(4)
O2 – V1 – O4	157,4(3)	O19 – V9 – O20	80,7(4)
O2 – V1 – O5	90,6(3)	O19 – V9 – O23	145,9(4)
O3 – V1 – O4	83,1(3)	O19 – V9 – O32	105,5(4)
O3 – V1 – O5	148,6(3)	O19 – V9 – O35	92,5(4)
O4 – V1 – O5	84,3(3)	O20 – V9 – O23	80,9(4)
O2 – V2 – O6	103,4(5)	O20 – V9 – O32	101,6(5)
O2 – V2 – O7	94,7(3)	O20 – V9 – O35	157,2(3)
O2 – V2 – O8	97,5(4)	O23 – V9 – O32	106,2(4)
O2 – V2 – O21	155,7(3)	O23 – V9 – O35	93,5(3)
O6 – V2 – O7	106,8(4)	O32 – V9 – O35	101,2(6)
O6 – V2 – O8	103,7(4)	O25 – V10 – O26	104,7(4)
O6 – V2 – O21	100,9(4)	O25 – V10 – O28	144,5(3)
O7 – V2 – O8	143,3(4)	O25 – V10 – O29	78,1(3)
O7 – V2 – O21	77,6(3)	O25 – V10 – O35	96,0(3)
O8 – V2 – O21	77,2(4)	O26 – V10 – O28	106,1(4)
O5 – V3 – O8	98,5(4)	O26 – V10 – O29	102,5(4)
O5 – V3 – O9	98,4(4)	O26 – V10 – O35	100,6(4)
O5 – V3 – O10	158,0(4)	O28 – V10 – O29	78,5(3)
O5 – V3 – O11	77,1(3)	O28 – V10 – O35	95,2(4)
O8 – V3 – O9	103,8(4)	O29 – V10 – O35	156,9(4)
O8 – V3 – O10	77,9(3)	O3 – V11 – O7	95,6(3)
O8 – V3 – O11	154,0(3)	O3 – V11 – O23	156,6(3)
O9 – V3 – O10	103,5(4)	O3 – V11 – O25	77,7(3)
O9 – V3 – O11	102,2(3)	O3 – V11 – O31	102,8(3)
O10 – V3 – O11	96,5(3)	O7 – V11 – O23	79,6(3)
O8 – V4 – O10	81,8(3)	O7 – V11 – O25	155,8(3)
O8 – V4 – O17	142,5(3)	O7 – V11 – O31	99,8(3)
O8 – V4 – O21	77,5(3)	O23 – V11 – O25	97,2(3)
O8 – V4 – O34	103,9(6)	O23 – V11 – O31	100,7(3)
O10 – V4 – O17	82,6(3)	O25 – V11 – O31	104,3(3)
O10 – V4 – O21	139,6(3)	O3 – V12 – O4	86,2(3)
O10 – V4 – O34	109,2(4)	O3 – V12 – O24	109,3(4)
O17 – V4 – O21	93,2(4)	O3 – V12 – O25	82,5(3)
O17 – V4 – O34	113,4(6)	O3 – V12 – O29	140,4(3)
O21 – V4 – O34	109,3(4)	O4 – V12 – O24	108,3(4)

O11 – V5 – O12	105,8(3)	O4 – V12 – O25	145,7(3)
O11 – V5 – O13	93,0(3)	O4 – V12 – O29	90,3(3)
O11 – V5 – O14	144,1(3)	O24 – V12 – O25	106,0(4)
O11 – V5 – O15	77,9(3)	O24 – V12 – O29	109,2(4)
O12 – V5 – O13	103,1(3)	O25 – V12 – O29	78,5(3)
O12 – V5 – O14	106,7(3)	O7 – V13 – O20	143,4(3)
O12 – V5 – O15	101,6(3)	O7 – V13 – O21	77,8(3)
O13 – V5 – O14	93,9(3)	O7 – V13 – O22	111,1(5)
O13 – V5 – O15	155,2(3)	O7 – V13 – O23	81,2(3)
O14 – V5 – O15	81,3(3)	O20 – V13 – O21	93,3(4)
O10 – V6 – O13	92,4(3)	O20 – V13 – O22	105,3(5)
O10 – V6 – O16	106,7(4)	O20 – V13 – O23	84,3(4)
O10 – V6 – O17	80,4(3)	O21 – V13 – O22	110,7(4)
O10 – V6 – O18	146,0(3)	O21 – V13 – O23	140,8(3)
O13 – V6 – O16	102,5(3)	O22 – V13 – O23	107,6(4)
O13 – V6 – O17	156,2(3)	O14 – V14 – O15	82,8(3)
O13 – V6 – O18	94,5(3)	O14 – V14 – O27	107,7(4)
O16 – V6 – O17	101,3(3)	O14 – V14 – O28	80,4(3)
O16 – V6 – O18	104,2(4)	O14 – V14 – O29	138,9(3)
O17 – V6 – O18	80,0(3)	O15 – V14 – O27	110,9(3)
O17 – V7 – O18	82,0(3)	O15 – V14 – O28	140,1(3)
O17 – V7 – O19	143,6(3)	O15 – V14 – O29	93,1(3)
O17 – V7 – O20	89,7(5)	O27 – V14 – O28	108,6(4)
O17 – V7 – O33	107,8(5)	O27 – V14 – O29	111,9(3)
O18 – V7 – O19	83,5(4)	O28 – V14 – O29	77,0(3)
O18 – V7 – O20	145,6(3)	O4 – V15 – O5	87,8(3)
O18 – V7 – O33	107,0(5)	O4 – V15 – O11	143,6(3)
O19 – V7 – O20	83,7(5)	O4 – V15 – O15	89,2(3)
O19 – V7 – O33	108,2(5)	O4 – V15 – O30	107,1(3)
O20 – V7 – O33	107,3(4)	O5 – V15 – O11	82,8(3)
O14 – V8 – O18	98,7(3)	O5 – V15 – O15	143,2(3)
O14 – V8 – O19	158,2(4)	O5 – V15 – O30	105,9(4)
O14 – V8 – O28	78,2(3)	O11 – V15 – O15	110,0(3)
O14 – V8 – O36	99,9(4)	O11 – V15 – O30	109,3(3)
O18 – V8 – O19	78,0(4)	O15 – V15 – O30	78,1(3)

<sup>a</sup> Τα άτομα -O που δεν είναι αριθμημένα στο Σχήμα 18 είναι μ<sub>3</sub>-O<sup>2-</sup>.

Η απόδοση των οξειδωτικών βαθμίδων των κέντρων V είναι μόνο τυπική γιατί στα μικτούς-σθένους πολυοξοβαναδικά ιόντα υπάρχει πλήρης ή μερικός απεντοπισμός των ασυζεύκτων



ηλεκτρονίων  $V^{IV}$  ανάμεσα σε όλα τα κέντρα V, [Nunes G.G., et al, J. Inorg. Biochem., 108, 36, 2012] και [Zhang C.D., et al, Polyhedron 26, 1514, 2007].

**Πίνακας 5.4.2 Υπολογισμοί BVS (Bond Valence Sum) για τα άτομα V στο συμπλόκο Cadivan  $\{(L''H_2)_3[V_{15}O_{36}] \cdot 14H_2O\}^a$ .**

Άτομο	V(IV)	V(V)
<b>V1</b>	<u>4,24</u>	4,63
<b>V2</b>	4,51	<u>4,83</u>
<b>V3</b>	<u>3,70</u>	3,89
<b>V4</b>	4,53	<u>4,81</u>
<b>V5</b>	4,46	<u>4,87</u>
<b>V6</b>	4,52	<u>4,84</u>
<b>V7</b>	<u>4,17</u>	4,60
<b>V8</b>	<u>3,73</u>	3,82
<b>V9</b>	<u>4,16</u>	4,38
<b>V10</b>	4,99	<u>5,23</u>
<b>V11</b>	<u>3,93</u>	4,16
<b>V12</b>	<u>4,19</u>	4,53
<b>V13</b>	4,54	<u>4,78</u>
<b>V14</b>	<u>4,12</u>	4,35
<b>V15</b>	<u>4,12</u>	4,33

<sup>a</sup> Η υπογραμμισμένη τιμή είναι η πλησιέστερη στο φορτίο για το οποίο αυτή υπολογίσθηκε. Η οξειδωτική βαθμίδα είναι ο πλησιέστερος ακέραιος αριθμός προς την υπογραμμισμένη τιμή.

Το ιόν  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  έχει σχήμα σφαίρας. Τα 15 μεταλλικά κέντρα βρίσκονται στην επιφάνεια της σφαίρας. Δεν υπάρχουν κρυσταλλογραφικά στοιχεία συμμετρίας και έτσι τα 15 ιόντα V και οι 36 όξο υποκαταστάτες είναι κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητα (οι).

**Πίνακας 5.4.3 Αντιπροσωπευτικές αποστάσεις  $V \cdots V$  (Å) στο πολυοξοβαναδικό ιόν του συμπλόκου Cadivan  $(L''H_2)_3[V_{15}O_{36}] \cdot 14H_2O$ .**

V1 $\cdots$ V2	3,289	V5 $\cdots$ V13	6,792
V1 $\cdots$ V8	6,479	V6 $\cdots$ V7	2,930
V2 $\cdots$ V3	3,531	V6 $\cdots$ V12	6,776
V3 $\cdots$ V4	2,972		

Οι αποστάσεις  $V \cdots V$  ποικίλουν (Πίνακας 5.4.3). Σε μικρότερη απόσταση βρίσκονται μεταλλικά κέντρα που γεφυρώνονται διπλά, π.χ.  $V6 \cdots V7 = 2,930 \text{ \AA}$ . Ιόντα V που

γεφυρώνονται μονά απέχουν περισσότερο, π.χ. V2...V3 = 3,531 Å. Πολύ απομακρυσμένα είναι ιόντα V που δεν γεφυρώνονται, π.χ. V5...V13 = 6,792 Å.

Κάθε ιόν V είναι 5-ενταγμένο και σχηματίζει δεσμούς με ένα τερματικό όξο- υποκαταστάτη και 4 γεφυρωτικά (μ<sub>2</sub><sup>-</sup>, μ<sub>3</sub><sup>-</sup>) ιόντα οξειδίου. Οι 15 τερματικοί όξο- υποκαταστάτες βρίσκονται στο εξωτερικό μέρος της σφαίρας, που ορίζουν τα 15 μεταλλικά κέντρα. Η γεωμετρία ένταξης, του κάθε V είναι παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική, όπως προκύπτει από την ύπαρξη δύο μεγάλων (trans) γωνιών O-V-O.

**Πίνακας 5.4.4 Επιλεγμένες γωνίες V-O-V (°) στο πολυοξοβαναδικό ιόν του συμπλόκου Cadivan {(L''H<sub>2</sub>)<sub>3</sub>[V<sub>15</sub>O<sub>36</sub>]:14H<sub>2</sub>O}.**

V1-O2-V2	127,2	V5-O13-V6	128,6
V1-O5-V3	128,7	V5-O15-V14	98,7
V2-O8-V4	104,3	V9-O35-V10	125,7
V3-O11-V5	131,4	V11-O7-V13	97,9

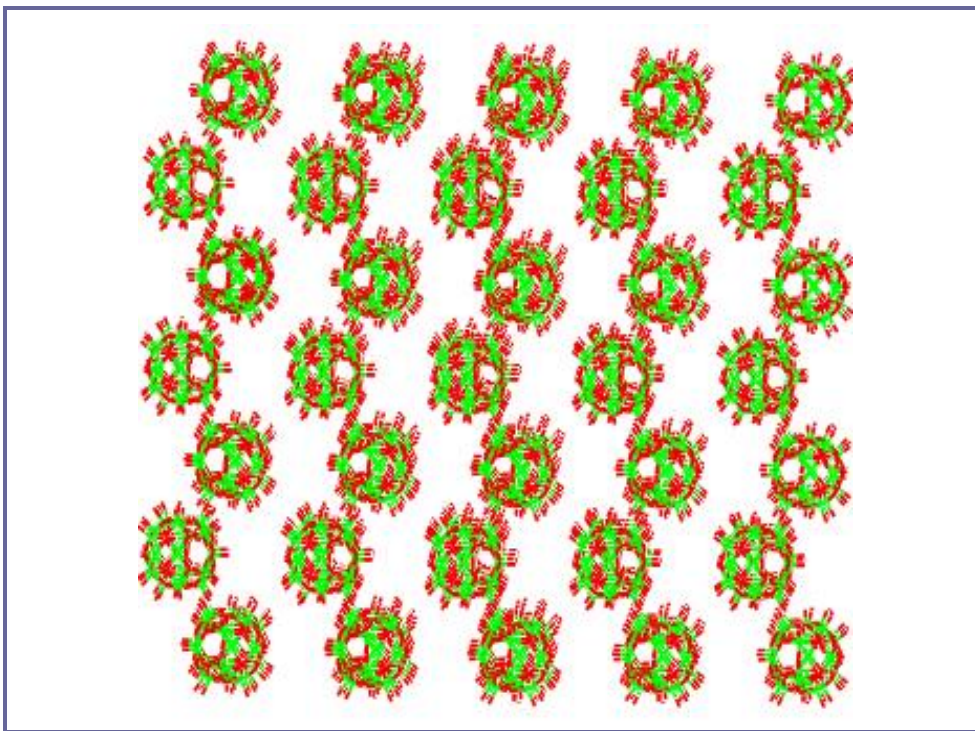
Η τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία ένταξης επιβεβαιώνεται και από τη μελέτη της παραμέτρου τ (δείκτης τριγωνικότητας), [Addison A.W., et al, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1349, 1984], που εξάγεται από την εξίσωση (5.4.2),

$$\tau = \frac{(\beta - \alpha)}{60} \quad (5.4.2)$$

όπου β και α οι δύο μεγαλύτερες γωνίες ένταξης γύρω από το μεταλλοϊόν (τ=0 για ιδανική τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία, τ=1 για τριγωνική διπυραμιδική γεωμετρία). Έτσι π.χ. η παράμετρος τ για τα ιόντα V1, V3, V5, V8, V10 και V14 είναι 0,15, 0,07, 0,19, 0,02, 0,21 και 0,02, αντίστοιχα. Κατά συνέπεια η μοριακή δομή του ανιόντος [V<sub>15</sub>O<sub>36</sub>]<sup>6-</sup> προκύπτει από 15 τετραγωνικές πυραμίδες {VO<sub>5</sub>}, που μοιράζονται κοινές κορυφές και ακμές. Την αξονική θέση κάθε τετραγωνικής πυραμίδας καταλαμβάνει ο τερματικός όξο- υποκαταστάτης, ενώ το επίπεδο βάσης συγκροτούν 4 γεφυρωτικά ιόντα O<sup>2-</sup>. Το μεταλλικό κέντρο βρίσκεται λίγο πάνω από το επίπεδο βάσης, προς τη μεριά του τερματικού όξο- υποκαταστάτη.

Τα μήκη δεσμού V<sup>IV</sup>-O (τερματικό) κυμαίνονται στην περιοχή 1,585-1,668 Å, ενώ οι μέσοι όροι των 5 μηκών δεσμού V<sup>IV</sup>-O για κάθε κέντρο V<sup>IV</sup> στην περιοχή 1,847-1,946 Å. Ο μέσος όρος των trans γωνιών O-V<sup>IV</sup>-O είναι 149,4°. Τα μήκη δεσμού V<sup>V</sup>-O (τερματικό) κυμαίνονται στην περιοχή 1,555-1,624 Å, ενώ οι μέσοι όροι των 5 μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-O για κάθε κέντρο V<sup>V</sup> στην περιοχή 1,813-1,851 Å. Ο μέσος όρος των trans γωνιών O-V<sup>V</sup>-O είναι 147,4°.

Οι παραπάνω τιμές είναι τυπικές για μικτού-σθένους ιόντα  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$ , [Yi Z., et al, CrystEngComm, 12, 242, 2010], [Nunes G.G., et al, J. Inorg. Biochem., 108, 36, 2012], [Zhang C.-D., et al, Polyhedron 26, 1514, 2007], [Shi Shu Yun, et al, J. Coord. Chem. 62, 2937, 2009], [Dong B., et al, Polyhedron 26, 1310, 2007], [Dong B., et al, J. Mol. Struct., 788, 200, 2006].

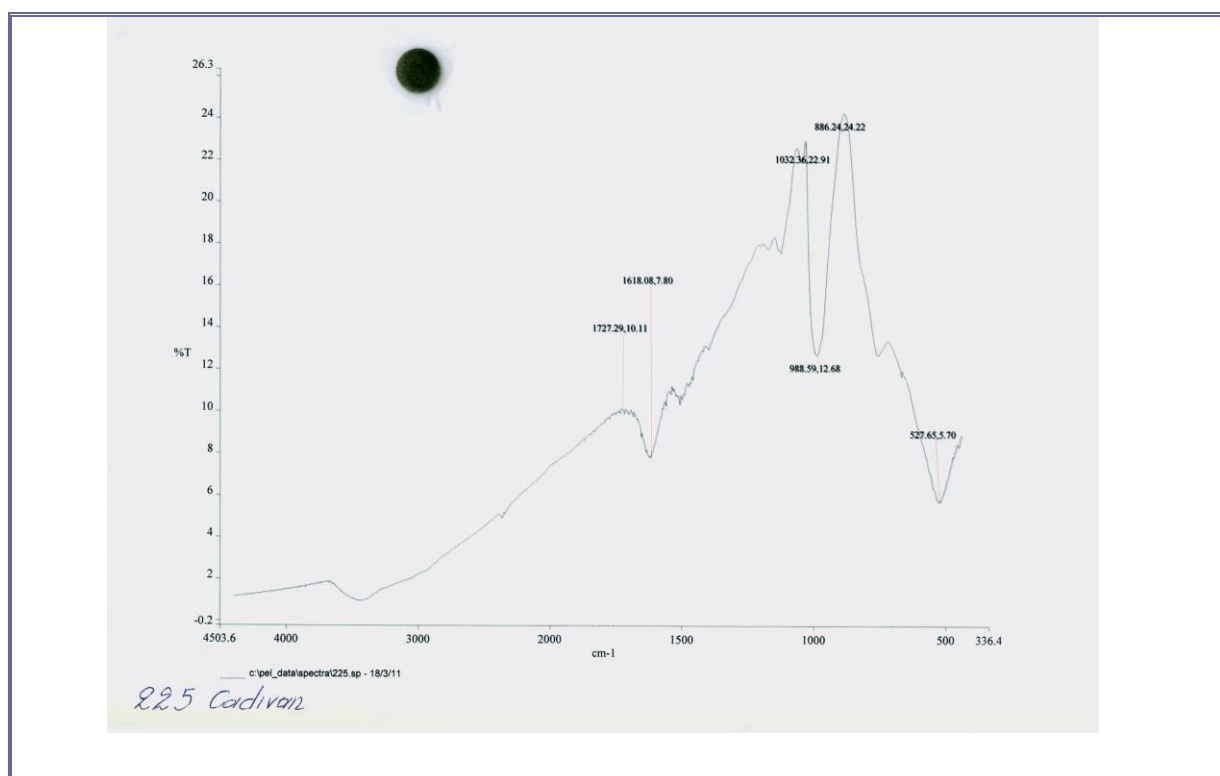


Εικόνα 5.4.3 Άποψη της κρυσταλλικής δομής του συμπλόκου Cadivan,  $\{(L''H_2)_3[V_{15}O_{36}] \cdot 14H_2O\}$ .

Γενικά οι τιμές των μηκών δεσμού V<sup>V</sup>-O είναι μικρότερες από τις αντίστοιχες V<sup>IV</sup>-O, όπως αναμένεται. Τα μήκη δεσμού V<sup>IV</sup>-O (τερματικό) και V<sup>V</sup>-O (τερματικό) υποδηλώνουν διπλούς δεσμούς βαναδίου-οξυγόνου, [Miras H.N., et al, Chem. Eur. J., 11(8), 2295-2306, 2005], [Hayashi Y., et al, Chem. Lett., 30, 170-171, 2001], [Muller A., et al, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 26, 1045-46, 1987], [Li Y.-G., et al, Polyhedron, 21, 2601, 2002], [Karet G.B., et al, Chem. Commun., 2249, 1999], [Drezen T., et al, J. Solid State Chem., 136, 298, 1998]. Από τους 36 όξο υποκαταστάτες, οι 15 (O1, O6, O9, O12, O16, O22, O24, O26, O27, O30, O31, O32, O33, O34, O36) είναι τερματικοί, οι τρεις (O2, O13, O35) είναι μ<sub>2</sub> και οι υπόλοιποι 18 είναι μ<sub>3</sub>. Έτσι η πλήρης παράσταση του δομικού πυρήνα είναι  $[V^{IV}_9V^V_6O_{15}(\mu_2-O)_3(\mu_3-O_{18})]^{6-}$ . Ο μέσος όρος των γωνιών V-(μ<sub>2</sub>-O)-V είναι 127,2° (Πίνακας 5.4.3).

Ο μη-εντοπισμός των ατόμων H της δομής του Cadivan καθιστά κάθε συζήτηση για δεσμούς -H προβληματική και μη-αξιόπιστη. Φαίνεται ότι τα πολυβαναδικά ιόντα  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  "**πακετάρουνται**" σε στρώματα, που αποτελούνται από παράλληλες zig-zag αλυσίδες, κατά μήκος του κρυσταλλογραφικού άξονα c. Το υπερμοριακό πλέγμα σταθεροποιείται με δεσμούς -H μεταξύ των συμπλόκων ανόντων και των κατιόντων  $L''H_2^{2+}$ , ενώ ρόλο διαδραματίζουν και τα πλεγματικά μόρια H<sub>2</sub>O. Το σύμπλοκο Cadivan είναι ένα νέο μέλος

της οικογένειας των ενώσεων που περιέχουν το πολυοξοδεκαπεντεβαναδικό ιόν  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$ . Αυτά υπάρχουν στα οξειδωτικά επίπεδα  $V^{IV}_6V^V_9$ ,  $V^{IV}_7V^V_8$ ,  $V^{IV}_8V^V_7$  και  $V^{IV}_{10}V^V_5$ , [Yi Z., et al, CrystEngComm, 12, 242, 2010], [Nunes G.G., et al, J. Inorg. Biochem., 108, 36, 2012], [Zhang C.-D., et al, Polyhedron 26, 1514, 2007], [Shi S., et al, J. Coord. Chem. 62, 2937, 2009], [Dong B., et al, Polyhedron 26, 1310, 2007], [Dong B., et al, J. Mol. Struct., 788, 200, 2006], [Miras H.N., et al, Chem. Eur. J., 11, 2295, 2306], [Hayashi Y., et al, Chem. Lett., 170, 2001], [Muller A., et al, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 26, 1045, 1987], [Li Y.-G., et al, Polyhedron, 21, 2601, 2002], [Karet G.B., et al, Chem. Commun., 2249, 1999] και [Drezen T., et al, J. Solid State Chem., 136, 298, 1998].

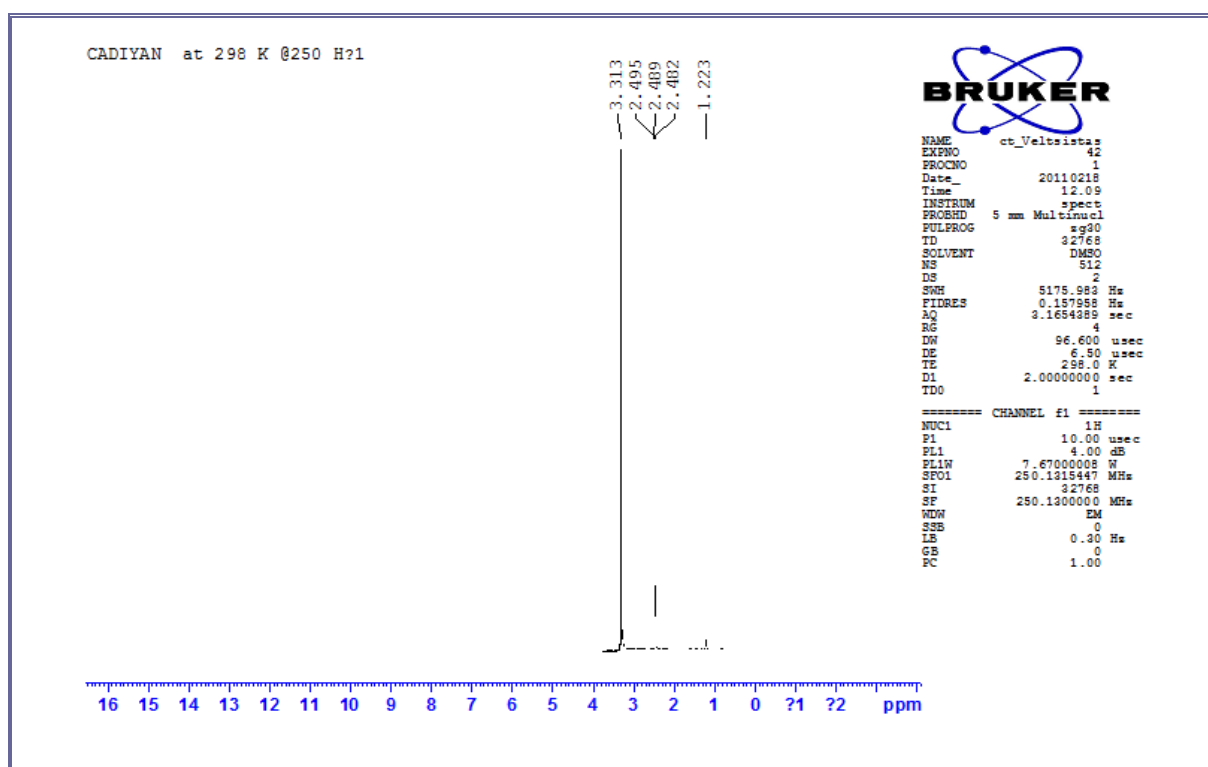


**Εικόνα 5.4.4 Το υπέρυθρο φάσμα της νέας πολυβαναδικής ενώσεως Cadivan,  $\{(L''H_2)_3[V_{15}O_{36}] \cdot 14H_2O\}$ .**

Κατά συνέπεια η σύμπλοκος ένωση Cadivan αποτελεί το πρώτο δομικά χαρακτηρισμένο σύμπλοκο, που περιέχει το ανιόν  $[V^{IV}_9V^V_6O_{36}]^{6-}$  και έτσι το επίπεδο  $V^{IV}_9V^V_6$  αποτελεί σημαντική προσθήκη στη Βιβλιογραφία. Τα περισσότερα δομικά χαρακτηρισμένα ανιόντα  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  περιέχουν στο κέντρο της σφαιρικής δομής τους ένα ανιόν  $Cl^-$ , όπως η αξιοσημείωτη ένωση  $(Et_3N)_5[V^{IV}_7V^V_8O_{36}(Cl)]$ , [Miras H.N., et al, Chem. Eur. J., 11, 2295-2306, 2005]. Το ιόν  $Cl^-$  θεωρείται ως "φιλοξενούμενος" ("guest") και το μητρικό  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  διαδραματίζει το ρόλο του "οικοδεσπότη" ("host"). Το ιόν  $Cl^-$  υιοθετεί μια τρι-εικοσαεδρική ένταξη, με το μέσο όρο των αποστάσεων του  $Cl^-$  από τα 23 άτομα O να είναι  $\sim 3,3 \text{ \AA}$ . Σε τέτοια ιόντα η μέση ακτίνα του κλωβού (οι αποστάσεις  $V \cdots Cl$ ) είναι  $\sim 3,45 \text{ \AA}$ .

Το σύμπλοκο Cadivan περιέχει μόλις το δεύτερο χαρακτηρισμένο ανιόν  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$ , που δεν έχει εγκλωβισμένο  $Cl^-$ . Το άλλο σύμπλοκο, που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία είναι

το  $(\text{Et}_4\text{N})_5[\text{V}^{\text{IV}}_8\text{V}^{\text{V}}_7\text{O}_{36}]\cdot 1,28\text{MeCN}$ , [Karet G.B., et al, 1999]. Το IR φάσμα του συμπλόκου αποτυπώνει την ύπαρξη των ιόντων  $\text{L}''\text{H}_2^{2+}$  και  $[\text{V}_{15}\text{O}_{36}]^{6-}$ , καθώς και των πλεγματικών μορίων  $\text{H}_2\text{O}$  στη δομή του, [Εικόνα 5.4.4]. Η ευρεία ταινία περί τα  $3400\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται, [Perlepes S.P., et al, Polyhedron 11, 1471-79, 1992], στη δόνηση τάσεως των δεσμών O-H,  $\nu(\text{OH})$ , του πλεγματικού  $\text{H}_2\text{O}$ . Η ευρεία ταινία στην περιοχή  $3050\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$  αποδίδεται, [Roman P., et al, Mater. Res. Bull., 27, 573, 1992], στη δόνηση  $\nu(\text{NH}_3^+)$  των αντισταθμιστικών κατιόντων  $\text{L}''\text{H}_2$ . Οι δονήσεις  $\delta_{\text{as}}(\text{NH}_3^+)$  και  $\delta_{\text{s}}(\text{NH}_3^+)$  εμφανίζονται στα  $1618$  και περί τα  $1500\text{ cm}^{-1}$ , αντίστοιχα, [Roman P., et al, Mater. Res. Bull., 27, 573, 1992]. Η ευρύτητα και η σχετικά χαμηλή συχνότητα των ταινιών  $\nu(\text{OH})$  και  $\nu(\text{NH}_3^+)$  υποδηλώνουν τη συμμετοχή των μορίων  $\text{H}_2\text{O}$  και των ομάδων  $-\text{NH}_3^+$  σε δεσμούς H. Η ισχυρή ταινία στα  $989\text{ cm}^{-1}$  αντικατροπίζει τη δόνηση τάσεως του δεσμού V-O (τερματικό),  $\nu(\text{V}=\text{O})$ , ενώ η ευρεία ταινία περί τα  $750\text{ cm}^{-1}$  και ο ώμος (shoulder) περί τα  $835\text{ cm}^{-1}$  πιθανότατα οφείλονται, σε αντισυμμετρικές δονήσεις τάσεως  $\nu_{\text{as}}(\text{V}-\text{O}-\text{V})$ , των ομάδων V-O (γεφυρωτικό)-V, [Nunes G.G., et al, J. Inorg. Biochem., 108, 36, 2012] και [Shi Shu Yun, et al, J. Coord. Chem., 62, 2937, 2009].



Εικόνα 5.4.5 Το 250 MHz  $^1\text{H}$  NMR φάσμα του συμπλόκου  $(\text{L}''\text{H}_2)_3[\text{V}_{15}\text{O}_{36}]\cdot 14\text{H}_2\text{O}$  (**4**) σε  $\text{DMSO-d}_6$ .

Παρά την παρουσία κέντρων  $\text{V}^{\text{IV}}$  και τη συνεπακόλουθη παραμαγνητική φύση του συμπλόκου, το  $^1\text{H}$  NMR φάσμα του **4** σε  $\text{DMSO-d}_6$  παρουσιάζει οξεία (sharp), και όχι ευρέα (broad) σήματα, που οφείλονται στα πρωτόνια, που είναι συνδεδεμένα με τα άτομα C του  $\text{L}''\text{H}_2^{2+}$ . Η οξεία φύση των σημάτων μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι στο διάλυμα τα διαμαγνητικά κατιόντα  $\text{L}''\text{H}_2^{2+}$  βρίσκονται καλώς διαχωρισμένα από τα παραμαγνητικά

κατιόντα  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$ . Τα σήματα στις τιμές δ 3,31, 2,49 και 1,22 ppm αποδίδονται, [AIST, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, "Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)", Tsukuba Science City, Tokyo Japan, 2013], με επιφύλαξη στα πρωτόνια των ανθράκων των θέσεων 1 και 5 του  $L''H_2^{2+}$ , στα πρωτόνια των ανθράκων 2-4 του  $L''H_2^{2+}$  και στα πρωτόνια της  $-NH_3^+$ , αντίστοιχα. Η παρουσία των παραμαγνητικών ιόντων στο διάλυμα σίγουρα επηρεάζει κάπως τα φάσμα του  $L''H_2^{2+}$ , με συνέπεια να μην εμφανίζεται η αναμενόμενη σχάση των κορυφών και η ανισοδυναμία των πρωτονίων που είναι συνδεδεμένα με τους άνθρακες των θέσεων 2, 4 και 3. Το φάσμα EPR (συχνότητες της περιοχής X) σε σκόνη του συμπλόκου Cadivan (**4**) στους 77°K παρουσιάζει μια ευρεία κορυφή περί τα 340mT ( $g=1,965$  και  $\Delta_{pp}=44,1mT$ ), χωρίς εμφάνιση υπέρλεπτης υφής. Η κορυφή οφείλεται, [Mabbs F.E., 1993], σε μετάπτωση  $\Delta M_s = \pm 1$  και διευρύνεται λόγω ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων ανταλλαγής και διπολικών μαγνητικών αλληλεπιδράσεων ανταλλαγής ανάμεσα στα κέντρα  $V^{IV}$  ( $S=1/2$ ). Το φάσμα είναι χαρακτηριστικό συμπλόκων ιόντων  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  μικτού σθένους, [Nunes G.G., et al, 2012], [Dong B., et al, 2007].

Η ενεργός μαγνητική ροπή ( $\mu_{eff}$ ) του συμπλόκου Cadivan σε θερμοκρασία δωματίου είναι 4,30 B.M. (ή  $\mu_B$ ). Η τιμή αυτή είναι σημαντικά μικρότερη από τη θεωρητική τιμή των 5,22 B.M., που αναμένεται για 9 μη-αλληλεπιδρώντα κέντρα  $V^{IV}$  ( $S=1/2$ ). Τα διαμαγνητικά κέντρα  $V^V$  δεν συνεισφέρουν στη μαγνητική ροπή. Η τιμή των 4,30 B.M. υποδηλώνει σημαντικές μαγνητικές αλληλεπιδράσεις ανταλλαγής σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί, [Miras H.N., et al, 2005], από τις μικρές αποστάσεις μεταξύ των κέντρων  $V^{IV}$  ( $\sim 3 \text{ \AA}$ ) και την ύπαρξη όξο- γεφυρών.

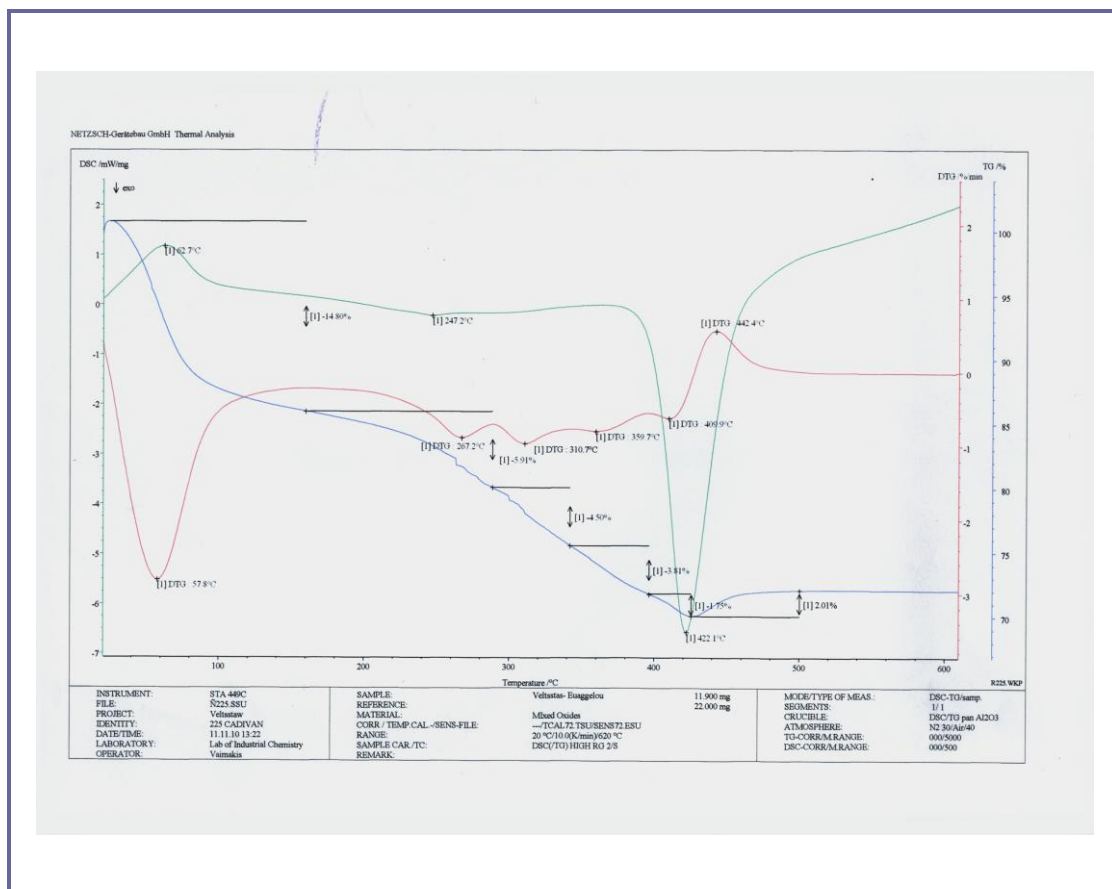
Η διαφορά  $\Delta\mu_{eff}$  ( $\mu_{eff}$  θεωρητική-  $\mu_{eff}$  πειραματική) είναι  $5,22-4,30 = 0,92$  B.M., επιβεβαιώνοντας τη μελέτη, [Miras H.N., et al, 2005] της ερευνητικής ομάδας του Καθηγητού Θ. Καμπανού, σύμφωνα με την οποία οι αλληλεπιδράσεις spin-spin ανάμεσα στα κέντρα  $V^{IV}$  αυξάνεται καθώς μειώνεται το αρνητικό φορτίο της ανιοντικής  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  πλειάδας (cluster). Η τιμή 0,92 B.M. βρίσκεται κοντά στην τιμή 1,00 B.M. της  $\Delta\mu_{eff}$  που διαπιστώθηκε για το ανιόν  $[V^{IV}_8V^V_7Cl]^{6-}$  στο μετά  $Et_4N^+$  άλας του.

Η θερμική διάσπαση του συμπλόκου (Σχήμα 5.4.6) μελετήθηκε με τις τεχνικές TGA, DTG και DSC. Υπάρχει μια βραδεία απώλεια βάρους στην περιοχή 30-180 °C ίση με 13,8%, που αντιστοιχεί ικανοποιητικά (θεωρητική τιμή: 13,2%) στην απομάκρυνση 14 moles  $H_2O$  ανά mole συμπλόκου.

Η υψηλής θερμοκρασίας απώλεια του κρυσταλλικού νερού φανερώνει ότι, τα πλεγματικά μόρια  $H_2O$  συμμετέχουν σε ισχυρούς δεσμούς H. Η απώλεια αυτή φαίνεται να είναι ενδόθερμη (DSC). Η βραδεία απώλεια βάρους συνεχίζεται μέχρι τους 422 °C. Η διάσπαση αυτή λαμβάνει χώρα σε τρία στάδια όπως διαπιστώνεται από την παρουσία τριών κορυφών DTG.

Ανάμεσα στους 422 και 500 °C υπάρχει μια μικρή αύξηση βάρους 2,01%, πιθανώς λόγω πρόσληψης  $O_2$ , [Shi S., et al, 2009], από το ποσοστό αέρα, που υπάρχει στο φέρον αέριο  $N_2$ . Το τελικό υπόλειμμα ( $> 500$  °C) έχει σταθερό βάρος μέχρι τους 620 °C (η υψηλότερη θερμοκρασία του πειράματος) και αντιπροσωπεύει το 72,1% του αρχικού βάρους. Η τιμή

αυτή βρίσκεται σε άριστη συμφωνία με τη θεωρητική τιμή 71,6% για το σχηματισμό (εξώθερμος) του  $V_2O_5$  ως τελικού προϊόντος της θερμικής διάσπασης.



Εικόνα 5.4.6 Οι καμπύλες TGA, DTG και DSC της θερμικής διάσπασης του πολυβαναδικού συμπλόκου της καδαβερίνης,  $(L''H_2)_3[V_{15}O_{36}] \cdot 14H_2O$  (4).

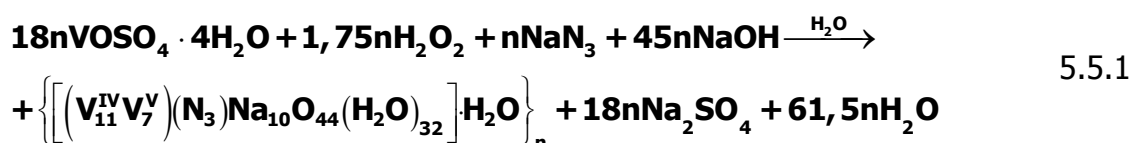
Είναι πιθανό, [Yi Zhihui, et al, 2010] ότι στους 422°C -δηλαδή πριν λάβει χώρα η αύξηση του βάρους- έχει σχηματισθεί κάποιο, από τα μικτού-σθένους οξειδία  $V_3O_7$  ή  $V_6O_{13}$ , ή μίγμα αυτών.

**ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.** Το σύμπλοκο λαμβάνεται στην μορφή των βαθέως χακι-πρασίνων ευμεγέθων, σχεδόν μελανών, βελονοειδών μονοκρυστάλλων, με απαστράπτουσες έδρες. Είναι δυσδιάλυτο στο ύδωρ, την αιθανόλη, την ακετόνη και τον αιθέρα. Διαλυτοποιείται ελαφρώς σε μεθανόλη και ικανοποιητικότερα στο DMSO. Ποσοτικότερη διαλυτοποίηση επιτυγχάνεται σε ορυκτά οξέα, φορμαμίδιο και διμεθυλοφορμαμίδιο.

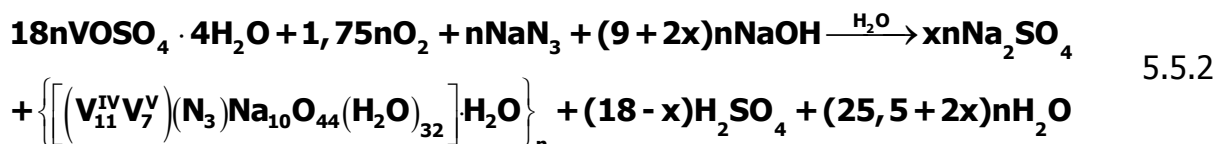
**Σημείο Τήξεως του συμπλόκου Cadivan:** Μέχρι τους 310°C καμία εμφανής τήξη. Εισαγόμενο απ' ευθείας στους 310°C, συμβαίνουν μικρές εκτινάξεις, χωρίς όμως φαινόμενα τήξεως. Για θερμοκρασίες  $\geq 310^\circ C$  καμία εμφανής τήξη, ενώ λαμβάνει χώρα ισχυρή σταδιακή μελάνωση, λόγω απανθράκωσης.

## 5.5- AZIVAN. Η Παρασκευή και ο Χαρακτηρισμός του Τρισδιάστατου (3D), Πολυμερούς Συμπλόκου: Catena- Δεκαοκτάκις- Οξο- Εξάκις-(μ<sub>2</sub>-οξο)- Εικοσι-(μ<sub>3</sub>-οξο) Βαναδικό(IV/V) Δεκανάτριο-(Τριανταδύο)-Υδατο- Εφυδατωμένο, $\{[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$ .

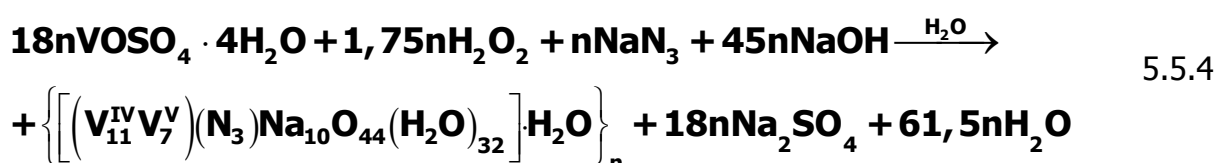
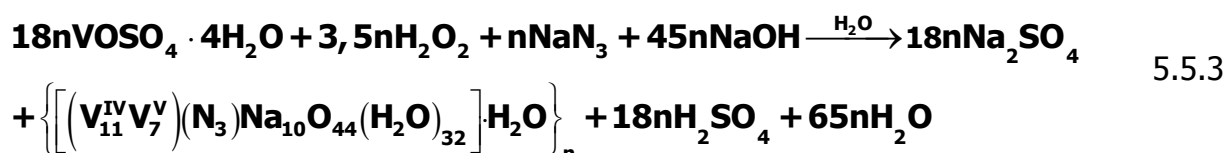
Η μέτρια θέρμανση μίγματος  $VOSO_4 \cdot 4H_2O$ ,  $H_2O_2$ ,  $NaN_3$  και  $NaOH$  σε νερό (70-80°C) επί μία ώρα, η διήθηση του μίγματος εν θερμώ και η κρυστάλλωση του σκούρου πράσινου διηθήματος έδωσε χακί-σκούρους πράσινους (σχεδόν μαύρους) κρυστάλλους του προϊόντος. Η ταυτότητα του προϊόντος διαπιστώθηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ σε μονοκρύσταλλο της ένωσης. Η τεχνική αυτή έδειξε ότι η ένωση είναι ένα πολύπλοκο πολυμερές με χημικό τύπο  $\{[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$  (**Azivan**). Η απόδοση της αντίδρασης κυμαίνεται σε 35-40%, βασισμένη στο ολικώς διαθέσιμο βανάδιο. Για το σχηματισμό του προϊόντος λαμβάνει χώρα μερική οξειδωση του V(IV) προς V(V), με πιθανά οξειδωτικά το οξυγόνο της ατμόσφαιρας ή το  $H_2O_2$ , ή και τα δύο. Με την παραδοχή ότι το  $H_2O_2$  δρα ως οξειδωτικό, η χημική αντίδραση της παρασκευής του συμπλόκου θα μπορούσε δυνητικά να σκιαγραφηθεί από τη χημική εξίσωση (5.5.1). Με την παραδοχή ότι το ατμοσφαιρικό οξυγόνο δρα ως οξειδωτικό, η χημική αντίδραση παρασκευής του Azivan



θα μπορούσε δυνητικά να σκιαγραφηθεί από τη χημική εξίσωση (5.5.2).

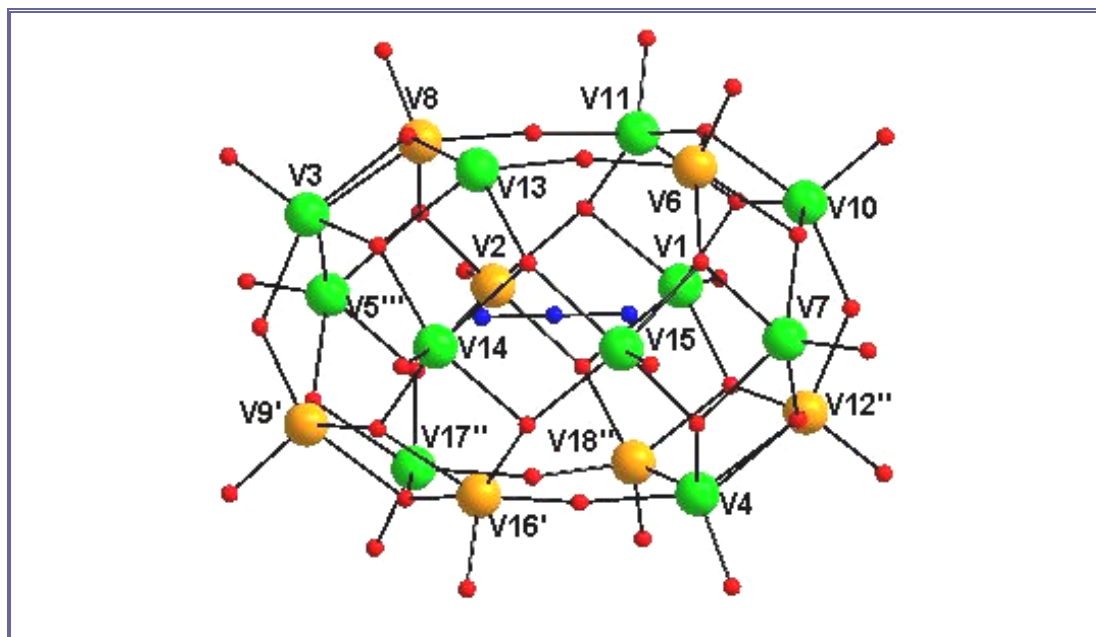


Στις χημικές εξισώσεις 5.5.1 και 5.5.2 το x δεν μπορεί να εκτιμηθεί με ακρίβεια. Το pH του διηθήματος από το οποίο καταβυθίστηκαν οι κρύσταλλοι ήταν ισχυρώς αλκαλικό, οπότε πιθανά δεν παράγεται  $H_2SO_4$ .





Σε μια τέτοια περίπτωση, οι χημικές εξισώσεις 5.5.3 και 5.5.4 παριστούν τις πιθανές χημικές αντιδράσεις παρασκευής του προϊόντος. Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Azivan (Πίνακες 5.5.1 έως 5.5.5 και Σχήματα 5.5.1 έως 5.5.3) αποτελείται από ένα 3D πολυμερές δίκτυο που συγκροτείται από δεκαοκτα-πυρηνικά ανιόντα  $[V^{IV}_{11}V^V_7O_{44}(N_3)]^{10-}$ , 1D κατιοντικές αλυσίδες με επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα, την  $\{Na_{10}(H_2O)_{32}\}^{10+}$  και πλεγματικά μόρια  $H_2O$ , σε αναλογία  $[V_{18}O_{44}(N_3)]^{10-}$  : δομική μονάδα αλυσίδας : πλεγματικό  $H_2O$  ίση με 1:1:1. Η σύνδεση των ανιόντων  $[V_{18}O_{44}(N_3)]^{10-}$  με τις αλυσίδες  $\{Na_{10}(H_2O)_{32}\}^{+n}$  επιτυγχάνεται με όξο υποκαταστάτες, που είναι τερματικοί στα κέντρα V του δεκαοκτα-βαναδικού ανιόντος, [Pan Cheng-Ling, et al, 2003].



Σχήμα 5.5.1 Η σφαιρική δομή του ανιόντος  $[V_{18}O_{44}(N_3)]^{10-}$  που υπάρχει στο 3D σύμπλοκο Azivan. Κώδικας χρωμάτων: κίτρινο ( $V^V$ ), πράσινο ( $V^{IV}$ ), μπλε (N), κόκκινο ( $O^{2-}$ ). Χάρην σαφήνειας, οι όξο υποκαταστάτες του ανιόντος δεν έχουν αριθμηθεί. Επίσης δεν φαίνεται η σύνδεση του ανιόντος με τις αλυσίδες  $\{Na_{10}(H_2O)_{32}\}^{+n}$ .

Αυτοί είναι οι όξο υποκαταστάτες O34, O62, O33, O53, O35, O36 και O32. Από αυτούς, οι υποκαταστάτες O33, O34, O36 και O53 γεφυρώνουν δύο ιόντα  $Na^I$  (συνολικά επομένως είναι τριπλά γεφυρωτικοί ή  $\mu_3$ ), ενώ οι υπόλοιποι (O32, O35 και O62) είναι διπλά γεφυρωτικοί, συνδέοντας ένα ιόν V και ένα ιόν  $Na^I$ .

Πίνακας 5.5.1 Μήκη δεσμού V-O και Na-O (Å), και γωνίες δεσμού O-V-O και O-Na-O ( $^\circ$ ) στο σύμπλοκο Azivan,  $\{[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$ .

V1 – O3	1,939(6)	V10 – O3	1,940(6)
V1 – O4'	1,908(6)	V10 – O15	1,992(6)
V1 – O14	1,946(6)	V10 – O29	1,619(6)
V1 – O48'	1,971(6)	V10 – O49	1,895(6)
V1 – O44	1,615(6)	V10 – O60	1,858(6)
V2 – O13	1,871(6)	V11 – O3	1,968(6)

V2 – O14	1,891(6)	V11 – O7	1,861(6)
V2 – O31	1,886(6)	V11 – O14	1,979(5)
V2 – O48'	1,873(6)	V11 – O15	1,934(6)
V2 – O51	1,598(6)	V11 – O35	1,621(6)
V3 – O21''	1,928(5)	V12 – O4	1,894(6)
V3 – O46	1,902(6)	V12 – O22''''''	1,905(6)
V3 – O47	1,999(6)	V12 – O52	2,013(6)
V3 – O64	1,610(6)	V12 – O60''''''	1,637(6)
V3 – O76	1,928(6)	V12 – O61	1,769(6)
V4 – O9	1,926(6)	V13 – O23	1,877(6)
V4 – O16	1,623(6)	V13 – O33	1,624(6)
V4 – O19	1,834(6)	V13 – O47	1,958(6)
V4 – O22	1,964(6)	V13 – O50	1,936(6)
V4 – O52'	1,938(6)	V13 – O76	1,958(6)
V5 – O13''''	1,990(6)	V14 – O50	1,935(6)
V5 – O21	1,935(6)	V14 – O55	1,925(6)
V5 – O31''''	1,965(6)	V14 – O65	1,971(6)
V5 – O32	1,607(6)	V14 – O76	1,947(6)
V5 – O54	1,948(6)	V14 – O80	1,634(6)
V6 – O8	1,922(6)	V15 – O8	1,954(6)
V6 – O15	1,926(6)	V15 – O9	1,974(6)
V6 – O23	1,720(6)	V15 – O18	1,625(6)
V6 – O62	1,629(6)	V15 – O50	1,965(6)
V6 – O49	2,014(6)	V15 – O55	1,937(6)
V7 – O8	1,939(6)	V16 – O19''''	1,776(6)
5V7 – O9	1,943(6)	V16 – O36	1,620(6)
V7 – O22	1,956(6)	V16 – O45	1,899(6)
V7 – O25	1,632(6)	V16 – O55''''	1,896(6)
V7 – O49	1,948(6)	V16 – O65''''	1,983(6)
V8 – O7	1,756(6)	V17 – O13''''''	1,976(5)
V8 – O21''	1,973(6)	V17 – O24	1,844(6)
V8 – O31	1,990(6)	V17 – O45''''	1,923(6)
V8 – O47	1,892(6)	V17 – O53	1,612(6)
V8 – O63	1,608(6)	V17 – O54''	1,970(6)
V9 – O30	1,626(6)	V18 – O4	1,957(6)
V9 – O45	2,020(6)	V18 – O24	1,756(6)

V9 – O46''''	1,732(6)	V18 – O34	1,616(6)
V9 – O54	1,924(6)	V18 – O48	1,998(6)
V9 – O65''''	1,874(6)	V18 – O52	1,911(6)
O3 – V1 – O4'	97,5(2)	O3– V10 – O15	80,2(2)
O3 – V1 – O14	79,2(2)	O3 – V10 – O29	109,2(3)
O3 – V1 – O48'	141,9(2)	O3 – V10 – O49	141,0(3)
O3 – V1 – O44	108,2(3)	O3 – V10 – O60	90,3(2)
O4' – V1 – O14	137,9(2)	O15 – V10 – O60	150,4(3)
O4' – V1 – O48'	78,4(2)	O15 – V10 – O29	105,2(3)
O4' – V1 – O44	106,8(3)	O15 – V10 – O49	78,9(2)
O14 – V1 – O48'	79,4(2)	O29 – V10 – O49	107,9(3)
O14 – V1 – O44	114,1(3)	O29 – V10 – O60	104,4(3)
O48' – V1 – O44	109,3(3)	O49 – V10 – O60	92,0(2)
O13 – V2 – O14	152,6(3)	O3 – V11 – O7	146,9(3)
O13 – V2 – O31	83,0(2)	O3 – V11 – O14	77,7(2)
O13 – V2 – O48'	90,9(3)	O3 – V11 – O15	80,9(2)
O13 – V2 – O51	103,4(3)	O3 – V11 – O35	107,3(3)
O14 – V2 – O31	89,4(3)	O7 – V11 – O14	88,9(2)
O14 – V2 – O48'	83,3(3)	O7 – V11 – O15	94,1(2)
O14 – V2 – O51	104,0(3)	O7 – V11 – O35	105,5(3)
O31 – V2 – O48'	151,5(3)	O14 – V11 – O15	144,7(2)
O31 – V2 – O51	103,8(3)	O14 – V11 – O35	107,0(3)
O48' – V2 – O51	104,7(3)	O15 – V11 – O35	106,0(3)
O21'' – V3 – O46	90,1(2)	O4 – V12 – O22''''	137,0(3)
O21'' – V3 – O47	78,2(2)	O4 – V12 – O52	77,5(2)
O21'' – V3 – O64	112,1(3)	O4 – V12 – O60''''	93,0(2)
O21'' – V3 – O76	137,9(3)	O4 – V12 – O61	109,4(3)
O46 – V3 – O47	149,3(2)	O22'''' – V12 – O52	77,2(2)
O46 – V3 – O64	103,7(3)	O22'''' – V12 – O60''''	110,0(3)
O46 – V3 – O76	90,8(2)	O22'''' – V12 – O61	93,5(2)
O47 – V3 – O64	107,1(3)	O52 – V12 – O60''''	152,3(3)
O47 – V3 – O76	80,0(2)	O52 – V12 – O61	103,6(3)
O64 – V3 – O76	108,5(3)	O60'''' – V12 – O61	104,2(3)
O9 – V4 – O16	105,1(3)	O23 – V13 – O33	107,0(3)
O9 – V4 – O19	91,2(3)	O23 – V13 – O47	95,6(2)
O9 – V4 – O22	78,4(2)	O23 – V13 – O50	87,1(3)

O9 – V4 – O52'	145,5(3)	O23 – V13 – O76	144,1(3)
O16 – V4 – O19	104,8(3)	O33 – V13 – O47	103,7(3)
O16 – V4 – O22	108,5(3)	O33 – V13 – O50	107,1(3)
O16 – V4 – O52'	105,8(3)	O33 – V13 – O76	108,6(3)
O19 – V4 – O22	146,6(3)	O47 – V13 – O50	146,8(2)
O19 – V4 – O52'	95,3(3)	O47 – V13 – O76	80,3(2)
O22 – V4 – O52'	77,7(2)	O50 – V13 – O76	78,5(2)
O13'''' – V5 – O21	139,7(2)	O50 – V14 – O65	141,9(2)
O13'''' – V5 – O31''''	78,0(2)	O50 – V14 – O76	78,7(2)
O13'''' – V5 – O32	111,0(3)	O50 – V14 – O80	110,4(3)
O13'''' – V5 – O54	78,0(2)	O50 – V14 – O55	83,5(3)
O21 – V5 – O31''''	78,9(2)	O55 – V14 – O65	77,5(2)
O21 – V5 – O32	107,9(3)	O55 – V14 – O76	140,2(3)
O21 – V5 – O54	99,0(2)	O55 – V14 – O80	109,3(3)
O31'''' – V5 – O32	110,5(3)	O65 – V14 – O76	95,4(2)
O31'''' – V5 – O54	138,7(2)	O65 – V14 – O80	107,0(3)
O32 – V5 – O54	109,4(3)	O76 – V14 – O80	110,2(3)
O8 – V6 – O15	145,5(2)	O8 – V15 – O9	80,8(2)
O8 – V6 – O23	94,0(3)	O8 – V15 – O18	105,9(3)
O8 – V6 – O49	75,6(2)	O8 – V15 – O50	90,3(3)
O8 – V6 – O62	103,9(3)	O8 – V15 – O55	145,0(2)
O15 – V6 – O23	97,3(3)	O9 – V15 – O18	105,3(3)
O15 – V6 – O49	77,6(2)	O9 – V15 – O50	148,1(2)
O15 – V6 – O62	104,1(3)	O9 – V15 – O55	87,6(3)
O23 – V6 – O49	148,0(3)	O18 – V15 – O50	106,6(3)
O23 – V6 – O62	106,1(3)	O18 – V15 – O55	109,0(3)
O49 – V6 – O62	105,8(3)	O50 – V15 – O55	82,3(2)
O8 – V7 – O9	81,9(2)	O19'''' – V16 – O36	104,7(3)
O8 – V7 – O22	140,6(2)	O19'''' – V16 – O45	98,1(3)
O8 – V7 – O25	110,5(3)	O19'''' – V16 – O55''''	91,8(3)
O8 – V7 – O49	76,8(2)	O19'''' – V16 – O65''''	150,5(3)
O9 – V7 – O22	78,2(2)	O36 – V16 – O45	104,7(3)
O9 – V7 – O25	110,7(3)	O36 – V16 – O55''''	105,2(3)
O9 – V7 – O49	138,7(3)	O36 – V16 – O65''''	104,7(3)
O22 – V7 – O25	108,2(3)	O45 – V16 – O55''''	144,9(3)
O22 – V7 – O49	96,6(2)	O45 – V16 – O65''''	77,1(2)

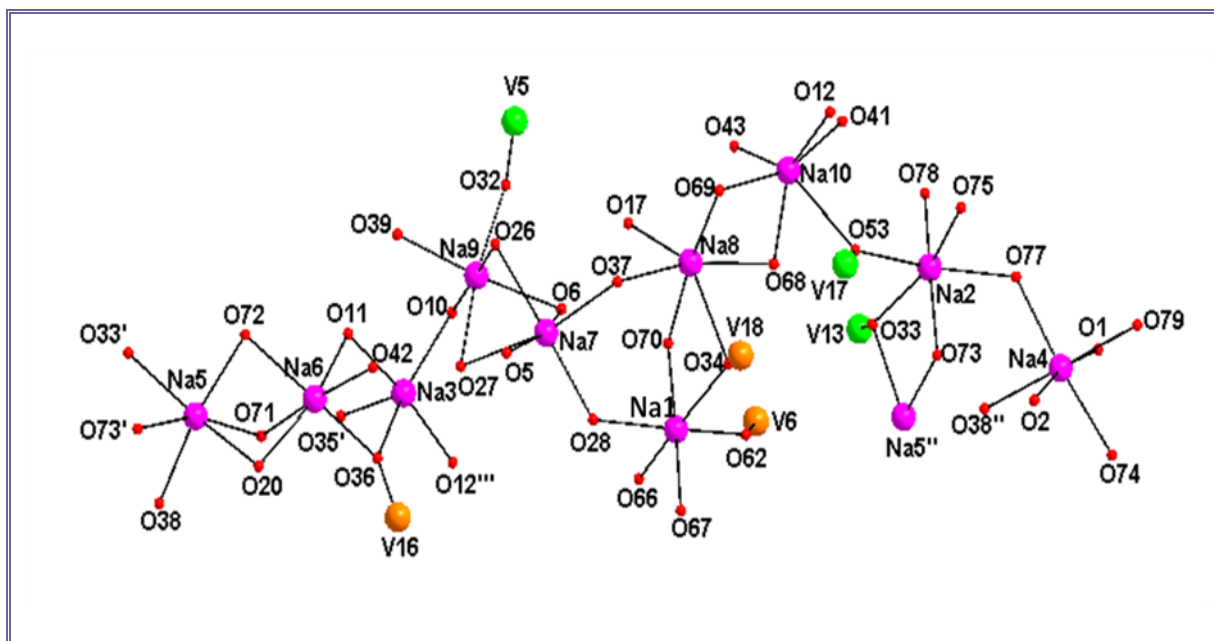
O25 – V7 – O49	109,9(3)	O55'''' – V16 – O65''''	77,9(2)
O7– V8 – O21''	148,9(3)	O13'''''' – V17 – O24	89,9(3)
O7 – V8 – O31	90,2(3)	O13'''''' – V17 – O45''''	143,7(2)
O7 – V8 – O47	98,2(3)	O13'''''' – V17 – O53	106,0(3)
O7 – V8 – O63	105,8(3)	O13'''''' – V17 – O54''	77,8(2)
O21'' – V8 – O31	77,4(2)	O24 – V17 – O45''''	96,0(3)
O21'' – V8 – O47	79,7(2)	O24 – V17 – O53	106,4(3)
O21'' – V8 – O63	104,8(3)	O24 – V17 – O54''	147,6(3)
O31 – V8 – O47	147,9(2)	O45'''' - V17 – O53	106,5(3)
O31 – V8 – O63	103,6(3)	O45'''' - V17 – O54''	78,3(2)
O47 – V8 – O63	103,8(3)	O53 - V17 – O54''	105,8(3)
O30 – V9 – O45	102,6(3)	O4 – V18 – O24	145,9(3)
O30 – V9 – O46''''	104,4(3)	O4 – V18 – O34	107,0(3)
O30 – V9 – O54	107,9(3)	O4 – V18 – O48	76,6(2)
O30 – V9 – O65''''	107,0(3)	O4 – V18 – O52	78,5(2)
O45 – V9 - O46''''	153,0(3)	O24 – V18 – O34	106,2(3)
O45 – V9 – O54	77,1(2)	O24 – V18 – O48	88,7(3)
O45 – V9 - O65''''	76,8(2)	O24 – V18 – O52	100,0(3)
O46'''' - V9 – O54	95,1(3)	O34 – V18 – O48	103,3(3)
O46'''' - V9 – O65''''	94,6(3)	O34 – V18 – O52	105,0(3)
O54- V9 – O65''''	140,0(3)	O48 – V18 – O52	146,6(2)
Na1 – O28	2,416(7)	Na6 – O20	2,416(6)
Na1 – O34	2,455(7)	Na6 – O36	2,416(6)
Na1 – O62	2,514(7)	Na6 – O42	2,370(6)
Na1 – O66	2,406(7)	Na6 – O71	2,420(7)
Na1 – O67	2,417(7)	Na6 – O72	2,449(6)
Na1 – O70	2,329(7)	Na7 – O5	2,361(6)
Na2 – O33	2,435(7)	Na7 – O6	2,464(7)
Na2 – O53	2,567(6)	Na7 – O26	2,469(7)
Na2 – O73	2,359(7)	Na7 – O27	2,629(7)
Na2 – O75	2,358(7)	Na7 – O28	2,409(6)
Na2 – O77	2,520(7)	Na7 – O37	2,425(7)
Na2 – O78	2,413(7)	Na8 – O17	2,469(7)
Na3 – O10	2,401(6)	Na8 – O34	2,859(7)
Na3 – O11	2,295(6)	Na8 – O37	2,438(7)
Na3 – O12''	2,278(6)	Na8 – O68	2,371(7)

Na3 – O35'	2,450(7)	Na8 – O69	2,403(7)
Na3 – O36	2,304(7)	Na8 – O70	2,334(7)
Na4 – O1	2,430(7)	Na9 – O6	2,416(6)
Na4 – O2	2,479(7)	Na9 – O10	2,380(6)
Na4 – O74	2,450(7)	Na9 – O26	2,355(6)
Na4 – O77	2,445(6)	Na9 – O27	2,455(7)
Na4 – O79	2,432(7)	Na9 – O32	2,439(7)
Na4 – O38''	2,378(7)	Na9 – O39	2,344(6)
Na5 – O20	2,413(6)	Na10 – O12	2,349(6)
Na5 – O38	2,462(7)	Na10 – O41	2,365(6)
Na5 – O33'	2,501(6)	Na10 – O43	2,330(8)
Na5 – O71	2,402(7)	Na10 – O53	2,852(7)
Na5 – O72	2,432(7)	Na10 – O68	2,380(7)
Na5 – O73'	2,313(7)	Na10 – O69	2,407(7)
Na6 – O11	2,354(6)		
O28 – Na1 – O34	105,6(2)	O11 – Na6 – O71	88,4(2)
O28 – Na1 – O62	160,6(2)	O11 – Na6 – O72	92,8(2)
O28 – Na1 – O66	87,7(2)	O20 – Na6 – O36	105,0(2)
O28 – Na1 – O67	83,3(2)	O20 – Na6 – O42	107,8(2)
O28 – Na1 – O70	91,8(2)	O20 – Na6 – O71	74,0(2)
O34 – Na1 – O62	87,8(2)	O20 – Na6 – O72	79,8(2)
O34 – Na1 – O66	161,7(3)	O36 – Na6 – O42	90,9(2)
O34 – Na1 – O67	96,8(2)	O36 – Na6 – O71	83,8(2)
O34 – Na1 – O70	78,4(2)	O36 – Na6 – O72	167,2(2)
O62 – Na1 – O66	76,5(2)	O42 – Na6 – O71	174,7(2)
O62 – Na1 – O67	109,5(2)	O42 – Na6 – O72	99,0(2)
O62 – Na1 – O70	76,9(2)	O71 – Na6 – O72	86,2(2)
O66 – Na1 – O67	97,2(2)	O5 – Na7 – O6	162,9(3)
O66 – Na1 – O70	88,9(2)	O5 – Na7 – O26	86,2(2)
O67 – Na1 – O70	172,0(3)	O5 – Na7 – O27	84,0(2)
O33 – Na2 – O53	86,0(2)	O5 – Na7 – O28	86,2(2)
O33 – Na2 – O73	82,1(2)	O5 – Na7 – O37	97,2(2)
O33 – Na2 – O75	161,1(3)	O6 – Na7 – O26	83,6(2)
O33 – Na2 – O77	108,3(2)	O6 – Na7 – O27	80,2(2)
O33 – Na2 – O78	87,9(2)	O6 – Na7 – O28	104,4(2)
O53 – Na2 – O73	84,1(2)	O6 – Na7 – O37	96,8(2)

O53 – Na2 – O75	75,2(2)	O26 – Na7 – O27	76,2(2)
O53 – Na2 – O77	164,7(2)	O26 – Na7 – O28	172,0(3)
O53 – Na2 – O78	105,8(2)	O26 – Na7 – O37	91,9(2)
O73 – Na2 – O75	96,7(2)	O27 – Na7 – O28	105,6(2)
O73 – Na2 – O77	92,4(2)	O27 – Na7 – O37	168,0(2)
O73 – Na2 – O78	165,5(2)	O28 – Na7 – O37	86,4(2)
O75 – Na2 – O77	90,6(2)	O17 – Na8 – O34	145,7(2)
O75 – Na2 – O78	96,1(2)	O17 – Na8 – O37	83,8(2)
O77 – Na2 – O78	80,6(2)	O17 – Na8 – O68	115,4(3)
O10 – Na3 – O11	91,8(2)	O17 – Na8 – O69	112,0(3)
O10 – Na3 – O12' ' '	96,3(2)	O17 – Na8 – O70	77,2(2)
O10 – Na3 – O35'	109,0(2)	O34 – Na8 – O37	83,6(2)
O10 – Na3 – O36	153,1(3)	O34 – Na8 – O68	78,0(2)
O11– Na3 – O12' ' '	171,9(3)	O34 – Na8 – O69	100,0(2)
O11– Na3 – O35'	90,8(2)	O34 – Na8 – O70	70,4(2)
O11– Na3 – O36	82,5(2)	O37 – Na8 – O68	160,4(3)
O12' ' ' – Na3 – O35'	87,6(2)	O37 – Na8 – O69	91,2(2)
O12' ' ' – Na3 – O36	89,8(2)	O37 – Na8 – O70	87,1(2)
O35' – Na3 – O36	97,43(19)	O68 – Na8 – O69	85,4(2)
O1 – Na4 – O2	169,5(2)	O68 – Na8 – O70	92,9(2)
O1 – Na4 – O38' '	97,6(2)	O70 – Na8 – O69	170,4(3)
O1 – Na4 – O74	86,3(2)	O6 – Na9 – O10	95,0(2)
O1 – Na4 – O77	88,3(2)	O6 – Na9 – O26	87,1(2)
O1 – Na4 – O79	83,6(2)	O6 – Na9 – O27	84,8(2)
O2 – Na4 – O38' '	86,1(2)	O6 – Na9 – O32	87,2(2)
O2 – Na4 – O74	83,4(2)	O6 – Na9 – O39	173,4(2)
O2 – Na4 – O77	101,9(2)	O10 – Na9 – O26	175,3(2)
O2 – Na4 – O79	92,9(2)	O10 – Na9 – O27	94,3(2)
O38' ' – Na4 – O74	99,3(2)	O10 – Na9 – O32	92,7(2)
O38' ' – Na4 – O77	84,1(2)	O10 – Na9 – O39	90,9(2)
O38' ' – Na4 – O79	178,5(3)	O26 – Na9 – O27	81,7(2)
O74 – Na4 – O77	173,9(3)	O26 – Na9 – O32	91,6(2)
O74 – Na4 – O79	81,6(2)	O26 – Na9 – O39	87,1(2)
O77 – Na4 – O79	95,1(2)	O27 – Na9 – O32	169,8(2)
O20 – Na5 – O38	95,2(2)	O27 – Na9 – O39	97,7(2)
O20 – Na5 – O33'	169,1(2)	O39 – Na9 – O32	89,7(2)

O20 – Na5 – O71	74,3(2)	O12 – Na10 – O41	81,7(2)
O20 – Na5 – O72	80,2(2)	O12 – Na10 – O43	130,9(3)
O20 – Na5 – O73'	91,7(2)	O12 – Na10 – O53	78,00(19)
O38 – Na5 – O33'	92,9(2)	O12 – Na10 – O68	148,0(3)
O38 – Na5 – O71	114,1(2)	O12 – Na10 – O69	94,3(2)
O38 – Na5 – O72	169,1(3)	O41 – Na10 – O43	78,3(3)
O38 – Na5 – O73'	85,6(2)	O41 – Na10 – O53	101,3(2)
O33' – Na5 – O71	82,3(2)	O41 – Na10 – O68	107,9(2)
O33' – Na5 – O72	93,0(2)	O41 – Na10 – O69	161,3(3)
O33' – Na5 – O73'	81,6(2)	O43 – Na10 – O53	149,8(2)
O71– Na5 – O72	86,9(2)	O43 – Na10 – O68	81,1(2)
O72– Na5 – O73'	104,3(2)	O43 – Na10 – O69	91,0(3)
O71– Na5 – O73'	160,5(3)	O53 – Na10 – O68	70,2(2)
O11 – Na6 – O20	161,2(2)	O53 – Na10 – O69	95,7(2)
O11 – Na6 – O36	78,9(2)	O69 – Na10 – O68	85,2(2)
O11 – Na6 – O42	90,3(2)		

('):  $x, 1-y, 1/2+z$ , (''):  $x, 1-y, -1/2+z$ , (''''):  $1/2+x, 1/2+y, z$ .



**Σχήμα 5.5.2** Μικρό μέρος της αλυσίδας  $\{Na_{10}(H_2O)_{32}\}^+_n$  που υπάρχει στη δομή του συμπλόκου Αζίνα. Διακρίνονται 11 ιόντα  $Na^I$  καθώς και έξι ιόντα V πολυβαναδικών ιόντων που συνδέονται με την αλυσίδα μέσω όξο υποκαταστάτων (O32, O33, O34, O36, O53, O62). Ο όξο υποκαταστάτης O35' (που επίσης συνδέει το πολυβαναδικό ιόν με την αλυσίδα) είναι τερματικός στο V11 με το τελευταίο να μην έχει σχεδιαστεί. Κώδικας χρωμάτων: κίτρινο ( $V^V$ ), πράσινο ( $V^{IV}$ ), μωβ (Na), κόκκινο ( $O^{2-}$ ).



Οι οξειδωτικές βαθμίδες των κέντρων V υπολογίσθηκαν με βάση υπολογισμούς **BVS**, Πίνακας 5.5.2. Από τα 18 μεταλλικά κέντρα, τα 11 (V1, V3, V4, V5, V7, V10, V11, V13, V14, V15, V17) είναι V<sup>IV</sup> και τα υπόλοιπα (V2, V6, V8, V9, V12, V16, V18) είναι V<sup>V</sup>. Η ίδια μέθοδος έδειξε ότι όλα τα άτομα O ανήκουν σε ιόντα οξειδίου (O<sup>2-</sup>).

**Πίνακας 5.5.2 Υπολογισμοί BVS (Bond Valence Sum) για τα άτομα V στο σύμπλοκο Azivan, {[V<sup>IV</sup><sub>11</sub>V<sup>V</sup><sub>7</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)<sub>32</sub>]·H<sub>2</sub>O}<sub>n</sub>.**<sup>a</sup>

Αριθμημένα V atoms	V(IV)	V(V)
<b>V1</b>	<u>4,20</u>	4,42
<b>V2</b>	4,73	<u>4,98</u>
<b>V3</b>	<u>4,24</u>	4,46
<b>V4</b>	<u>4,17</u>	4,60
<b>V5</b>	<u>4,10</u>	4,32
<b>V6</b>	4,62	<u>4,86</u>
<b>V7</b>	<u>4,09</u>	4,30
<b>V8</b>	4,61	<u>4,85</u>
<b>V9</b>	4,68	<u>4,93</u>
<b>V10</b>	<u>4,25</u>	4,48
<b>V11</b>	<u>4,23</u>	4,45
<b>V12</b>	4,53	<u>4,77</u>
<b>V13</b>	<u>4,23</u>	4,45
<b>V14</b>	<u>4,09</u>	4,31
<b>V15</b>	<u>4,04</u>	4,25
<b>V16</b>	4,43	<u>4,88</u>
<b>V17</b>	<u>4,32</u>	4,56
<b>V18</b>	4,63	<u>4,91</u>

<sup>a</sup> Η υπογραμμισμένη τιμή είναι η πλησιέστερη στο φορτίο για το οποίο αυτή υπολογίσθηκε. Η οξειδωτική βαθμίδα είναι ο πλησιέστερος ακέραιος αριθμός προς την υπογραμμισμένη τιμή.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το δεκαοκταβαναδικό(IV/V) ανιόν εγκλωβίζει στο κέντρο του ένα γραμμικό ιόν N<sub>3</sub><sup>-</sup>. Τα τερματικά άτομα N (N1 και N3) του N<sub>3</sub><sup>-</sup>, όπου είναι τα δυνητικά κέντρα ένταξης αυτού του ιόντος, απέχουν σημαντικά (> 3 Å) από τα μεταλλικά κέντρα και κατά συνέπεια οι αποστάσεις V-N δεν μπορούν να θεωρηθούν δεσμικές. Επιλεγμένες αποστάσεις V...N παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.5.5. Το ανιόν N<sub>3</sub><sup>-</sup> παίζει τον ρόλο του υποβάθρου (template) για το σχηματισμό της πλειάδας, [Pope M.T., "Heteropoly- and Isopoly- Oxometalates", Springer-Verlag, Berlin, 1983] και [Pope M.T., and Müller A., "Polyoxometalate Chemistry: An Old Field with New Dimensions in Several Disciplines", Angewandte Chemie, 30, 34-48, 1991]. Το σύμπλοκο Azivan, επομένως, αποτελεί ένα παράδειγμα χημικού είδους του τύπου "**οικοδεσπότη-φιλοξενούμενου**" (host-guest species), [Müller Achim, et al, Angewandte Chemie, 34(21), 2328–2361, 1995], [Wang

Cong-Ling, et al, 2012] και [Müller Achim, et al, "Polyoxovanadates: High-Nuclearity Spin Clusters with Interesting Host-Guest Systems and Different Electron Populations. Synthesis, Spin Organization, Magnetochemistry, and Spectroscopic Studies", *Inorganic Chemistry*, 36(23), 5239-5250, 1997]. Όλα τα ιόντα V του ανιόντος  $[V_{18}O_{44}(N_3)]^{10-}$  είναι πεντα-ενταγμένα και παρουσιάζουν παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία. Κατά συνέπεια το ανιόν μπορεί να θεωρηθεί ως άθροισμα 15 τετραγωνικών πυραμίδων  $\{VO_5\}$  που μοιράζονται κοινές ακμές και κορυφές. Από τους 44 όξο- υποκαταστάτες, οι 18 είναι τερματικοί (στην πραγματικότητα οι 7 από αυτούς, όπως προαναφέραμε, γεφυρώνουν ιόντα V με κέντρα  $Na^I$ ), οι 6 γεφυρώνουν δύο ιόντα V ( $\mu_2$ ) και 20 γεφυρώνουν τρία ιόντα V.

**Πίνακας 5.5.3 Αντιπροσωπευτικές αποστάσεις V...V (Å) στο πολυμερές σύμπλοκο Azivan,  $\{[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$ .**

V6...V13	3,504	V4...V5	3,692
V1...V11	3,019	V3...V9	3,311
V1...V2	2,902	V16...V17	3,554

Τα  $\mu_2$  ιόντα οξειδίου είναι τα O7, O19, O23, O24, O46 και O60. Τα  $\mu_3$  ιόντα οξειδίου είναι τα O3, O4, O14, O48, O13, O31, O21, O76, O9, O22, O52, O54, O8, O15, O49, O50, O55, O65, O47 και O45. Ο μέσος όρος των μηκών δεσμού V-O (τερματικό) είναι 1,635 Å με την τιμή αυτή να υποδηλώνει διπλούς δεσμούς βαναδίου-οξυγόνου.

**Πίνακας 5.5.4 Αντιπροσωπευτικές γωνίες δεσμού V-O-V (°) στο πολυμερές σύμπλοκο Azivan,  $\{[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$ .**

V6-O23-V13	154,0	V5-O31-V8	100,3
V1-O14-V11	100,5	V6-O60-V12	131,8
V9-O65-V16	104,1	V3-O46-V9	131,2

Ο μέσος όρος των τιμών βαναδίου(IV)-οξυγόνου [1,876(6) Å] είναι μεγαλύτερος από το μέσο όρο των τιμών βαναδίου(V)-οξυγόνου [1,824(6) Å], όπως αναμένεται. Για δεδομένο ιόν V ισχύει V-O(τερματικό) < V-( $\mu_2$ -O) < V-( $\mu_3$ -O), π.χ. V3-O(τερματικό) = 1,610(6) Å < V3-( $\mu_2$ -O) = 1,902(6) Å < V3-( $\mu_3$ -O) = 1,928(5) + 1,999(6) + 1,928(6) = 1,52 Å. Οι γωνίες V-O-V (Πίνακας 5.5.4) καλύπτουν ευρεία περιοχή τιμών με τις γωνίες V-( $\mu_2$ -O)-V να είναι μεγαλύτερες από τις γωνίες V-( $\mu_3$ -O)-V, όπως αναμένεται.

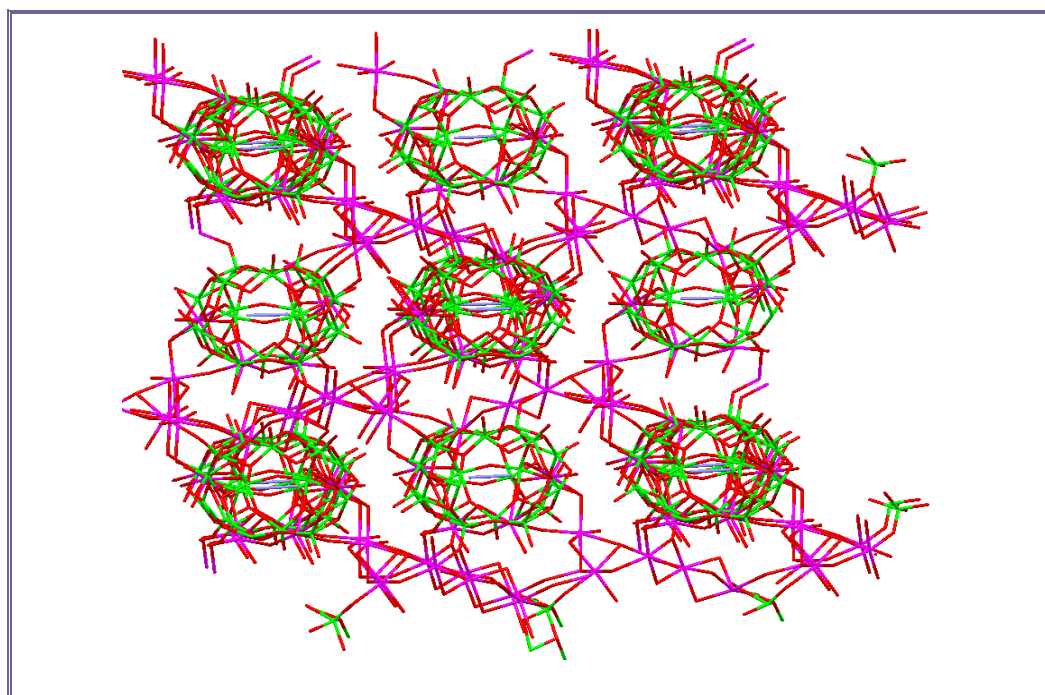
Όλα τα ιόντα  $Na^I$ , με εξαίρεση το  $Na_3$ , είναι εξα-ενταγμένα και παρουσιάζουν παραμορφωμένη οκταεδρική γεωμετρία. Τα μήκη δεσμού  $Na^I$ (οκταεδρικό)-O κυμαίνονται στην περιοχή 2,313(7)-2,859(7) Å. Το  $Na_3$  έχει αριθμό ένταξης 5 και παρουσιάζει παραμορφωμένη τετραγωνική πυραμιδική γεωμετρία, με το άτομο O35 να καταλαμβάνει την αξονική θέση.

**Πίνακας 5.5.5 Αντιπροσωπευτικές αποστάσεις κέντρων V (Å) από τα άτομα N του ιόντος N<sub>3</sub><sup>-</sup> που υπάρχει στο σύμπλοκο {[V<sup>IV</sup><sub>11</sub>V<sup>V</sup><sub>7</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)<sub>32</sub>]·H<sub>2</sub>O}<sub>n</sub>.<sup>a</sup>**

V1··N2	4,065	V8··N1	3,095
V3··N1	3,330	V10··N3	3,274
V5··N1	3,314	V12··N3	3,286
V6··N3	3,190	V13··N1	3,297
V6··N2	3,574	V15··N2	3,752
V7··N3	3,430		

<sup>a</sup> Τα άτομα N1 και N3 είναι τα τερματικά άτομα του ιόντος αζιδίου, ενώ το άτομο N2 είναι το κεντρικό.

Η παράμετρος  $\tau$  για το Na<sub>3</sub> είναι 0,31 επιβεβαιώνοντας την σημαντική παραμόρφωση της τετραγωνικής πυραμιδικής γεωμετρίας. Η σύνδεση των ιόντων Na<sup>I</sup> επιτυγχάνεται με μ<sub>2</sub>-O από γεφυρωτικούς ύδατο υποκαταστάτες και ιόντα οξειδίου (O33, O34, O36 και O53), που τυπικά ανήκουν στο ιόν [V<sub>18</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)]<sup>10-</sup>. Τη σφαίρα ένταξης των ιόντων Na<sup>I</sup> συμπληρώνουν τερματικοί ύδατο- υποκαταστάτες. Τα ιόντα [V<sub>18</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)]<sup>10-</sup> και οι αλυσίδες {Na<sub>10</sub>(H<sub>2</sub>O)}<sup>+</sup><sub>n</sub> συγκροτούν ένα τρισδιάστατο (3D) πλέγμα, (Σχήμα 5.5.3).

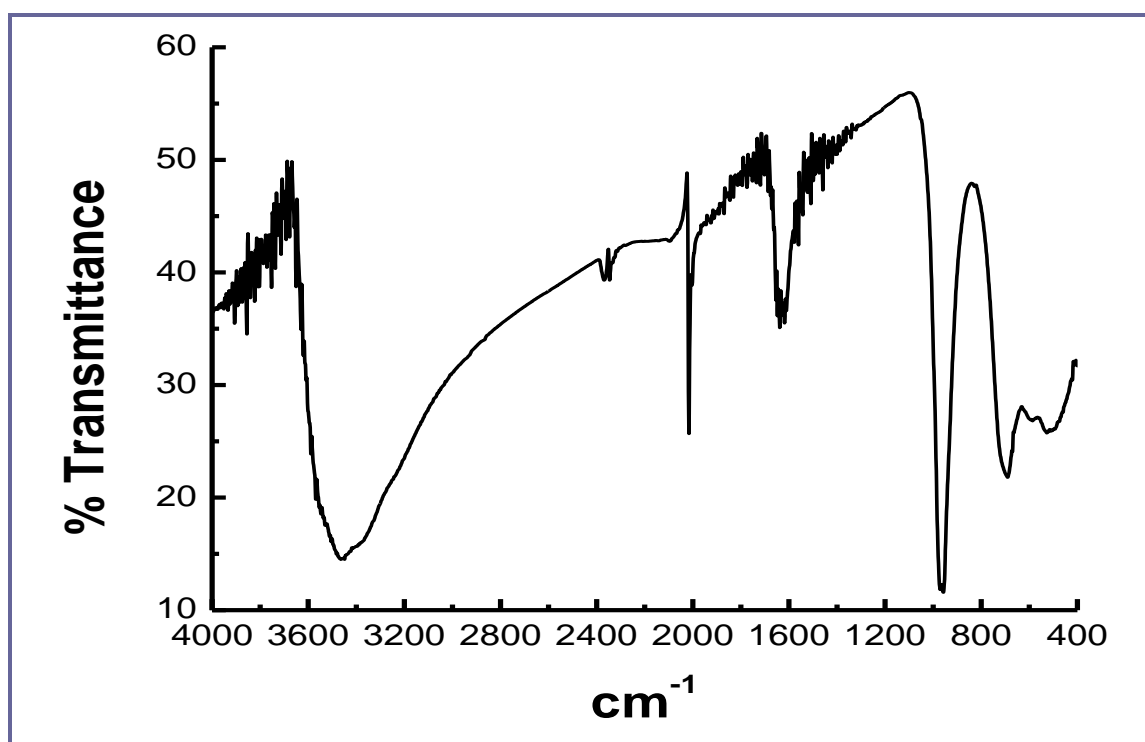


**Σχήμα 5.5.3 Το 3D πολυμερές δίκτυο του συμπλόκου Azivan, {[V<sup>IV</sup><sub>11</sub>V<sup>V</sup><sub>7</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)<sub>32</sub>]·H<sub>2</sub>O}<sub>n</sub>.**

Το σύμπλοκο Azivan είναι μέλος μιας μικρής οικογένειας συμπλόκων ενώσεων που περιέχουν ιόντα του τύπου [V<sub>18</sub>O<sub>44</sub>(X)]<sup>n-</sup>, όπου X είναι μονοανιόν ή ουδέτερο μόριο. Τα μέλη αυτής της ολιγομελούς οικογένειας περιέχουν τα ανιόντα: [V<sup>IV</sup><sub>8</sub>V<sup>V</sup><sub>10</sub>O<sub>42</sub>(OH)<sub>2</sub>(N<sub>3</sub>)]<sup>5-</sup>, [Müller Achim, et al, 1991], τα ανιόντα [V<sup>IV</sup><sub>12</sub>V<sup>V</sup><sub>6</sub>O<sub>43</sub>(OH)(NO<sub>3</sub>)]<sup>10-</sup> και [V<sup>IV</sup><sub>14</sub>V<sup>V</sup><sub>4</sub>O<sub>42</sub>(OH)<sub>2</sub>

$(\text{H}_2\text{O})^{10-}$ , [Müller A., Rohlfing R., et al, 1993], τα ανιόντα  $[\text{V}^{\text{IV}}_{15}\text{V}^{\text{V}}_3\text{O}_{42}(\text{OH})_2(\text{N}_3)]^{12-}$ , [Yamase T., Suzuki M., et al, 1997], τα ανιόντα  $[\text{V}^{\text{IV}}_{12}\text{V}^{\text{V}}_6\text{O}_{43}(\text{OH})(\text{N}_3)]^{10-}$  και τα ανιόντα  $[\text{V}^{\text{IV}}_{13}\text{V}^{\text{V}}_5\text{O}_{42}(\text{OH})_2(\text{NCS})]^{10-}$ , [Yamase T., Yang L., et al, 1999]. Παρόλο ότι έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία τρία παραδείγματα δεκαοκτωβαναδικών ανιόντων που εγκλείουν ένα ιόν  $\text{N}_3^-$ , [Müller A., Krickemeyer E., et al, 1991], [Yamase T., Suzuki M., et al, 1997], [Yamase T., Yang L., et al, 1999], το σύμπλοκο Azivan είναι **το πρώτο**, που περιέχει ένα τέτοιο σύμπλοκο ανιόν στο οξειδωτικό επίπεδο  $[\text{V}^{\text{IV}}_{11}\text{V}^{\text{V}}_8]$ .

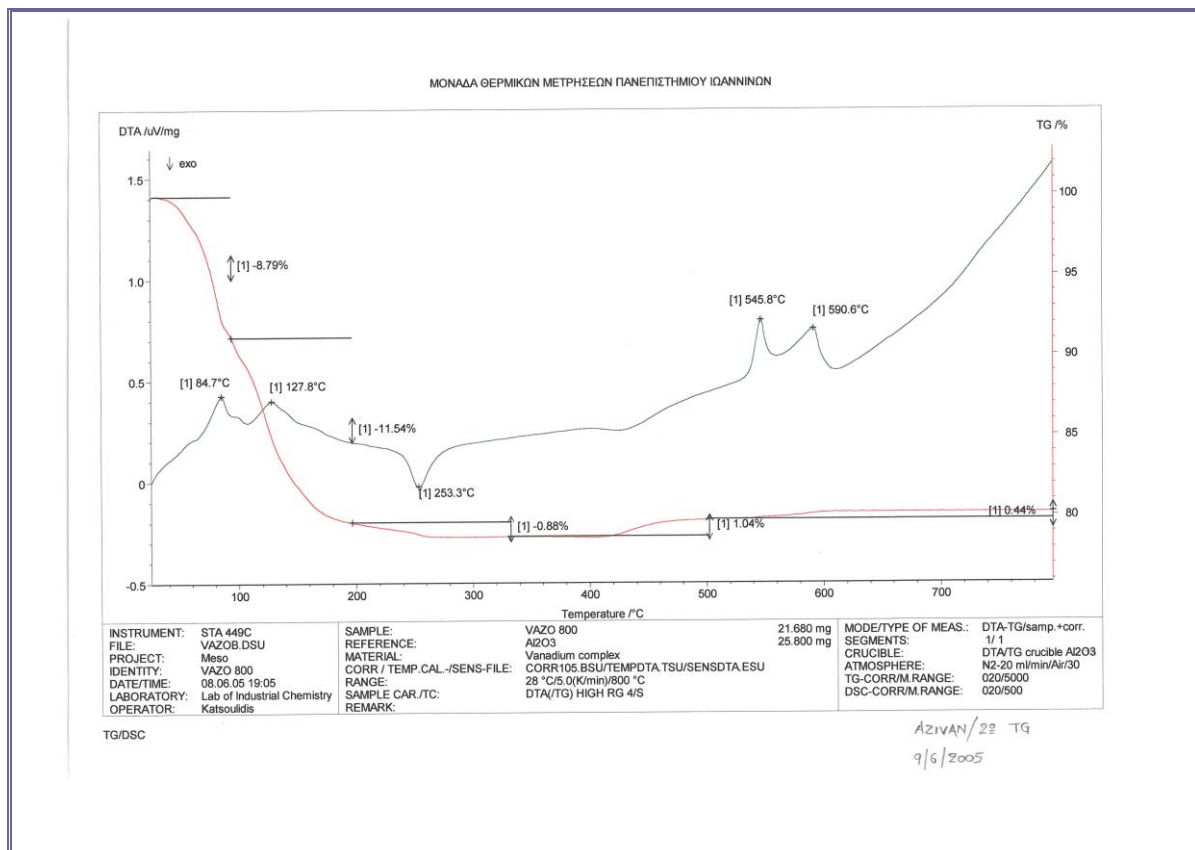
Τέλος θα πρέπει να αναφερθεί ότι στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί και άλλα πολυοξοβαναδικά ιόντα με 18 κέντρα V που έχουν διαφορετικούς δομικούς τύπους και διαφορετικές στοιχειομετρίες, π.χ.  $[\text{V}_{18}\text{O}_{42}]^{n-}$ , [Johnson G.K. and Schlemper E.O., 1978],  $[\text{V}_{18}\text{O}_{42}\text{X}]^{n-}$  (X = διάφορα μονοατομικά/ πολυατομικά ανιόντα ή ουδέτερα μόρια), [Yamase T., Yang L., et al, 1999], [Müller Achim, Penk M., et al, 1990], [Duan W.J., Cui X.B., et al, 2007],  $[\text{V}_{18}\text{O}_{45}(\text{VO}_4)]^{9-}$ , [Suber L., Bonamico M., et al, 1997], όπως επίσης και το έντονα "ανηγμένο μόριο"  $[\text{V}^{\text{III}}_{16}\text{V}^{\text{IV}}_2\text{O}_{12}(\text{OH})_2(\text{OEt})_{22}(\text{O}_2\text{CPh})_6(\text{acac})_2(\text{H}_2\text{O})_4]$ , [Tidmarsh I.S., Laye R.H., et al, 2007].



Σχήμα 5.5.4 Το IR φάσμα ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) του πολυβαναδικού συμπλόκου Azivan,  $\{[\text{V}^{\text{IV}}_{11}\text{V}^{\text{V}}_7\text{Na}_{10}\text{O}_{44}(\text{N}_3)(\text{H}_2\text{O})_{32}]\cdot\text{H}_2\text{O}\}_n$ .

Το IR φάσμα του πολυμερούς συμπλόκου Azivan φαίνεται στο Σχήμα 5.5.4. Οι ταινίες στα  $\sim 3450$  και  $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται στις δονήσεις  $\nu(\text{OH})_{\text{H}_2\text{O}}$  και  $\delta(\text{HOH})_{\text{H}_2\text{O}}$ , αντίστοιχα. Οι ισχυρές ταινίες στα  $962$  και  $940 \text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται στις δονήσεις τάσεως των τερματικών δεσμών  $\text{V}^{\text{V}}=\text{O}$ ,  $\nu(\text{V}^{\text{V}}=\text{O})$ , και  $\text{V}^{\text{IV}}=\text{O}$ ,  $\nu(\text{V}^{\text{IV}}=\text{O})$ , αντίστοιχα, [Yamase T., Ohtaka K., et al, 1996]. Οι ταινίες στην περιοχή  $850\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$  οφείλονται σε αντισυμμετρικές και συμμετρικές δονήσεις τάσεως των ομάδων V-O-V, [Yamase T., Ohtaka K., et al, 1996],

[Nunes G.G., et al, 2012], [Shi Shu Yun, et al, 2009]. Η καμπύλη TG του συμπλόκου Azivan αποκαλύπτει μία πολλών σταδίων απώλεια βάρους, στην περιοχή 50-260 °C που οφείλεται στην απομάκρυνση μορίων H<sub>2</sub>O. Η συνολική απώλεια βάρους στην περιοχή αυτή είναι 21,2%, με τη θεωρητική τιμή για την απομάκρυνση 33 moles H<sub>2</sub>O ανά mole συμπλόκου να είναι 24,3%.



Σχήμα 5.5.5 Το θερμογράφημα του νέου πολυβαναδικού συμπλόκου Azivan,  $\{[V^{IV}_{11}V^{V}_{7}Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$ .

Οι απώλειες βάρους είναι ενδόθερμες, όπως αποκαλύπτει η καμπύλη DTA, Σχήμα 5.5.5. Στην περιοχή 260-425°C υπάρχει πλατώ στην καμπύλη TG. Στη συνέχεια υπάρχουν δύο μικρές, ενδόθερμες αυξήσεις βάρους (1,04 και 0,44%), με το τελικό υπόλειμμα πάνω από τους 650°C να είναι το περίπου 80% του βάρους του αρχικού δείγματος. Το τελικό υπόλειμμα πιθανότατα αντιπροσωπεύει μίγμα οξειδίων του νατρίου και του βαναδίου.

**ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.** Το σύμπλοκο Azivan λαμβάνεται στη μορφή βαθέως χακι-πρασίνων, σχεδόν μελανών και αδιαφανών, μονοκρυστάλλων, με ισχυρώς απαστράπτουσες έδρες. Είναι σώμα σταθερό και δυσδιάλυτο στο ψυχρό ύδωρ, στην αιθανόλη, στην ακετόνη και στον αιθέρα. Διαλυτοποιείται μερικώς στο θερμό ύδωρ, στο DMSO και περισσότερο στο φορμαμίδιο, ύστερα από παρατεταμένη θέρμανση, σε λουτρό υπερήχων.

**Σημείο Τήξεως του συμπλόκου Azivan:** Μέχρι τους 310°C καμία εμφανής τήξη. Εισαγόμενο απ' ευθείας στους 310°C, συμβαίνουν μικρές εκτινάξεις, χωρίς όμως φαινόμενα τήξεως. Για θερμοκρασίες  $\geq 310^\circ\text{C}$  καμία εμφανής τήξη, ενώ λαμβάνει χώρα ισχυρή σταδιακή μελάνωση, λόγω απανθράκωσης.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6**

### **ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ**

#### **ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ ΒΑΝΑΔΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ**

#### **6.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Τα υλικά και τα αντιδραστήρια, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής αναφέρονται παρακάτω.

- 01)- Falcon.
- 02)- Πολυπιπέτα.
- 03)- Πιπέτες Pasteur.
- 04)- Ηπαρίνη της Εταιρείας Leo.
- 05)- Trypsin- EDTA, της Εταιρείας PAA.
- 06)- Αιμοκυττόμετρο τύπου Neubauer.
- 07)- Ορολογικές πιπέτες (5, 10, 25 ml).
- 08)- Βελόνες και φλεβοκαθετήρες των 22 G.
- 09)- Αιθυλενοδιαμινο-τετραοξικό οξύ (EDTA).
- 10)- Penicillin / streptomycin της Εταιρείας PAA.
- 11)- Methanol και Acetic Acid, της Εταιρείας Fluka.
- 12)- Πιπέτες Gillson (2-20, 10-200, 100- 1000  $\mu$ l).
- 13)- Αραχιδονικό οξύ (AR), της Εταιρείας Cronolog.
- 14)- Propidium Iodide solution, της Εταιρείας Sigma.
- 15)- Διφωσφορική αδενοσίνη (ADP, Sigma-Aldrich).
- 16)- Κίτρικό μετά νατρίου άλας της Εταιρείας Merck.
- 17)- L-Glutamine, 200 nM (100x) της Εταιρείας PAA.
- 18)- Annexin V-FITV, της Εταιρείας BD Pharmingen TM.
- 19)- PBS (Phosphate Buffered Saline), της Εταιρείας Sigma.
- 20)- FBS (Fetal bovine serum), της Εταιρείας BIOCHROM AG.
- 21)- Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, της Εταιρείας Sigma.
- 22)- Υάλινες κυψελίδες συσσωρευομετρίας περιεκτικότητας 0,5 ml.
- 23)- Συσκευή Flow Cytometer (Partec ML, Partec GmbH, Germany).
- 24)- DMSO (Dimethylsulfoxide Methyl Sulfoxide), της Εταιρείας Aldrich.
- 25)- Σιλικόνη επίστρωσης υαλίνων σκευών του Βιοχημικού Εργαστηρίου.
- 26)- Giemsa Stain Modified Solution και NaCl, της Εταιρείας Riedel-de Haen.

- 27)- Τρυβλία ιστοκαλλιέργειας 100 mm και πολυτρυβλία 24 και 96 θέσεων.
- 28)- Microplate Spectrophotometer (DigiScan Reader 400, ASYS Hitech GmbH, Austria).
- 29)- DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) – Low glucose (1g/L) with L- glutamine της Εταιρείας PAA.
- 30)- Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor -PAF της Sigma –Aldrich).

### 6.1.1 ΣΥΜΠΛΟΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Οι πέντε νέες σύμπλοκες ενώσεις, του βαναδίου, που χρησιμοποιήθηκαν για τα βιολογικά πειράματα της παρούσης Διατριβής, αναφέρονται συγκεντρωτικά στον παρακάτω Πίνακα.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1 Αναλυτική αναφορά των συμπλόκων**

Σύμπλοκα	Όνομα Συμπλόκου	Μοριακό Βάρος	Διαλύτης Συμπλόκου
1	Nicotivan	1732,28	DMSO
2	Azivan	2469,35	DMSO
3	Pyriivan	1546,16	DMSO
4	Pipervan	288,06	DMSO
5	Cadivan	1904,92	DMSO

### 6.1.2 IN VITRO ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ - ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΣΕΙΡΕΣ

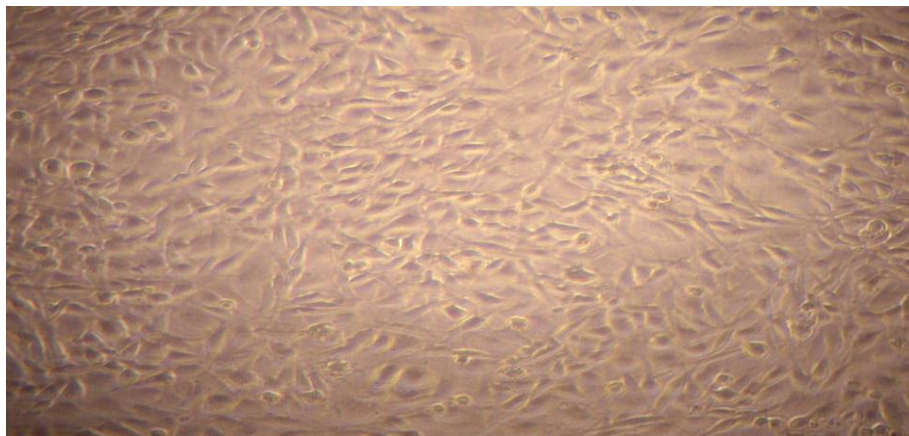
Οι κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν οι ακόλουθες :

- 1-** Κύτταρα LMS : λειομυοσάρκωματικά κύτταρα επίμυος wistar
- 2-** Κύτταρα MCF-7 : κύτταρα αδenoκαρκινώματος μαστού
- 3-** Κύτταρα MRC-5 : κύτταρα εμβρυϊκών ινοβλαστών πνεύμονα

Τα παραπάνω κύτταρα καλλιεργήθηκαν σε θρεπτικό υλικό DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) εμπλουτισμένο με 10% εμβρυϊκό ορό βοοειδούς (Fetal Bovine Serum) (FBS), 100 IU/ml πενικιλίνη, 100 µg/ml στρεπτομυκίνη και 1.4 mM L- γλουταμίνη. Τα κύτταρα διατηρήθηκαν σε επωαστή στους 37°C με 5% CO<sub>2</sub>.

### 6.1.3 ΛΕΙΟΜΥΟΣΑΡΚΩΜΑ

Το λειομυοσάρκωμα είναι ένας σπάνιος όγκος του μαλακού ιστού συνήθως προερχόμενος από τα τοιχώματα των φλεβών ή από μυϊκά κύτταρα. Το δερματικό και υποδερματικό λειομυοσάρκωμα παρατηρείται σε ανθρώπους 40-70 ετών και δεν εξαρτάται από το φύλο. Το βαθύτερο λειομυοσάρκωμα βρίσκεται στο οπισθοπεριτοναϊκό χώρο ή στους βαθύτερους μαλακούς ιστούς των άκρων.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.1:** Λειομυοσαρκωματικός όγκος του μαλακού ιστού.

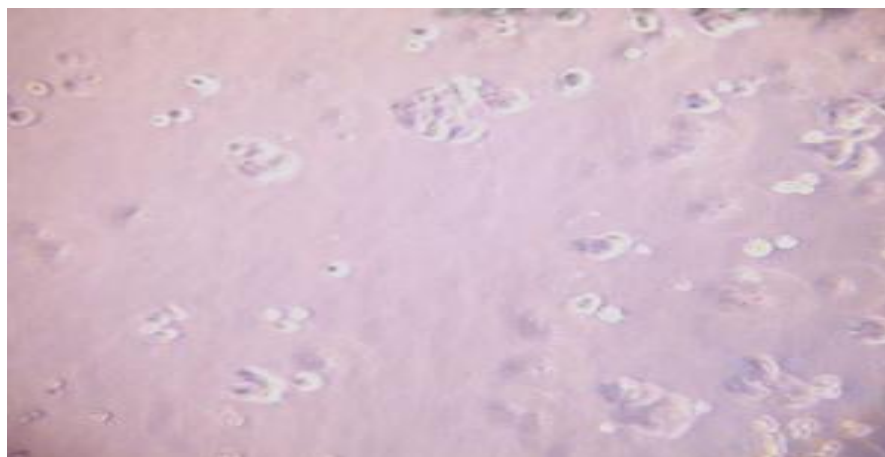
#### **6.1.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ**

Ιστολογικά, ο όγκος έχει ευρέως διασκορπισμένα αξονικά κύτταρα και κολλαγόνο στις δέσμες. Τα αξονικά κύτταρα είναι μεγάλα, με επιμήκεις πυρήνες και άφθονα ηωσινοφιλικά κυτοπλάσματα.

Το κολλαγόνο είναι παρόν σε διάφορες συγκεντρώσεις και οι δικτυωτές ίνες του προεξέχουν γύρω από μεμονωμένα κύτταρα ή από ομάδες κυττάρων. **Η χημειοθεραπεία σπάνια βοηθά στη θεραπεία του λειομυοσαρκώματος.** Η χειρουργική αφαίρεση του όγκου συχνά ενδείκνυται. Η θεραπεία του λειομυοσαρκώματος περιλαμβάνει την χημειοθεραπεία, την ακτινοθεραπεία και τη χειρουργική.

#### **6.1.5 ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ MCF-7**

Η MCF-7 είναι μια κυτταρική σειρά που αποτέλεσε πηγή γνώσης για τον καρκίνο του μαστού. Απομονώθηκε από καρκινικά κύτταρα μαστού μιας 69χρονης ασθενούς, της Frances Mallon, το 1971. Το όνομα της σειράς προέρχεται από τα αρχικά Michigan Cancer Foundation 7, [Soule H.D., et al, 1973] και [Levenson A.S., et al, 1997].



**Εικόνα 6.2:** Κυτταρική σειρά MCF- 7



Πριν απομονωθεί η MCF-7, δεν ήταν δυνατό για τους ερευνητές που ασχολούνται με τον καρκίνο, να επιτύχουν μια μαστική κυτταρική σειρά η οποία θα μπορούσε να επιβιώσει για περισσότερο από μερικούς μήνες, [Glodek Cass, 1990].

### 6.1. 6 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ (MRC-5)

Ο ινοβλάστης αποτελεί τον μόνο κυτταρικό τύπο που απαντάται, ανεξαιρέτως σε όλα τα είδη συνδετικού ιστού. Έχει σχήμα ατρακτοειδές ή αστεροειδές και από το κυτταρικό σώμα προεκβάλλουν κοντές, διακλαδιζόμενες αποφυάδες. Στο ενήλικο άτομο οι ινοβλάστες εκκρίνουν ενεργά κολλαγόνο. Περιέχουν μεγάλο ωοειδή πυρήνα, του οποίου η χρωματίνη συγκεντρώνεται σε περιφερικά αθροίσματα, κάτω από την πυρηνική μεμβράνη.



Εικόνα 6.3: Ινοβλάστες (MRC-5).

Σε κεντρικότερη θέση του πυρήνα διακρίνεται ένα ευμέγεθες πυρήνιο. Το κυτταρόπλασμα είναι βασεόφιλο και περιέχει τα οργανίδια που συμμετέχουν στην πρωτεϊνσύνθεση. Οι ινοβλάστες συνθέτουν τις πρωτεΐνες των ιών του συνδετικού ιστού (κολλαγόνων δικτυωτών, ελαστικών), τις δομικές γλυκοπρωτεΐνες και τις πρωτεογλυκάνες της θεμέλιας ουσίας.



Εικόνα 6.4: Φυσιολογικοί εμβρυονικοί ινοβλάστες του ποντικού.

Έτσι, ελέγχουν τη σύσταση αλλά και τη διατήρηση της ακεραιότητας αυτής, [Jacobs J.P., 1970]. Παρατηρούμε το σαφές ατρακτοειδές σχήμα των δύο μικρότερων κυττάρων

στο αριστερό μέρος της εικόνας. Το μεγάλο κύτταρο που καταλαμβάνει το δεξιό τμήμα είναι περισσότερο πεπλατυσμένο και προσφύεται στο υπόστρωμα μέσω μιας μεγάλης επιφάνειας. Διακρίνονται τα άφθονα κυτταρικά οργανίδια στο εσωτερικό των κυττάρων ως σφαιροειδείς σχηματισμοί μαύρου χρώματος ή ως φυσαλιδοειδείς σχηματισμοί. Επίσης στο δεξιά τοποθετημένο κύτταρο διακρίνεται ο πυρήνας και ο πυρηνίσκος, ή κάποια χρωματοσώματα στο εσωτερικό του, ενώ στους δύο πόλους του σχηματίζεται πιθανόν η χαρακτηριστική εικόνα της κυτταρικής ατράκτου υποδεικνύοντας ότι το εν λόγω κύτταρο βαίνει προς κυτταροδιαίρεση.

### **6.1.7 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΣΕΙΡΑΣ LMS**

Από μία ομάδα συγγενών πειραματόζων η οποία ανήκει στην 7η γενιά ομομικτικής αναπαραγωγής ελήφθησαν 3 αρσενικά και 3 θηλυκά ζώα στα οποία χορηγήθηκε, μετά από αναισθητοποίηση, ποσότητα B[a]P. Μετά την πάροδο 110-135 ημερών όλα τα ζώα ανέπτυξαν όγκους. Από αυτούς τους όγκους οι 4 χαρακτηρίστηκαν ιστολογικά ως λειομυοσαρκώματα, ενώ σε ένα από τα ποντίκια αναπτύχθηκε ινοσάρκωμα, φτωχό σε κύτταρα και στο τελευταίο ραβδομυοσάρκωμα. Σε όλα τα ζώα έγιναν βιοψίες και ελήφθησαν κακοήγη κύτταρα με βιοπτική βελόνα.

Από τους όγκους που χαρακτηρίστηκαν λειομυοσαρκώματα ελήφθησαν, υπό άσηπτες συνθήκες και κατόπιν αναισθητοποίησης των ζώων, τεμάχια μεγέθους 0,5 cm<sup>2</sup>, τα οποία τέθηκαν αμέσως σε ψυχρό διάλυμα Ringer. Στη συνέχεια, τα ιστοτεμάχια κατατμήθηκαν περαιτέρω για να προκύψουν τεμαχίδια μεγέθους περίπου 1 mm<sup>2</sup> τα οποία ελήφθησαν άσηπτα από το διάλυμα Ringer και τέθηκαν σε 20 ml διαλύματος θρυψίνης 0,25%. Η επώαση των τεμαχίων έγινε υπό ήπια ανάδευση και ανά 15 λεπτά γινόταν λήψη του υπερκειμένου και το τοποθέτησή του σε άσηπτους πλαστικούς σωλήνες (falcon) για περαιτέρω επεξεργασία (φυγοκέντρηση -τέλος 1ου κύκλου θρυψινισμού). Σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα γινόταν προσθήκη ενός ml Foetal Bovine Serum (FBS) για να σταματήσει η δράση της θρυψίνης και κατόπιν γινόταν η φυγοκέντρηση. Το ίδιο χρονικό διάστημα, πριν περάσουμε στον 2ο κύκλο θρυψινισμού, προκειμένου τα τεμαχίδια του όγκου να παραμείνουν βιώσιμα προστέθηκαν 10 ml DMEM, ώστε η δράση της θρυψίνης να ανασταλεί. Ταυτόχρονα, οι προηγούμενοι δοκιμαστικοί σωλήνες που περιείχαν το εναιώρημα των αποκολληθέντων καρκινικών κυττάρων φυγοκεντρούνταν στις 1200 rpm για 5 min ώστε τα αιωρούμενα καρκινικά κύτταρα να καταπέσουν στον πυθμένα. Μετά το τέλος της φυγοκέντρησης γινόταν απόρριψη του υπερκειμένου, προσθήκη 10 ml PBS, επαναιώρηση των κυττάρων με ήπιες αναρροφητικές κινήσεις της πιπέτας και επαναφυγοκέντρηση στις ίδιες συνθήκες.

Ακολουθούσε ξανά απόρριψη του υπερκειμένου, προσθήκη 10 ml DMEM με 10% FBS και κατόπιν γινόταν σπορά του νέου εναιωρήματος ώστε 1 ml αυτού να τίθεται σε τρυβλίο Petri με 9 ml DMEM με 10% FBS (τελικός όγκος καλλιέργειας τα 10 ml). Στη συνέχεια, τα κύτταρα επώαζονταν (37°C, 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) και ελέγχονταν οπτικά μία φορά την ημέρα. Όταν είχε δημιουργηθεί πλήρες ταπήτριο, γινόταν έκπλυση με 10 ml PBS, αποκόλληση των κυττάρων με 1 ml διαλύματος θρυψίνης και αναδιασπορά σε καινούργια τρυβλία ώστε να έχουμε μεγάλους αριθμούς νεοπλασματικών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά

φυγοκεντρούνταν, ετίθεντο σε διάλυμα FBS και DMSO (αναλογία 9:1) και κατόπιν φυλάσσονταν μέσα σε κρυσταλλωτήρια σε υγρό άζωτο για την επαναχρησιμοποίησή τους. Ο έλεγχος της φύσης των εν λόγω κυττάρων έγινε με δύο τρόπους:

**1-** Με τυπικό μικροσκοπικό έλεγχο

**2-** Με βιολογική δοκιμασία

Η βιολογική δοκιμασία της νεοπλασματικής φύσης των εν λόγω κυττάρων έγινε ως εξής: Από πρόσφατες κυτταροκαλλιέργειες των οποίων τα κύτταρα ήταν σε μεγάλο ποσοστό βιώσιμα γινόταν λήψη μεγάλου αριθμού κυττάρων τα οποία ενοφθαλμιζονταν σε επίμυες Wistar, που άνηκαν στην ομομικτική σειρά ζώων από τα οποίους έγινε η λήψη του αρχικού όγκου. Πριν τον ενοφθαλμισμό σε κάθε ένα από τα ζώα – λήπτες γινόταν αναισθητοποίηση με κεταμίνη – μιδαζολάμη και στη συνέχεια χειρουργική τομή. Οι υποδόριοι ιστοί παρεκτοπίζονταν μέσω απώθησης με λαβίδα και κατόπιν η αποκαλυφθείσα μυϊκή στοιβάδα τραυματιζόταν με ήπιους νυγμούς ώστε να προκληθεί λίγη τοπική αιμορραγία. Επί της δημιουργηθείσας μικρής πληγής γινόταν η εναπόθεση των καρκινικών κυττάρων (4 – 8 x 10<sup>6</sup> κύτταρα / ml διαλύματος Hank).

Μετά τον ενοφθαλμισμό των κυττάρων γινόταν σφικτή συρραφή της τομής. Όταν ο ενοφθαλμισμός των καρκινικών κυττάρων ήταν επιτυχής, ο όγκος αναπτυσσόταν με ταχείς ρυθμούς στην περιοχή του ενοφθαλμισμού (10–20 ημέρες). Από τους αναπτυχθέντες όγκους γινόταν κατόπιν αναισθητοποίησης λήψη δείγματος με βιοπτική βελόνα και ιστοπαθολογικός έλεγχος των κυττάρων. Σε όλες τις περιπτώσεις το αποτέλεσμα της βιοψίας ήταν θετικό για το λειομυοσάρκωμα.

Επίσης, τα επιτυχώς ενοφθαλμισμένα με καρκινικά κύτταρα ζώα, ανέπτυσσαν όλα τα χαρακτηριστικά της νεοπλασματικής νόσου τόσο σε τοπικό όσο και σε συστηματικό επίπεδο (τοπική αύξηση όγκου, νεοαγγειογέννεση, διήθηση παρακείμενων ιστών, αιματογενής διασπορά, διήθηση λεμφαδένων, απομακρυσμένη μετάσταση, απίσχναση, αναιμία, θάνατος). Οι όγκοι κατά τη στιγμή του θανάτου είχαν μέγεθος που προσέγγιζε το 38 έως το 45 % της συνολικής μάζας του σώματος.

### **6.1.8 ΑΝΑΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Η ανακαλλιέργεια των κυτταρικών σειρών πραγματοποιήθηκε σε εστία κυτταροκαλλιέργειας κάθετης νηματικής ροής (Tissue Culture Hood). Όλες οι κυτταρικές σειρές καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία των 90 mm, ενώ τα κύτταρα αφήνονταν να δημιουργήσουν πλήρεις καλλιέργειες πριν από κάθε ανακαλλιέργεια.

Για την ανακαλλιέργεια πραγματοποιήθηκε αφαίρεση του θρεπτικού υλικού, πλύση με PBS και ακολούθως προσθήκη 1ml θρυψίνης. Στη συνέχεια τα τρυβλία αφέθηκαν για 5 λεπτά ούτως ώστε να δράσει η θρυψίνη. Μετά την αποκόλληση των κυττάρων με μηχανική βοήθεια, προστέθηκαν 10ml DMEM και ακολούθησε ανάδευση. Στη συνέχεια τοποθετήθηκε ο κατάλληλος όγκος του εναιωρήματος κυττάρων σε τρυβλία των 90mm.

Τέλος, σε κάθε τρυβλίο προστέθηκε η αντίστοιχη ποσότητα DMEM, έτσι ώστε ο τελικός όγκος να είναι 10ml.

#### **6.1.9 ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΨΥΞΗ-ΑΠΟΨΥΞΗ**

Για τη διατήρηση των κυττάρων πραγματοποιήθηκε φύλαξή τους στη βαθεία κατάψυξη των  $-195,79^{\circ}\text{C}$  ( $77,36^{\circ}\text{K}$ ). Η πορεία ψύξεως των κυττάρων εκτελέστηκε ως εξής: Πραγματοποιήθηκε αναρρόφηση του θρεπτικού υλικού, πλύση με PBS και προσθήκη 1ml θρυψίνης. Στη συνέχεια τα κύτταρα αφέθηκαν για 5min ούτως ώστε να δράσει η θρυψίνη και ακολούθησε επαναιώρηση των κυττάρων σε 10ml PBS. Ακολούθως, το εναιώρημα των κυττάρων μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένο σωλήνα Falcon και φυγοκεντρήθηκε για 5min στις 3500rpm.

Μετά την απόρριψη του υπερκείμενου διαλύματος, το κυτταρικό ίζημα επαναιωρήθηκε στο διάλυμα συντήρησης που αποτελείται από 10% DMSO και 90% FBS. Το εναιώρημα των κυττάρων μεταφέρθηκε σε ειδικές αμπούλες (cryovials) του 1ml και τα κύτταρα ψύχθηκαν με ρυθμό  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  μέχρι του  $-30^{\circ}\text{C}$ . Τέλος, οι αμπούλες βυθίστηκαν σε υγρό άζωτο. Για την απόψυξη των κυττάρων, οι αμπούλες τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας  $37^{\circ}\text{C}$  και μεταφέρθηκαν ταχύτατα σε φρέσκο καλλιεργητικό μέσο.

#### **6.1.10 ΣΠΟΡΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΠΟΛΥΤΡΥΒΛΙΑ**

Στις πειραματικές μεθόδους που ακολουθούν η σπορά των κυττάρων, όλων των κυτταρικών σειρών, πραγματοποιήθηκε σε τρυβλία 6x, και 96x (όπου x είναι τα φρεάτια του κάθε πολυτρυβλίου). Η σπορά των κυττάρων πραγματοποιήθηκε ως εξής: Πραγματοποιήθηκε αναρρόφηση του καλλιεργητικού μέσου, πλύση με PBS και προσθήκη 1ml θρυψίνης σε κάθε τρυβλίο. Στη συνέχεια τα κύτταρα αφέθηκαν 3 min ούτως ώστε να δράσει η θρυψίνη και επαναιωρήθηκαν με προσθήκη 10ml DMEM και συνεχή ανάδευση. Στη συνέχεια το κυτταρικό εναιώρημα τοποθετήθηκε σε falcon και πραγματοποιήθηκε μέτρηση των κυττάρων του εναιωρήματος με πλάκες NewBauer.

Ανάλογα με την εκάστοτε κυτταρική σειρά τοποθετήθηκε συγκεκριμένος αριθμός κυττάρων σε κάθε τρυβλίο. Τέλος, προστέθηκε ο κατάλληλος όγκος DMEM και τα κύτταρα αφέθηκαν να αναπτυχθούν στο επωαστή για 24h. Μετά την πάροδο 24 ωρών πραγματοποιήθηκε η προσθήκη των συμπλόκων.

#### **6.1.11 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΤΤ**

Η αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού είναι ένας δείκτης της κυτταροτοξικότητας των μεταλλικών συμπλόκων. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό της αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού είναι η εξής: Αρχικά, πραγματοποιήθηκε σπορά 5.000 κυττάρων LMS, MCF-7 και 7.000 κυττάρων MRC-5, σε πολυτρυβλία 96x και προστέθηκε DMEM έτσι ώστε ο τελικός όγκος σε κάθε φρεάτιο να είναι 100 μl.

Τα πολυτρυβλία αφέθηκαν στον επωαστή  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  για 24 ώρες και στη συνέχεια προστέθηκαν τα σύμπλοκα σε διάφορες συγκεντρώσεις σε τελικό όγκο 200μL. Σε ορισμένα

από τα φρεάτια δεν προστέθηκε κανένα σύμπλοκο και χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου. Μετά το πέρας 48 ωρών προστέθηκαν 50μl MTT σε κάθε φρεάτιο και τα πολυτρυβλία επώαστηκαν για 3h. Ακολούθως πραγματοποιήθηκε αναρρόφηση του υπερκείμενου διαλύματος και προσθήκη 200ml DMSO. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάδευση με τη βοήθεια πολυπιπέτας ούτως ώστε να διαλυθεί το ίζημα στο DMSO και τα πολυτρυβλία φωτομετρήθηκαν σε φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 540nm.

Η αναστολή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων εκφράστηκε σε ποσοστό επί τοις εκατό σε σχέση με τα φρεάτια ελέγχου. Με τα πειράματα αυτά προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της ουσίας στην οποία πραγματοποιήθηκε θάνατος των κυττάρων σε ποσοστό 50% (τιμή IC<sub>50</sub>). Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν τουλάχιστον εις τριπλούν.

#### **6.1.12 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ –ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ**

Για τον προσδιορισμό του μηχανισμού με τον οποίο προκαλείται ο κυτταρικός θάνατος των καρκινικών κυττάρων μετά την επίδραση των συμπλόκων πραγματοποιήθηκε κυτταρομετρία ροής με την ακόλουθη διαδικασία :

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε σπορά 60.000 κυττάρων, LMS σε πολυτρυβλίο 6x και τα κύτταρα επώαστηκαν για 24 ώρες και ακολούθως προστέθηκαν τα σύμπλοκα στις επιθυμητές συγκεντρώσεις. Σε ορισμένα από τα φρεάτια δεν προστέθηκε σύμπλοκο ούτως ώστε να χρησιμοποιηθούν ως ομάδα ελέγχου. Μετά την πάροδο 48h, συλλέχθηκε το θρεπτικό υλικό από το κάθε φρεάτιο του πολυτρυβλίου σε σωλήνες falcon των 15 ml, πραγματοποιήθηκε πλύση με 1 ml PBS και συλλογή των εκπλυμάτων στα αντίστοιχα falcon. Ακολούθως, προστέθηκαν 0,3 ml θρυψίνης σε κάθε φρεάτιο και τα πολυτρυβλία επώαστηκαν στους 37°C για περίπου 5 λεπτά έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα. Στη συνέχεια, προστέθηκε επιπλέον 1ml DMEM και τα κύτταρα αναδεύτηκαν ήπια με τη χρήση πιπέτας.

Αφού αποκολλήθηκαν πλήρως τα κύτταρα, το εναιώρημα συλλέχθηκε στα αντίστοιχα Falcon. Ακολούθησε μέτρηση του συνολικού αριθμού των κυττάρων σε κάθε Falcon με πλάκες NewBauer, τα falcon φυγοκεντρήθηκαν στις 3.000 rpm για 5min και το υπερκείμενο διάλυμα απορρίφθηκε. Τα κυτταρικά ιζήματα επαναιωρήθηκαν σε 1 ml διαλύματος Calcium Buffer 1x και με τους κατάλληλους υπολογισμούς λήφθηκαν και τοποθετήθηκαν σε Eppendorf 100.000 κύτταρα σε 100μL Calcium Buffer 1x. Τα κύτταρα μεταφέρθηκαν σε σκοτεινό θάλαμο όπου σε κάθε eppendorf προστέθηκαν 5 μl Annexin και 4 μl Propidium Iodide.

Όλα τα δείγματα επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά. Μετά το πέρας των 20 λεπτών, προστέθηκε επιπλέον 0,9 ml Calcium Buffer 1x (τελικός όγκος 1 ml) και τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε κυτταρόμετρο ροής (CyFlow ML, Partec, Munster, Germany) όπου πραγματοποιήθηκε ανάλυση και προσδιορισμός % του ποσοστού των κυττάρων που βρίσκονται σε αποπτωτική ή νεκρωτική φάση.

## 6.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - IN VITRO ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ - ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΜΤΤ

Η % αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού υπολογίστηκε μετά από επώαση με τα σύμπλοκα 1-5 σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις για 48h για όλες τις κυτταρικές σειρές. Οι συγκεντρώσεις στις οποίες προκαλείται 50% αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (IC<sub>50</sub> τιμές) παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2: Συγκεντρώσεις των νέων συμπλόκων, στις οποίες προκαλείται 50% αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (IC<sub>50</sub> τιμές).**

Σύμπλοκα	LMS	MCF-7	MRC-5
Nicotivan	4,767±0,525 μM	6,933±0,125	9,833±0,34
Azivan	2,933±0,125	3,4 ±0,294	12,93±1,327
Pyriivan	10,6±0,883	16,07±0,85	12,8±.,86
Pipervan	15,9±0,455	16,23 ±0,741	34,23±1,347
Cadivan	1,225±0,238	2,367±0,368	2,433±0,125

### 6.2.1- ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ NICOTIVAN

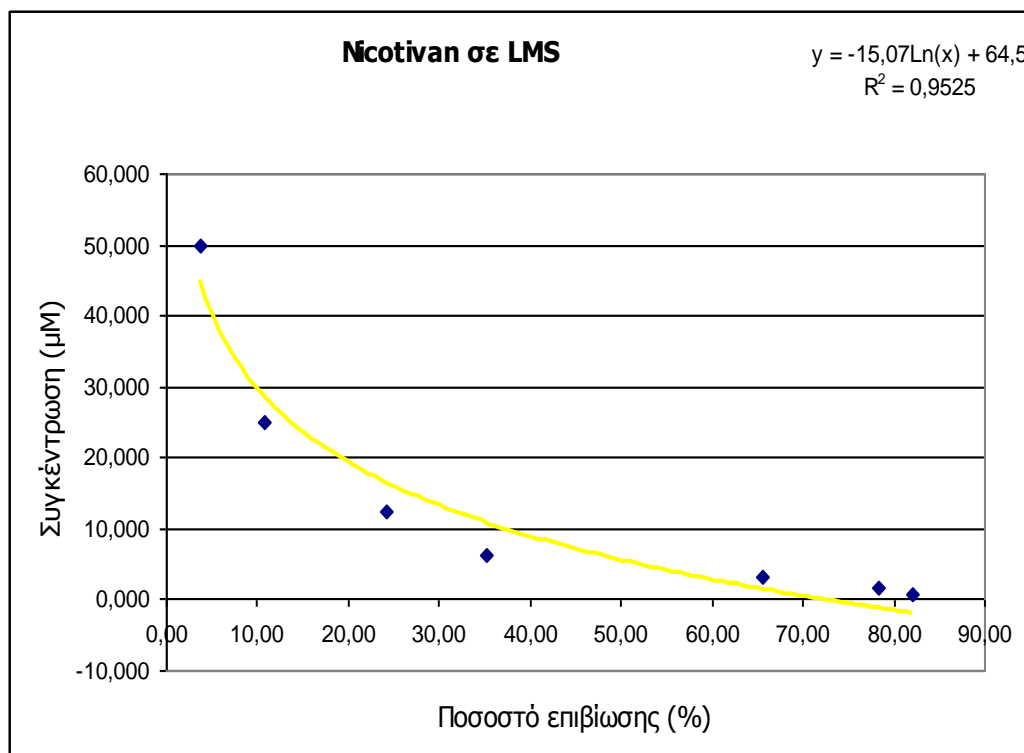
**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.3: Ποσοστά βιωσιμότητας ινοβλαστικών κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά LMS), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Nicotivan.**

Συγκέντρωση, (μM)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο)	Τυπική Απόκλιση, (SD)
0,780	82,14	4,18
1,560	78,34	1,65
3,13	65,58	2,89
6,25	35,19	1,13
12,5	24,25	0,12
25	10,86	0,65
50	3,63	0,24

**Το σύμπλοκο Nicotivan εμφανίζει αξιόλογη κυτταροτοξικότητα στην κυτταρική σειρά του λειομυοσαρκώματος τους επίμυος.** Ο πληθυσμός των νεοπλασματικών κυττάρων αρχίζει να ελαττώνεται ήδη από την προσθήκη πολύ μικρών συγκεντρώσεων του συμπλόκου. Έτσι η προσθήκη πολύ μικρής ποσότητας συμπλόκου Nicotivan (συγκέντρωση 780 nM) πυροδοτεί την έναρξη του κυτταρικού θανάτου των νεοπλασματικών κυττάρων μειώνοντας τον πληθυσμό τους κατά 18 εκατοστιαίες μονάδες. Η καμπύλη που ακολουθεί ο θάνατος των νεοπλασματικών κυττάρων συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου έχει την εικόνα μιας υπερβολής, ενώ ο κυτταρικός πληθυσμός μηδενίζεται στην συγκέντρωση των 3,63±0,24 μM κατά προσέγγιση.

Συνεπώς μπορούμε να πούμε ότι το συγκεκριμένο σύμπλοκο είναι ισχυρώς κυτταροτοξικό για τα νεοπλασματικά κύτταρα και η δράση του είναι συγκρίσιμη με άλλους σύμπλοκους αντικαρκινικούς παράγοντες όπως π.χ το Cis-platinum, [Chen D., et al, "Metal Complexes, their Cellular Targets and Potential for Cancer Therapy", Review Paper, 2009] και [Brabec V., et al, "Molecular Aspects of Resistance to Antitumor Platinum Drugs", Review Paper,

2002]. Στο παρόν διάγραμμα βλέπουμε την δράση του συμπλόκου Nicotivan επί μιας φυσιολογικής κυτταρικής σειράς, των εμβρυονικών ινοβλαστών μυός MRC-5. Από την πορεία της καμπύλης διαπιστώνουμε ότι το συγκεκριμένο σύμπλοκο παρουσιάζει τοξικότητα εναντίον των φυσιολογικών κυττάρων, πολύ ανάλογη με εκείνη που εμφανίζει για τα λειομυοσαρκωματικά κύτταρα, όπως περιγράψαμε ανωτέρω.



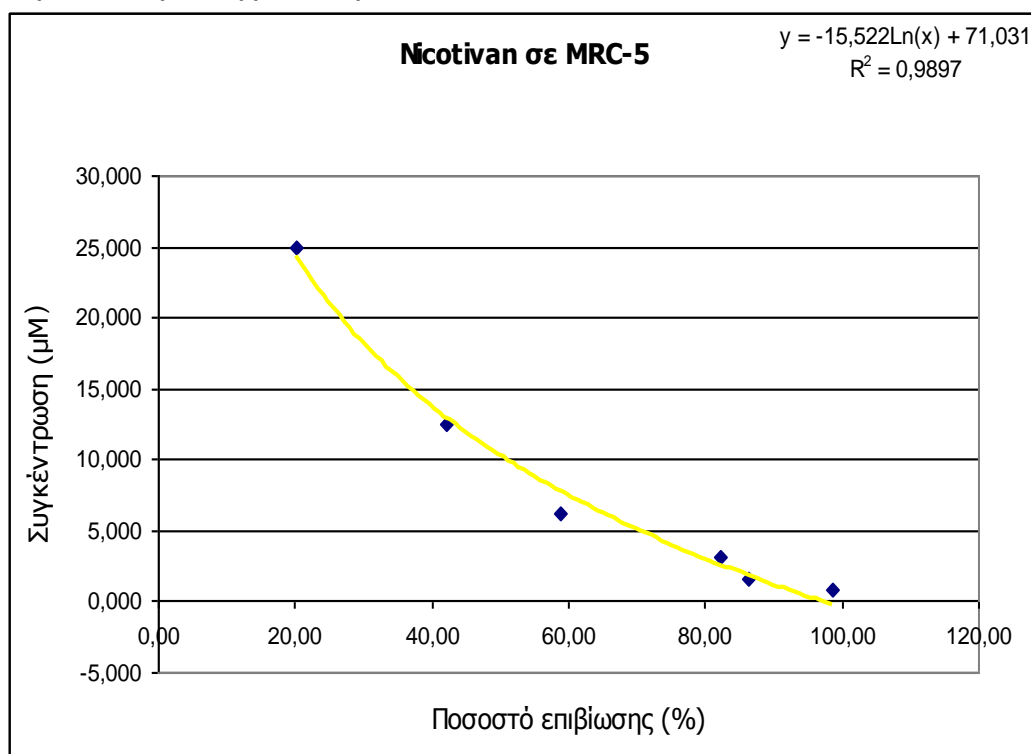
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.1:** Το σύμπλοκο του Nicotivan σε κυτταρική σειρά LMS.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.4:** Ποσοστά βιωσιμότητας φυσιολογικών ινοβλαστικών κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MRC-5), συναρτήσεως της συγκέντρωσης του συμπλόκου Nicotivan.

Συγκέντρωση, (μM)	Μέσος Όρος, (MO)	Τυπική Απόκλιση, (SD)
0,780	98,50	3,51
1,560	86,40	2,56
3,13	82,31	2,52
6,25	58,83	2,19
12,5	42,15	1,54
25	20,31	0,57
50	4,26	0,28

Η έναρξη της τοξικότητας είναι στο επίπεδο της συγκέντρωσης των 780 nM, ενώ η IC<sub>50</sub> κυμαίνεται μεταξύ 6,25 και 12,5 μM. Τέλος όλος ο κυτταρικός πληθυσμός πεθαίνει στην συγκέντρωση των 50 μM. Εν συγκρίσει προς τα νεοπλασματικά κύτταρα παρατηρούμε ότι οι φυσιολογικοί ινοβλάστες είναι περισσότερο ανθεκτικοί απέναντι στην δράση του συμπλόκου, αλλά όχι αρκετά ώστε να μιλάμε για καθαρή εκλεκτικότητα. Το σύμπλοκο Nicotivan δρα κυτταροτοξικά απέναντι στην καρκινική κυτταρική του καρκίνου του μαστού MCF-7. Η τοξική δράση αρχίζει ήδη από την συγκέντρωση των 780 nM ενώ η IC<sub>50</sub> είναι

κατά προσέγγιση ίση προς 6,25  $\mu\text{M}$ . Όλος ο κυτταρικός πληθυσμός αποθνήσκει κατά προσέγγιση στα 50  $\mu\text{M}$  της ουσίας.



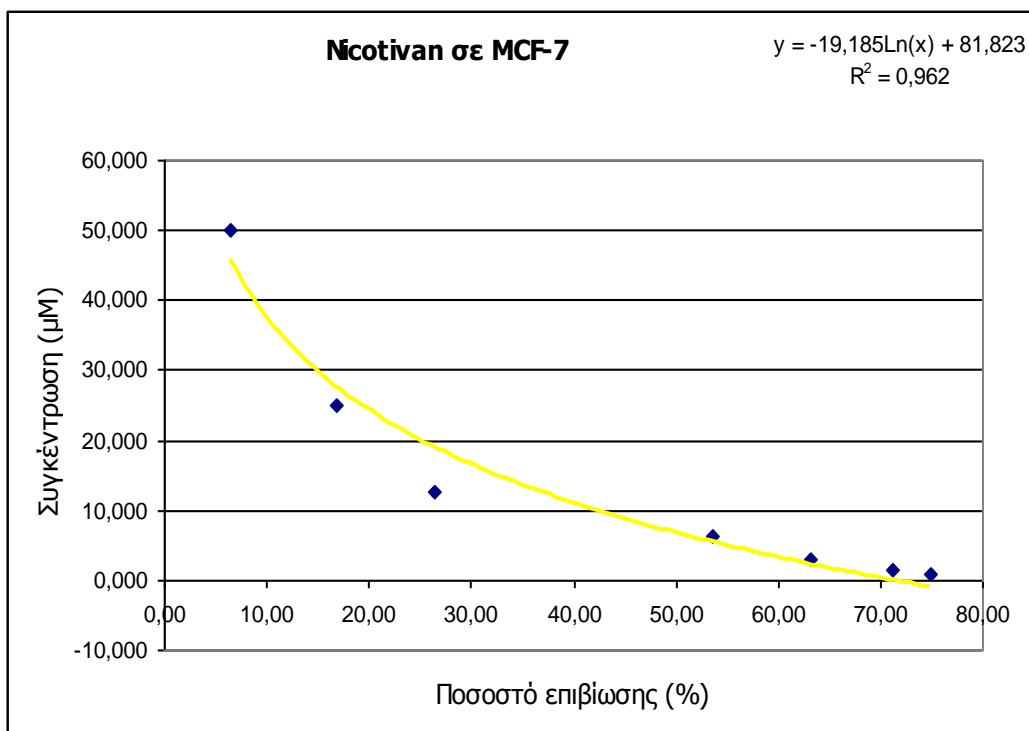
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.2:** Βιωσιμότητας φυσιολογικών ινοβλαστών ποντικού (κυτταρική σειρά MRC-5), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Nicotivan

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.5:** Ποσοστά βιωσιμότητας (σε κυτταρική σειρά MCF-7), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Nicotivan.

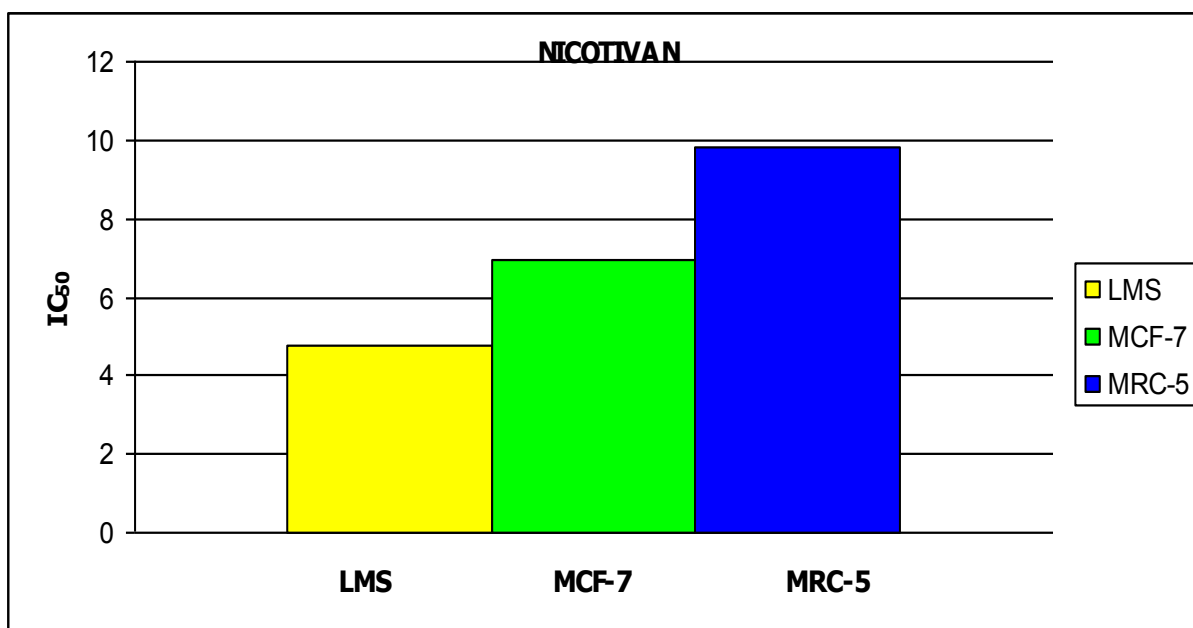
Συγκέντρωση, ( $\mu\text{M}$ )	Μέσος Όρος, (ΜΟ)	Τυπική Απόκλιση, (SD)
0,780	74,94	5,05
1,560	71,15	4,25
3,13	63,18	3,80
6,25	53,50	3,25
12,5	26,44	2,14
25	16,87	3,01
50	6,53	1,07

Συνεπώς το συγκεκριμένο σύμπλοκο είναι περισσότερο τοξικό για την σειρά των κυττάρων του καρκίνου του μαστού σε σύγκριση με τα κύτταρα LMS και MRC-5. Ενδεχομένως το σύμπλοκο αυτό φαίνεται να έχει μια κατ' αρχάς εκλεκτικότητα σε νεοπλασματικές σειρές καρκίνων. Παρατηρούμε ότι η λειομυοσαρκωματική σειρά (LMS) εμφανίζει την μεγαλύτερη ευαισθησία απέναντι στο σύμπλοκο και κατόπιν ακολουθεί η σειρά του καρκινώματος του μαστού (MCF-7). Τέλος ακολουθεί η σειρά των φυσιολογικών εμβρυονικών ινοβλαστών (MRC-5) του ποντικού. Παρά αυτή την υπάρχουσα διαβάθμιση εκλεκτικότητας πρέπει ωστόσο να υπογραμμίσουμε ότι οι διαφορές των  $IC_{50}$  είναι πολύ μικρές, οπότε δεν μπορούμε να θεωρήσουμε ότι υπάρχει ένα επαρκές θεραπευτικό παράθυρο ενάντια στα κακοήγη κύτταρα, στο οποίο δεν θίγονται τα φυσιολογικά κύτταρα.





**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.3:** Το σύμπλοκο του Nicotivan σε κυτταρική σειρά MCF-7.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.4:** Σύγκριση των τριών IC<sub>50</sub> του συμπλόκου Nicotivan, που χαρακτηρίζουν τις τρεις κυτταρικές σειρές.

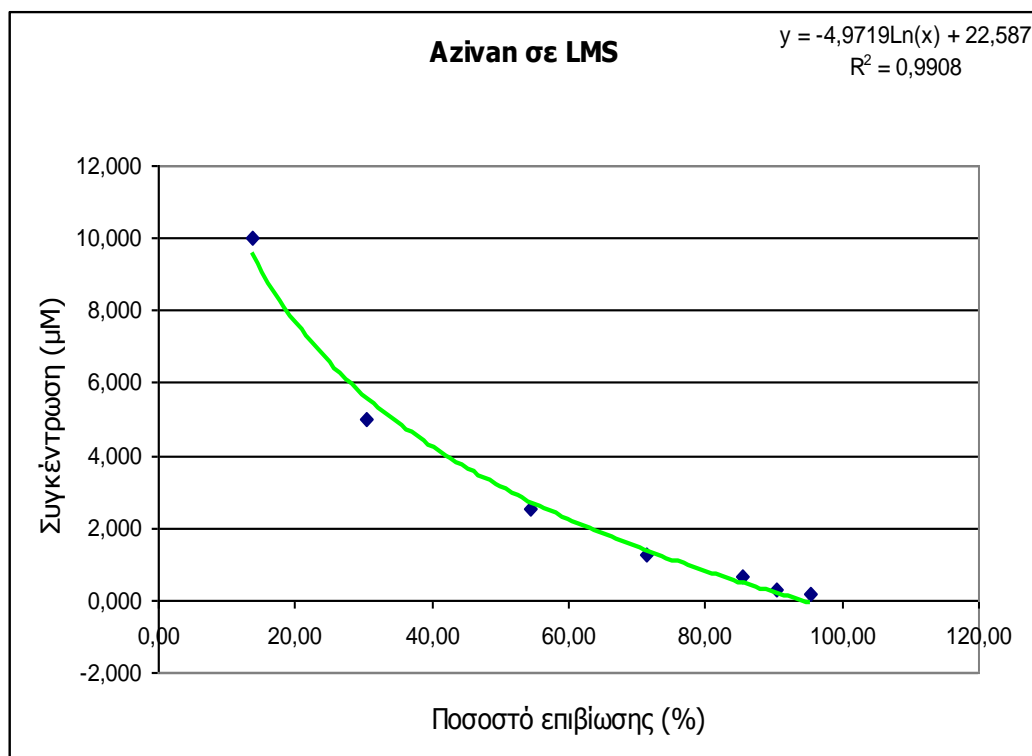
Φυσικά δεν γνωρίζουμε αν αυτή η παρατήρηση γενικεύεται για πολλές από τις υπάρχουσες νεοπλασματικές και φυσιολογικές κυτταρικές σειρές. Η απάντηση στο ερώτημα αυτό μπορεί να δοθεί κατόπιν εκτεταμένης μελέτης σε πολλές νεοπλασματικές σειρές του ανθρώπου σε σύγκριση με τις δράσεις των εν λόγω συμπλόκων επί φυσιολογικών ανθρώπινων κυττάρων διαφόρων ιστών (λευκοκύτταρα, μυοκαρδιοκύτταρα, ηπατοκύτταρα, νευρώνες, κ.α.).

## 6.2.2- ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ AZIVAN

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.6** Ποσοστά βιωσιμότητας ινοβλαστικών κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά LMS), συναρτήσεως της συγκέντρωσης του συμπλόκου Azivan

<b>μM</b>	<b>M.O.</b>	<b>S.D.</b>
0,156	95,52	4,54
0,313	90,48	4,47
0,63	85,39	4,04
1,25	71,43	3,53
2,5	54,42	2,58
5	30,41	1,38
10	13,70	1,47

Διάγραμμα που δείχνει την δράση του συμπλόκου Azivan σε λειομυοσαρκοματικά κύτταρα. Η έναρξη της τοξικής δράσης του συμπλόκου εμφανίζεται στην χαμηλή συγκέντρωση των 156 nM (0,156 μM), ενώ η τιμή IC<sub>50</sub> είναι κατά προσέγγιση ίση προς 2,5 μM. Ο συνολικός πληθυσμός του τρυβλίου αποθνήσκει στην συγκέντρωση των 10 μM. Παρατηρούμε ότι η συμπεριφορά του Azivan έχει μεγάλη αναλογία με την κυτταροτοξική συμπεριφορά του Nicotivan. Το σύμπλοκο αυτό είναι σημαντικά ισχυρότερο, σε σύγκριση με το σύμπλοκο Nicotivan.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.5:** Το σύμπλοκο του Azivan σε κυτταρική σειρά LMS.

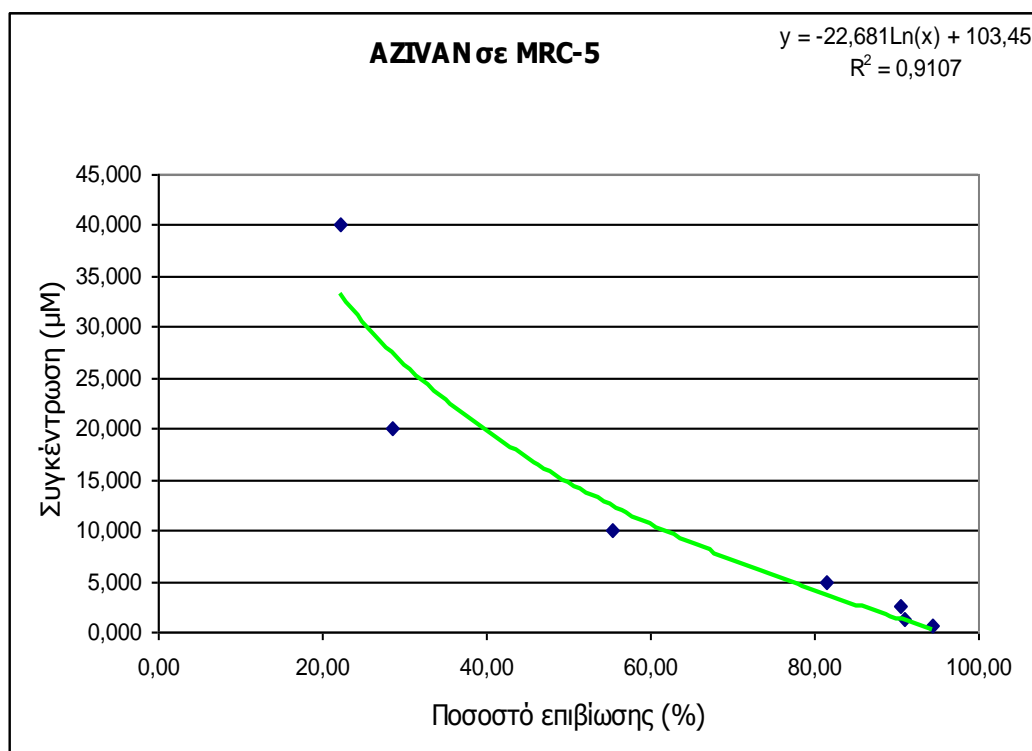
Στο παρόν διάγραμμα βλέπουμε την δράση του Azivan στην φυσιολογική κυτταρική σειρά των εμβρυονικών ινοβλαστών του μυός. Το διάγραμμα της σχέσης κυτταροτοξικότητας – αντίστοιχης συγκέντρωσης δείχνει ότι οι φυσιολογικοί ινοβλάστες του ποντικού είναι πιο ανθεκτικοί στην δράση του συμπλόκου, αλλά όχι πολύ εν συγκρίσει με τα κύτταρα LMS.

Έτσι η κυτταροτοξικότητα αυτού του συμπλόκου ξεκινά στην συγκέντρωση των 630 nM (0,630 μM), ενώ η τιμή IC<sub>50</sub> είναι κατά προσέγγιση ίση προς 10 μM.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.7. Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MRC-5), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Azivan.**

Συγκέντρωση, (μM)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
0,630	94,38	0,77
1,250	91,03	3,34
2,50	90,37	2,40
5,00	81,56	0,69
10	55,28	3,04
20	28,61	0,70
40	22,13	0,73

Η συγκέντρωση που προκαλεί θάνατο στο μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού του τρυβλίου υπερβαίνει τα 40μM. Βέβαια παρατηρούμε ότι στην εν λόγω συγκέντρωση υπάρχει ένα υπολειμματικό ποσοστό κυττάρων εμβρυονικών ινοβλαστών που επιβιώνουν.



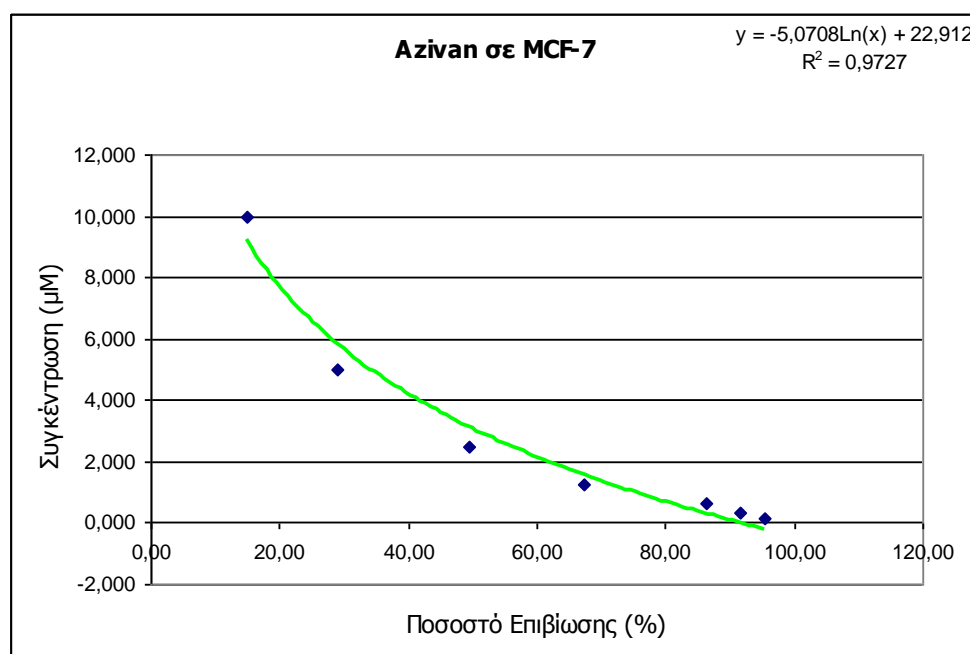
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.6: Το σύμπλοκο του Azivan σε κυτταρική σειρά MRC-5.**

Δράση του συμπλόκου Azivan επί της κυτταρικής σειράς MRC-7 (ανθρώπινο αδενοκαρκίνωμα του μαστού). Το σύμπλοκο αρχίζει να δρα κυτταροτοξικά στην συγκέντρωση των 156 nM (0,156 μM), εμφανίζει τιμή IC<sub>50</sub> ίση προς 2,5 μM, ενώ προκαλεί τον θάνατο των περισσότερων κυττάρων του τρυβλίου (85,11%) στην ελάχιστη δόση των 10 μM κατά προσέγγιση, [Collier W.A., und Krauss F., "Die Wirkung Einer Schwere Metal auf

Experimental Murine Krebs ist Nicht nur Wegen der Metal Allein, Sondern Auch auf die Struktur der Verbindungen und der Art der Verbindung", Zeitschrift für Krebsforschung, Volume 34, pp. 527-530, 1931 ].

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.8: Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MCF-7), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Azivan.**

Συγκέντρωση, (μM)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο)	Τυπική Απόκλιση, (S.D)
0,156	95,35	3,68
0,313	91,54	3,44
0,63	86,34	3,25
1,25	67,30	2,35
2,5	49,60	3,09
5	29,04	1,17
10	14,89	1,58

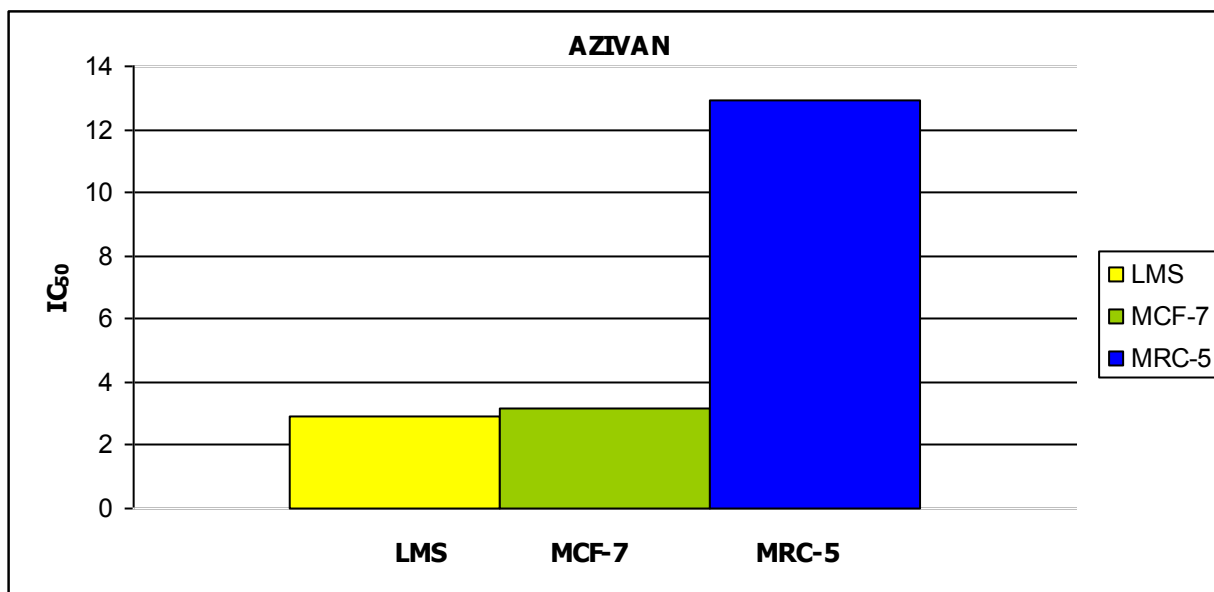


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.7: Το σύμπλοκο του Azivan σε κυτταρική σειρά MCF -7.**

Παρατηρούμε ότι το σύμπλοκο εμφανίζει περίπου ίση δράση στις νεοπλασματικές κυτταρικές σειρές (δηλαδή στενά γειτνιάζουσες τιμές IC<sub>50</sub>), τόσο για την κυτταρική σειρά του καρκίνου του μαστού MCF-7 όσο και για την σαρκωματική σειρά του λειομυοσαρκώματος του επίμουσ (περίπου 2,5 μM και για τους δύο τύπους κακοήθους νεοπλασματος), ενώ απαιτείται σαφώς μεγαλύτερη συγκέντρωση αυτού για να θανατώσει το 50% των φυσιολογικών εμβρυονικών ινοβλαστών του ποντικού (10 μM).

Αυτή η συμπεριφορά του συμπλόκου **Azivan** υποδεικνύει την ύπαρξη μιας **ισχυρής εκλεκτικότητας** απέναντι στα νεοπλασματικά κύτταρα, **οπότε η ουσία αυτή εμφανίζει εξαιρετικό ενδιαφέρον**, προκειμένου να υπολογιστεί η ακριβής δράση της και σε άλλες νεοπλασματικές αλλά και φυσιολογικές κυτταρικές σειρές, όπως επίσης και να ερμηνευτεί ο μηχανισμός αυτής της ισχυρής κυτταροτοξικής εκλεκτικότητας. Πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι η ισχυρή αυτή εκλεκτικότητα είναι λίαν επαρκής για να εξασφαλίσει ισχυρή

καταστολή και κατάρρευση των κακοήθων κυττάρων, σε λογικό χρόνο, χωρίς ωστόσο τα φυσιολογικά να υποστούν σημαντικές βλάβες.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.8:** Συλλεκτικό διάγραμμα επιβίωσης των τριών κυτταρικών σειρών, που χρησιμοποιήσαμε όπου συγκρίνονται οι IC<sub>50</sub> του συμπλόκου Azivan για κάθε μία από τις κυτταρικές σειρές.

Η παρουσία του **Azivan** σε διάλυμα ή εναιώρημα εντός καλλιέργειας καρκινικών κυττάρων LMS, προκαλεί την μαζική θανάτωση αυτών, σε αποστεωμένα κενά και άχρωμα ασκίδια, τα οποία προσκολλώνται επί των υαλίνων επιφανειών του τρυβλίου, εντός περίπου ενός εικοσιτετραώρου. Καρκινικοί όγκοι εξ' άλλου, που αναπτύσσονται εντός τρυβλίων θρεπτικής καλλιέργειας, μεγέθους φασιόλου και διαμέτρου περίπου 2cm, καταρρέουν εντός περίπου εβδομάδος, σε νεκρά κύτταρα και κυανοπράσινο υγρό. **Το σύμπλοκο Azivan στην κατάλληλη δοσολογία προκαλεί την θανάτωση, την κατάρρευση και την ολοκληρωτική εξολόθρευση των αποικιών των κυττάρων LMS, ενώ αφήνει αλώβητα τα υγιή κύτταρα.**

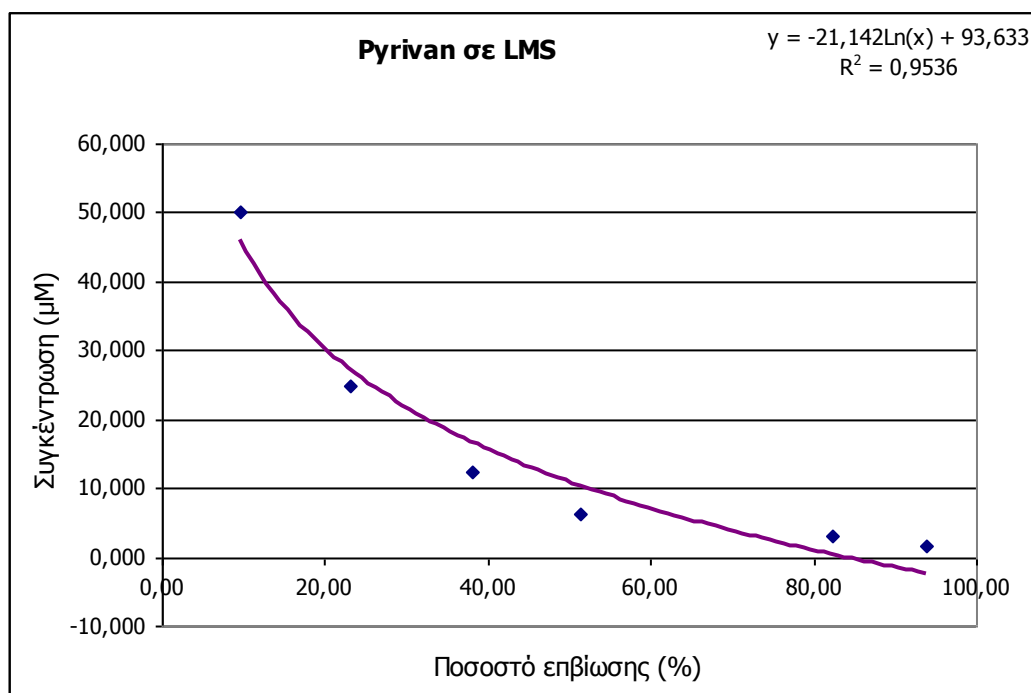
### 6.2.3- ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ PYRIVAN

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.9:** Ποσοστά βιωσιμότητας ινοβλαστικών κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά LMS), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Pyrivan

Συγκέντρωση, (μM)	Μέσος Όρος, (M.O.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
1,560	93,82	1,27
3,125	82,19	2,17
6,25	51,28	2,29
12,50	38,03	0,94
25	22,98	1,70
50	9,54	0,81
100	2,63	0,17

Το σύμπλοκο Pygivan εμφανίζει αξιόλογη κυτταροτοξικότητα απέναντι στα λειομυο-σαρκωματικά κύτταρα του επίμουσ Wistar. Η εμφάνιση της κυτταροτοξικής δράσης λαμβάνει χώρα στην συγκέντρωση των 1,56 μΜ.

Η τιμή IC<sub>50</sub> ισούται με 6,25μΜ, ενώ όλος ο κυτταρικός πληθυσμός του τρυβλίου αποθνήσκει στην ελάχιστη πλήρως θανατηφόρα συγκέντρωση των 100 μΜ κατά προσέγγιση. Σε σύγκριση με τα προηγούμενα σύμπλοκα το παρόν εμφανίζει σημαντική ελάττωση στην κυτταροτοξική δράση του.



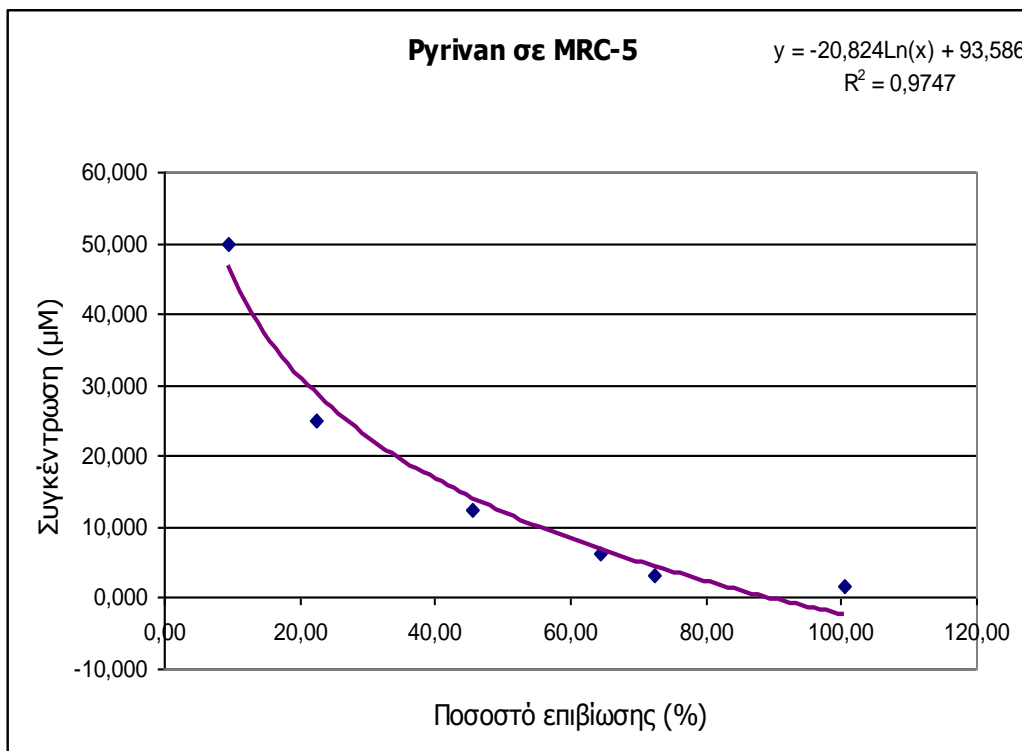
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.9:** Το σύμπλοκο του Pygivan σε κυτταρική σειρά LMS.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.10:** Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MRC-5), συναρτήσεως της συγκέντρωσης του συμπλόκου Pygivan

Συγκέντρωση, (μΜ)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
1,563	100,52	4,14
3,125	72,48	2,46
6,25	64,35	2,88
12,50	45,56	1,28
25	22,58	1,05
50	9,42	1,06
100	7,64	0,81

Το σύμπλοκο Pygivan, με υποκαταστάτη την πυριδίνη εμφανίζει σαφή κυτταροτοξικότητα στους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες του ποντικού. Η εμφάνιση της κυτταροτοξικότητας, αυτού του συμπλόκου αρχίζει να αναδύεται σε σχετικά μικρές συγκεντρώσεις

συμπλόκου, που είναι υψηλότερες των 1,563  $\mu\text{M}$ . Η τιμή τιμή  $\text{IC}_{50}$  κυμαίνεται μεταξύ 6,25 και 12,5  $\mu\text{M}$ . Στην συγκέντρωση των 100  $\mu\text{M}$  έχουμε σχεδόν ολοκληρωτικό θάνατο του κυτταρικού πληθυσμού του τρυβλίου.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.10:** Το σύμπλοκο του Pyriivan σε κυτταρική σειρά MRC-5

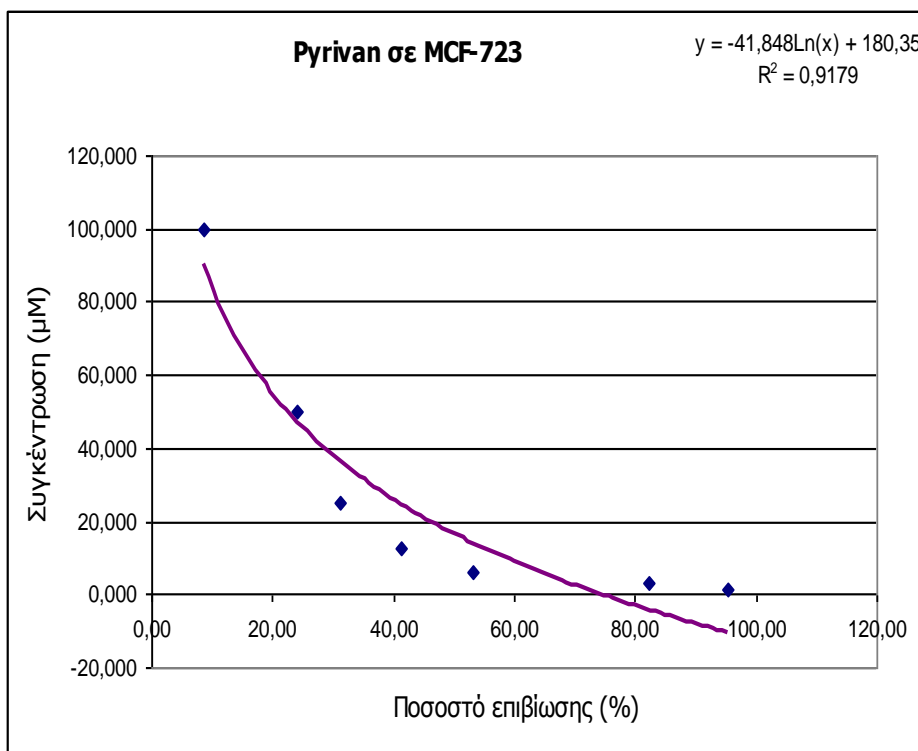
Το σύμπλοκο αυτό εμφανίζει αρκετά υψηλή κυτταροτοξικότητα εναντίον της νεοπλασματικής σειράς του καρκίνου του μαστού. Η εμφάνιση της κυτταροτοξικότητας λαμβάνει χώρα σε συγκεντρώσεις περί τα 1,56  $\mu\text{M}$ , ενώ η  $\text{IC}_{50}$  τιμή είναι προσεγγιστικά ίση με 6,25  $\mu\text{M}$ . Η ελάχιστη συγκέντρωση που θανατώνει όλο τον κυτταρικό πληθυσμό του τρυβλίου είναι λίγο μεγαλύτερη των 100  $\mu\text{M}$ .

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.11:** Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MCF-7), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Pyriivan.

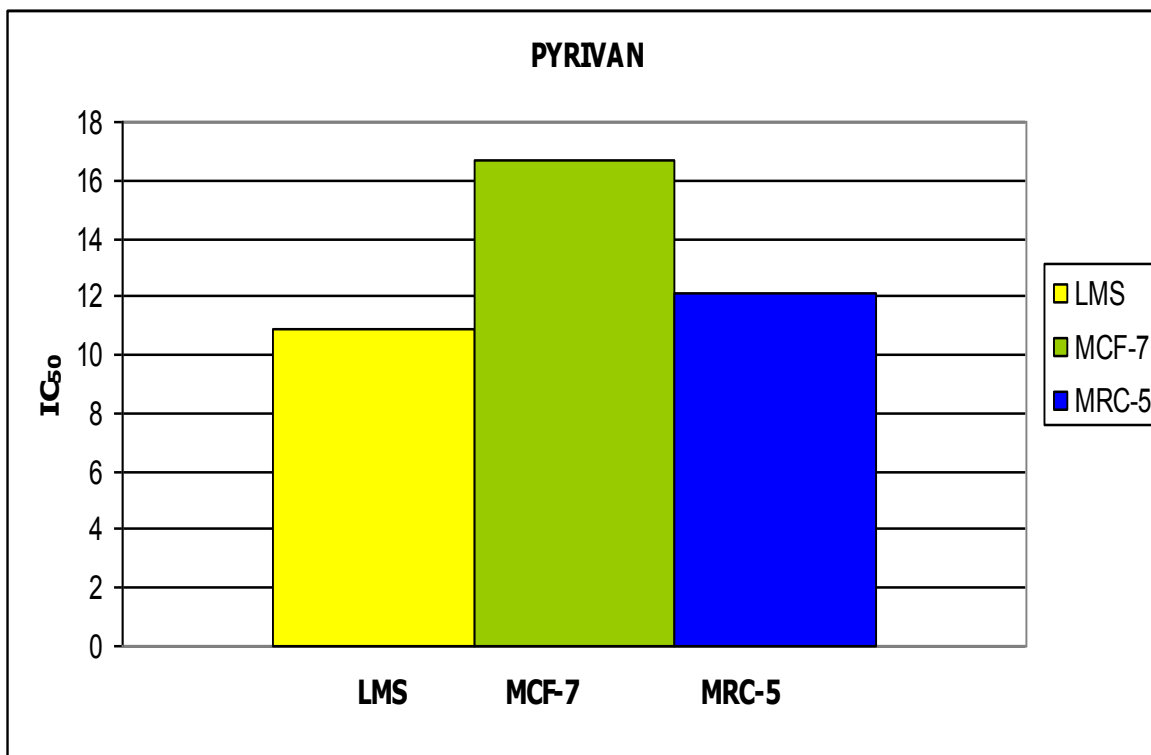
Pyriivan, ( $\mu\text{M}$ )	M.O.	S.D.
1,560	95,40	2,30
3,125	82,28	1,55
6,25	53,17	3,37
12,50	41,35	1,69
25	31,11	0,71
50	24,01	1,27
100	8,55	1,16

Παρατηρούμε ότι το σύμπλοκο δεν εμφανίζει επιλεκτικότητα για τα νεοπλασματικά κύτταρα, ενώ η τιμή  $\text{IC}_{50}$  αυτού για τους φυσιολογικούς ινοβλάστες του ποντικού είναι ελάχιστα πιο υψηλή από την αντίστοιχη των λειομυοσαρκοματικών κυττάρων. Για τα

καρκινικά κύτταρα του μαστού είναι δε σχετικά υψηλότερη, πράγμα που δείχνει ότι δεν υφίσταται ουσιαστικά εκλεκτικότητα. Πρέπει ακόμη να παρατηρηθεί ότι οι τιμές IC<sub>50</sub> είναι αρκετά κοντά και για τις τρεις κυτταρικές σειρές.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.11:** Το σύμπλοκο του Pyriivan σε κυτταρική σειρά MCF-7.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.12:** Συλλεκτικό διάγραμμα, που θέτει υπό σύγκριση των τιμών IC<sub>50</sub> του συμπλόκου Pyriivan για όλες τις χρησιμοποιηθείσες κυτταρικές σειρές.

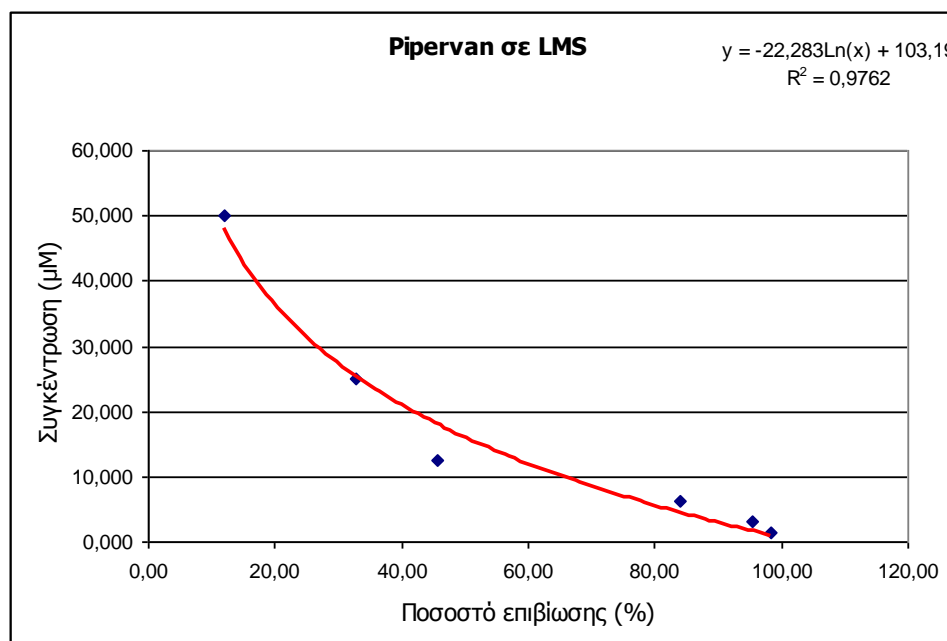


## 6.2.4- ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ PIPERVAN

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.12:** Ποσοστά βιωσιμότητας ινοβλαστικών κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά LMS), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Pipervan

Συγκέντρωση, (μΜ)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
1,563	98,22	4,57
3,125	95,29	4,09
6,25	84,05	4,20
12,50	45,65	1,96
25	32,88	1,20
50	11,93	1,00
100	3,18	0,17

Το εν λόγω σύμπλοκο αρχίζει να δίνει κυτταροτοξική δράση σε μια συγκέντρωση που προσεγγίζει τα 1,563 μΜ. Η τιμή IC<sub>50</sub> του συμπλόκου κυμαίνεται μεταξύ 6,25 και 12,5 μΜ, ενώ η ελάχιστη συγκέντρωση που επιφέρει τον θάνατο όλου του πληθυσμού των κυττάρων του τρυβλίου προσεγγίζει τα 100 μΜ.

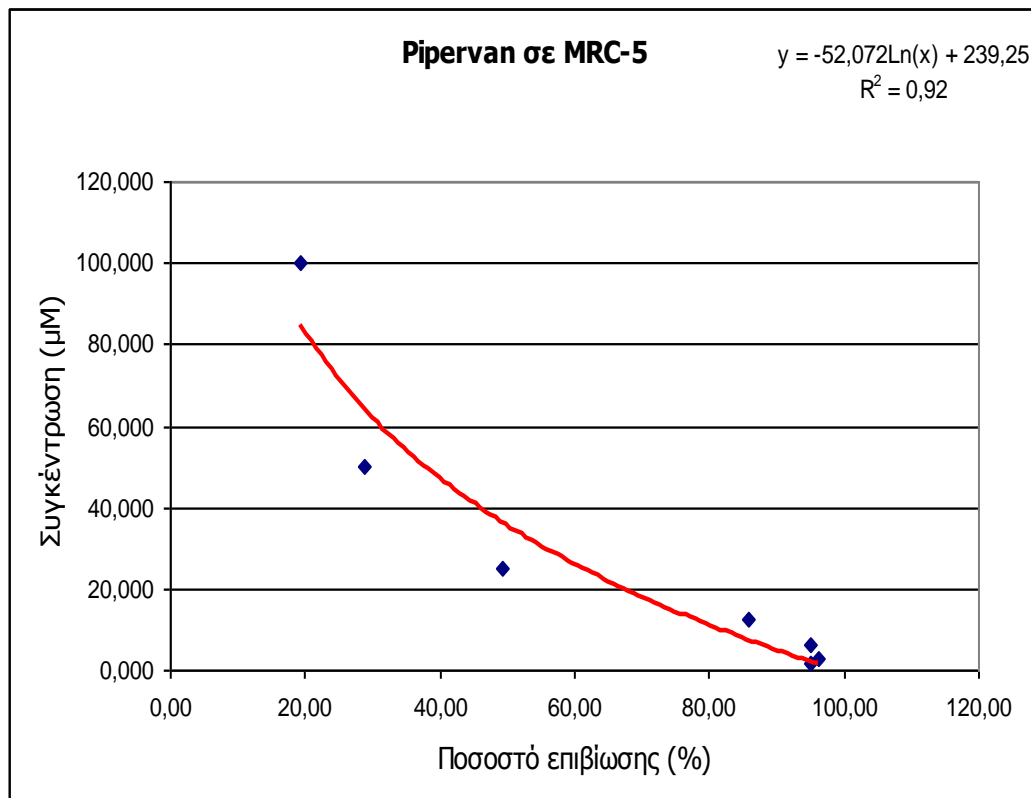


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.13:** Το σύμπλοκο του Pipervan σε κυτταρική σειρά LMS.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.13:** Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MRC-5), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Pipervan.

Συγκέντρωση, (μΜ)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
1,563	95,07	2,97
3,125	96,27	3,38
6,25	95,17	3,31
12,50	85,79	2,44
25	49,30	1,46
50	28,69	1,38
100	19,45	0,69

Το σύμπλοκο Piperavan εμφανίζει κυτταροτοξικότητα απέναντι στους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες, η οποία αρχίζει να γίνεται αισθητή στην συγκέντρωση που προσεγγίζει τα 3,12 μΜ. Η τιμή IC<sub>50</sub> του συμπλόκου βρίσκεται προσεγγιστικά μεταξύ των 12,5 – 25 μΜ, ενώ η ελάχιστη συγκέντρωση που προκαλεί θάνατο σε όλο τον κυτταρικό πληθυσμό προσεγγίζει τα 115 μΜ (Δεδομένα εκτός διαγράμματος).

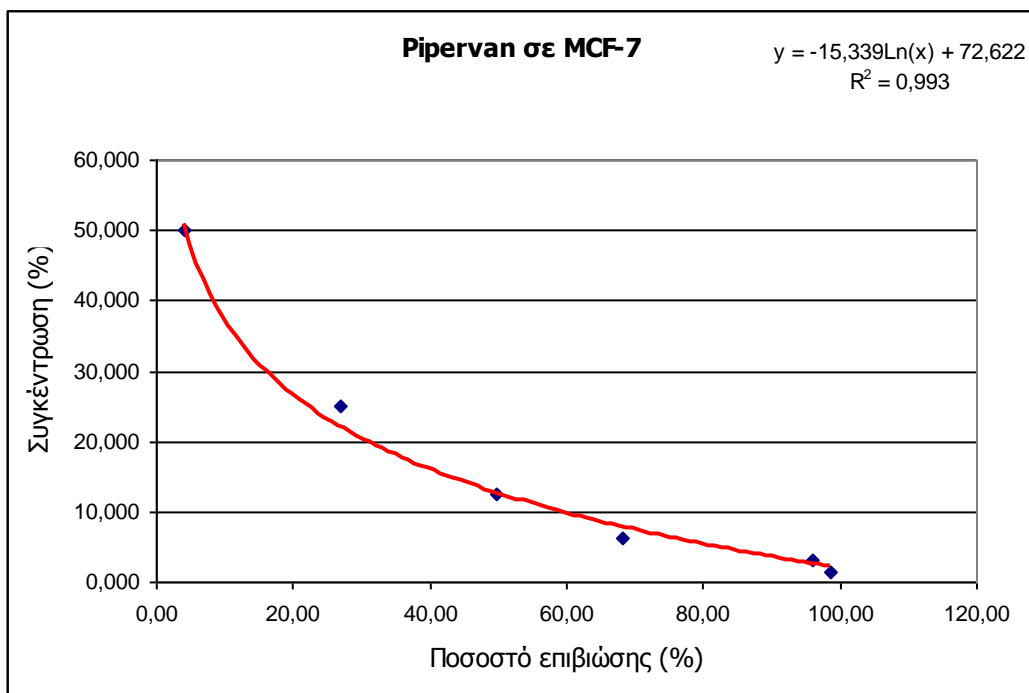


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.14:** Το σύμπλοκο του Piperavan στην κυτταρική σειρά MRC-5.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.14:** Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MCF-7), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Piperavan.

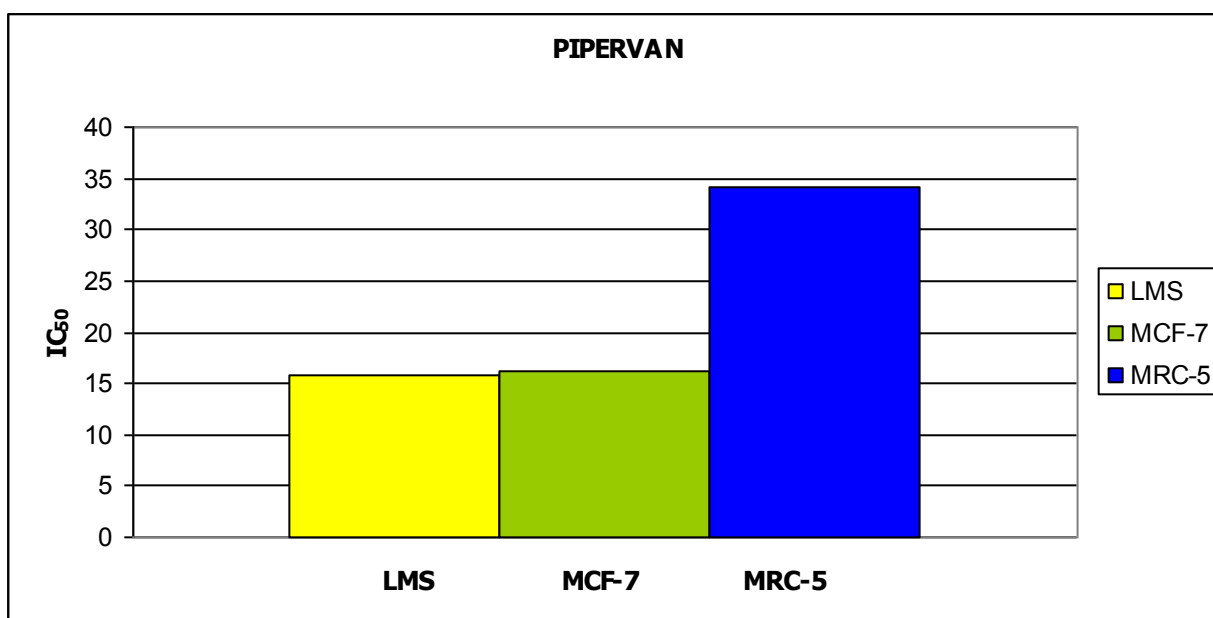
Συγκέντρωση, (μΜ)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
1,563	98,64	1,01
3,125	95,95	2,69
6,25	68,30	4,83
12,50	49,80	0,89
25	26,81	0,98
50	4,11	0,34
100	1,85	0,26

Το σύμπλοκο Piperavan εμφανίζει υψηλή σχετικά κυτταροτοξικότητα, απέναντι στα νεοπλασματικά κύτταρα του καρκίνου του μαστού. Η έναρξη της κυτταροτοξικής δράσης εμφανίζεται σε συγκέντρωση μικρότερη των 3,125 μΜ, ενώ η τιμή IC<sub>50</sub> κυμαίνεται μεταξύ 6,25 και 12,5 μΜ. Η ελάχιστη συγκέντρωση που θανατώνει όλο τον πληθυσμό των κυττάρων του τρυβλίου είναι περίπου ίση προς 100 μΜ.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.15:** Το σύμπλοκο του Piperavan σε κυτταρική σειρά MRC-7.

Παρατηρούμε ότι οι τιμές  $IC_{50}$  που αφορούν τα νεοπλασματικά κύτταρα (λειομυοσάρκωμα και καρκίνωμα μαστού) είναι πολύ κοντινές (16 και 16,6  $\mu M$ ), ενώ η τιμή  $IC_{50}$  που αφορά τους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες είναι σχεδόν διπλάσια, δίνοντας έτσι ένα "παράθυρο" σχετικής επιλεκτικότητας εναντίον των κακοήθων κυττάρων.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.16:** Συλλεκτικό διάγραμμα στο οποίο φαίνονται οι διαφορές μεταξύ των  $IC_{50}$ , που εμφανίζουν οι τρεις κυτταρικές σειρές με το σύμπλοκο Piperavan.

Η παρουσία του συμπλόκου Piperavan – σε στερεά φάση ή κατάλληλη διάλυση- εντός καλλιέργειας καρκινικών κυττάρων LMS, προκαλεί την μαζική θανάτωση αυτών, προς αποστεωμένα κενά και άχρωμα ασκίδια, τα οποία προσκολλώνται επί των υαλίνων

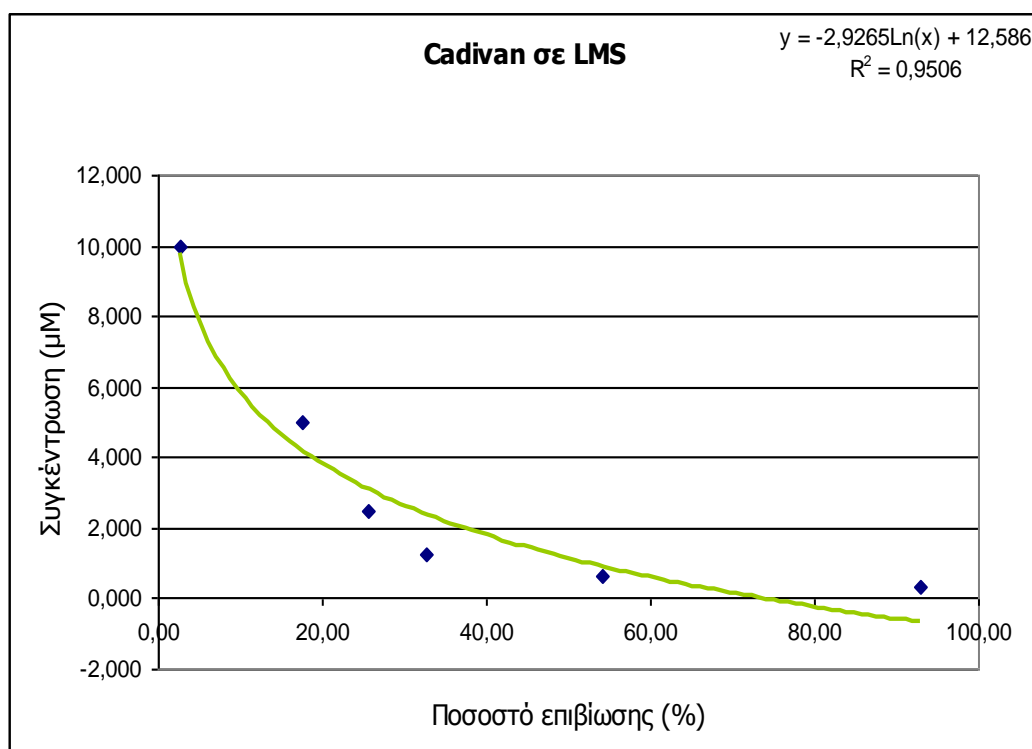
επιφανειών του τρυβλίου, εντός διαστήματος ενός εικοσιτετραώρου. Σε σύγκριση με το συμπλοκο Αζιβάν χρειάζεται μεγαλύτερη - έως και διπλάσια συγκέντρωση του διαλύματος και μεγαλύτερη ποσότητα συμπλόκου. Το **Pipervan** προκαλεί την θανάτωση και τελική κατάρρευση των αποικιών των καρκινικών κυττάρων LMS.

## 6.2.5- ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ CADIVAN

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.15:** Ποσοστά βιωσιμότητας ινοβλαστικών κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά LMS), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Cadivan

Συγκέντρωση, (μM)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
0,313	92,90	2,91
0,625	54,12	1,69
1,25	32,57	3,32
2,50	25,73	0,86
5	17,60	3,22
10	2,60	0,35
20	1,55	0,34

Κυτταροτοξική δράση του συμπλόκου Cadivan, με υποκαταστάτη την Καδαβερίνη, στην νεοπλασματική κυτταρική σειρά λειομυοσαρκώματος επίμυος Wistar. Παρατηρούμε ότι η κυτταροτοξική δράση του εν λόγω συμπλόκου ξεκινά ήδη από πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις των 313 nM, που είναι μικρότερες του ενός (1) μM. Η τιμή IC<sub>50</sub> του συμπλόκου είναι προσεγγιστικά ίση προς 625 nM (0,625 μM) ενώ όλος ο κυτταρικός πληθυσμός του τρυβλίου θανατώνεται σε μια συγκέντρωση συμπλόκου ίση προς 20 μM. **Κατά συνέπεια το εν λόγω σύμπλοκο συμπεριφέρεται ως μια ισχυρά κυτταροτοξική ένωση.**



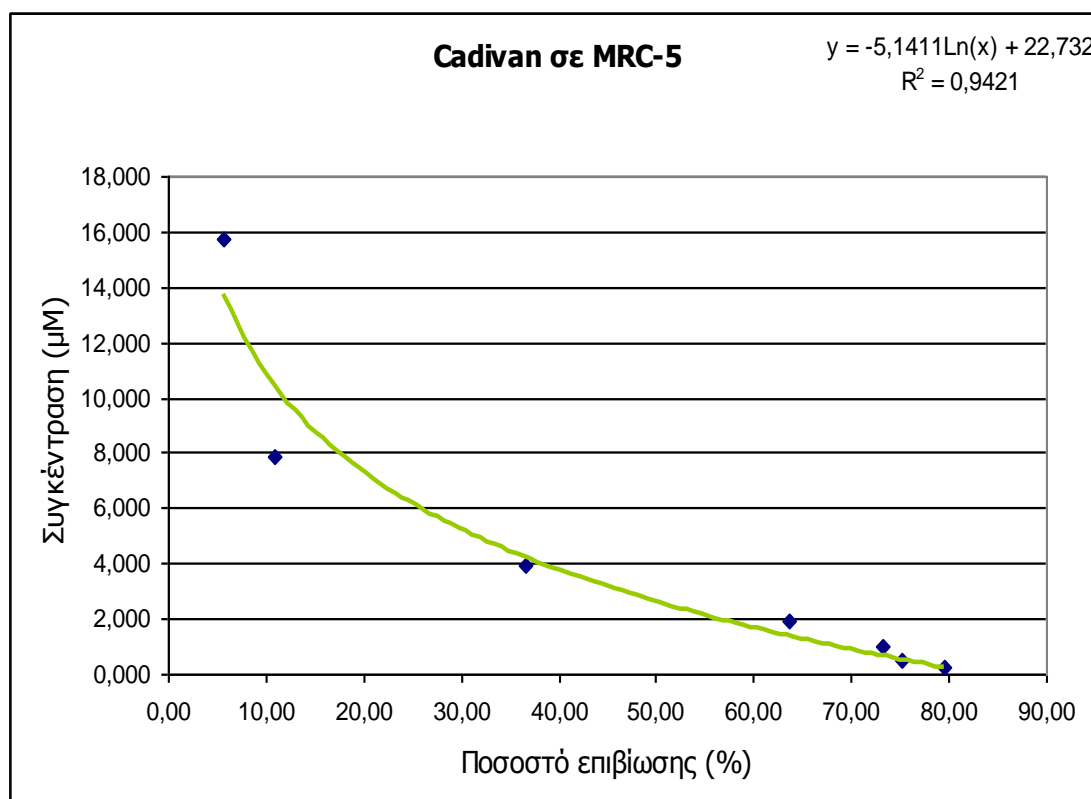
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.17:** Το σύμπλοκο του Cadivan σε κυτταρική σειρά LMS.

Κυτταροτοξική δράση του συμπλόκου Cadivan στους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες του ποντικού. Η κυτταροτοξικότητα αρχίζει να εκδηλώνεται προσεγγιστικά σε συγκέντρωση μικρότερη του ενός (1)  $\mu\text{M}$  (245 nM). Η τιμή  $\text{IC}_{50}$  του συμπλόκου περιστρέφεται γύρω από τα 1,96 – 3,95  $\mu\text{M}$ , ενώ στην συγκέντρωση των 15,74  $\mu\text{M}$  έχουμε τον θάνατο όλου του κυτταρικού πληθυσμού του τρυβλίου.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.16: Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MRC-5), συναρτήσει της συγκέντρωσης του συμπλόκου Cadivan.**

Συγκέντρωση, ( $\mu\text{M}$ )	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
0,245	79,45	3,06
0,490	75,23	3,24
0,98	73,21	2,07
1,96	63,70	1,34
3,95	36,61	1,93
7,87	10,90	0,80
15,74	5,71	0,57

Η συγκέντρωση των 20  $\mu\text{M}$  του συμπλόκου Cadivan αποτελεί και την ελάχιστη θανατηφόρα συγκέντρωση του καρκινικού κυτταρικού πληθυσμού, (MLC: minimal lethal concentration).



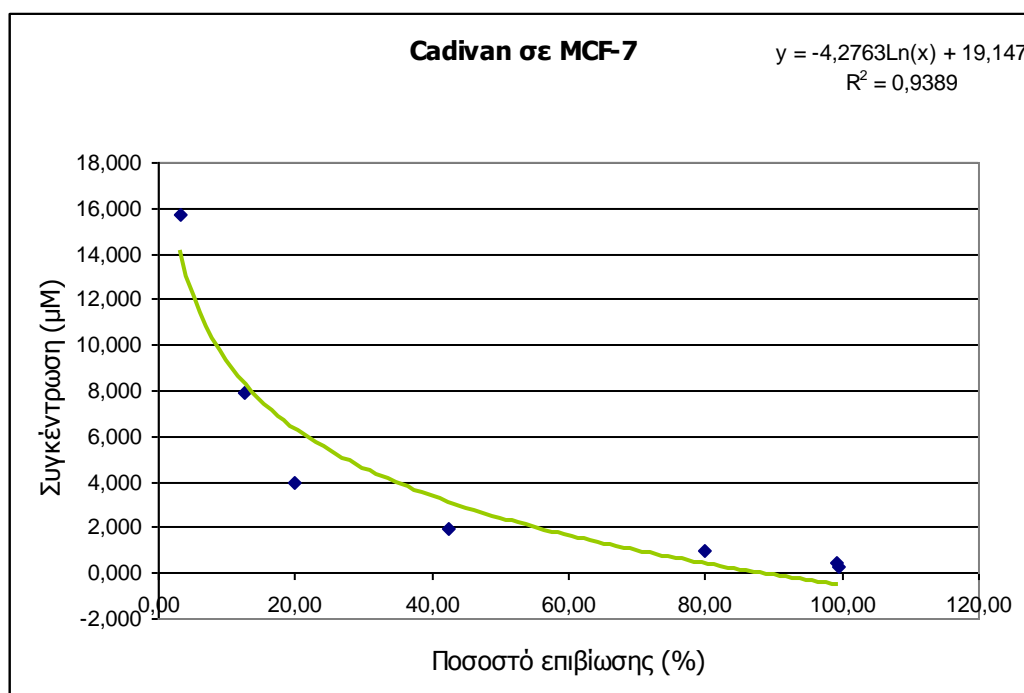
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.18: Το σύμπλοκο του Cadivan σε κυτταρική σειρά MRC-5.**

Πορεία της κυτταροτοξικότητας του συμπλόκου Cadivan απέναντι στα κακοήθη κύτταρα ανθρώπινου καρκίνου του μαστού της σειράς MCF-7.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.17: Ποσοστά βιωσιμότητας κυττάρων ποντικού (κυτταρική σειρά MCF-7), συναρτήσεως της συγκέντρωσης του συμπλόκου Cadivan.**

Συγκέντρωση, (μΜ)	Μέσος Όρος, (Μ.Ο.)	Τυπική Απόκλιση, (S.D.)
0,245	99,54	1,20
0,490	99,10	1,17
0,98	79,85	1,83
1,96	42,54	0,87
3,95	20,00	1,21
7,87	12,71	0,69
15,74	3,23	0,09

Η έναρξη της κυτταροτοξικής δράσης εμφανίζεται πρώιμα και σε χαμηλή συγκέντρωση (245 nM ή 0,245 μΜ) ενώ η τιμή IC<sub>50</sub> κυμαίνεται μεταξύ 0,98 – 1,96 μΜ κατά προσέγγιση. Η ελάχιστη συγκέντρωση που προκαλεί πλήρως τον θάνατο σε όλο τον κυτταρικό πληθυσμό του τρυβλίου είναι ίση προς 15,74 μΜ.



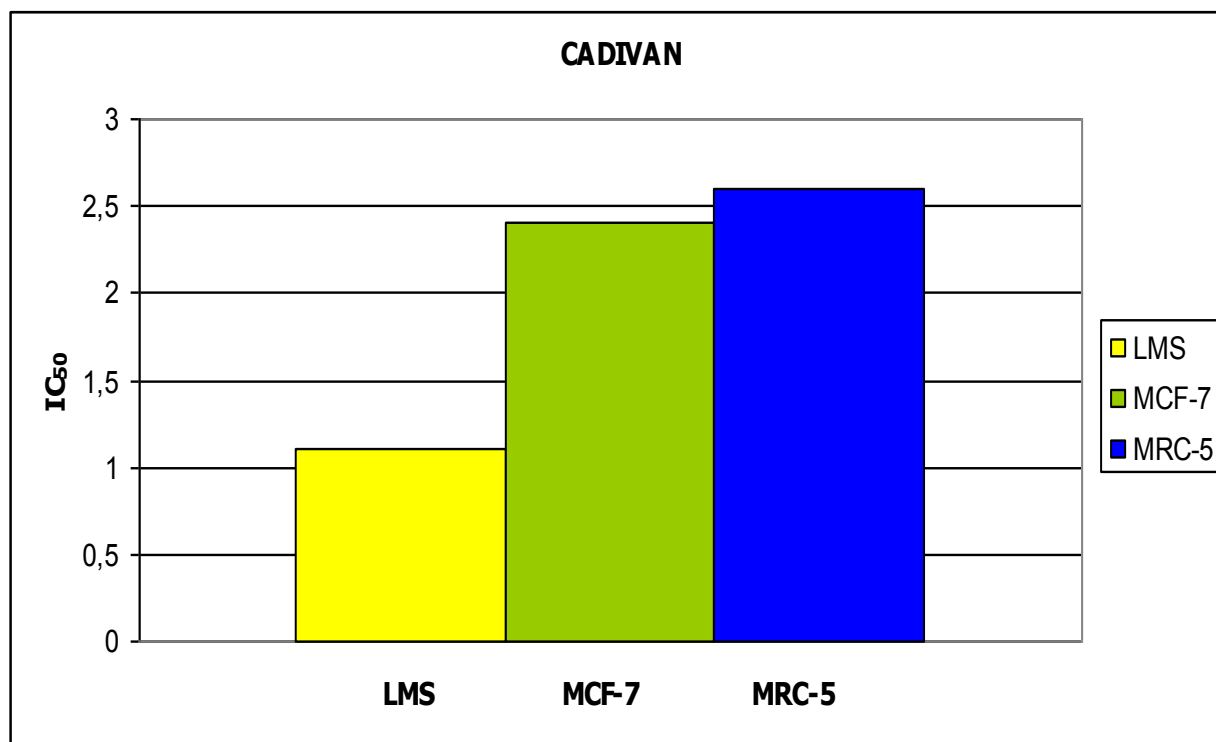
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.19: Το σύμπλοκο του Cadivan σε κυτταρική σειρά MCF-7.**

Παρατηρούμε ότι υπάρχει μεγαλύτερη εκλεκτικότητα απέναντι στα λειομυοσάρκωματικά κύτταρα του επίμοσ Wistar. Η εκλεκτικότητα απέναντι στα καρκινικά ανθρώπινα κύτταρα του μαστού είναι μικρότερη, ενώ ακόμη πιο μικρή εμφανίζεται η εκλεκτικότητα του συμπλόκου απέναντι στους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες του ποντικού.

Η συμπεριφορά του συμπλόκου **Cadivan ανάλογη και ίσως ανώτερη εκείνης του Azivan** υποδεικνύει την ύπαρξη μιας **ισχυρής εκλεκτικότητας** απέναντι στα νεοπλασματικά κύτταρα, **οπότε η ουσία αυτή εμφανίζει εξαιρετικό ενδιαφέρον,**

προκειμένου να υπολογιστεί η ακριβής δράση της και σε άλλες νεοπλασματικές αλλά και φυσιολογικές κυτταρικές σειρές, όπως επίσης και να ερμηνευτεί ο μηχανισμός αυτής της ισχυρής κυτταροτοξικής εκλεκτικότητας.

Πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι η ισχυρή αυτή εκλεκτικότητα είναι λίαν επαρκής, ώστε να εξασφαλίσει ισχυρή καταστολή και κατάρρευση των κακοήθων κυττάρων, σε λογικό χρόνο, χωρίς ωστόσο τα φυσιολογικά να υποστούν σημαντικές βλάβες.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.20:** Συσχέτιση των τιμών IC<sub>50</sub> που χαρακτηρίζουν το σύμπλοκο Cadivan, στις τρεις χρησιμοποιούμενες κυτταρικές σειρές.

Η παρουσία του **Cadivan** σε διάλυμα ή εναιώρημα εντός καλλιέργειας καρκινικών κυττάρων LMS, προκαλεί την μαζική θανάτωση αυτών, σε αποστεωμένα κενά και άχρωμα ασκίδια, τα οποία προσκολλώνται επί των υαλίνων επιφανειών του τρυβλίου, εντός περίπου ενός εικοσιτετραώρου.

Καρκινικοί όγκοι εξ' άλλου, που αναπτύσσονται εντός τρυβλίων θρεπτικής καλλιέργειας, μεγέθους φασιόλου και διαμέτρου περίπου 2cm, **καταρρέουν** εντός περίπου εβδομάδος, σε νεκρά κύτταρα και κυανοπράσινο υγρό.

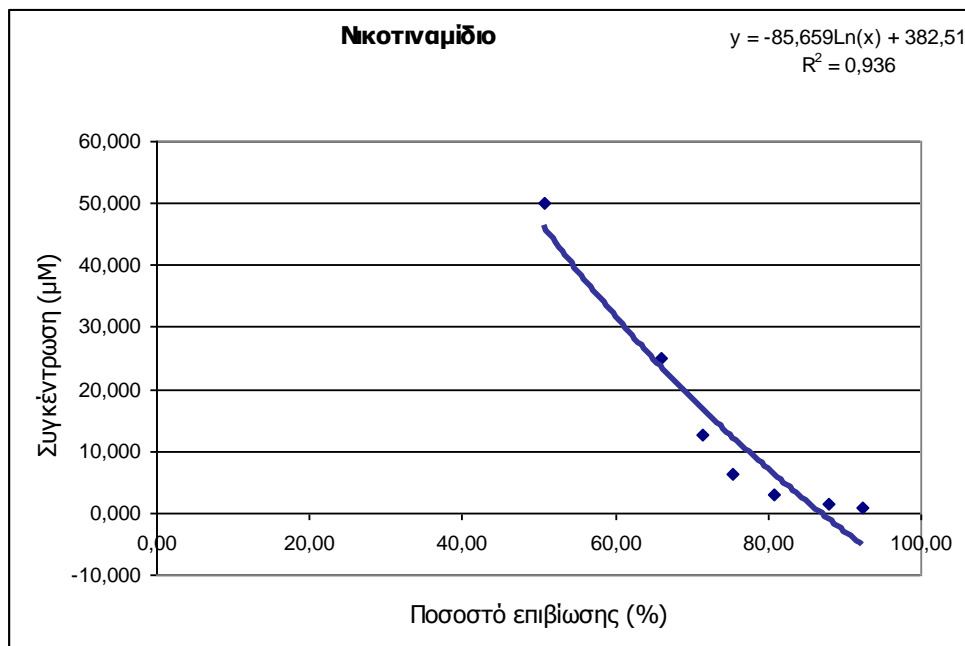
**Το σύμπλοκο Cadivan στην κατάλληλη δοσολογία προκαλεί την θανάτωση, την κατάρρευση και την ολοκληρωτική εξολόθρευση των αποικιών των κυττάρων LMS, ενώ αφήνει αλώβητα τα υγιή κύτταρα.**

### 6.3 ΟΙ ΟΡΓΑΝΙΚΟΙ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΕΣ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ LMS.

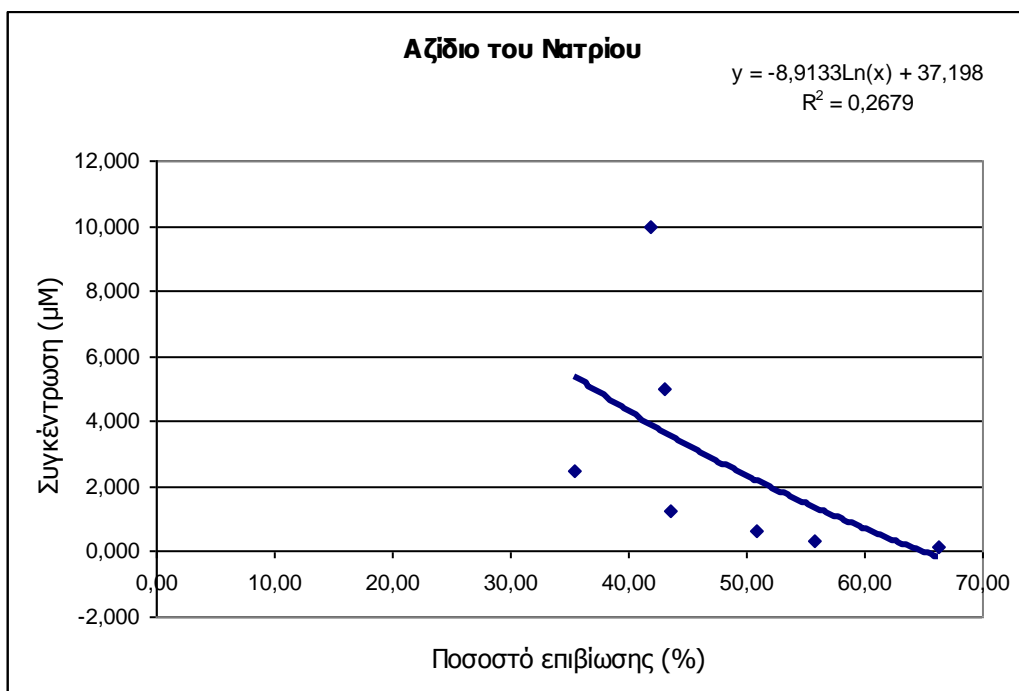
**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.18: Τιμές IC<sub>50</sub> των Υποκαταστατών.**

Υποκαταστάτης	Νικοτιναμίδιο	Αζίδιο του Νατρίου	Πυριδίνη	Πιπεραζίνη	Καδαβερίνη
Τιμή IC <sub>50</sub> ( LMS)	47,4 μM ±1,3	2,3μM ±0,7	107,6μM ±3,2	126,6μM ±1,6	10,8μM ±0,4

Παρακάτω βλέπουμε τα διαγράμματα των πέντε ελευθέρων υποαστατών σε κυτταρική σειρά LMS.

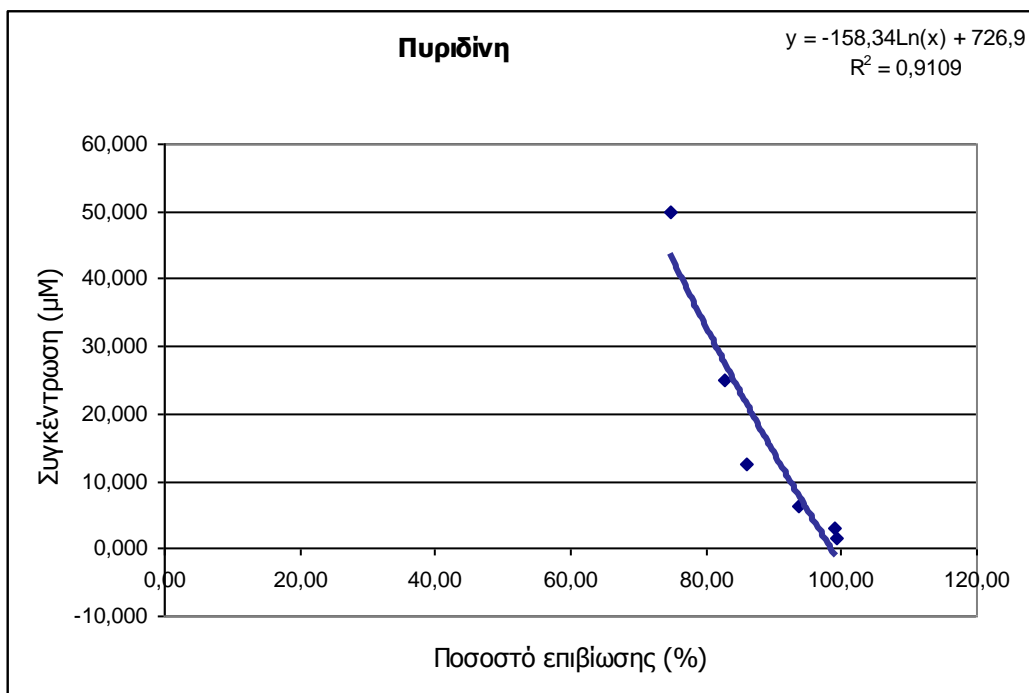


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.21: Ο Υποκαταστάτης Νικοτιναμίδιο σε κυτταρική σειρά LMS.**



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.22: Ο Υποκαταστάτης Αζίδιο του Νατρίου σε κυτταρική σειρά LMS.**

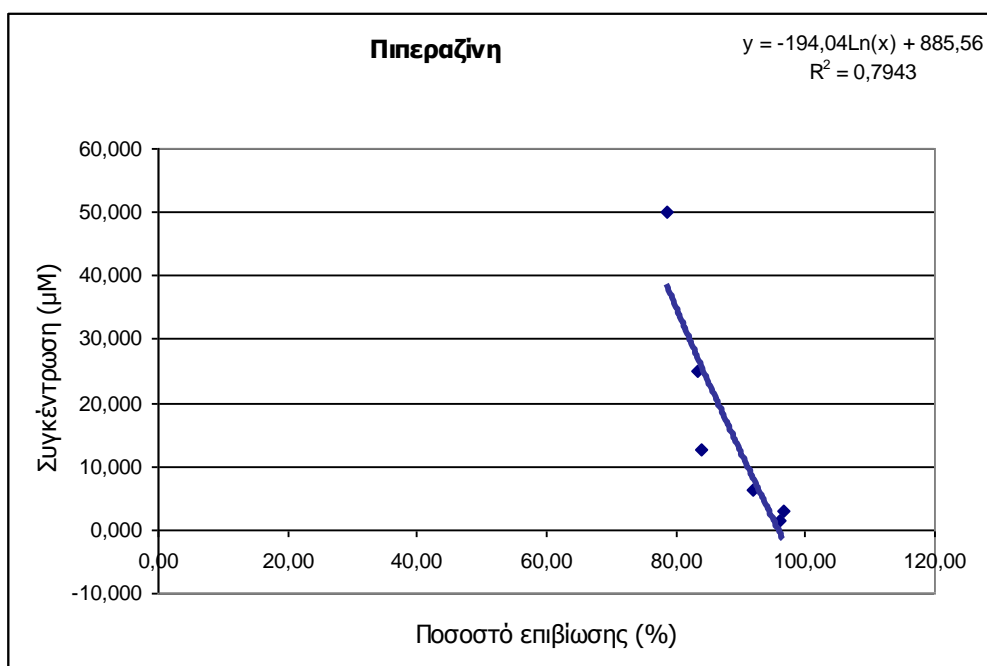




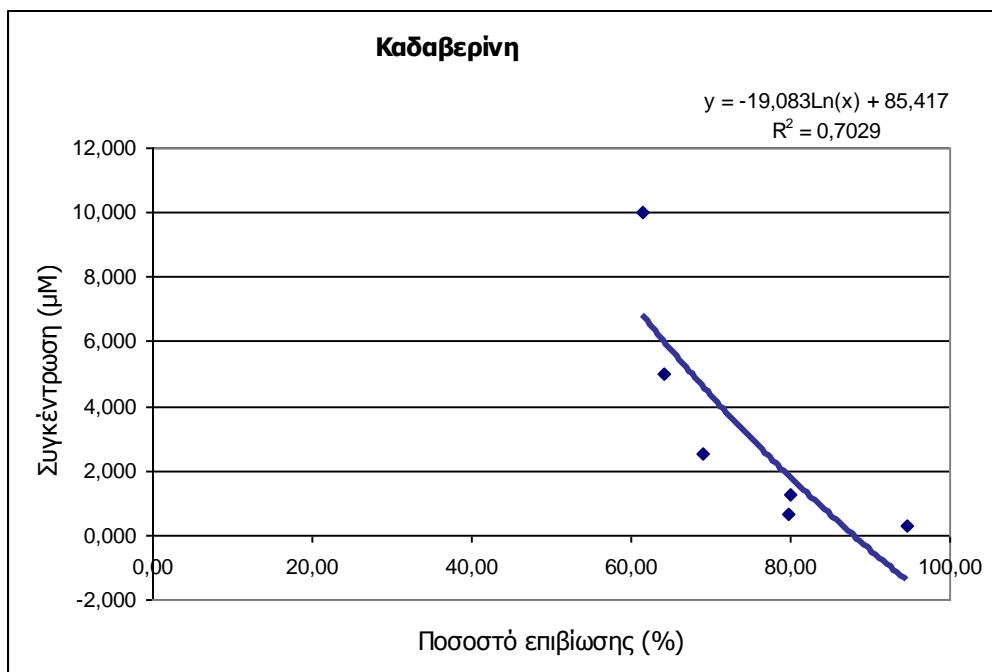
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.23: Ο Υποκαταστάτης Πυριδίνη σε κυτταρική σειρά LMS.**

Οι υποκαταστάτες που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση των συμπλόκων εμφανίζουν και οι ίδιοι κυτταροτοξικότητα απέναντι στα νεοπλασματικά κύτταρα του λειομυοσάρκωματος του επίμουσ Wistar (LMS cells). Έτσι παρατηρούμε ότι :

- 1-** το Νικοτιναμίδιο εμφανίζει μια τιμή  $IC_{50}$  ίση προς 47,4  $\mu\text{M}$  εναντίον των κυττάρων LMS.
- 2-** Το Αζίδιο του νατρίου εμφανίζει μια αρκετά πιο χαμηλή τιμή  $IC_{50}$  ίση προς 2,3  $\mu\text{M}$  και συνεπώς έχει μια σαφώς μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα συγκριτικά με το νικοτιναμίδιο.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.24: Ο Υποκαταστάτης Πιπεραζίνη σε κυτταρική σειρά LMS.**



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.25: Ο υποκαταστάτης Καδαβερίνη, σε κυτταρική σειρά LMS.**

**3-** Η τιμή  $IC_{50}$  της Πυριδίνης είναι υψηλή και ίση προς 107,6  $\mu M$ , γεγονός που δεικνύει ότι το μόριο αυτό έχει σχετικά χαμηλή κυτταροτοξικότητα.

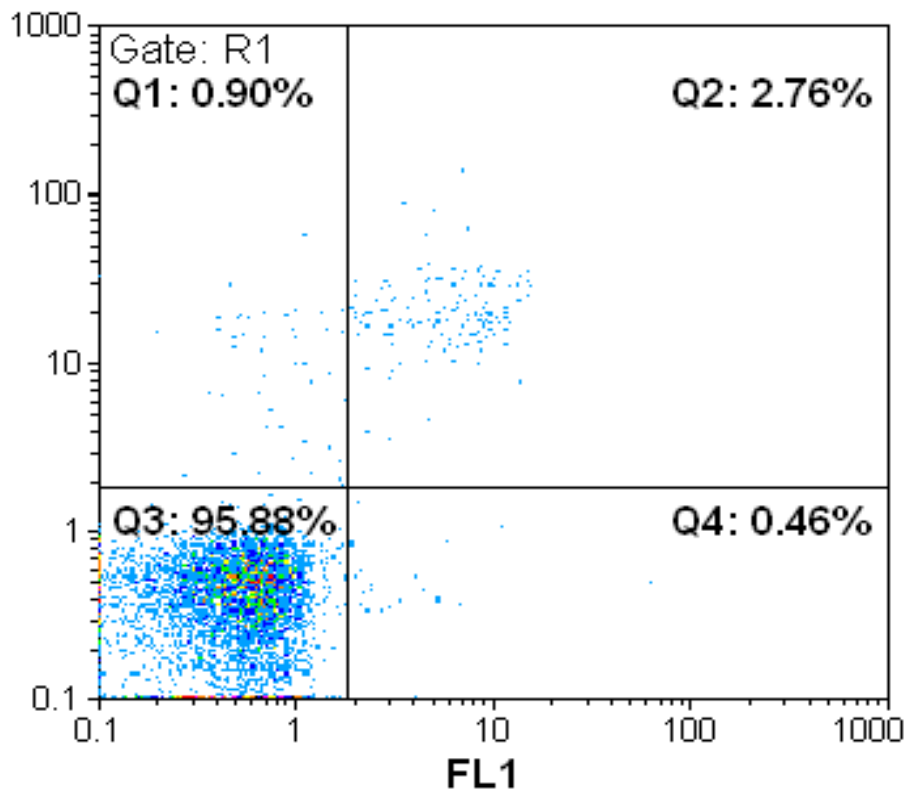
**4-** Η τιμή  $IC_{50}$  της Πιπεραζίνης είναι ίση προς 126,6  $\mu M$ , πράγμα που σημαίνει ότι το εν λόγω μόριο έχει επίσης σχετικά χαμηλή κυτταροτοξικότητα και σε σύγκριση με όλους τους υπόλοιπους υποκαταστάτες είναι το λιγότερο κυτταροτοξικό.

**5-** Η Καδαβερίνη εμφανίζει τιμή  $IC_{50}$  ίση προς 10,8  $\mu M$ , οπότε η κυτταροτοξικότητά του είναι σημαντική και αμέσως μικρότερη από εκείνη του αζιδίου.

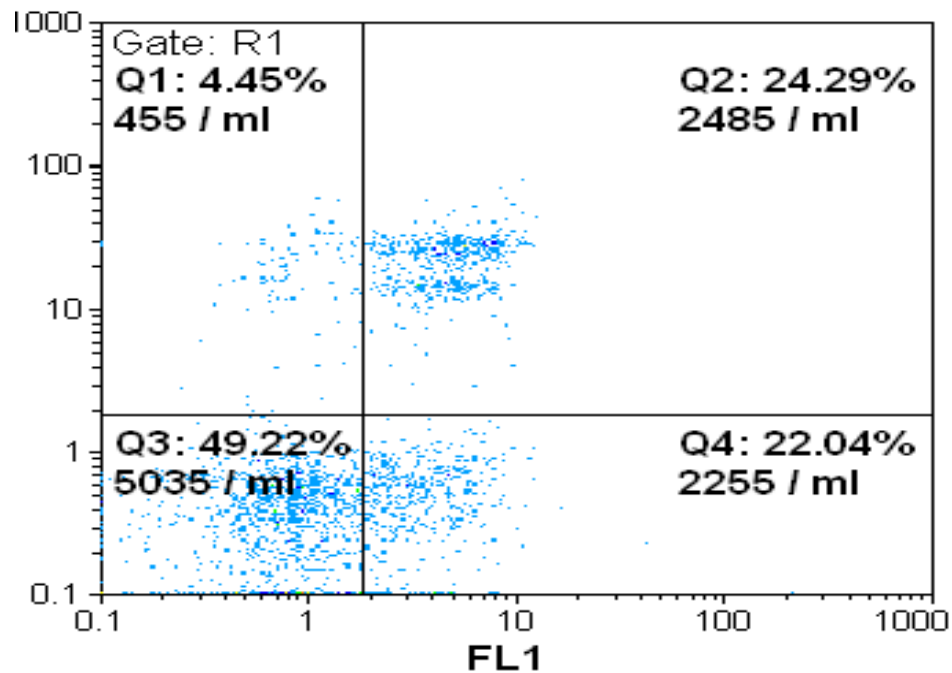
Η κλίμακα κυτταροτοξικότητας των πέντε υποκαταστατών απέναντι στα LMS κύτταρα είναι συγκριτικά μεταξύ τους η ακόλουθη: **Αζίδιο > Κανταβερίνη > Νικοτιναμίδιο > Πυριδίνη > Πιπεραζίνη.**

## 6.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ-ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

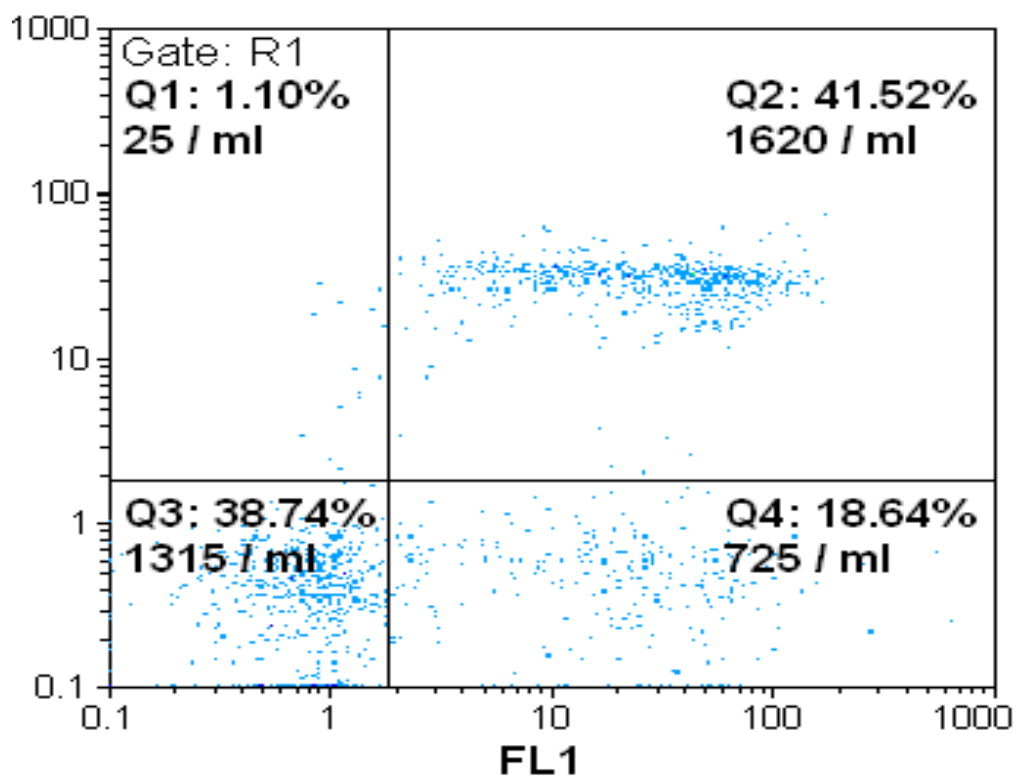
Παρακάτω θα δούμε τις εικόνες, με τα ποσοστά των κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης, τόσο των φυσιολογικών, όσο και των κυττάρων που έγινε προσθήκη των συμπλόκων Nicotivan, Azivan, Pyrivan, Pipervan και Cadivan.



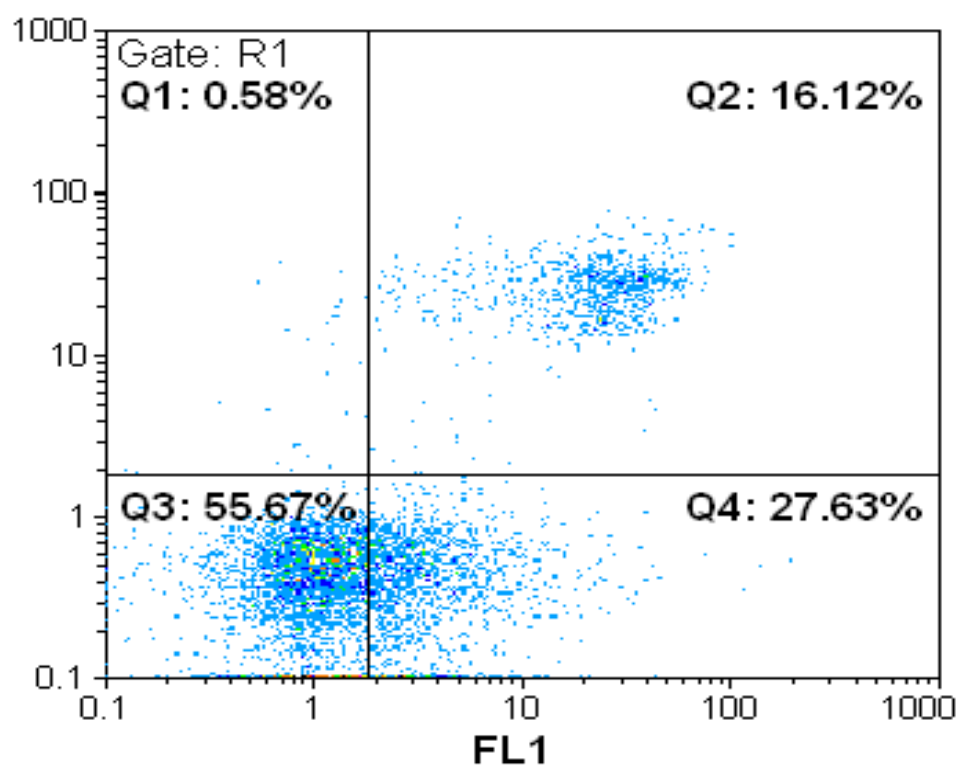
ΕΙΚΟΝΑ 6.5: Ποσοστά φυσιολογικών κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης



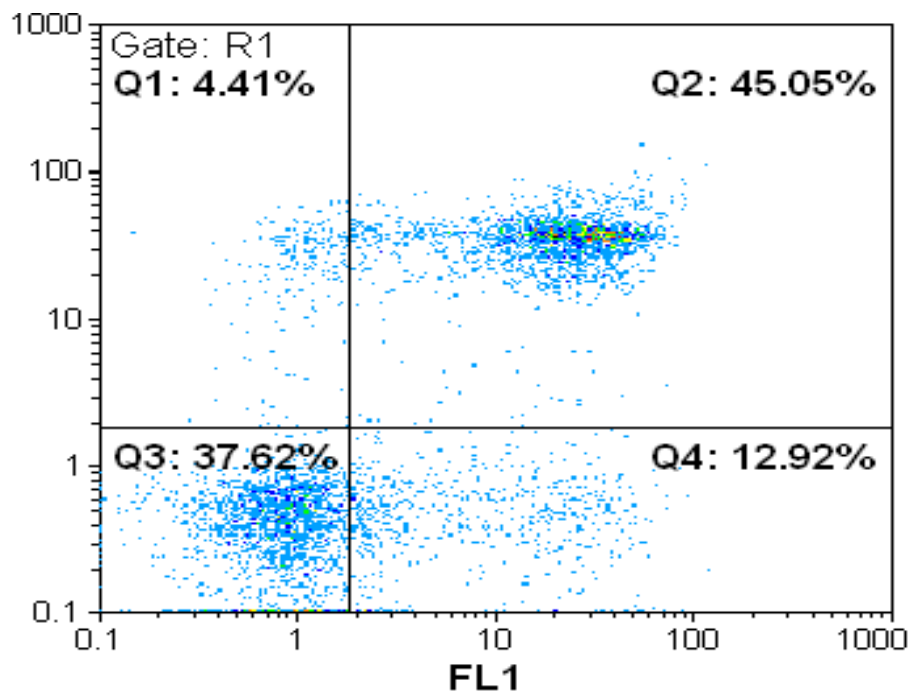
ΕΙΚΟΝΑ 6.6: Ποσοστά κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης μετά από προσθήκη του συμπλόκου Nicotivan



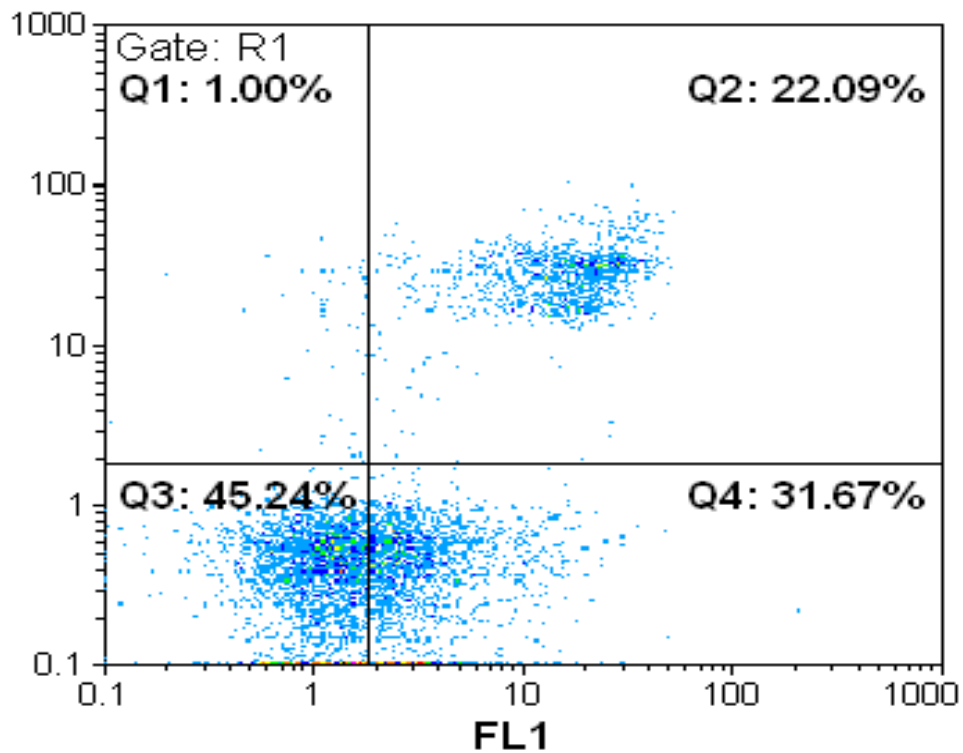
**ΕΙΚΟΝΑ 6.7:** Ποσοστά κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης μετά από προσθήκη του συμπλόκου Azivan



**ΕΙΚΟΝΑ 6.8:** Ποσοστά κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης μετά από προσθήκη του συμπλόκου Rgrivan.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.9:** Ποσοστά κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης μετά από προσθήκη του συμπλόκου Pipervan.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.10:** Ποσοστά κυττάρων που βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης και νέκρωσης μετά από προσθήκη του συμπλόκου Cadivan.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.19: Ποσοστά αποπτωτικού και νεκρωτικού θανάτου στις τιμές IC<sub>50</sub>, των συμπλόκων ενώσεων.**

Σύστημα Ουσιών	Βιώσιμα Κύτταρα	Πρώιμα αποπτωτικά	Όψιμα αποπτωτικά	Σύνολο αποπτωτικών	Νεκρωτικά Κύτταρα
Control	95,88%	0,46%	2,76%	3,22%	0,9%
Σύμπλοκο Nicotivan	49,22%	22,04%	24,29%	46,33%	4,45%
Σύμπλοκο Azivan	38,74%	18,64%	41,52%	60,16%	1,1%
Σύμπλοκο Pyrivan	56,67%	27,63%	16,12%	43,75%	0,58%
Σύμπλοκο Pipervan	37,62%	12,92%	45,05%	57,97%	4,41%
Σύμπλοκο Cadivan	45,24%	31,67%	22,09%	53,76%	1%

Στον παραπάνω πίνακα αναγράφονται τα ποσοστά απόπτωσης και νέκρωσης που προέκυψαν κατά την κυτταρομετρία ροής με χρώση των LMS κυττάρων με **Annexin V-FITC** και **PI** όπως φαίνονται και στα διαγράμματα της κυτταρομετρίας ροής. Όπως βλέπουμε από τα αποτελέσματα της κυτταρομετρίας ροής το 95,88% των κυττάρων είναι βιώσιμα όταν ελέγχονται για την ενσωμάτωση ανεξίνης, σύμφωνα με το σχετικό πρωτόκολλο που αναφέρεται στο κεφάλαιο των "Υλικών και Μεθόδων".

Αντιθέτως όταν ο κυτταρικός υπό μελέτη πληθυσμός επωάζεται παρουσία της τιμής IC<sub>50</sub>, ενός εκάστου από τα πέντε σύμπλοκα του Βαναδίου παρατηρούμε ότι ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων υφίσταται σε όλες τις περιπτώσεις δραστική μείωση, ενώ αυξάνεται το ποσοστό των κυττάρων που ενσωματώνουν την ανεξίνη, πράγμα που αντικατοπτρίζει την ενεργοποίηση ενός μηχανισμού θανάτου, αποπτωτικού τύπου.

Υπάρχουν πρώιμα και όψιμα αποπτωτικά φαινόμενα, όπως φαίνεται από τον παρατιθέμενο πίνακα καθώς και τα διαγράμματα της κυτταρομετρίας ροής, αλλά το προεξάρχον ποσοστό των νεκρών κυττάρων έχει αποπτωτικό χαρακτήρα. Από την άλλη πλευρά τα θανατωμένα κύτταρα που φέρουν νεκρωτικά χαρακτηριστικά αποτελούν μια ολιγάριθμη μειοψηφία σε όλες τις περιπτώσεις χορήγησης των συμπλόκων.

Συνεπώς όλα τα παραπάνω σύμπλοκα του Βαναδίου που ελέγχθηκαν εδώ φαίνεται να πυροδοτούν τον κυτταρικό θάνατο, μέσω αποπτωτικών διεργασιών, [González-Villalva A., Piñón-Zárate G., De la Peña Díaz A., Flores-García M., Bizarro-Nevarés P., Rendón-Huerta E.P., Colín-Barenque L., Fortoul T.I., "The Effect of Vanadium on Platelet Function", *Environm. Toxicol. and Pharmacol.*, 32(3), 447-56, 2011].

## 6.5 ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

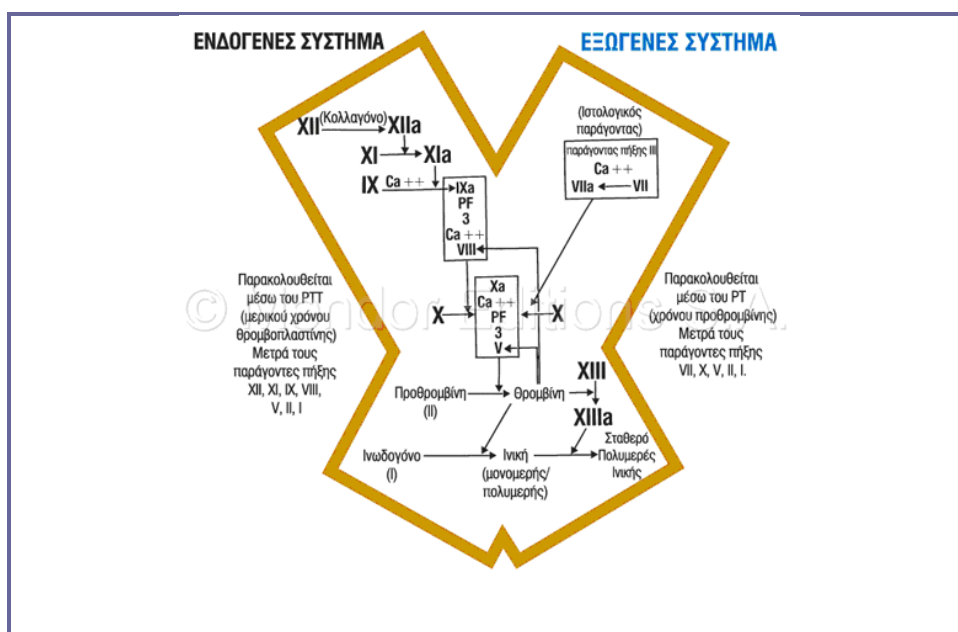
Τα **αιμοπετάλια** ή **θρομβοκύτταρα**, όπως φαίνονται στην παρακάτω εικόνα, είναι διαχωρισμένα και οργανωμένα τμήματα ειδικών κυττάρων του αίματος (των λεγόμενων μεγακαρυοκυττάρων) που εμπλέκονται σε μηχανισμούς απαραίτητους για την πήξη του αίματος. Χωρίς τον σχηματισμό θρόμβων (clots) αίματος κάθε διάρρηξη αιμοφόρου αγγείου θα οδηγούσε σε αιμορραγία. Τα αιμοπετάλια χρειάζονται για να αποφευχθεί διαρροή πλάσματος, ερυθρών αιμοσφαιρίων και των λοιπών στοιχείων του αίματος, ακόμη και από αγγεία που δεν έχουν υποστεί μια ορατή βλάβη, αλλά υφίστανται ισχυρές μηχανικές καταπονήσεις εξ αιτίας αυξημένης αιματικής ροής. Οι λειτουργικές αυτές καταπονήσεις είναι π.χ συχνές στην βαριά μυική εργασία, ή σε καταστάσεις που αυξάνουν την πίεση του αίματος για λειτουργικούς λόγους (π.χ ο γενικός συναγερμός του σώματος σε αρχετυπικές καταστάσεις εν όψει πάλης ή φυγής)



**ΕΙΚΟΝΑ 6.11:** Χαρακτηριστική απεικόνιση αιμοπεταλίων

**Παραγωγή:** Τα αιμοπετάλια παράγονται στον μυελό των οστών (περίπου  $10^{11}$  ημερησίως), από τα ονομαζόμενα **μεγακαρυωτικά** κύτταρα (ή μεγακαρυοκύτταρα), των οποίων οι πυρήνες είναι πολυπλοειδείς, ούτως ώστε και το κυτταρόπλασμα που τους αντιστοιχεί να είναι μεγαλύτερου μεγέθους. Τα αιμοπετάλια δεν είναι απλά κυτταρικά θραύσματα ή κυτταρικά ράκη, αλλά απελευθερώνονται από τους ποδίσκους των μεγακαρυοκυττάρων με μια διαδικασία που μοιάζει με αποκοπή και η οποία δεν αποτελεί ένα γεγονός καταστροφής ή θραύσης, αλλά είναι μια ενεργός διεργασία, προγραμματισμένη μέσα στις λειτουργίες των συγκεκριμένων αιμοπεταλιοπαραγωγών κυττάρων. Η θρομβοκυτταροποίηση, δηλαδή η παραγωγή των αιμοπεταλίων από τα εν λόγω κύτταρα λαμβάνει χώρα τόσο στο εσωτερικό του μυελού των οστών, όσο και στους πνεύμονες. Η **θρομβοποιητίνη** είναι μια ορμόνη που παράγεται κυρίως στο ήπαρ και διεγείρει τον μηχανισμό παραγωγής αιμοπεταλίων. Η ορμόνη αυτή συσχετίζεται με τον αριθμό των κυκλοφορούντων αιμοπεταλίων. Εάν ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι ομαλός (150 έως 400 εκατομμύρια/mL αίματος), τα επίπεδα της θρομβοποιητίνης στον ορό του

αίματος παραμένουν χαμηλά. Εάν "πέσει" ο αριθμός των αιμοπεταλίων, αυξάνονται τα επίπεδα της θρομβοποιητίνης στον ορό, έτσι ώστε να αυξηθεί η παραγωγή αιμοπεταλίων.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.12: Διαγραμματικός Καταρράκτης των Αντιδράσεων της Πήξης.**

**Κυκλοφορία:** Η διάρκεια ζωής των κυκλοφορούντων στο αίμα αιμοπεταλίων είναι 7 έως 10 ημέρες. Τα αιμοπετάλια δεσμεύονται και αδρανοποιούνται στον σπλήνα. Κακή λειτουργία του σπλήνα (ή η απουσία του) μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των αιμοπεταλίων. Αντίθετα, υπερλειτουργία του σπλήνα μπορεί να οδηγήσει σε ταχύτερη καταστροφή των αιμοπεταλίων και μείωση του αριθμού τους.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.13: Ορρός με αιμοπετάλια, έτοιμος για μετάγγιση. Διατηρούνται για πέντε ημέρες, σε θερμοκρασία δωματίου, με ελαφρά ανάδευση.**

**Λειτουργία:** Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται όταν έρθουν σε επαφή με διάφορους παράγοντες όπως το κολλαγόνο ή τη θρομβίνη. Μόλις ενεργοποιηθούν, το σχήμα τους



αλλάζει (σχηματίζουν "ψευδόποδα"), απελευθερώνουν τα συστατικά των κοκκίων τους που περιλαμβάνουν για παράδειγμα πηκτικούς παράγοντες κ.λπ. Τα αιμοπετάλια συγκολλούνται μεταξύ τους (συσσωρεύονται) μέσω ειδικών υποδοχέων και επίσης προσκολλούνται σε άλλα κύτταρα δημιουργώντας -σε συνδυασμό με το **ινώδες** (fibrin) ένα "**αιμοστατικό βήσμα**" (plug) ή "**θρόμβο**" (clot). Αριθμός αιμοπεταλίων κάτω από τα φυσιολογικά όρια οδηγεί σε ακατάσχετες αιμορραγίες, ενώ αριθμός πάνω από τα φυσιολογικά όρια οδηγεί σε θρομβώσεις και αποφράξεις αγγείων, [Robbins and Cotran, "Pathologic Basis of Disease", C., Eighth Edition, Saunders Elsevier Inc., Philadelphia PA, USA, 2010].

### 6.5.1 ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του θρόμβου παίζουν τα **αιμοπετάλια**, τα οποία είναι θραύσματα των μεγακαρυοκυττάρων. Μορφολογικά τα αιμοπετάλια είναι κύτταρα χωρίς πυρήνα, τα οποία περιέχουν εκτεταμένο δίκτυο από μικροσωληνίσκους και από το σύστημα ακτίνης/μυοσίνης. Όταν δεν είναι ενεργοποιημένα, η κυτταροπλασματική τους μεμβράνη έχει πολλές πτυχώσεις προς το εσωτερικό του κυττάρου. Κατά την ενεργοποίησή τους, η κυτταροπλασματική τους μεμβράνη εκτείνεται προς το εξωτερικό μέρος παρέχοντας εύκολη πρόσβαση στους υποδοχείς και στα φωσφολιποειδή, που είναι απαραίτητα για τη διαδικασία της πήξης, [Δημόπουλος Κ.Α., Αντωνοπούλου Σ., 2009]. Τα αιμοπετάλια περιέχουν διάφορα κοκκία, τα οποία περιέχουν **α)**- ασβέστιο, ADP και σεροτονίνη, **β)**- ανταγωνιστές της ηπαρίνης, PDGF, παράγοντα von Willebrand (vWF), ινωδογόνο και β-θρομβοσφαιρίνη και **γ)**- υδρολυτικά ένζυμα. Ο vWF παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μεγακαρυοκύτταρα και επιπλέον βρίσκεται συνδεδεμένος με τον παράγοντα πήξης VIII.

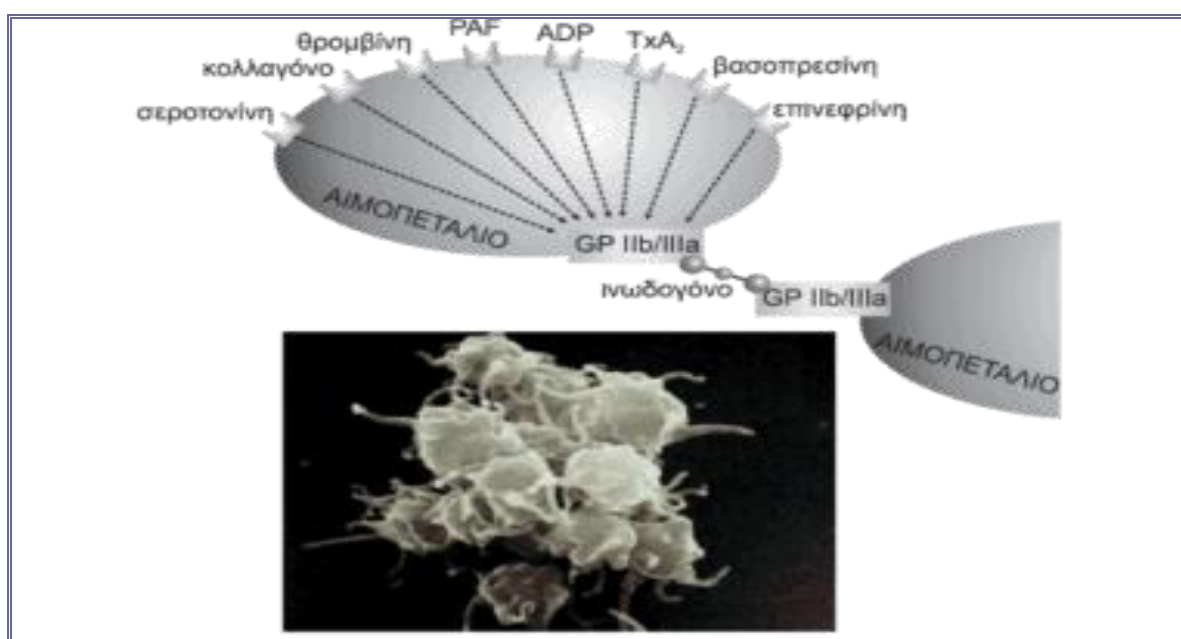


**ΕΙΚΟΝΑ 6.14:** Μικροφωτογραφία ενός χαρακτηριστικού θρόμβου αίματος.

Σημαντικό ρόλο στη δημιουργία του θρόμβου παίζουν τα αιμοπετάλια τα οποία είναι θραύσματα των μεγακαρυοκυττάρων. Μορφολογικά τα αιμοπετάλια είναι κύτταρα χωρίς πυρήνα, τα οποία περιέχουν εκτεταμένο δίκτυο από μικροσωληνίσκους και από το

σύστημα ακτίνης/μυοσίνης. Όταν δεν είναι ενεργοποιημένα, η κυτταροπλασματική τους μεμβράνη έχει πολλές πτυχώσεις προς το εσωτερικό του κυττάρου. Κατά την ενεργοποίησή τους, η κυτταροπλασματική τους μεμβράνη εκτείνεται προς το εξωτερικό μέρος παρέχοντας εύκολη πρόσβαση στους υποδοχείς και στα φωσφολιποειδή, που είναι απαραίτητα για τη διαδικασία της πήξης.

**Λειτουργία:** Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται όταν έρθουν σε επαφή με διάφορους παράγοντες όπως το κολλαγόνο ή τη θρομβίνη. Μόλις ενεργοποιηθούν, το σχήμα τους αλλάζει (σχηματίζουν "ψευδόποδα"), απελευθερώνουν τα συστατικά των κοκκίων τους που περιλαμβάνουν για παράδειγμα πηκτικούς παράγοντες κ.λπ. Τα αιμοπετάλια συγκολλούνται μεταξύ τους (συσσωρεύονται) μέσω ειδικών υποδοχέων και επίσης προσκολλούνται σε άλλα κύτταρα δημιουργώντας -σε συνδυασμό με το **Ινώδες** (Fibrin) ένα "αιμοστατικό" βήσμα (Plug) ή θρόμβο (Clot).



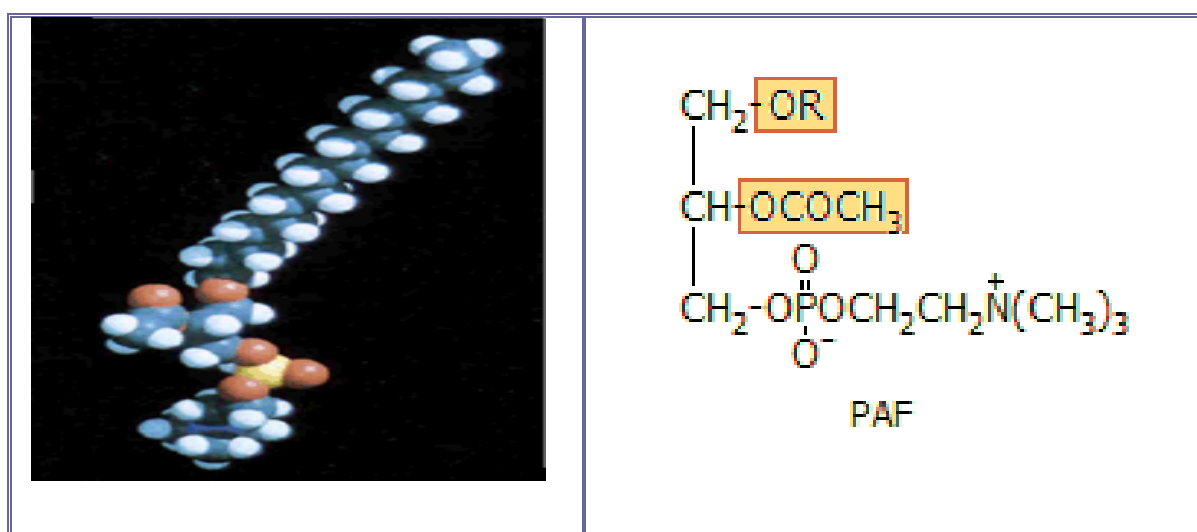
**ΕΙΚΟΝΑ 6.15:** Παράγοντες που προκαλούν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Τα αιμοπετάλια περιέχουν διάφορα κοκκία τα οποία περιέχουν α) ασβέστιο, ADP και σεροτονίνη, β) ανταγωνιστές της ηπαρίνης, PDGF, παράγοντα von Willebrand (vWF), ινωδογόνο και β-θρομβοσφαιρίνη και γ) υδρολυτικά ένζυμα. Ο vWF παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα μεγακαρυοκύτταρα και επιπλέον βρίσκεται συνδεδεμένος με τον παράγοντα πήξης VIII. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων περιλαμβάνει την προσκόλλησή τους στον υποενδοθηλιακό χώρο. Σε φυσιολογικές καταστάσεις τα αιμοπετάλια δεν προσκολλούνται στο ενδοθήλιο, αλλά μόνο σε καταστάσεις που έχει υποστεί βλάβη το αγγειακό τοίχωμα και εκτίθενται τα συστατικά του υποενδοθηλιακού χώρου (όπως το κολλαγόνο και ο vWF) στην κυκλοφορία του αίματος [Pinckard R.N., et al, 1980]. Στη μεμβράνη των αιμοπεταλίων βρίσκονται γλυκοπρωτεΐνες (ιντεγκρίνες) οι οποίες δεσμεύονται με το κολλαγόνο και τον vWF οδηγώντας σε προσκόλλησή τους στο υποενδοθήλιο. Η συνάθροιση με αυτόν τον τρόπο περισσότερων αιμοπεταλίων στον υποενδοθηλιακό χώρο σχηματίζει μια στιβάδα στην περιοχή της βλάβης. Η δέσμευση των

αιμοπεταλίων στο υποενδοθήλιο προκαλεί την ενεργοποίησή τους, η οποία περιλαμβάνει την αύξηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου που προκαλεί την αλλαγή του σχήματός τους (από δισκοειδές σε σφαιρικό με ψευδοπόδια), μεταβολές του μεταβολισμού τους και αποκοκκίωση. Η αλλαγή αυτή του σχήματος οδηγεί σε αύξηση της ενεργής -για αλληλεπιδράσεις- επιφάνειας των κυττάρων. Σε αυτή τη φάση ενεργοποιούνται και άλλες γλυκοπρωτεΐνες στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και ακολουθεί η φάση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, η οποία περιλαμβάνει τη μεταξύ τους συγκόλληση [Δημόπουλος Κ.Α., Αντωνοπούλου Σ., 2009]. Οι παράγοντες που προκαλούν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων ονομάζονται αγωνιστές και μπορεί να παράγονται από τα ίδια τα αιμοπετάλια ή άλλα κύτταρα που εμπλέκονται στη διαδικασία. Μεταξύ αυτών είναι το ADP, η θρομβίνη, το κολλαγόνο και ο PAF, [Hosford D., and Braquet P., "Antagonists of Platelet-Activating Factor 1990] και [Heinisch G., and Frank H., "Blood Platelet Aggregation Inhibitors and Antithrombotics", 1990], (Εικόνα 6.15). Η απελευθέρωση και η σύνθεση διαφόρων μεσολαβητών από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συμπεριλαμβανομένης και θρομβοξάνης A2, προκαλεί τη συστολή των αγγείων και τη μείωση της ροής του αίματος στην περιοχή της βλάβης. Είναι σημαντικό επίσης να αναφερθεί ότι η συσσώρευση των αιμοπεταλίων που πραγματοποιείται στην περιοχή της βλάβης δημιουργεί ένα αιμοπεταλιακό κάλυμμα του οποίου η επέκταση σε φυσιολογικές περιοχές αναστέλλεται.

### 6.5.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PAF)

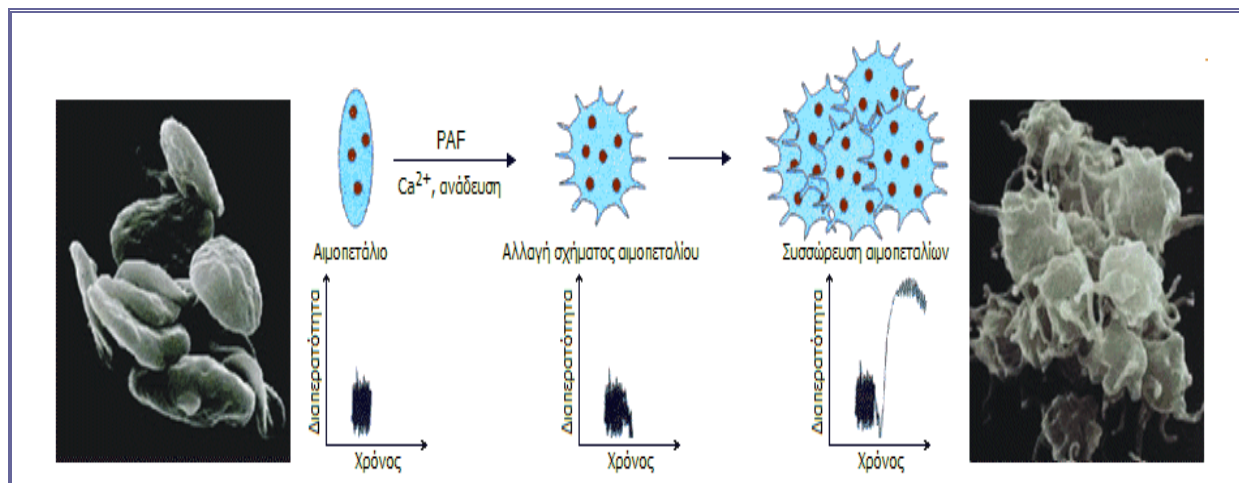
Ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) αποτελεί λιποειδική ένωση που ανήκει στην τάξη των φωσφολιποειδών. Η ονομασία της ένωσης κατα IUPAC ως **1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφο-χολίνη** προσδιορίζει δομικά την ένωση ως ένα γλυκεριναιθερικό ανάλογο της φωσφατιδυλοχολίνης. Ο PAF είναι ένας **πανίσχυρος ενεργοποιητής** και μεσολαβητής πολλών λειτουργιών των λευκών αιμοσφαιρίων.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.16:** Η χημική ένωση του PAF στη μοριακή και συντακτική του δομή.

Προκαλεί συγκόλληση των αιμοπεταλίων, διαστολή των αιμοφόρων αγγείων, ερεθισμό και αναφυλαξία, [Stafforini D.M., et al, 1999]. Επιπλέον, συμμετέχει στους μηχανισμούς της

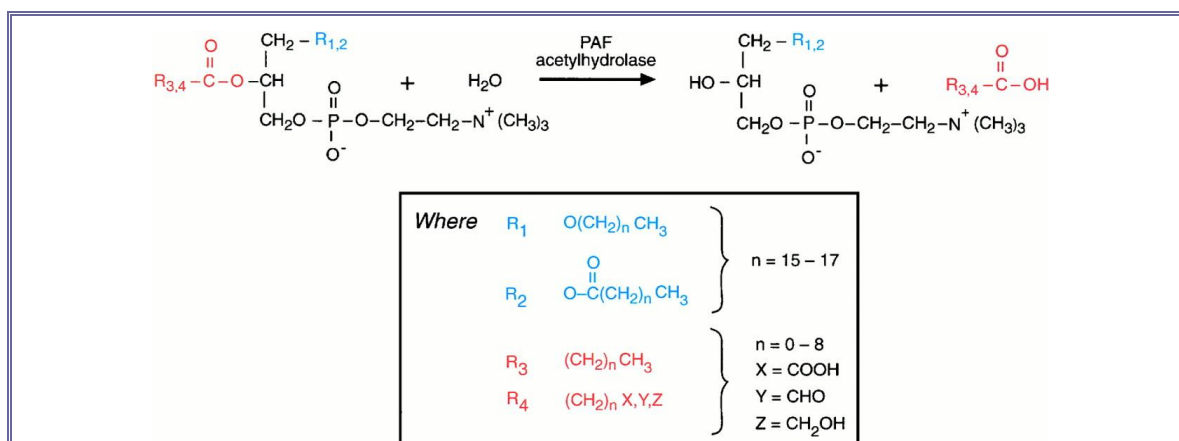
αιμόστασης. Ακόμη και σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (της τάξης των pM) ο PAF προκαλεί επικίνδυνο ερεθισμό των αεραγωγών και έντονα συμπτώματα άσθματος [Demopoulos C.A., et al, 1979] και [Δημόπουλος Κ.Α., Αντωνοπούλου Σ., 2009]. Από άποψη χημικής δομής ο PAF διαθέτει δύο χαρακτηριστικά, τα οποία είναι σχετικώς ασυνήθιστα για τα φωσφολιποειδή: (α) Στον άνθρακα C1 της γλυκερόλης (ή γλυκερίνης) υπάρχει **αιθερικός δεσμός** (-CH<sub>2</sub>OR) με ένα "μεγάλο" αλκύλιο κάτι το ασυνήθιστο, αφού ο κανόνας είναι η ύπαρξη **εστερικού δεσμού** (-CH<sub>2</sub>OCOR) με "μεγάλα" λιπαρά οξέα, και (β) το υδροξύλιο του άνθρακα C2 της γλυκερόλης είναι εστεροποιημένο με **οξικό οξύ**, (>CHOCOCH<sub>3</sub>), κάτι που είναι επίσης ασυνήθιστο λόγω του **μικρού μεγέθους** του οξέος.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.17:** Αρχή βιολογικής μεθόδου προσδιορισμού του PAF. Φαίνεται η μορφή αιματοπεταλίων στη φυσιολογική τους κατάσταση (αριστερά) και των αιμοπεταλίων μετά την επίδραση του PAF.

### 6.5.3 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ PAF

Λόγω της ισχυρής βιολογικής δράσης του PAF, υπάρχει σε ελάχιστες συγκεντρώσεις στο αίμα (pM έως nM) γεγονός που καθιστά εξαιρετικά δύσκολη τη χημική του ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό του, με τις συνήθεις αναλυτικές μεθόδους.

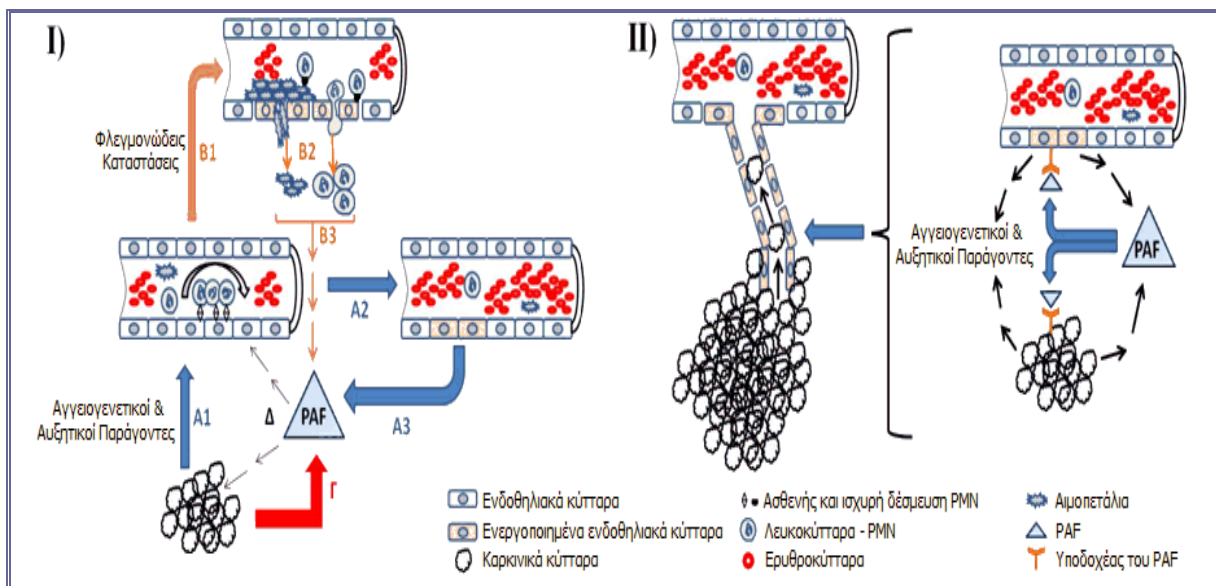


**ΕΙΚΟΝΑ 6.18:** Γενικός μηχανισμός της ενζυματικής υδρολυτικής διάσπασης του PAF, καταλυόμενης από την PAF- ακατυλουδρολάση. Το ένζυμο διασπά κατ'ανάλογο τρόπο και διάφορα άλλα δομικώς παραπλήσια φωσφολιπίδια.

Για τον λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί βιολογικές μέθοδοι ανίχνευσης και προσδιορισμού του, που κυρίως βασίζονται στην ιδιότητά του να προκαλεί συσώρευση σε αιμοπετάλια που παρακολουθείται φωτομετρικά. Για να είναι όμως αξιόπιστα τα αποτελέσματα της βιολογικής δοκιμασίας απαιτείται πολύ καλός χημικός διαχωρισμός του από τις άλλες ενώσεις με εξειδικευμένες χρωματογραφικές και άλλες αναλυτικές διαχωριστικές μεθόδους, [Stafforini Diana M., et al, 1987].

#### 6.5.4 ΜΙΑ ΝΕΑ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Ο PAF αποτελεί έναν σημαντικό μεσολαβητή και σε διάφορες καρκινικές καταστάσεις. Η ανάπτυξη των καρκινικών όγκων και η μεταστατική τους ικανότητα εξαρτάται από τον σχηματισμό νέων αγγείων, που συνδέονται τόσο με τον όγκο, όσο και με το κυκλοφορικό σύστημα, με μια διαδικασία γνωστή και ως **νεοαγγειογένεση**.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.19: Μηχανισμός σύνθεσης (I) και συμμετοχής (II) του PAF στην νεοαγγειογένεση και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.**

Διάφοροι μεσολαβητές όπως ο PAF, κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες, κ.α. συμμετέχουν στην όλη διαδικασία. Η παρουσία του PAF στο μικροκαρκινικό περιβάλλον αποτελεί σημαντικό κομβικό σημείο αυτών των σηματοδοτικών αλληλουχιών, καθώς η δράση του, τόσο στα καρκινικά κύτταρα, όσο και στα παρακείμενα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα προάγει και επάγει καθοριστική ενίσχυση, του αρχικού καρκινικού μεταστατικού σήματος. Η προσπάθεια αναστολής του μεταστατικού σήματος έχει μετατοπιστεί πλέον, στην αναστολή των δράσεων κομβικών μεσολαβητών, όπως ο PAF ή/και στη μείωση των επιπέδων τους (μέσω αναστολής της βιοσύνθεσης τους ή/και επάγοντας την αποδόμηση τους). Ένα διαιτητικό μοντέλο - όπως αυτό της **Μεσογειακής Δίαιτας** - πλούσιο σε αντιοξειδωτικά και σε αναστολείς του PAF, αλλά και των βιοσυνθετικών του ενζύμων, φαίνεται ότι προσφέρει μια μη τοξική προληπτική και θεραπευτική προσέγγιση έναντι της μετάστασης και της ανάπτυξης του καρκινικού όγκου, [Tsoupras A.B., et al, 2009]. Ο μηχανισμός σύνθεσης και συμμετοχής του PAF στην νεοαγγειογένεση και στη μετάσταση

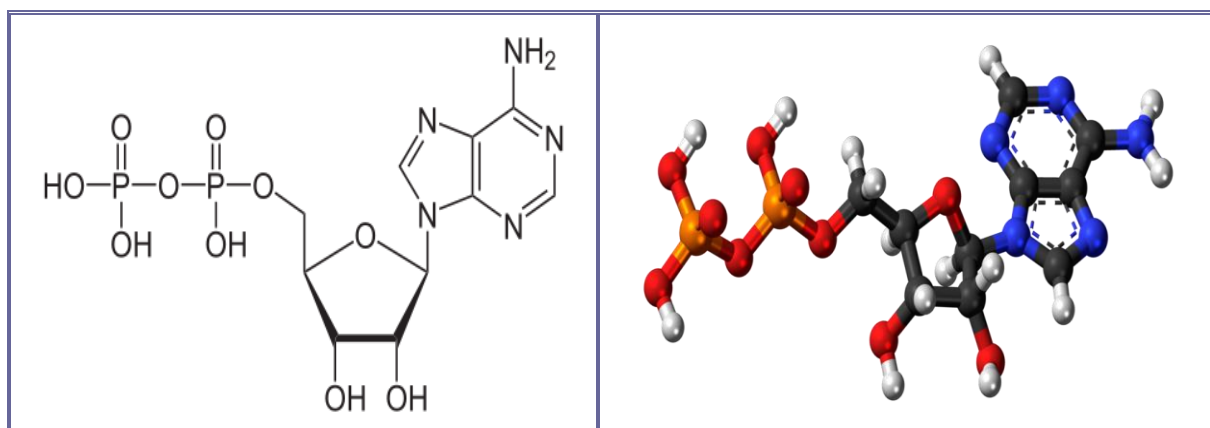
των καρκινικών κυττάρων, συνοπτικά παρουσιάζεται στο επάνω σχήμα και έχει ως εξής, [Vogelstein Bert, and Kinzler Kenneth W., 2002], [Warburg Otto Heinrich, "On the Origin of Cancer Cells", Science, 1956]:

**I) Σύνθεση PAF στο μικροκαρκινικό περιβάλλον: 1)-** Τα καρκινικά κύτταρα μέσω της έκκρισης αγγειογενετικών παραγόντων ενεργοποιούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα, προς παραγωγή PAF (Πορεία A1-A3). **2)-** Ο PAF μπορεί να συντεθεί από διηθούντα φλεγμονώδη κύτταρα, δηλαδή λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια, σε φλεγμονώδεις καταστάσεις (Πορεία B1-B3). **3)-** Τέλος ο PAF μπορεί να συντεθεί από τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα, (Πορεία Γ).

**II) Επιδράσεις του PAF: 1)-** Ο παραγόμενος PAF καθώς συνδέεται στον υποδοχέα του, τόσο στα ενδοθηλιακά, όσο και στα καρκινικά κύτταρα, επάγει με έναν καταρράκτη δευτερογενών μηνυμάτων, την περαιτέρω ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων για επανασύνθεση, τόσο του PAF, όσο και αγγειογενετικών και αυξητικών παραγόντων, ενισχύοντας έτσι το αρχικό σήμα. **2)-** Στα καρκινικά κύτταρα ενεργοποιούνται μηχανισμοί μιτωτικού πολλαπλασιασμού, κινητικότητας, έκφρασης μορίων συγκόλλησης, διεισδυτικότητας και μετανάστευσης ή μετάστασης. **3)-** Στα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιούνται μηχανισμοί αποδόμησης της εξωκυττάριας ουσίας, μιτωτικού πολλαπλασιασμού, κινητικότητας, έκφρασης μορίων συγκόλλησης, μετανάστευσης και αναδιάταξης, προς σχηματισμό νεόπλαστων μικρών νέων αγγείων. **4)-** Τελικό αποτέλεσμα είναι η μεταφορά θρεπτικών ουσιών, από το αίμα στον καρκινικό όγκο, αλλά και η μετάσταση των καρκινικών κυττάρων μέσω **α)-** των νεοσχηματιζόμενων αγγειωμάτων και **β)-** του αίματος, σε άλλους υγιείς ιστούς, [Zhou Jing, et al, "Cloning and Characterization of Angiocidin, a Tumor Cell Binding Protein for Thrombospondin-1", 2004].

### 6.5.5 ΔΙΦΩΣΦΟΡΙΚΗ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗ (ADP)

Η διφωσφορική αδενοσίνη, ή ορθότερα αδενοσινοδιφωσφορικό οξύ, (adenosine diphosphate), διεθνώς καθιερωμένο συντομογραφικά ADP, (προφέρεται "έι-ντι-πι"), στη Βιοχημεία, ονομάζεται το μόριο που αποτελείται από μια ομάδα αδενοσίνης στην οποία είναι προσκολλημένες δύο φωσφορικές ομάδες που ενώνονται με δεσμό υψηλής ενέργειας [Zubay Geoffrey L., "Biochemistry", Second Edition, XXIX, Macmillan Publishing Company and Collier Macmillan Publishers, New York, USA, 1988].



ΕΙΚΟΝΑ 6.20: Ο συντακτικός και κρυσταλλογραφικός μοριακός τύπος του ADP.

Το ADP είναι μια εξόχως σημαντική και απαραίτητη οργανική ένωση, τόσο για το μεταβολισμό, όσο και για τη ροή της ενέργειας, στη διαβίωση των κύτταρων. Το ADP έχει M.B.= 427,201 και μοριακό τύπο:  $[C_{10}H_{15}N_5O_{10}P_2]$ . Το ADP μπορεί να μετατραπεί σε ATP (αδενοσινωτριφωσφορικό οξύ, **ATP**), με τη προσθήκη φωσφορικής ρίζας και με απορρόφηση περίπου 34 KJ ενέργειας, η οποία αποδίδεται όταν η ATP μετατραπεί εκ νέου σε ADP.

### 6.5.6 ΑΡΑΧΙΔΟΝΙΚΟ ΟΞΥ (ARA)

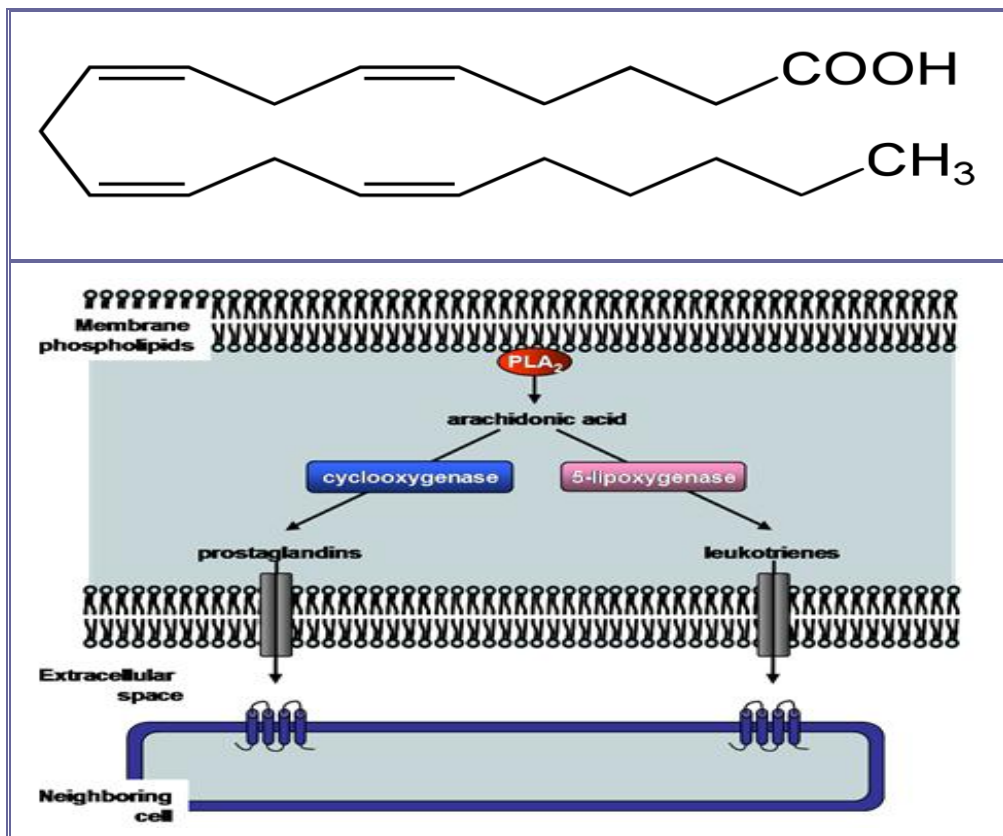
Το αραχιδονικό οξύ στη χημική δομή του, είναι ένα καρβοξυλικό οξύ, με μια αλυσίδα 20 ατόμων άνθρακα και τεσσάρων cis- διπλών δεσμών. Ο πρώτος διπλός δεσμός βρίσκεται στον έκτο άνθρακα, πριν από το τέλος. Το αραχιδονικό οξύ είναι ένα **ωμέγα-6 λιπαρό οξύ** 20 ατόμων άνθρακα. Ελέγχει της λειτουργίες του σώματος που σχετίζονται με την φλεγμονή και το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Το περισσότερο αραχιδονικό οξύ στο ανθρώπινο σώμα προέρχεται από διατροφικό λινολεϊκό οξύ, το οποίο προέρχεται από σπορέλαια και ζωικά λίπη. Το διατροφικό λινολεϊκό οξύ επιμηκύνεται και υφίσταται αποκορεσμό, για να σχηματίσει αραχιδονικό οξύ, και εστεροποιείται στα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών. Αντιδρώντας σε φλεγμονώδη ερεθίσματα, παράγεται ένα ένζυμο, η φωσφολιπάση, που διασπά αυτά τα φωσφολιπίδια, ελευθερώνοντας αραχιδονικό οξύ ως ελεύθερο λιπαρό οξύ. Τότε το αραχιδονικό οξύ μπορεί να οξυγονωθεί και να μετατραπεί περαιτέρω σε εικοσανοειδή παράγωγα. Εναλλακτικά, το αραχιδονικό οξύ μπορεί να εισχωρήσει στον πυρήνα του κυττάρου και να αλληλεπιδράσει με μεταγραφικούς παράγοντες, ώστε να ελέγξει την μεταγραφή του DNA, για τις κυτταροκίνες ή άλλες ορμόνες. Στην διαδικασία της φλεγμονής, άλλες δύο ομάδες διατροφικών απαραίτητων λιπαρών οξέων σχηματίζουν αλληλουχίες που παραλληλίζουν και ανταγωνίζονται με την αλληλουχία του αραχιδονικού οξέος. Το **εικοσαπενταενοϊκό οξύ (EPA)** παρέχει την πιο σημαντική ανταγωνιστική αλληλουχία. Το δίχομο-γάμμα λινολενικό οξύ, το οποίο παράγεται από το γάμμα-λινολενικό οξύ, παρέχει μία εναλλακτική, λιγότερο προεξέχουσα αλληλουχία.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6.20: Φυσικοχημικές Ιδιότητες του αραχιδονικού οξέος.**

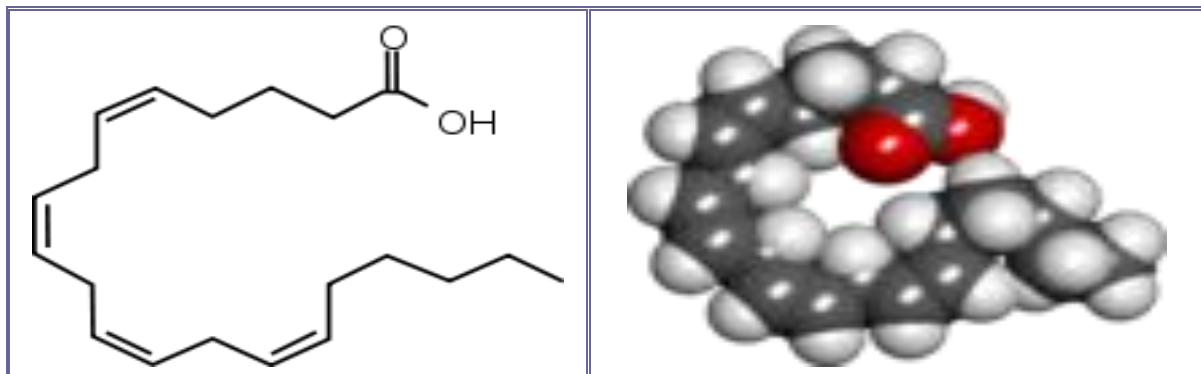
<b>Μοριακός τύπος</b>	$C_{20}H_{32}O_2$
<b>Μοριακή μάζα</b>	304,47 g mol <sup>-1</sup>
<b>Πυκνότητα</b>	0,922 g/cm <sup>3</sup>
<b>Σημείο τήξεως</b>	-49 °C, 224 K, -56 °F
<b>Σημείο βρασμού</b>	169-171 °C, 442-444 K, 336-340 °F (at 0,15 mmHg) 169-171 °C, 442-444 K, 336-340 °F (σε 0,15 mmHg)

Αυτές οι παράλληλες αλληλουχίες αμβλύνουν τις φλεγμονώδεις επιδράσεις, του αραχιδονικού οξέος και των προϊόντων του. **Το αραχιδονικό οξύ** είναι ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ, που υπάρχει στα φωσφολιπίδια (κυρίως φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνη, φωσφατιδυλο-χολίνη, και phosphatidylinositides) των μεμβρανών των κυττάρων του σώματος, είναι άφθονο στον εγκέφαλο, τους μύες και το ήπαρ.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.21.** Πάνω: ο συντακτικός χημικός τύπος του Αραχιδονικού Οξέος και Κάτω: Η βιοχημική κυτταρική του δράση.

Εκτός από το ότι εμπλέκεται στην κυτταρική σηματοδότηση, ως ένα δεύτερο αγγειοφόρο λιπίδιο, εμπλέκεται και στη ρύθμιση της σηματοδότησης των ενζύμων, PLC - $\gamma$ ,  $\delta$ -PLC, και PKC - $\alpha$ , - $\beta$  και - $\gamma$  ισομορφές. Το αραχιδονικό οξύ είναι ένα βασικό φλεγμονώδες ενδιάμεσο και μπορεί επίσης να λειτουργήσει και ως ένα αγγειοδιασταλτικό, [MacDonald M.L., et al, 1984]. Το αραχιδονικό οξύ δεν είναι ένα από τα απαραίτητα λιπαρά οξέα. Ωστόσο αυτό θα καταστεί απαραίτητο, αν υπάρξει μια ανεπάρκεια σε λινολεϊκό οξύ ή εάν υπάρξει μια ανικανότητα του οργανισμού, να μετατρέψει το λινολεϊκό οξύ σε αραχιδονικό οξύ, η οποία απαιτείται στα περισσότερα θηλαστικά.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.22:** Ο συντακτικός και κρυσταλλογραφικός μοριακός τύπος του αραχιδονικού οξέος.

Μερικά θηλαστικά έχουν την ικανότητα να, ή έχουν πολύ περιορισμένη ικανότητα να μετατρέπουν το λινολεϊκό οξύ σε αραχιδονικό οξύ, καθιστώντας αυτό, ως ένα ουσιαστικό



μέρος της διατροφής τους, [Nisha A.S., 2009] και [Botha Alfred, et al, 1999]. Δεδομένου ότι το αραχιδονικό οξύ ανευρίσκεται στην κοινή φυτική βλάστηση, σε χαμηλές ή και μηδενικές ποσότητες, τα ζώα αυτά έχουν μετεξελιχθεί υποχρεωτικώς σε σαρκοφάγα. Η οικόσιτος γάτα αποτελεί ένα τέτοιο χαρακτηριστικό παράδειγμα [Rivers J.P.W., et al, 1975]. Μία εμπορική πηγή αραχιδονικού οξέος έχει προκύψει, ωστόσο, από τον μύκητα *Mortierella Alpina*, [Walter F. Boron, and Boulpaep Emile L., "Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach", Second Edition, pages 1319, W.B. Saunders and Elsevier Inc., Philadelphia, USA, 2009].

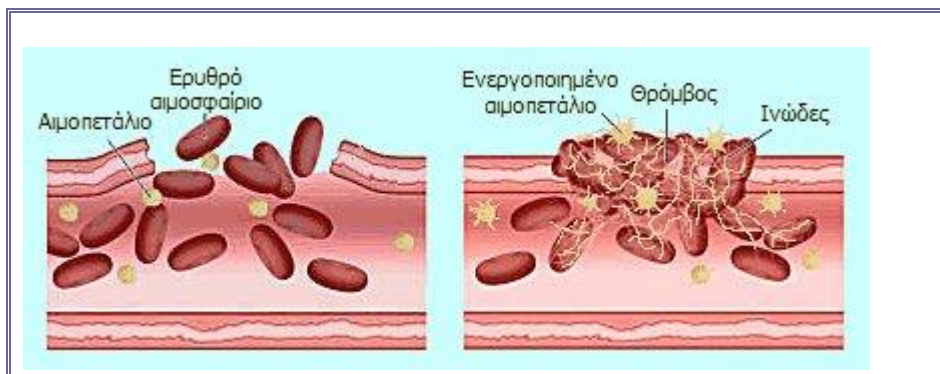
### **6.5.7 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΥ. ΔΟΤΕΣ ΚΑΙ ΑΙΜΟΛΗΨΙΕΣ**

Για τα εν λόγω πειράματα χρησιμοποιήθηκαν 12 υγιείς εθελοντές (5 γυναίκες και 7 άντρες), ηλικίας 24 έως 48 ετών, μη καπνιστές, οι οποίοι απείχαν από την κατανάλωση οινοπνευματωδών ποτών, τουλάχιστον επτά ημέρες, πριν από κάθε αιμοληψία. Επίσης οι εθελοντές απείχαν από την σταθερή ή περιστασιακή χρήση συμπληρωμάτων διατροφής ή φαρμάκων, τουλάχιστον δύο εβδομάδες, πριν την αιμοληψία. Η αιμοληψία γινόταν από την μεσοβασίλική φλέβα του αντιβραχίονα, ή από τις επιπολής φλέβες της ραχιαίας επιφάνειας της άκρης του χεριού, με την χρήση πλαστικοποιημένου φλεβοκαθετήρα ή πεταλούδας, δια ελεύθερης ροής και όχι δια αναρροφήσεως, ώστε τα αιμοπετάλια να μην υφίστανται ενεργοποίηση, λόγω του υδραυλικού stress ροής (shear stress). Το αίμα συλλεγόταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες νοσοκομειακής χρήσης, χωρητικότητας 5 cm<sup>3</sup>, τυποποιημένους για την συλλογή αίματος, που προορίζονταν για αιματολογικό έλεγχο, παρουσία της αντίστοιχης ποσότητας κιτρικών, ως αντιπηκτικού (1 cm<sup>3</sup> διαλύματος κιτρικών 0,2 % ανά 9 cm<sup>3</sup> αίματος). Σε αρχικά πειράματα χρησιμοποιήθηκαν επίσης δοκιμαστικοί σωλήνες από νεοπρένιο των 10 cm<sup>3</sup>, με την αντίστοιχη ποσότητα του ιδίου αντιπηκτικού διαλύματος.

### **6.5.8 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ. ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΛΟΥΣΙΟΥ ΣΕ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ (PRP) ΚΑΙ ΠΤΩΧΟΥ ΣΕ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ (PPP)**

Αμέσως μετά την αιμοληψία το αίμα αναδευόταν ήπια, ώστε να γίνει πλήρης ανάμιξη του με το αντιπηκτικό και αφού αφηνόταν 5 έως 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, τοποθετούνταν κατόπιν σε φυγοκέντρηση στις 1000 στροφές ανά λεπτό, πάντα με την ίδια φυγόκεντρο, επί 10 λεπτά. Μερικές φορές γινόταν συνέχιση της φυγοκέντρησης ώστε να υπάρξει πλήρης διαχωρισμός του πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος (PRP, Platelet- Rich Plasma), τόσο από την στοιβάδα των ερυθροκυττάρων, όσο και από την λεπτή στοιβάδα των λευκοκυττάρων (buffy coat). Κατόπιν γινόταν επιμελής αναρρόφηση του Πλούσιου σε Αιμοπετάλια Πλάσματος (PRP) μέχρι 2 – 4 mm πάνω από την γραμμή διαχωρισμού των ερυθροκυττάρων, ώστε να μην αναρροφηθούν και λευκοκύτταρα, των οποίων η παρουσία, ως γνωστόν, παραλλάσσει την αιμοπεταλιακή λειτουργικότητα. Το αναρροφούμενο PRP τοποθετούνταν σε πλαστικό αποστειρωμένο σωλήνα, πωματίζονταν και φυλάσσονταν σε στατώ στηρίξεως, εντός υδατόλουτρου θερμοκρασίας 37°C, μέχρι την δοκιμασία των

αιμοπεταλίων, η οποία άρχιζε όχι αργότερα από 20 έως 30 min, μετά την λήψη του αίματος. Συνήθως δεν γινόταν αιμοληψίες μεγαλύτερες των 15 – 20cm<sup>3</sup>, ώστε η παραμονή των αιμοπεταλίων εκτός του σώματος, να μην υπερβεί τις 2 έως 3 ώρες, οπότε θα υποστούν αλλοιώσεις, στις λειτουργικές τους αντιδράσεις. Μετά την παραλαβή του PRP, το εναπομείναν δείγμα αίματος, ετέθη εκ νέου σε φυγοκέντρηση στις 3100 στροφές ανά λεπτό επί 20 min, ώστε να γίνει ολοκληρωτική κατακρήμνιση και των υπολοίπων σε αιώρηση αιμοπεταλίων, και να προκύψει το Πτωχό σε Αιμοπετάλια Πλάσμα (PPP, Platelet-Poor Plasma), το οποίο είναι απαραίτητο για την ρύθμιση του σημείου του άνω άκρου του διαγράμματος συσσώρευσης, στο συσσωρευόμετρο.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.23 Η διαδικασία θρόμβωσης των αιμοπεταλίων.**

### **6.5.9 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΣΥΣΣΩΡΕΥΟΜΕΤΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ EN VIVO ΚΑΙ EN VITRO**

Η συσσωρευομετρία αποτελεί μια ενόργανη (instrumental) μέθοδο για την ακριβή ποσοτική και ποιοτική μελέτη των τριών κυρίων αιμοπεταλιακών αντιδράσεων. Η μέθοδος αυτή επινοήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1960 και έκτοτε χρησιμοποιείται ευρύτατα για τον έλεγχο ρουτίνας των αιμοπεταλιακών αντιδράσεων, όπως επίσης και για ερευνητικές εφαρμογές που αφορούν την τροποποίηση της αιμοπεταλιακής λειτουργίας σε διάφορες κλινικές καταστάσεις (π.χ θρομβασθένειες ή θρομβοφιλίες), ή για την δοκιμή της δράσης παραγόντων, με τροποποιητικές ιδιότητες επί των αιμοπεταλιακών λειτουργιών, όπως οι αναστολείς των ενζύμων, οι ουσίες με ανασταλτικές ή διεγερτικές ιδιότητες, οι αναστολείς των υποδοχέων κ.α. Το συσσωρευόμετρο (**Aggregometer**) περιλαμβάνει το κύριο όργανο, το οποίο περιέχει μια ενσωματωμένη λυχνία λευκού φωτός σταθερής έντασης και παράλληλης δέσμης. Είναι φανερό ότι, με τις κατάλληλες τροποποιήσεις, δηλαδή με την χρήση μονοχρώματα, είναι δυνατόν να επιλέξει κανείς οποιοδήποτε μήκος κύματος του ορατού φωτός ή της ακτινοβολίας UV, στο βαθμό που ρμφανίζεται μια αντίστοιχη ερευνητική αναγκαιότητα μελέτης. Η λευκή λυχνία εκπέμπει μέσω μιας κυκλικής θυρίδας διαμέτρου 1 cm στο εσωτερικό ενός κυλινδρικού φρεατίου, το οποίο αποτελεί και την σχισμή του οργάνου. Η απόσταση από την έξοδο του φωτός μέχρι το απέναντι σημείο του φρεατίου είναι 0,5 cm. Στην απέναντι της φωτεινής εξόδου της λυχνίας πλευρά του φρεατίου είναι εγκατεστημένο ένα φωτοκύτταρο το οποίο είναι κατάλληλα διαμορφωμένο, ώστε να διακρίνει αναλογικά όλες τις διαβαθμίσεις της έντασης του φωτός και να τις

μετατρέπει σε ηλεκτρικό σήμα. Τα συγκεκριμένα διαμορφούμενα ηλεκτρικά σήματα ενεργοποιούν έναν πλωτήρα ο οποίος καταγράφει τις φωτεινές διακυμάνσεις, που λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό της κυψελίδας, η οποία εμπεριέχει τα αιμοπετάλια και προφανώς καταγράφει τον βαθμό διαφάνειας (θολερότητας) του αιμοπεταλιακού εναιωρήματος. Ακριβώς κάτω από το δάπεδο του πυθμένα του φρεατίου, που αντιπροσωπεύει την σχισμή της συσκευής, είναι τοποθετημένος ο μαγνητικός αναδευτήρας, δηλαδή ένας ηλεκτρικός τροχίσκος, ο οποίος περιέχει πυκνές ακτίνες από σιδηρομαγνητικό υλικό. Η ταχύτητα περιστροφής του τροχίσκου ρυθμίζεται εξωτερικά από κατάλληλο κοχλία, τοποθετημένου στον πίνακα ελέγχου της συσκευής, σε ένα εύρος στροφών από 0 έως 3000 rpm [rpm = rotations per minutes, (0, 50, 100, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 rpm)].

Στην σχισμή του οργάνου τοποθετούμε την κυψελίδα με 450 μl αιμοπεταλιακού εναιωρήματος και θέτουμε εντός της κυψελίδας μικρό πλαστικοποιημένο (teflon) μαγνήτη, ικανό να περιστρέφεται ανεμπόδιστα στο εσωτερικό της και ρυθμίζουμε την ταχύτητα περιστροφής του μαγνήτη - και συνεπώς του PRP - στις 1500 rpm, ανάβοντας ταυτόχρονα την λυχνία της συσκευής. Επειδή τα εν αιωρήσει αιμοπετάλια σκεδάζουν το φως, δημιουργείται το οπτικό φαινόμενο σκεδάσεως **Tyndall**, οπότε το σύνολο του PRP εμφανίζει μια χαρακτηριστική λευκωπή θολερότητα. Το αισθητήριο φωτοκύτταρο καταγράφει την οπτική διαπερατότητα του διαλύματος, δίνοντας ταυτόχρονα και το χαμηλότερο σημείο της καταγραφής, δηλαδή το σημείο με την ένδειξη 0 στον βαθμονομημένο καταγραφικό χάρτη. Κατόπιν αφαιρούμε από την σχισμή της συσκευής την κυψελίδα με το PRP και θέτουμε εντός της σχισμής μια νέα κυψελίδα η οποία περιέχει το Πτωχό σε Αιμοπετάλια Πλάσμα (PPP), το οποίο, επειδή ακριβώς δεν περιέχει καθόλου αιμοπετάλια, αφήνει το λευκό φως να διέλθει ανεμπόδιστα δια της μάζας του πλάσματος και να καταγραφεί από τον αισθητήρα. Σε αυτή την περίπτωση η γραφίδα του καταγραφέα ανέρχεται στην ένδειξη 100 του βαθμονομημένου χάρτη. Το σημείο μηδέν αντιστοιχεί λοιπόν σε αιμοπετάλια τα οποία είναι απολύτως διαχωρισμένα (δηλαδή έχουν 0% συσσώρευση), ενώ το σημείο 100 αντιστοιχεί σε αιμοπετάλια τα οποία έχουν εξ' ολοκλήρου συσσωρευτεί μεταξύ τους, σχηματίζοντας μικρότερους ή μεγαλύτερους λευκούς θρόμβους (δηλαδή συσσώρευση 100% του συνόλου των αιμοπεταλίων).

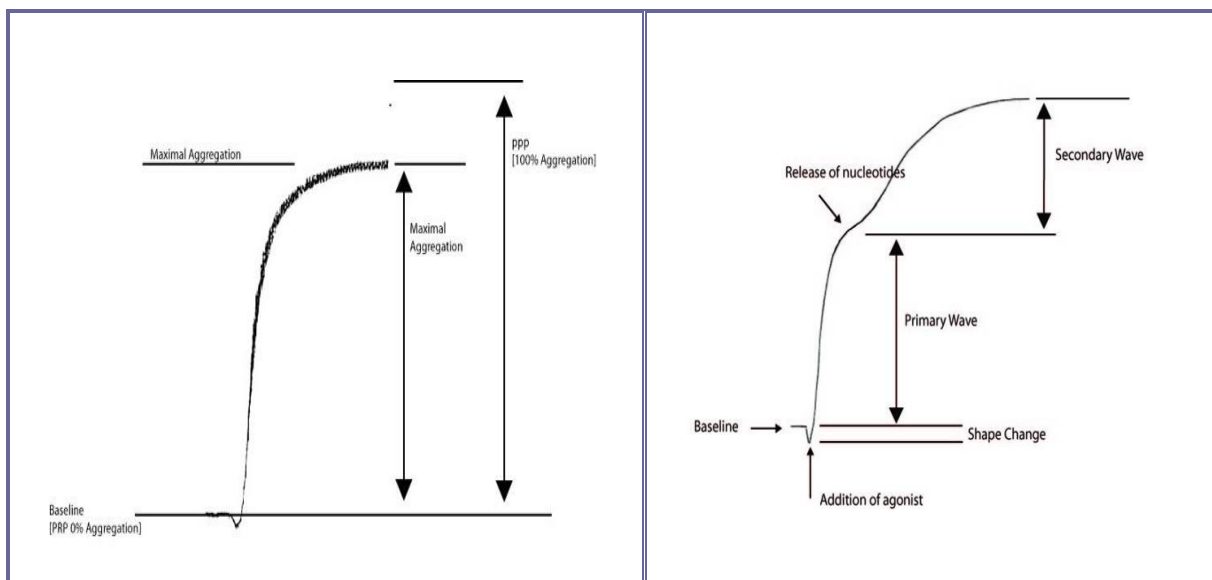
#### **6.5.10 ΤΑ ΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΝΩΡΙΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΟ-ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ**

Από την στιγμή που θα χορηγηθεί ένας τυπικός αγωνιστής στα περιδινούμενα αιμοπετάλια του PRP αυτά αρχίζουν να δίνουν τις χαρακτηριστικές αντιδράσεις, που αντιπροσωπεύουν τα διαδοχικά στάδια της ενεργοποίησής τους :

- 1-** Η πρώτη λειτουργική αντίδραση – η αλλαγή σχήματος – με την χαρακτηριστική εικόνα μιας μικρής ημικυκλικής ταπείνωσης του γραφήματος. Η μικρή αυτή ταπείνωση αντιστοιχεί στην αύξηση της οπτικής απορρόφησης του κυτταρικού εναιωρήματος, καθόσον τα διογκούμενα αιμοπετάλια προβάλλουν μεγαλύτερη δυσχέρεια στην διέλευση του φωτός, καταλαμβάνοντας περισσότερο χώρο και μειώνοντας τις κενές

μεταξύ των αιμοπεταλίων αποστάσεις. Αν το ερέθισμα που χορηγήθηκε είναι πολύ μικρό (υποκατώφλιο), η αλλαγή σχήματος παρέρχεται και η γραμμή που αντιστοιχεί στην θολερότητα του εναιωρήματος επιστρέφει από την αρνητική της τιμή στην τιμή 0.

**2-** Αν το ερέθισμα (ποσότητα αγωνιστή) υπερβαίνει την οδό διέγερσης των αιμοπεταλίων αλλά είναι ακόμη μικρό, τότε σε μικρή απόσταση από την αλλαγή σχήματος, η γραμμή αποτύπωσης της θολερότητας αρχίζει να λαμβάνει ανοδική κατεύθυνση και ανέρχεται μέχρι ενός σημείου, μετά από το οποίο κάμπτεται και επιστρέφει σε ένα σημείο περιεχόμενο μεταξύ του μηδενός και του 5 έως 20%. Η περιοχή της ανοδικής καμπύλης αποτελεί το λεγόμενο κύμα **α** της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης. Στην περίπτωση αυτή έχουμε το φαινόμενο της αντιστρεπτής αιμοπεταλιακής συσσώρευσης. Αν λάβουμε το PRP και το ελέγξουμε στο μικροσκόπιο θα παρατηρήσουμε ότι η πλειονότητα των αιμοπεταλίων παραμένει διαχωρισμένη, ενώ ένας αριθμός τους έχει συγκροτήσει συσσωματώματα αποτελούμενα από μικρούς αριθμούς συγκολλημένων αιμοπεταλιακών κυττάρων.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.24.** Τα συνήθη στάδια εξέλιξης ενός τυπικού συσσωρευογραφήματος θρόμβωσης των αιμοπεταλίων.

**3-** Αν η ποσότητα του χρησιμοποιούμενου διεγέρτη είναι επαρκής, ώστε να καταλάβει όλους τους εξειδικευμένους της υποδοχείς, τότε η αιμοπεταλιακή διέγερση γίνεται μέγιστη και περνά από όλα τα διαδοχικά στάδια αυτής : αλλαγή σχήματος, **α**: κύμα συσσώρευσης, αντίδραση έκλυσης του περιεχομένου των κοκκίων και **β**: κύμα συσσώρευσης. Στην περίπτωση που διακρίνουμε την ύπαρξη των δύο κυμάτων συσσώρευσης, όπως σε άλλες περιπτώσεις, όπου τα φαινόμενα έχουν μεγάλη ταχύτητα τα δύο κύματα συντήκονται και σχηματίζουν μια ενιαία σιγμοειδή γραμμή. Τα αιμοπετάλια στην τελευταία αυτή περίπτωση είναι όλα συνδεδεμένα μεταξύ τους και η συσσώρευσή τους δεν είναι πλέον αντιστρέψιμη, πράγμα το οποίο καταδεικνύεται από την σταθερότητα της γραμμής συσσώρευσης που αντιστοιχεί στην πολύ μικρή θολερότητα του Πτωχού σε Αιμοπετάλια Πλάσματος (PPP - plasma poor platelets). Δεν

έχει νόημα να χορηγούμε στα αιμοπεταλιακά εναιωρήματα μεγαλύτερες ποσότητες ενός αγωνιστή από την συγκεκριμένη ποσότητα του, η οποία προκαλεί την μέγιστη αιμοπεταλιακή συσσώρευση, καθόσον η προσθήκη μεγαλύτερων ποσοτήτων δεν μεταφράζεται σε αύξηση του ύψους της συσσώρευσης. Στην εν λόγω περίπτωση όλοι οι υποδοχείς του εν λόγω αγωνιστή έχουν καταληφθεί και η προσθήκη άλλων ποσοτήτων εξ αυτού δεν μεταβάλλει το καθεστώς της κατάληψης των υποδοχέων ανοδικά.

**4-** Πέραν των ανωτέρω αναφερθέντων, πολύ μεγάλο ρόλο παίζουν και οι ταχύτητες με τις οποίες σχηματίζονται οι αιμοπεταλιακοί θρόμβοι. Στην περίπτωση που η ταχύτητα δημιουργίας των συσσωματωμάτων είναι υψηλή, τότε η κλίση της γραμμής συσσώρευσης (γωνία που προκύπτει από τον άξονα του χρόνου και της εφαπτόμενης προς την γραμμή συσσώρευσης στην αρχή αυτής) είναι μεγάλη. Οι εν λόγω συσσωρεύσεις είναι απότομες και ανέρχονται στην περιοχή του οροπέδιου, μέσα σε μικρό χρόνο από την στιγμή της χορήγησης του αγωνιστή. Στην περίπτωση αυτή ο αγωνιστής είναι ισχυρός (ή εναλλακτικά η ποσότητά του είναι μεγάλη). Αν αντιθέτως τα αιμοπετάλια αργούν να συσσωρευτούν, τότε η γραμμή της συσσώρευσης καθυστερεί αρκετά, στο να φθάσει στην περιοχή της μέγιστης συσσώρευσης (limiting plateau, οριακή περιοχή σήματος, οροπέδιο σήματος).

**5-** Το μέγεθος των θρόμβων είναι χρήσιμο στοιχείο, για την εκτίμηση της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης. Το μέγεθος των θρόμβων μπορεί να εκτιμηθεί από τις διαστάσεις της ταλάντωσης του γραφήματος γύρω από την λεγόμενη μέση γραμμή πορείας.

Η μελέτη των συσσωρευογραφήματων δείχνει ότι αυτά αποτελούνται από μια γραμμή η οποία μπορεί να είναι συνεχής και χωρίς μικρές ταλαντώσεις, αλλά μπορεί να παρουσιάζει και ταλαντώσεις αξιόλογου εύρους, οι οποίες δίνουν στην γραμμή του συσσωρευογραφήματος μια πριονωτή εικόνα, συνεχούς ταλάντωσης της γραφίδας. Όσο μεγαλύτεροι είναι οι λευκοί αιμοπεταλιακοί θρόμβοι τόσο μεγαλύτερο είναι το εύρος της πριονωτής γραμμής. Για παράδειγμα, οι λευκοί θρόμβοι που σχηματίζονται εκ μέρους της ριστοσετίνης είναι ευμεγέθεις, πράγμα το οποίο αντικατοπτρίζεται στο πολύ μεγάλο εύρος της πριονωτής γραμμής του συσσωρευογραφήματος. Επίσης οι ευμεγέθεις θρόμβοι της προκαλούμενης, από την ριστοσετίνη, συσσώρευσης είναι και πολυπληθείς οπότε οι διαδοχικές οδοντώσεις του συσσωρευογραφήματος είναι ιδιαίτερος πυκνός.

Αντίθετα στην συσσώρευση που εισάγεται από το ADP ή το αραχιδονικό οξύ η οδόντωση του γραφήματος είναι πολύ μικρή ή λείπει εντελώς. Πέραν της πυκνότητας και του ύψους της οδόντωσης της γραμμής του συσσωρευογραφήματος, ο πειραματιστής μπορεί να έχει μια άμεση εικόνα του μεγέθους των θρόμβων μέσω ενός παραθύρου που είναι ενσωματωμένο στην σχισμή του οργάνου και βλέπει ακριβώς στο εσωτερικό της κυψελίδας. Οι μεγαλύτεροι λευκοί θρόμβοι είναι ορατοί δια γυμνού οφθαλμού ενώ οι μικρότεροι χρειάζονται την χρήση του στερεοσκοπίου ή του μικροσκοπίου για να υπολογιστεί η μέση τους διάμετρος και οι αριθμοί των αιμοπεταλίων που περιέχουν, υπό τον όρο ότι δεν έχει ακόμη συμβεί η τήξη των μεμβρανών τους. Οι λευκοί θρόμβοι του

συσσωρευομέτρου μπορούν να σταθεροποιηθούν και να μονιμοποιηθούν, εντός φορμαλδεΰδης ή και γλουταραλδεΰδης, ώστε περαιτέρω να μελετηθούν στις βαθύτερες λεπτομέρειές τους, στο οπτικό ή στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αντιστοίχως.

#### **6.5.11 ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΗΣ ΕΙΚΟΝΑΣ ΤΩΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΟΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ**

Όταν χορηγούμε μια ουσία η οποία έχει ιδιότητες αναστολέα της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης, η δράση της αντικατοπτρίζεται άμεσα στα χαρακτηριστικά του συσσωρευογραφήματος των αιμοπεταλίων. Οι μεταβολές των χαρακτηριστικών αυτών είναι, οι ακόλουθες :

**1-** Αν η ουσία τεθεί σε μικρές ποσότητες που δεν επαρκούν να επιφέρουν πλήρη αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, τότε το κύμα της συσσώρευσης είναι πιο χαμηλό από το κύμα συσσώρευσης ελέγχου. Η προσθήκη ακόμη μεγαλύτερης ποσότητας αναστολέα επιφέρει ακόμη μεγαλύτερη πτώση του ύψους του συσσωρευογραφήματος. Τέλος αν αυξήσουμε την προσθήκη της ουσίας πέραν ενός ορίου, κάποια στιγμή η χορήγηση του αγωνιστή δεν θα προκαλεί καθόλου συσσώρευση. Η συγκέντρωση του αναστολέα, η οποία προκαλεί μείωση του ύψους της συσσώρευσης κατά 50% ονομάζεται "συγκέντρωση ημιαναστολής" (**Inhibiting Concentration 50 %** ή συντομογραφικά IC<sub>50</sub>). Η ελάχιστη δόση που προκαλεί πλήρη αναστολή (αναστολή 100 %) της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης ονομάζεται Ελάχιστη Συγκέντρωση Πλήρους Αναστολής (**Minimal Inhibiting Concentration 100 %** ή συντομογραφικά MIC<sub>100</sub>).

Η αύξηση της συγκέντρωσης ενός αιμοπεταλιακού αναστολέα, πέραν της ελάχιστης συγκέντρωσης αυτού που προκαλεί 100 % αναστολή δεν έχει έννοια να προστίθεται, εκτός αν η ποσότητα της στο διάλυμα καταναλώνεται στην επαναφορά της αιμοπεταλιακής λειτουργικότητας. Στον εν λόγω τύπο δοκιμής, ο προς μελέτη αναστολέας χορηγείται στο PRP ένα μικρό χρονικό διάστημα πριν την χορήγηση του αγωνιστή. Φυσικά υπάρχουν ποικίλες παραλλαγές της χορήγησης του αναστολέα. Π.χ. μπορεί να χορηγηθεί σε μεγαλύτερη χρονική απόσταση από την στιγμή χορήγησης του αγωνιστή ή τα αιμοπετάλια να επωαστούν επί μακρόν, με διάφορες συγκεντρώσεις αυτού. Επίσης ο αναστολέας μπορεί να χορηγηθεί διαφορετικώς, με τους εξής παρακάτω τρόπους:

- I)-** Ταυτοχρόνως με τον αγωνιστή.
- II)-** Αμέσως μετά τον αγωνιστή.
- III)-** Στο μέσον του 1<sup>ου</sup> κύματος συσσώρευσης.
- IV)-** Στο σημείο μεταξύ 1<sup>ου</sup> και 2<sup>ου</sup> κύματος συσσώρευσης.
- V)-** Την στιγμή που το κύμα ανέρχεται στο υψηλότερο σημείο συσσώρευσης και πριν την έναρξη του οροπεδίου.

**VI)-** Μετά την επίτευξη του οροπεδίου (σε διαφορετικούς χρόνους από 1 έως 30 min), για την περίπτωση ελέγχου της ενδεχόμενης θρομβολυτικής ικανότητας μιας ουσίας.

**2-** Άλλου τύπου βιοχημικές μεταβολές, με τον χαρακτήρα της αναστολής είναι οι εξής:

**α)-** Υπάρχουν συσσωρευογραφήματα ενός χαρακτηριστικού τύπου στα οποία η συσσώρευση καθυστερεί μεν, αλλά τελικά επιτυγχάνεται. Συνεπώς εδώ ο χρόνος μέσα στον οποίο επιτελείται επιμηκύνεται πάρα πολύ. Η μείωση της γωνίας που σχηματίζεται μεταξύ της εφαπτομένης και της γραμμής συσσώρευσης στην εκθετική φάση αυτής, αποτελεί ένα ποσοτικό στοιχείο αναστολής πολύ σημαντικό, το οποίο μπορεί να συνδυαστεί με την διάρκεια του χρόνου συσσώρευσης, παράμετρος που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της δράσης ορισμένων ανασταλτικών παραγόντων. Ο εν λόγω τύπος συσσώρευσης λαμβάνει χώρα υπό την σταθερή μερική καταστολή ή επιβράδυνση της λειτουργίας ενός ενζύμου. Η αύξηση της δόσης του αναστολέα επιτυγχάνει τελικά πλήρη αναστολή της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης.

**β)-** Επίσης υπάρχουν συσσωρευογραφήματα στα οποία χορηγείται ένας αναστολέας που αναστέλλει μόνον ένα ενδιάμεσο βήμα της συνολικής πορείας συσσώρευσης. Συνεπώς η πορεία της συσσώρευσης θα προχωρήσει μέχρι εκείνο το σημείο, στο οποίο βρίσκεται το αποκλεισμένο βήμα και κατόπιν θα σταματήσει. Αυτή είναι η περίπτωση όλων των λεγομένων αντιστρέψιμων συσσωρεύσεων λόγω αναστολής της αντίδρασης έκλυσης του περιεχομένου των αιμοπεταλιακών κοκκίων. Σαν παράδειγμα, η χορήγηση δι-ιωδιοξεικού οξέος σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού *in vitro* ή αιμοπετάλια ανθρώπου *ex vivo* και εν συνεχεία η ενεργοποίησή τους μέσω ενός τυπικού αγωνιστή έχει σαν αποτέλεσμα την αντιστρεπτή συσσώρευση των αιμοπεταλίων εξ αιτίας της παρεμπόδισης της αντίδρασης έκλυσης του περιεχομένου των κοκκίων, που μεγιστοποιεί την συσσώρευση και την καθιστά μη αντιστρεπτή.

**γ)-** Η χορήγηση ενός αναστολέα μετά την επίτευξη μέγιστης συσσώρευσης (φάση του οροπεδίου) και η επίτευξη αποσυσσώρευσης των αιμοπεταλίων δηλώνει την εισαγωγή μιας θρομβολυτικής διεργασίας. Τα παραπάνω δεδομένα χρησιμοποιούνται για την μελέτη των συσσωρευογραφημάτων και για την εκτίμηση του επιπέδου αναστολής, του αιμοπεταλιακού υποουστήματος που θίγεται από αυτήν, όπως επίσης και της ισχύος ενός υπό μελέτη αναστολέα των αιμοπεταλιακών αντιδράσεων.

#### **6.5.12 ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ**

Μετά την προπαρασκευή των PRP και PPP, καθώς και την ρύθμιση των σημείων μηδενικής συσσώρευσης και μέγιστης συσσώρευσης χρησιμοποιούσαμε 450μl PRP τα οποία τοποθετούσαμε εντός της κυψελίδας χωρητικότητας 500 μl, στο εσωτερικό της οποίας είχε προστεθεί μικρός πλαστικοποιημένος μαγνήτης για την ανάδευση των αιμοπεταλίων στις 1500 rpm. Κατόπιν η κυψελίδα τοποθετούνταν στην σχισμή του οργάνου, γινόταν προσθήκη του αγωνιστή και ακολουθούσε η συσσώρευση, η διάρκεια παρακολούθησης της

οποίας ήταν 15 λεπτά. Με τον τρόπο αυτό ελεγχόταν η δράση των τριών αντιπροσωπευτικών αγωνιστών (ADP, PAF, Αραχιδονικό Οξύ) των τριών ομωνύμων οδών της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης. Τα προκύπτοντα συσσωρευογραφήματα αποτελούσαν και τους ελέγχους των μετέπειτα δοκιμών. Κατόπιν παρασκευαζόταν 6 κυψελίδες με 450 μl PRP εκάστη, των οποίων τα στόμια καλυπτόταν με ένα στρώμα μεμβράνης πλαστικοποιημένης κυτταρίνης (parafilm), ώστε να μην εισέρχονται εις το εσωτερικό τους αιωρούμενα σωματίδια ή μικροοργανισμοί, και οι έξι αυτές κυψελίδες τοποθετούνταν σε ισάριθμα μεταλλικά φρεάτια σταθερής θερμοκρασίας 37°C. Κάθε μία από τις παρασκευασθείσες κυψελίδες τοποθετούνταν στην σχισμή του συσσωρευομέτρου, εισήγετο η μικρή μαγνητική ράβδος, καθώς και μια δεδομένη ποσότητα μικτού εκχυλίσματος, ανασυσταθέντος σε φυσιολογικό ορό. Μετά από ολιγόλεπτη επώαση χορηγούνταν ο επιλεγής αγωνιστής και λαμβανόταν το συσσω-ρευογράφημα επί 15 λεπτά (ή λιγότερο χρόνο, ανάλογα με την φύση του πειράματος). Στη συνέχεια προχωρούσαμε στην 2<sup>η</sup> κυψελίδα ακολουθώντας την ίδια διαδικασία αλλά χορηγώντας διπλάσια ποσότητα μικτού εκχυλίσματος των φυτών.

Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνονταν μέχρι του προσδιορισμού της ποσότητας εκχυλίσματος, που έδινε 50% αναστολής της συσσώρευσης, όπως επίσης και του προσδιορισμού της ελάχιστης ποσότητας εκχυλίσματος που προκαλούσε 100 % αναστολή. Γινόταν επανέλεγχος της αιμοπεταλιακής λειτουργικότητας, με τρεις εκ νέου ελέγχους της συσσωρευτικής ικανότητας των αιμοπεταλίων (με την προσθήκη των ιδίων βασικών αγωνιστών ADP, PAF, Αραχιδονικό Οξύ) και εφ' όσον τα αιμοπετάλια ήταν πλήρως λειτουργικά, προχωρούσαμε σε νέα εξάδα δοκιμών όπου χρησιμοποιούσαμε τον δεύτερο αγωνιστή και τις ίδιες δόσεις εκχυλίσματος, προκειμένου να δούμε αν υπήρχε, ή όχι ισότιμη αναστολή, σε συγκρίσει με τον πρώτο αγωνιστή. Οι δοκιμές συνεχιζόταν έως ότου προσδιοριστούν η IC<sub>50</sub> και η ελάχιστη συγκέντρωση του εκχυλίσματος, που εισήγαγε πλήρη αναστολή (100%). Μετά γινόταν επίσης επανέλεγχος της αιμοπεταλιακής λειτουργικότητας, κατά τα γνωστά προαναφερθέντα και αν τα αιμοπετάλια ήσαν ξανά λειτουργικά, συνεχίζαμε την μελέτη της δράσης του εκχυλίσματος, στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση, που εισήγαγε ο τρίτος αγωνιστής. Τα πειράματα αυτά επαναλαμβάνονταν σε ικανό αριθμό επαναλήψεων, με τα PRP του κάθε δότη (ενός κάθε φορά), ώστε να εκπληρώνονται οι προϋποθέσεις της στατιστικής σημαντικότητας. Μετά την ολοκλήρωση του κύκλου των πειραμάτων, που αφορούσαν τους τρεις κύριους αιμοπεταλιακούς αγωνιστές που προαναφέραμε, προχωρή-σαμε σε έναν νέο κύκλο πειραμάτων, στον οποίο ως διεγέρτης της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων χρησιμοποιήθηκαν μεγάλοι αριθμοί κυττάρων λειομυοσάρκωματος, επίμυος Wistar, [Pessoa João Costa, et al, 2010] και [Ruddon Raymond W., "Cancer Biology", Oxford University Press Inc., 2007].

Εφ' όσον οι συσσωρεύσεις των αιμοπεταλίων με τα λειομυοσαρκοματικά κύτταρα τυποποιήθηκαν, δοκιμάστηκε κατά πόσον το εκχύλισμα είναι σε θέση να αναστείλει την συσσώρευση, που εισάγουν στα αιμοπετάλια τα λειομυοσαρκοματικά κύτταρα. Το μοντέλο αυτό αποτέλεσε ένα μοντέλο μελέτης της αναστολής της μεταστατικής διασποράς, σε εκείνη την συνιστώσα της, που εξαρτάται από την αλληλεπίδραση καρκινικών κυττάρων και αιμοπεταλίων.



### 6.5.13 ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ

Για την μελέτη των αιμοπεταλιακών αντιδράσεων και των δράσεων επί αυτών, του ανασυσταθέντος δια φυσιολογικού ορού, αποξηραμένου αιθανολικού εκχυλίσματος, χρησιμοποιήθηκε τεχνολογία της εταιρίας Cronolog και συγκεκριμένα το σύστημα ηλεκτρονικής συσσωρευογραφίας Ca – 500. Το σύστημα αυτό περιλαμβάνει τρία στοιχεία:



**ΕΙΚΟΝΑ 6.25:** Η πλήρης εργαστηριακή διάταξη του Συσσωρευομέτρου (Aggregometer).

**1-** Το κυρίως συσσωρευόμετρο, όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.25, που περιέχει το σύστημα λυχνίας λευκού φωτός – κυψελίδας – φωτοηλεκτρικού κυττάρου – εξόδου προς τον υπολογιστή και την οθόνη όπου προβάλλεται το συσσωρευογράφημα, εφ’ όσον οι μεταβολές της οπτικής διαπερατότητας έχουν μετατραπεί σε ψηφιακό σήμα, ικανό να διαβαστεί από το πρόγραμμα. Αν το υπολογιστικό σύστημα αποσυνδεθεί από το βασικό συσσωρευόμετρο, μπορούμε στην έξοδό του να συνδέσουμε απλό καταγραφικό βαθμονομημένου χάρτου και να καταγράψουμε με αυτόν τον τρόπο τις αιμοπεταλιακές αντιδράσεις.

**Πίνακας 6.3:** Συγκεντρώσεις των συμπλόκων που προκαλούν 50% αναστολή συσώρευσης των αιμοπεταλίων του ανθρώπου *ex vivo* μέσω και των τριών οδών ενεργοποίησης

Σύμπλοκο	ADP	PAF	ARA
Nicotivan	IC <sub>50</sub> : 20 – 30 μM	IC <sub>50</sub> : 1 – 2 μM	IC <sub>50</sub> : 2 – 4 μM
Azivan	IC <sub>50</sub> : 4 – 10 μM	IC <sub>50</sub> : 1 – 2 μM	IC <sub>50</sub> : 4 – 6 μM
Pyriivan	IC <sub>50</sub> : 80 – 120 μM	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM
Pipervan	IC <sub>50</sub> : 200 – 300 μM	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM
Cadivan	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM	IC <sub>50</sub> : 2 – 6 μM	IC <sub>50</sub> : 2 – 2,5 μM

**2-** Η μονάδα μνήμης και επεξεργασίας του ψηφιακού σήματος, η οποία έχει προγραμματιστεί να λειτουργεί σε περιβάλλον Windows 1995. Η μονάδα αποθηκεύει τα συσσωρευογράφημα, τα οποία είναι ανακτήσιμα με διάφορους τρόπους πρόσβασης στην μνήμη (π.χ μέσω ID, ονοματεπωνύμου καθώς και ημερολογιακά). Τα δεδομένα

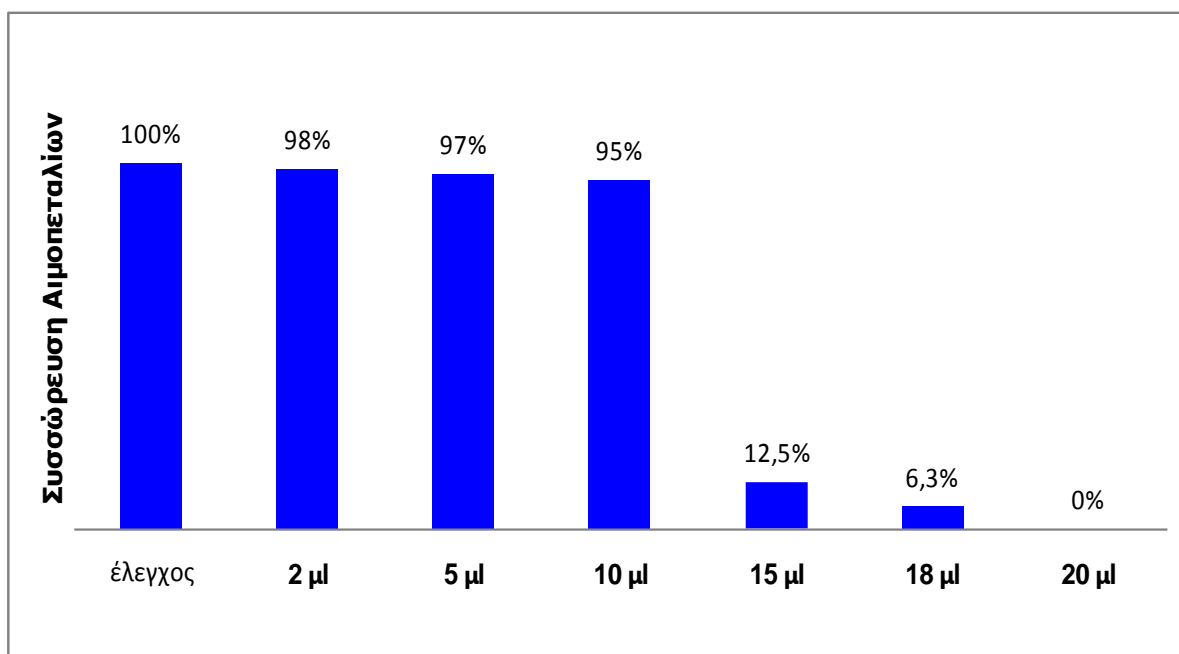
μπορούν να αριθμοποιηθούν και να μεταφερθούν στο Excel για στατιστική και άλλη επεξεργασία.

**3-** Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής (πλήρης), ο οποίος περιλαμβάνει την δική του μονάδα επεξεργασίας, η οποία αναλαμβάνει τον έλεγχο της μονάδας επεξεργασίας και μνήμης του συσσωρευομέτρου, και την χειρίζεται με το πρόγραμμά του, που είναι συμβατό με το πρόγραμμα της συσκευής της Cronolog. Ο υπολογιστής περιλαμβάνει οθόνη και πληκτρολόγιο.

Ο χρησιμοποιούμενος υπολογιστής είναι ένα μοντέλο της Hewlett – Packard 2000, τύπου Pentium III. Παρακατω παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των συμπλόκων που προκαλούν 50% αναστολή συσσώρευσης των αιμοπεταλίων του ανθρώπου ex vivo, μέσω και των τριών οδών ενεργοποίησης.

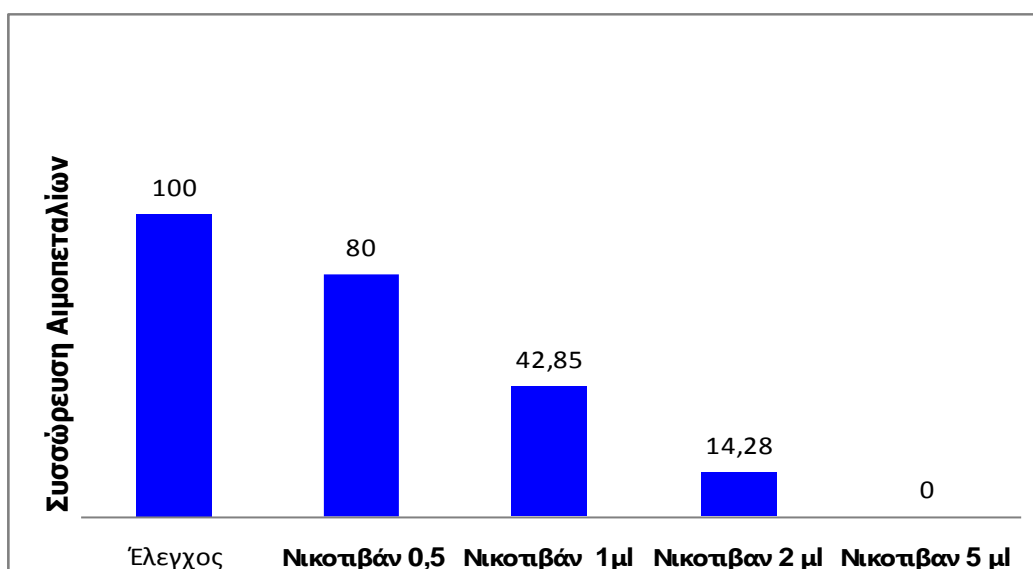
### 6.6.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ NICOTIVAN

Το σύμπλοκο Νικοτιβάν, που αποτελείται από βανάδιο και νικοτιναμίδιο ως υποκαταστάτη, αποτελεί ουσία η οποία αναστέλλει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου στο φυσικό τους αιματικό πλάσμα (ex vivo αιμοπετάλια). Η ανασταλτική δράση του Νικοτιβάν εμφανίζεται τόσο όταν τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται από το ADP, όσο από τον PAF και το Αραχιδονικό οξύ (ARA) ξεχωριστά.



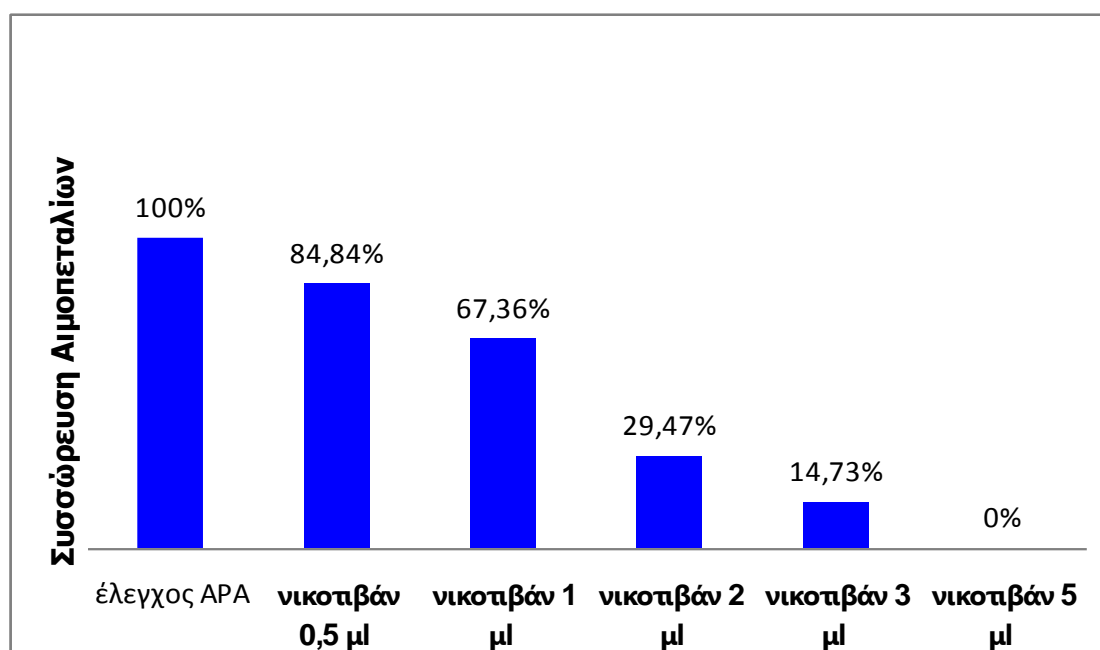
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.26:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του ADP σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo μέσω του συμπλόκου Nicotivan.

Στην περίπτωση όλων των πειραμάτων μας αφήσαμε τις τρεις οδούς συσσώρευσης των αιμοπεταλίων ανοιχτές (οδός του ADP, οδός του PAF και οδός του ARA), ούτως ώστε να έχουμε ακέραιες αιμοπεταλιακές αντιδράσεις.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.27:** Αναστολή της συσσωρευτικής δράσης του PAF σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Nicotivan.

Τα δεδομένα που προέκυψαν από αυτές τις σειρές πειραμάτων τις σχετικές με την δράση του συμπλόκου Νικοτιβάν έδειξαν ότι η εν λόγω ουσία αναστέλλει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση που προκαλείται και από τους τρεις αντιπροσωπευτικούς αγωνιστές των αντίστοιχων οδών (ADP, PAF, ARA) και ότι η ανασταλτική αυτή δράση είναι δοσοεξαρτώμενη, αλλά και χρονοεξαρτώμενη.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.28:** Αναστολή της συσσωρευτικής δράσης του Αραχιδονικού οξέος, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo μέσω του συμπλόκου Nicotivan.

Το Νικοτιβάν εμφανίζει ισχυρότερη ικανότητα αναστολής στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση η οποία ενεργοποιείται από το ARA και τον PAF, ενώ η αναστολή η οποία προκαλείται στην συσσώρευση την ενεργούμενη από ADP απαιτεί μεγαλύτερες συγκεντρώσεις

συμπλόκου για την επίτευξη ισότιμου ανασταλτικού αποτελέσματος συσσώρευσης αντιστοιχού μεγέθους που ενεργοποιείται από τον PAF και το ARA.

Έτσι η  $IC_{50}$  του συμπλόκου κυμαίνεται για τον PAF μεταξύ 1  $\mu M$  έως 2  $\mu M$ , ενώ για το αραχιδονικό οξύ (ARA) μεταξύ 2 και 4  $\mu M$ . Η τιμή  $IC_{50}$  του Νικοτιβάν που αναστέλλει την δράση του ADP κυμαίνεται μεταξύ 20 και 30  $\mu M$ .

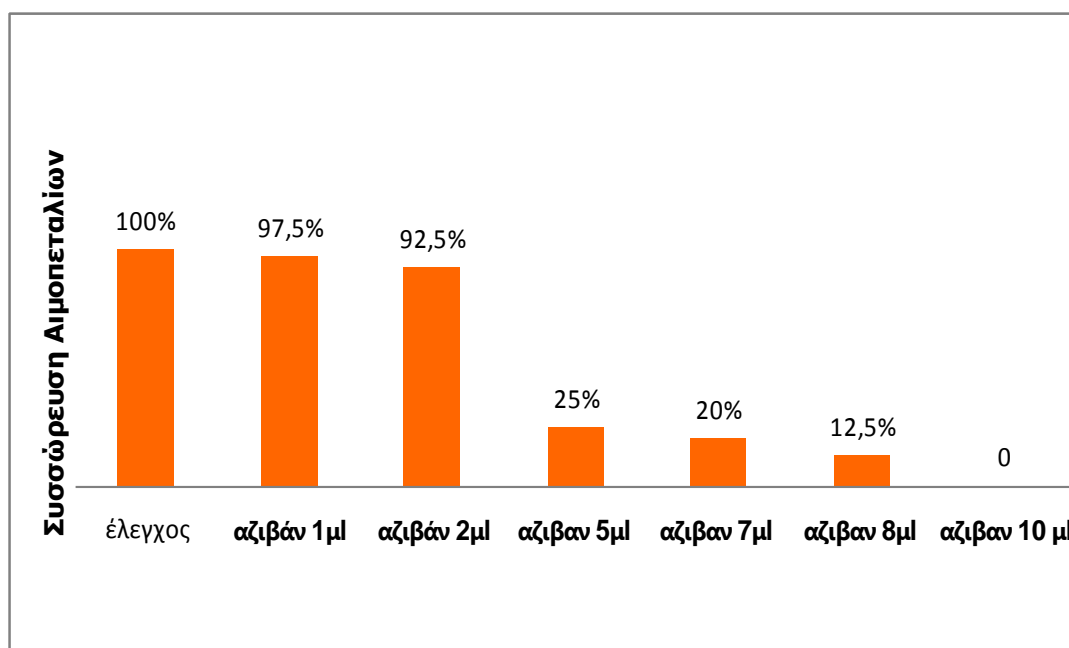
### 6.6.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ ΑΖΙΒΑΝ

Το σύμπλοκο Αζιβάν, που συνίσταται από Βανάδιο και αζίδιο, εμφανίζει αξιόλογες ιδιότητες αναστολής της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων του ανθρώπου. Η πορεία της αναστολής της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης μέσω του Αζιβάν εμφανίζει αξιόλογες ομοιότητες με την αντίστοιχη του Νικοτιβάν.

Από την ανάλυση των δεδομένων που παρουσιάζεται στα τρία επόμενα διαγράμματα που ακολουθούν, προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

**1<sup>ον</sup>)-** Το σύμπλοκο Αζιβάν παρουσιάζει ισχυρές ανασταλτικές ιδιότητες στην συσσώρευση που προκαλείται από τον PAF, με τιμή  $IC_{50}$  η οποία κυμαίνεται μεταξύ  $10^{-6}$  M έως  $2 \times 10^{-6}$  M (0,5  $\mu l$  έως 1  $\mu l$  ενός διαλύματος συγκέντρωσης  $10^{-3}$  M που τίθενται στην κυψελίδα του συσσωρευομέτρου, τελικού όγκου 1 ml).

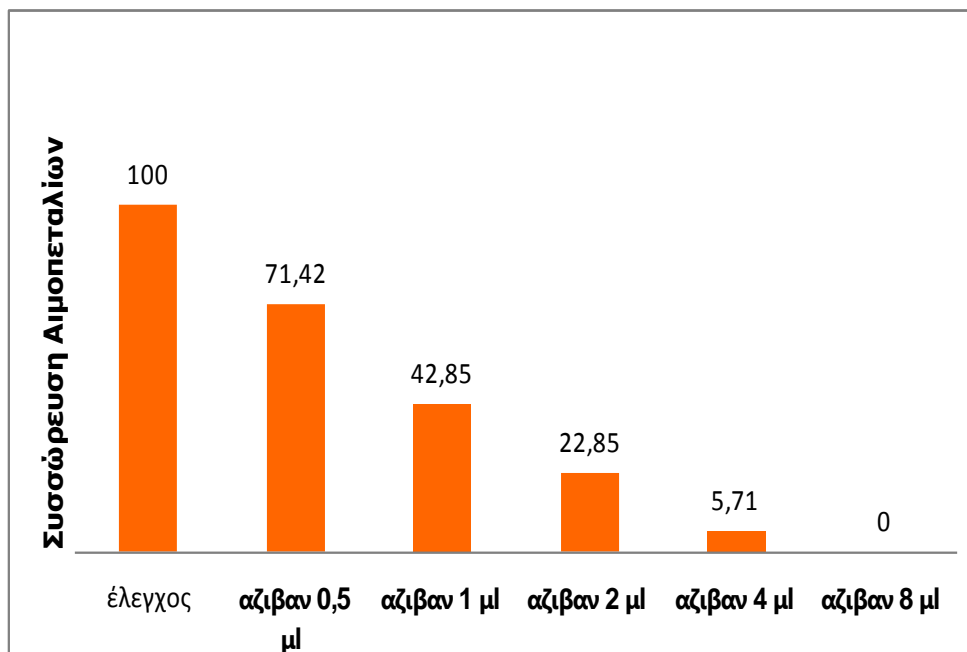
Οι συγκεντρώσεις αυτές (των 1  $\mu M$  – 2  $\mu M$ ) είναι πολύ μικρές και δείχνουν ότι το σύμπλοκο Αζιβάν έχει ισχυρές αντιαιμοπεταλιακές ιδιότητες εναντίον του PAF.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.29:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του ADP, σε αιμοπετάλια ανθρώπου *ex vivo*, μέσω του συμπλόκου Azivan.

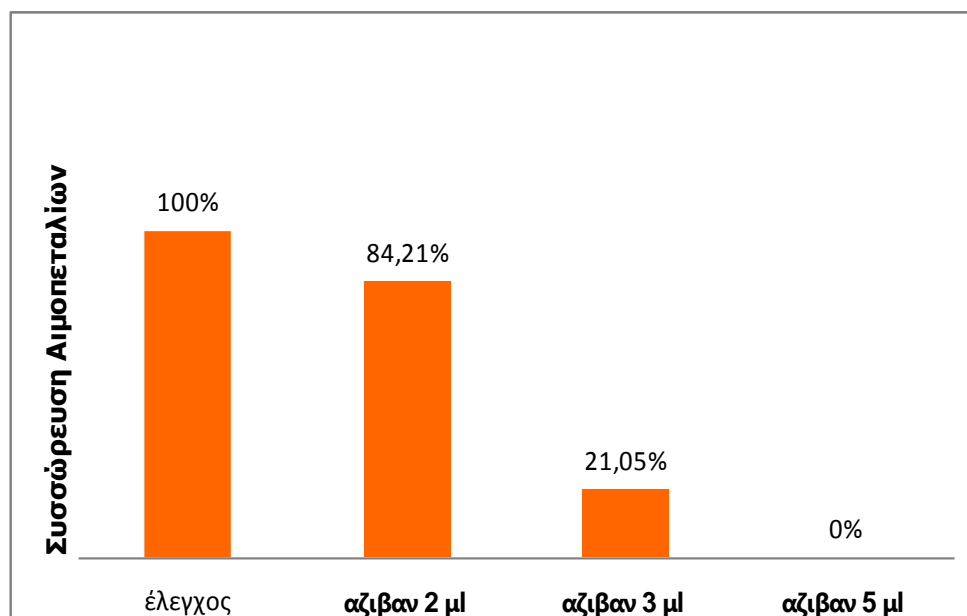
**2<sup>ον</sup>)-** Το σύμπλοκο Αζιβάν παρουσιάζει ισχυρή ανασταλτική δράση στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων που ενεργοποιείται μέσω της χορήγησης αραχιδονικού οξέος (ARA) ως αιμοπεταλιακού αγωνιστή, με τιμή  $IC_{50}$  κυμαινόμενη μεταξύ 4  $\mu M$  έως 6  $\mu M$ .

Συνεπώς η δράση του Αζιβάν έναντι του αραχιδονικού οξέος είναι υποδιπλάσιας ισχύος σε σύγκριση με την αντίστοιχη δράση του εν λόγω συμπλόκου απέναντι στον PAF.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.30:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του PAF, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Azivan.

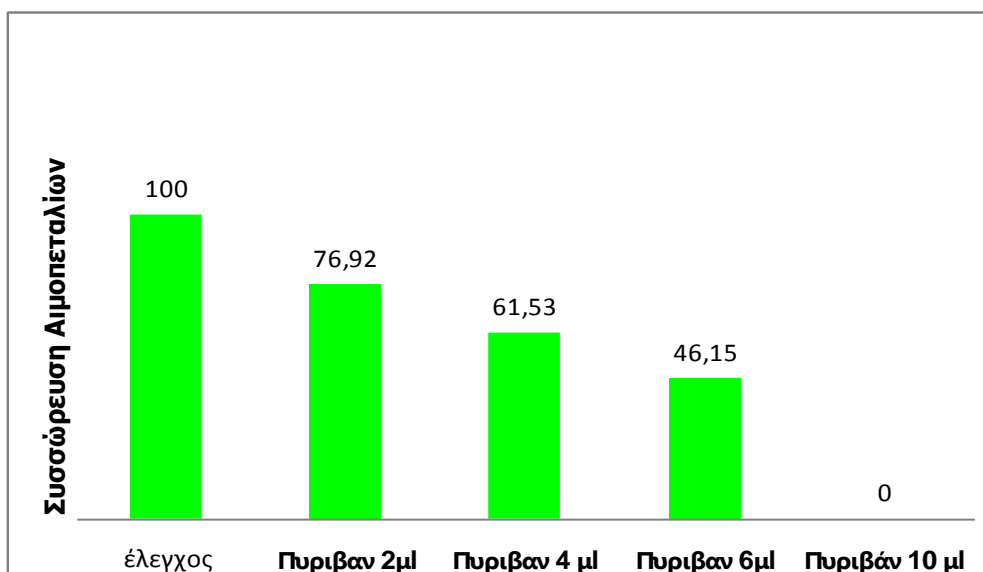
**3<sup>ον</sup>)**- Το σύμπλοκο Αζιβάν αναστέλλει με δοσοεξαρτώμενο τρόπο την αιμοπεταλιακή συσσώρευση που προκαλεί το ADP, εμφανίζοντας μια IC<sub>50</sub> τιμή η οποία κυμαίνεται μεταξύ 4 και 10 μΜ



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.31:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του Αραχιδονικού οξέος, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo μέσω του συμπλόκου Azivan.

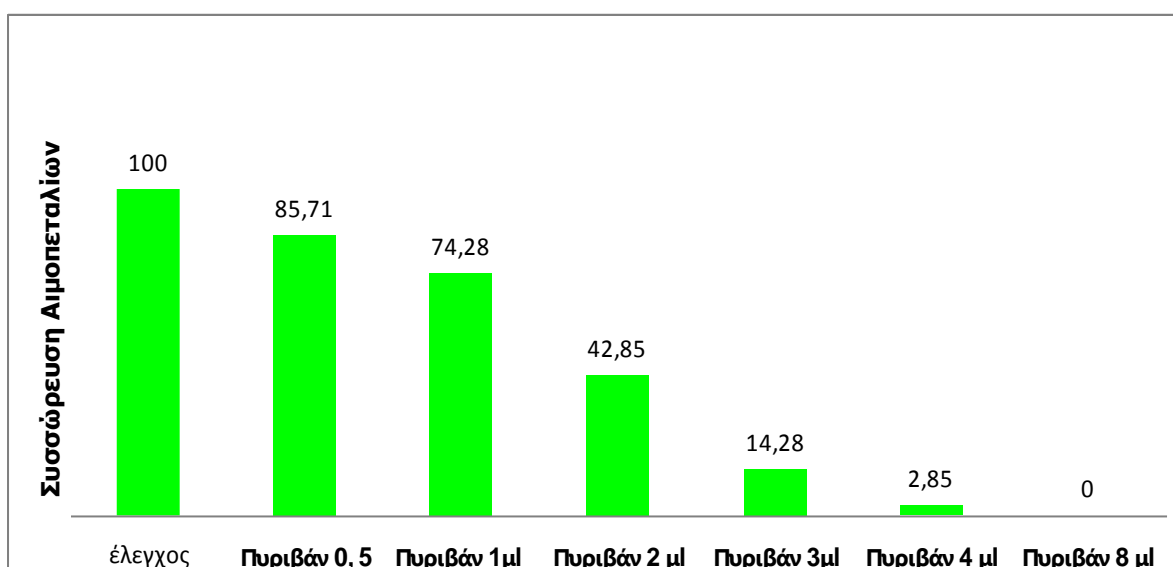
### 6.6.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ PYRIVAN

Το σύμπλοκο Pygivan, που αποτελείται από το στοιχείο βανάδιο και τον υποκαταστάτη πυριδίνη είναι ένας αξιόλογος αναστολέας της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων του ανθρώπου στο αιματικό τους πλάσμα (ex vivo).

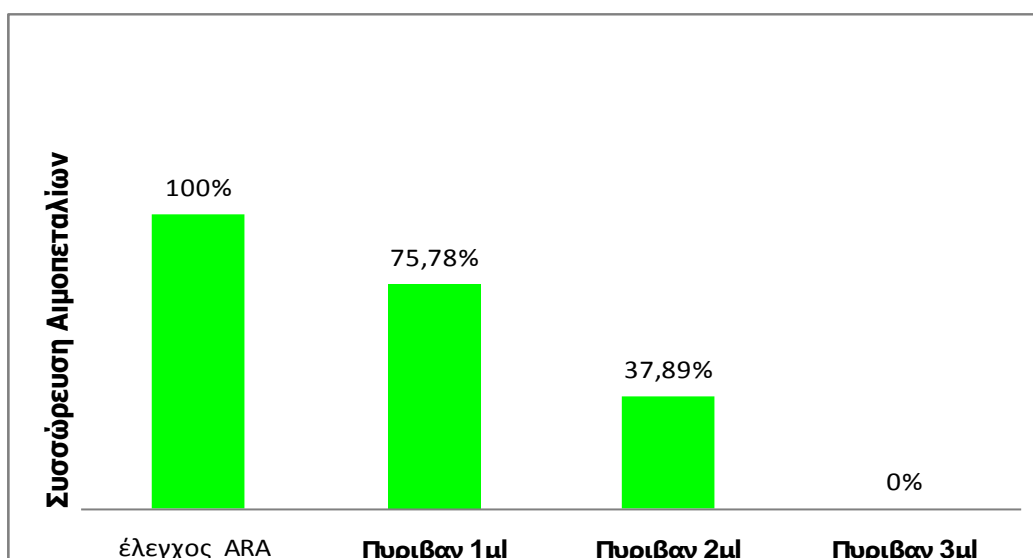


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.32:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του ADP, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Pygivan.

Από την μελέτη που έγινε είναι σε θέση να αναστείλει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση που εισάγεται και από τους τρεις δρόμους συσσώρευσης, δηλαδή τον δρόμο του ADP, τον αντίστοιχο του PAF και τέλος του ARA. Σε όλα τα πειράματα που διεξήχθησαν τα αιμοπετάλια είχαν και τις τρεις προαναφερθείσες οδούς συσσώρευσης ανοιχτές.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.33** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του PAF, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Pygivan.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.34:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του Αραχιδονικού οξέος, σε αιμοπετάλια ανθρώπου *ex vivo*, μέσω του συμπλόκου Pyriβan.

Τα δεδομένα των πειραμάτων υποδεικνύουν τα εξής συμπεράσματα :

**1<sup>ον</sup>)-** Το σύμπλοκο Πυριβάν ασκεί σχεδόν ταυτόσημη ανασταλτική δράση στην συσσώρευση που προκαλεί τόσο ο PAF, όσο και ARA. Η ασκούμενη αναστολή είναι δοσοεξαρτώμενη και χρονοεξαρτώμενη. Ως χρονοεξαρτώμενη αναστολή εννοούμε ότι η επώαση των αιμοπεταλίων με μια συγκεκριμένη δόση συμπλόκου προκαλεί αύξηση της αναστολής ανάλογα με την διάρκεια της επώασης.

**2<sup>ον</sup>)-** Η τιμή  $IC_{50}$  για τον PAF κυμαίνεται μεταξύ  $2 \times 10^{-5}$  M και  $4 \times 10^{-5}$  M.

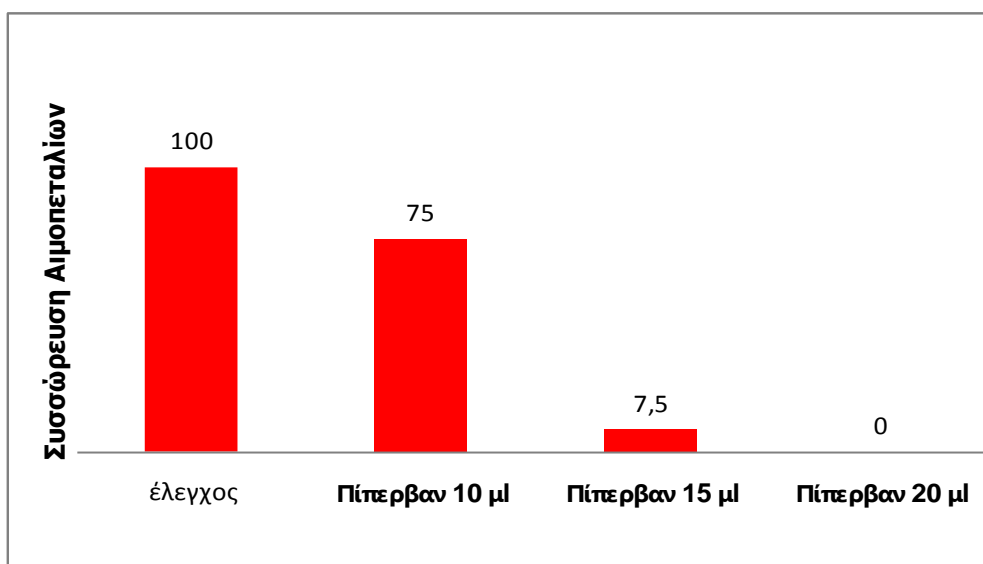
**3<sup>ον</sup>)-** Η τιμή  $IC_{50}$  για το ARA κυμαίνεται επίσης μεταξύ  $2 \times 10^{-5}$  M και  $4 \times 10^{-5}$  M.

**4<sup>ον</sup>)-** Η τιμή  $IC_{50}$  για το ADP κυμαίνεται μεταξύ  $8 \times 10^{-5}$  M και  $12 \times 10^{-5}$  M. Ανάγοντας τις συγκεντρώσεις αυτές σε  $\mu$ M έχουμε τους εξής αριθμούς :  $IC_{50}$  τιμή για τον PAF : 20 – 40 M,  $IC_{50}$  τιμή για το ARA : 20 – 40  $\mu$ M και τιμή  $IC_{50}$  για το ADP : 80  $\mu$ M – 120  $\mu$ M.

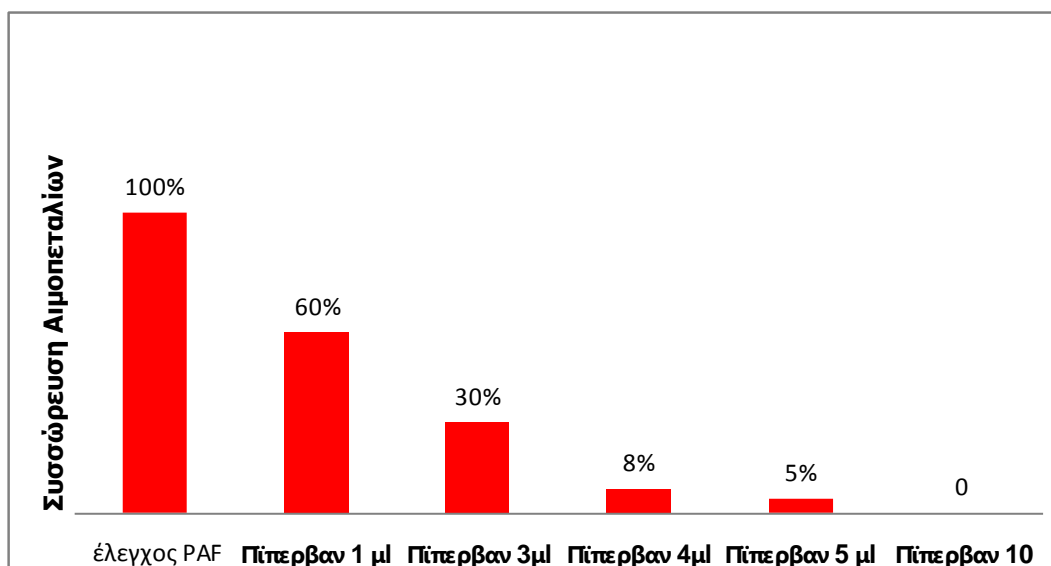
#### 6.6.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ PIPERVAN

Το σύμπλοκο Pipervan αποτελείται από πιπεραζίνη και βανάδιο. Η αναστολή που προκαλεί στα αιμοπετάλια του ανθρώπου αφορά και τις τρεις οδούς συσσώρευσης, δηλαδή την οδό του ADP, την οδό του PAF καθώς και την οδό του αραχιδονικού οξέος (ARA).

Σε όλα τα πειράματα που πραγματοποιήσαμε και οι τρεις οδοί ήσαν ανοιχτές, χωρίς την μεσολάβηση κάποιου εξειδικευμένου αναστολέα, έτσι ώστε να έχουμε ανέπαφο όλο το συσσωρευτικό δυναμικό των αιμοπεταλίων.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.35:** Αναστολή της συσσωρευτικής δράσης του ADP σε αιμοπετάλια ανθρώπου, ex vivo μέσω του συμπλόκου Pipervan.

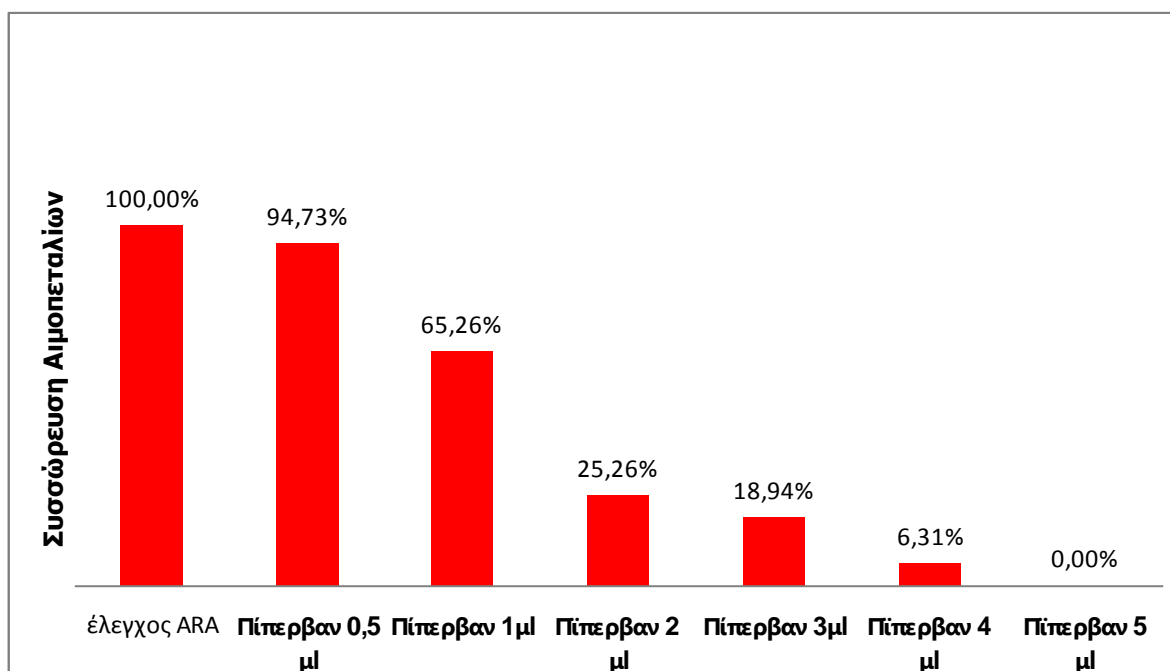


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.36:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του PAF, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Pipervan.

Από τα δεδομένα των πειραμάτων προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα : **1<sup>ον</sup>**- Η τιμή IC<sub>50</sub> για το ADP κυμαίνεται σταθερά μεταξύ  $2 \times 10^{-4}$  M και  $3 \times 10^{-4}$  M. **2<sup>ον</sup>**- Η τιμή IC<sub>50</sub> για τον



PAF κυμαίνεται μεταξύ  $2 \times 10^{-5}$  M και  $4 \times 10^{-5}$  M. **3<sup>ον</sup>**- Η τιμή  $IC_{50}$  τιμή για το αραχιδονικό οξύ κυμαίνεται επίσης μεταξύ  $2 \times 10^{-5}$  M και  $4 \times 10^{-5}$  M.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.37:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του Αραχιδονικού οξέος, σε αιμοπετάλια ανθρώπου *ex vivo*, μέσω του συμπλόκου Pipervan.

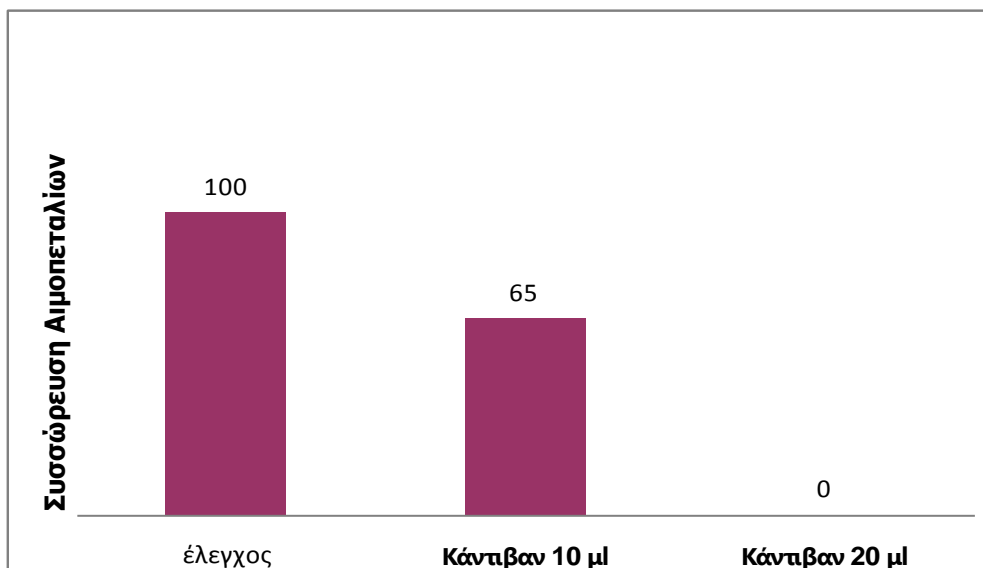
Παρατηρούμε ξανά το ίδιο μοτίβο ως προς τις αντιαιμοπεταλιακές ιδιότητες, δηλαδή μεγαλύτερη δραστηριότητα του συμπλόκου στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση που προκαλείται από τον PAF και το αραχιδονικό οξύ και μικρότερη δραστηριότητα ως προς την συσσώρευση που προκαλείται από το ADP. Ενδεχομένως ο μηχανισμός αναστολής να είναι ο ίδιος με των ανωτέρω περιγραφέντων συμπλόκων του Βαναδίου, αλλά η ισχύς του συγκεκριμένου υποκαταστάτη να είναι μικρότερη των άλλων αντιστοιχών.

### 6.6.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΟΚΟΥ CADIVAN

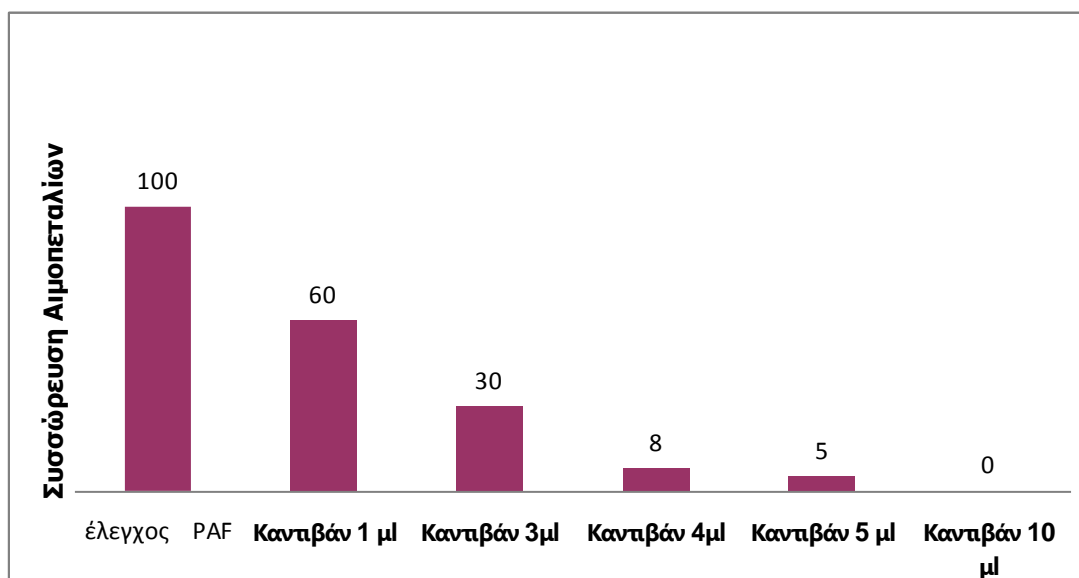
Στα κατωτέρω διαγράμματα επιδεικνύονται οι δράσεις του συμπλόκου Cadivan (αποτελούμενου από βανάδιο και κανταβερίνη ως υποκαταστάτη) στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου *ex vivo*. Η καδαβερίνη είναι μια ουσία που ανήκει στην κατηγορία των πολυαμινών που χαρακτηρίζονται από βασικές ιδιότητες. Το σύμπλοκο του βαναδίου με την κανταβερίνη αναστέλλει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου και από τις τρεις οδούς συσσώρευσης, δηλαδή την οδό του ADP, την οδό του PAF και την οδό του ARA. Από την ανάλυση των δεδομένων προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

**1<sup>ον</sup>**- Το σύμπλοκο Cadivan αναστέλλει το ADP σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες για την αναστολή των PAF και ARA, χορηγώντας μια ποσότητα διαλύματος συμπλόκου (συγκέντρωση  $10^{-3}$  M) μεταξύ 10 μl και 20 μl στο τελικό PRP. Η  $IC_{50}$  τιμή του συμπλόκου που αντιστοιχεί στις εν λόγω ποσότητες κυμαίνεται μεταξύ 20 μM και 40 μM Cadivan. Η Minimal Inhibiting Concentration (MIC) είναι ίση προς 40 μM.

**2<sup>ον</sup>**- Το σύμπλοκο Cadivan αναστέλλει την αιμοπεταλιακή συσσώρευση που προκαλείται από τον PAF σε συγκεντρώσεις κυμαινόμενες μεταξύ 2  $\mu\text{M}$  (ελάχιστη αναστολή) και 20  $\mu\text{M}$  (μικρότερη συγκέντρωση που προκαλεί πλήρη αναστολή ή MIC – Minimal Inhibiting Concentration). Η τιμή  $\text{IC}_{50}$  για τον PAF κυμαίνεται μεταξύ 2  $\mu\text{M}$  και 6  $\mu\text{M}$ .

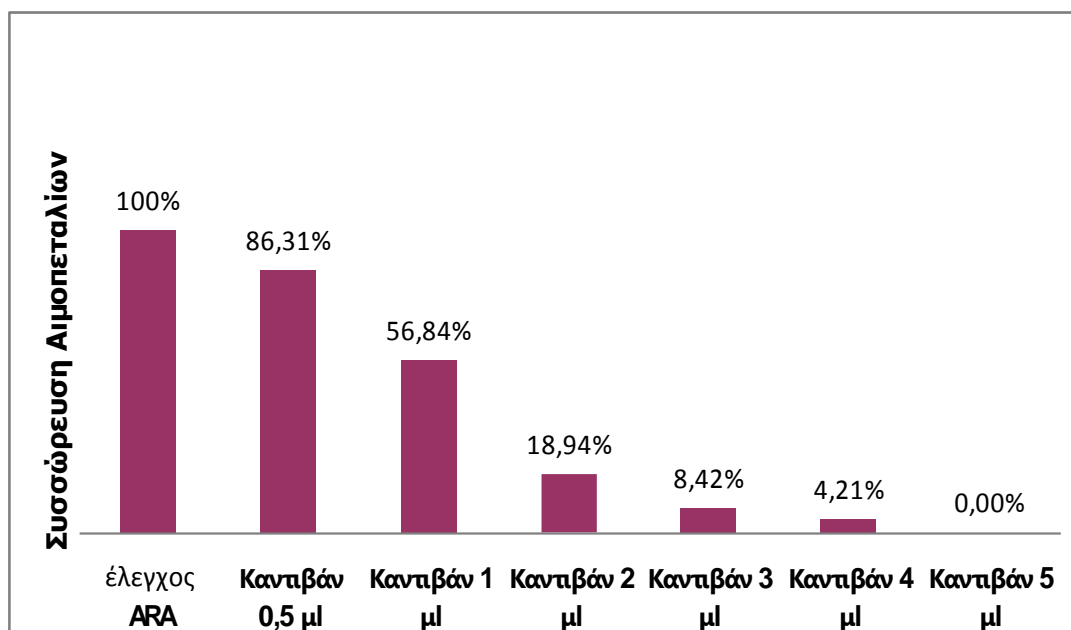


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.38:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του ADP, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Cadivan.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.39:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του PAF, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Cadivan.

**3<sup>ον</sup>**- Η αντίστοιχη συγκέντρωση  $\text{IC}_{50}$  τιμή του συμπλόκου Cadivan για την αναστολή του αραχιδονικού οξέος, κυμαίνεται μεταξύ 2  $\mu\text{M}$  και 2,5  $\mu\text{M}$ , ενώ η MIC είναι ίση προς 10  $\mu\text{M}$ .



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.40:** Αναστολής της συσσωρευτικής δράσης του Αραχιδονικού οξέος, σε αιμοπετάλια ανθρώπου ex vivo, μέσω του συμπλόκου Cadivan.

## 6.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΩΝ ΠΕΝΤΕ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΩΝ

Οι υποκαταστάτες που χρησιμοποιήθηκαν για την σύνθεση των πέντε μελετηθέντων συμπλόκων του βαναδίου είναι οι εξής: Νικοτιναμίδιο, Αζίδιο του Νατρίου, Πυριδίνη, Πιπεραζίνη και Κανταβερίνη. Και οι πέντε ενώσεις είναι οργανικής φύσης – εξαιρουμένου του αζιδίου του νατρίου – και χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην σύνθεση. Όλες οι εν λόγω ουσίες εμπεριέχουν άτομα αζώτου και εμφανίζουν χαρακτηριστικά χημικής βασικότητας.

**Πίνακας 6.21:** Συγκεντρώσεις των υποκαταστατών που προκαλούν 50% αναστολή στην συσσωρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου ex vivo μέσω και των τριών οδών ενεργοποίησης

ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗΣ	ADP	PAF	ARA
<b>Νικοτιναμίδιο</b>	IC <sub>50</sub> : 1 – 2 μM	IC <sub>50</sub> : 1 – 2 μM	IC <sub>50</sub> : 1 – 2 μM
<b>Αζίδιο του Νατρίου</b>	IC <sub>50</sub> : 5 – 8 μM	IC <sub>50</sub> : 5 – 8 μM	IC <sub>50</sub> : 5 – 8 μM
<b>Πυριδίνη</b>	IC <sub>50</sub> : 40 – 60 μM	IC <sub>50</sub> : 40 – 60 μM	IC <sub>50</sub> : 40 – 60 μM
<b>Πιπεραζίνη</b>	IC <sub>50</sub> : 30 μM	IC <sub>50</sub> : 45 – 50 μM	IC <sub>50</sub> : 80 μM
<b>Κανταβερίνη</b>	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM	IC <sub>50</sub> : 20 – 40 μM

Η μελέτη που κάναμε με αυτές έδειξε ότι όλες τους έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την συσσωρευση των ex vivo αιμοπεταλίων του ανθρώπου κατά γενικευμένο τρόπο. Δηλαδή οι εν λόγω ουσίες αναστέλλουν την αιμοπεταλιακή συσσωρευση που προκαλείται τόσο από το **ADP**, τον **PAF** και το **ARA**, οπότε η δράση την οποία ασκούν φαίνεται να επικεντρώνεται σε έναν μηχανισμό ο οποίος είναι κοινός και για τις τρεις οδούς συσσωρευσης. Από την ανάλυση των σειρών πειραμάτων που πραγματοποιήσαμε προέκυψαν οι εξής παρατηρήσεις :

**1<sup>ον</sup>)-** Η τιμή IC<sub>50</sub> του νικοτιναμιδίου και για τις τρεις οδούς συσσωρευσης κυμαίνεται μεταξύ 1 μM και 2 μM, ενώ οι αντίστοιχες MIC αντιστοιχούν στα 10 μM.

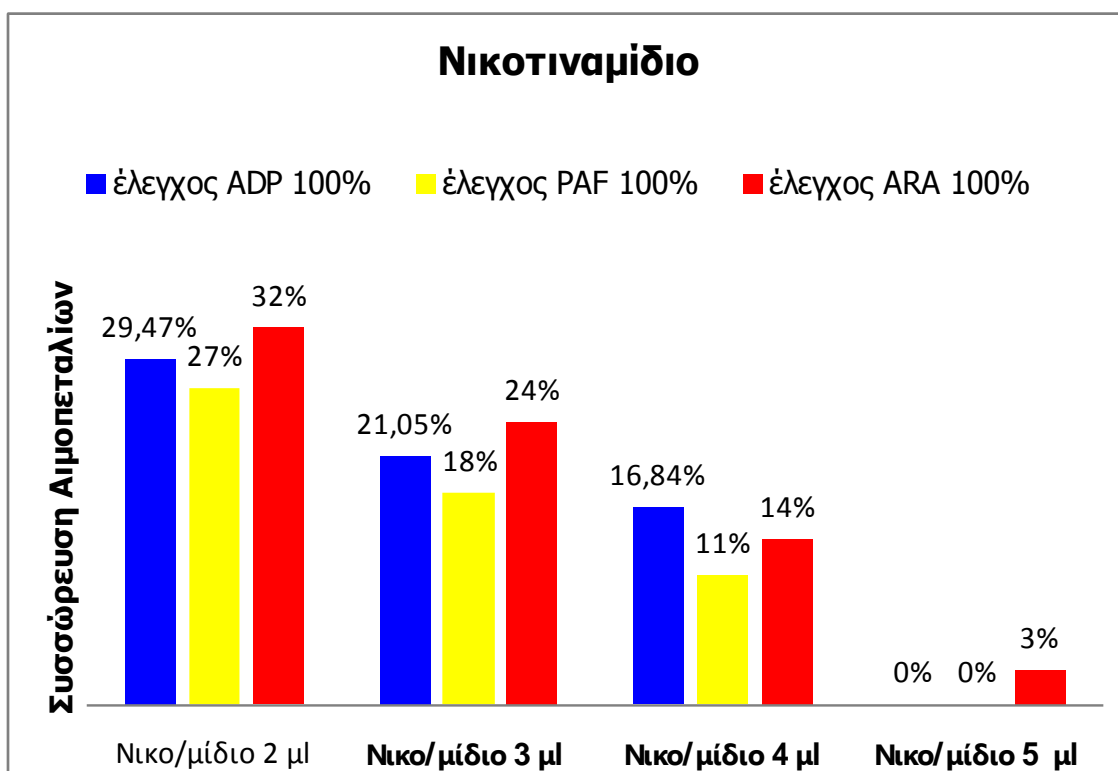
**2<sup>ον</sup>)**- Η τιμή IC<sub>50</sub> του αζιδίου του νατρίου και για τις τρεις οδούς συσσώρευσης κυμαίνεται μεταξύ 5 – 8 μM αζιδίου. Οι αντίστοιχες MIC για τις τρεις οδούς συσσώρευσης κυμαίνονται μεταξύ 10 και 12 μM αζιδίου του νατρίου.

**3<sup>ον</sup>)**- Η τιμή IC<sub>50</sub> της πυριδίνης και για τις τρεις οδούς της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης κυμαίνεται μεταξύ 40 και 60 μM, ενώ οι αντίστοιχες MIC εντοπίζονται γύρω στα 100 μM.

**4<sup>ον</sup>)**- Οι τιμές IC<sub>50</sub> της πιπεραζίνης για την πιπεραζίνη παρουσιάζουν μια διασπορά και έτσι έχουμε για το ADP μια συγκέντρωση γύρω στα 30 μM, ενώ για τον PAF μεταξύ 45 και 50 μM. Για το ARA η τιμή IC<sub>50</sub> είναι γύρω στα 80 μM. Οι αντίστοιχες MIC ομογενοποιούνται και λαμβάνουν μια τιμή γύρω στα 100 μM.

**5<sup>ον</sup>)**- Τέλος οι τιμές IC<sub>50</sub> της καδαβερίνης κυμαίνονται μεταξύ 20 και 40 μM, ενώ οι MIC προσεγγίζει τα 100 μM.

### 6.7.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗ ΝΙΚΟΤΙΝΑΜΙΔΙΟΥ

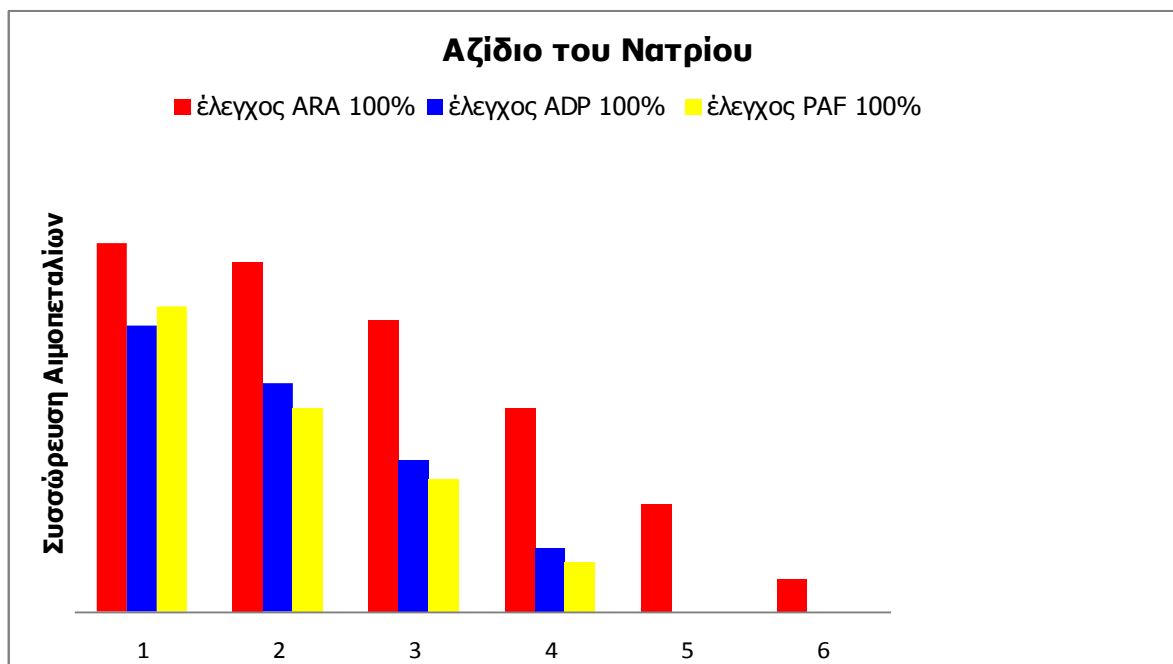


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.41:** Αναστολής συσσώρευσης των αιμοπεταλίων ανθρώπου ex vivo μέσω του υποκαταστάτη Νικοτιναμιδίου. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιήθηκαν διαδοχικά από ARA, ADP και PAF.

**Σχόλιο :** Από την σύγκριση των ανασταλτικών ιδιοτήτων που ασκούν στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση οι υποκαταστάτες των συμπλόκων εξάγεται το συμπέρασμα ότι οι ιδιότητες αναστολής που παρουσιάζουν τα σύμπλοκα των συγκεκριμένων υποκαταστατών με το βανάδιο, οφείλονται στους εν λόγω υποκαταστάτες.

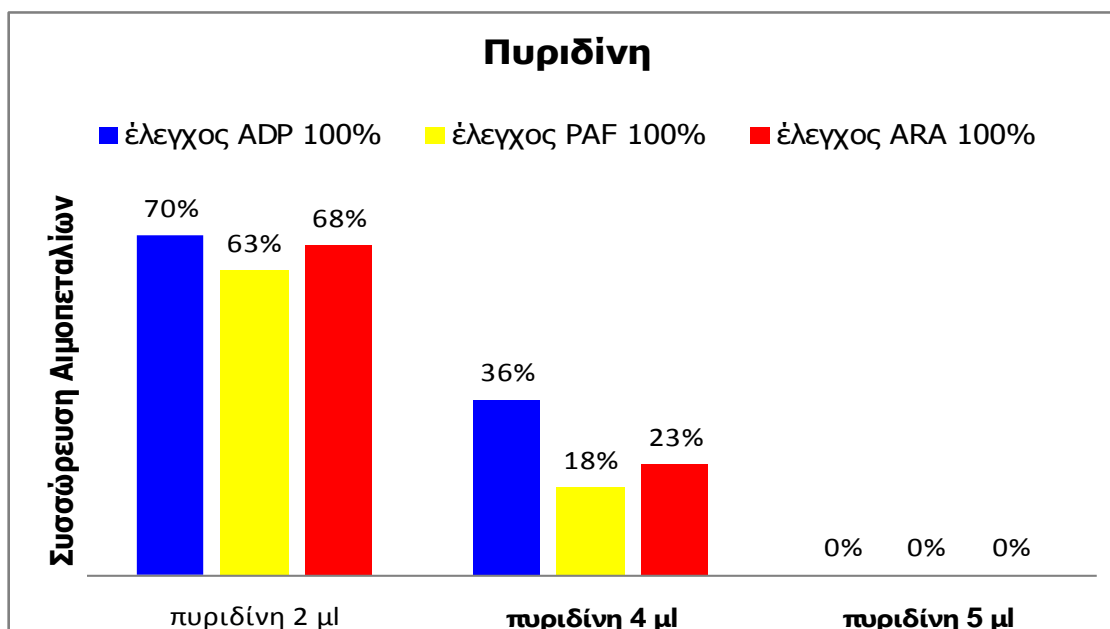
Το μέταλλο φαίνεται να ενισχύει ελαφρά την δράση των εν λόγω υποκαταστατών.

## 6.7.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗ ΑΖΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ



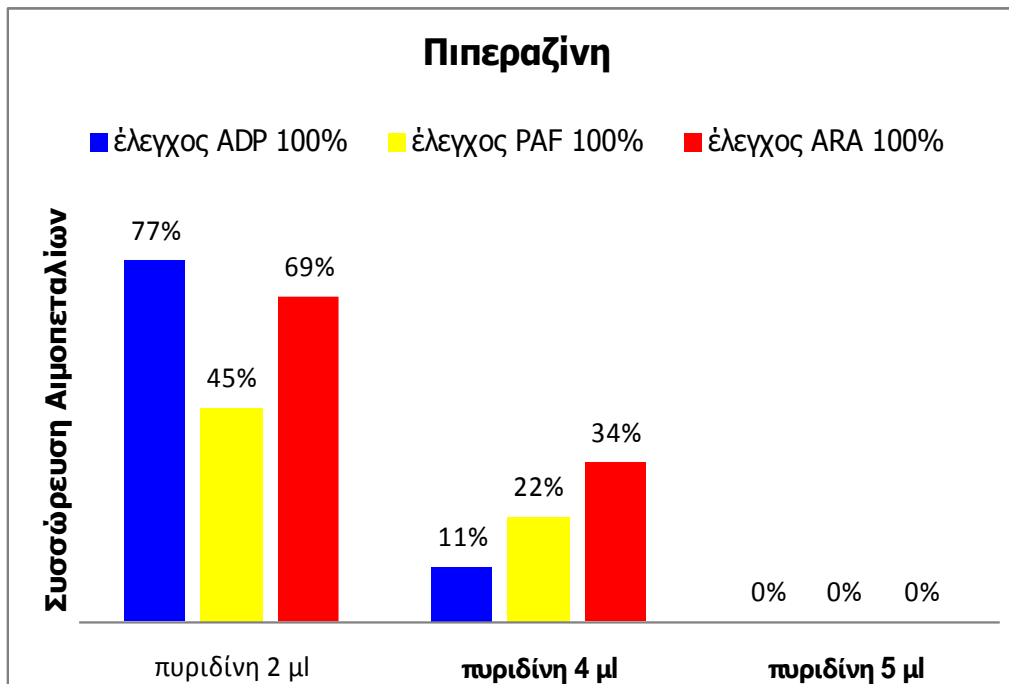
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.42** Αναστολής συσσώρευσης αιμοπεταλίων ανθρώπου ex vivo μέσω του υποκαταστάτη αζιδίου του νατρίου. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιήθηκαν διαδοχικά από Αραχιδονικό οξύ, ADP και PAF.

## 6.7.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗ ΤΗΣ ΠΥΡΙΔΙΝΗΣ



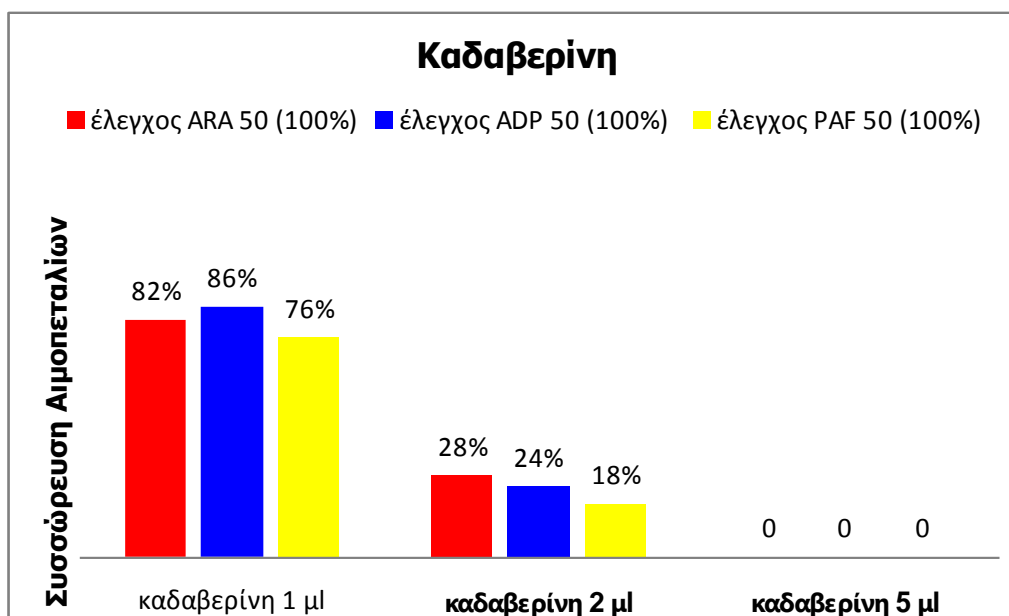
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.43:** Αναστολής συσσώρευσης αιμοπεταλίων ανθρώπου ex vivo μέσω του υποκαταστάτη της Πυριδίνης. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιήθηκαν διαδοχικά από Αραχιδονικό οξύ, ADP και PAF.

#### 6.7.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗ ΤΗΣ ΠΙΠΕΡΑΖΙΝΗΣ



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.44:** Αναστολή συσσώρευσης αιμοπεταλίων ανθρώπου ex vivo μέσω του υποκαταστάτη της Πιπεραζίνης. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιήθηκαν διαδοχικά από Αραχιδονικό οξύ, ADP και PAF.

#### 6.7.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΤΟΥ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΗ ΤΗΣ ΚΑΔΑΒΕΡΙΝΗΣ



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.45:** Αναστολής συσσώρευσης αιμοπεταλίων ανθρώπου ex vivo μέσω του υποκαταστάτη της Καδαβερίνης. Τα αιμοπετάλια ενεργοποιήθηκαν διαδοχικά από Αραχιδονικό οξύ, ADP και PAF.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ, ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ, ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΑΥΤΗΣ

#### 7.1 ΤΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΜΙΑΣ ΜΙΚΤΗΣ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΟΜΑΔΟΣ, ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ, ΜΕ ΘΕΜΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ, ΑΠΟ ΤΟ 1985 ΜΕΧΡΙ ΣΗΜΕΡΑ.

Στο εδάφιο αυτό θεωρούμε ιστορικά αναγκαίο και πρέπον να αναφερθούμε με σεβασμό, στην Ακαδημαϊκή πολιτεία και την επιστημονική φιλοσοφία των δύο αειμνήστων καθηγητών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, του Ιωάννη Τσαγκάρη (καθ. Ανόργανης Χημείας) και του Γεωργίου Καλλίστρατου (καθ. της Φυσιολογίας), του Τμήματος Χημείας και του Τμήματος Ιατρικής αντίστοιχα, που μερίμνησαν με ευθύνη, για την διάδοχη κατάσταση, στον στίβο της Επιστήμης. Με την δική τους καθοδήγηση, προτροπή και συμμετοχή ιδρύθηκε, κοινή συναινέσει το έτος 1985, μία ερευνητική ομάδα με αντικείμενο την μελέτη της χημειοθεραπείας, στην αντιμετώπιση του καρκίνου.



Γεώργιος Καλλίστρατος

Ιωάννης Τσαγκάρης

Αυτοί έχρισαν ως πνευματικά τους τέκνα τους καθηγητές Αγγελο Ευαγγέλου, Παναγιώτη Βελτσίστα (Τμήματος Χημείας) και Σπυριδώνα Καρκαμπούνα (Ιατρικής Σχολής) και τους μύησαν στην γνώση του σύνθετου αυτού ερευνητικού πεδίου. Η ομόφωνη απόφαση και ο κοινός όρκος των παραπάνω συναδέλφων ήταν να συνεχίσουν στην ερευνητική ατραπό, που άνοιξε ο αείμνηστος καθηγητής Φυσιολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Γεώργιος Καλλίστρατος, ο οποίος μάλιστα κατά την δένδροφύτευση της περιοχής Μαντείου Δωδώνης, τους είχε προσφωνήσει ως "πνευματικά του τέκνα". Άρχισε τότε μία αμοιβαία επικοινωνία και γνωσιολογική ώσμωση, των πέντε αυτών επιστημόνων, με συνεχείς ανταλλαγές απόψεων, γνώσεων και ενημερώσεων. Στο Εργαστήριο των συναδέλφων Ιατρών έγιναν αναρίθμητες συνεργασίες, ώστε να περιχαρακωθεί ο στόχος και οι μέθοδοι αντιμετώπισης του. Εξ' άλλου οι πρώιμες δημοσιεύσεις των συναδέλφων Ιατρών, αναφέρονταν στην πρόληψη της καρκινογένεσης, [Kallistratos G.I., Fasske E.E.,

Karkabounas S. and Charalambopoulos K., "Prolongation of the survival time of tumor bearing Wistar rats through a simultaneous oral administration of vitamins C+E and selenium with glutathione", *Progress in Clinical and Biological Research*, 259, 377-89, 1988] και [Evangelou A., Kalprouzos G., Karkabounas S., Liasko R., Nonni A., Stefanou D., Kallistratos G., "Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants-anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats", *Cancer Letters*, Volume 115, Number 1, pp. 105-111, 1997]. Δεν είναι τυχαίο επίσης ότι οι πρώτες δημοσιεύσεις του Παναγιώτη Βελτσιστα με τον Ιωάννη Τσαγκάρη έγιναν το 1981 και το 1982, πάνω σε σύμπλοκα των τεσσάρων ευγενών μετάλλων Pd, Pt και Au, Rh με οξαμικό οξύ, [Tsangaris J.M., Veltsistas P., "Complexes of Oxamic Acid with Pt(II) and Pd(II)", *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, 17, 35-39, 1981] και [Kouinis J.K., Velsistas P.T. and Tsangaris J.M., *Complexes of Oxamic Acid with Au(III) and Rh(III)*, *Monatshefte für Chemie*, 113(S), 155-161, 1982].

Τόσο το οξαμικό οξύ, όσο και τα μέταλλα αυτά είναι γνωστοί παράγοντες, με καρκινοστατική δράση. Μια σειρά θεμελιακών βιογενικών αμινών (υδραζίνη, αιθυλενοδιαμίνη, πουτρεσκίνη, αιθανολαμίνη, σπερμίνη, σπερμιδίνη και καδαβερίνη) μελετήθηκε πειραματικά, από τους [Kallistratos G., and Fasske E., "Endogenous and Exogenous Inhibitors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Carcinogenesis", 1980] και [Kallistratos G. and Fasske E., "Prevention of 3,4-Benzopyrene Carcinogenesis in the Presence of Putrescine", 1976], ως προς την ανασταλτική τους δραστηριότητα, έναντι της χημικής καρκινογένεσης με Benzo[a]pyrene (2,52mg -65) και διαπίστωσαν, ότι εξ' όλων αυτών η αιθυλενοδιαμίνη (12,2mg -4,5), η πουτρεσκίνη (10,0mg-1,6) και η καδαβερίνη (10,0mg-9,5) αποτελούν τους πλέον ισχυρούς παρεμποδιστές της χημικής καρκινογένεσης, όπως φαίνεται απ' τα αποτελέσματα εντός των παρενθέσεων, όπου δίνονται τα mg της χορηγηθείσας δόσεως και μετά η καρκινοστατική δυναμικότητα.

Όλες αυτές οι διαπιστώσεις, εισηγήσεις και προτροπές έδωσαν το κίνητρο στον καθ. Παναγιώτη Βελτσιστα, του Εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, ο οποίος άρχισε από τότε να επιχειρεί συνθέσεις νέων σωμάτων, σε μακρόχρονη συνεργασία, με τους καθηγητές της Ιατρικής, αλλά και νεότερους συναδέλφους, που προσήρχοντο και εκπονούσαν τις διατριβές τους. Τελευταία και σε συνεργασία με τον μεταπτυχιακό φοιτητή Χημείας και ήδη Διδάκτορα Ιατρικής Σχολής, Λεωνίδα Ρουμπάτη, απομόνωσαν και ταυτοποίησαν τα σύμπλοκα του V(IV) και V(V), με πουτρεσκίνη [Putrean (IV), Putrean (V)] με καδαβερίνη [Cadivan], με αζιδιο-ίοντα [Azivan], με πιπεραζίνη [Piperan], με πυριδίνη [Pyriyan], με νικοτιναμίδιο [Nicotivan], με εξαμεθυλενοδιαμίνη [Hexavan] και πολλά άλλα παράγωγα του βαναδίου, [Βελτσιστας Γ. Π., "Πεδίο των Εφαρμογών της Ανάλυσης και Σύνθεσης στις Βιολογικές και Βιοϊατρικές Μελέτες, σε Ερευνητικό Επίπεδο", Βιογραφικό Σημείωμα και Επιστημονικό Έργο, 2006].

Η μελέτη αυτών των νέων συμπλόκων ενώσεων, από βιοιατρικής και βιοχημικής απόψεως, υπό των συναδέλφων Φυσιολόγων Ιατρών και η δι-εργαστηριακή αυτή έρευνα ευρίσκεται σε εξέλιξη. Έτσι η μεταπτυχιακή βιοχημικός Janey Binolis ανέλαβε και περάτωσε την Διδακτορική της Διατριβή, που πραγματεύεται την αντικαρκινική δράση των δύο συμπλόκων ενώσεων του βαναδίου, με την πουτρεσκίνη και με τις συμβατικές ονομασίες Putrean (IV) και Putrean (V). Μέρος αυτής της εκτεταμένης ερευνητικής εργασίας εκπονήθηκε υπό του MD χημικού Κου Λεωνίδα Ρουμπάτη και παρουσιάζεται στην παρούσα Διδακτορική Διατριβή.



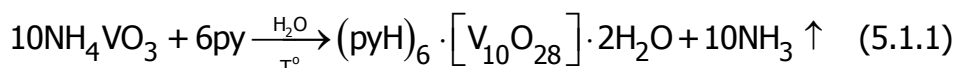
## 7.2 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

### ΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΟΞΟ-ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ.

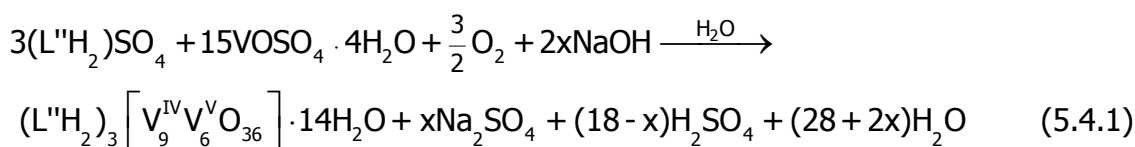
Τα πολυοξο-μεταλλικά (Polyoxometalates) αποτελούν μία τεράστια οικογένεια πολυμερικών οξο-μεταλλικών, μόνο- ή και πολύ-πυρηνικών, ή και μικτού σθένους δια-μεταλλικών συσσωματωμάτων. Ιστορικά η διερεύνηση τους ξεκίνησε με την μελέτη των πρώτων απλών ετερο-πολυοξέων, μικρού βαθμού πολυμερισμού και μικρού αριθμού ανομοίων μεταλλικών κέντρων, όπως τα χρωμικά διχρωμικά, τα μολυβδαινικά, τα φωσφορο-μολυβδαινικά, τα αρσενο-μολυβδαινικά, τα πυριτιο-μολυβδαινικά, τα μοβδαινο-βαναδικά, τα πολυανιόντα Keggin και πολλά άλλα.

Η έρευνα συνεχίζεται αδιαλείπτως επί έναν περίπου αιώνα και η οικογένεια των πολύ-πυρηνικών ή πολύ-μεταλλικών αυτών ενώσεων έχει διευρυνθεί σε τεράστιο βαθμό, δεδομένου ότι καμία άλλη τάξη ανοργάνων ή οργανικών ενώσεων δεν έχει να παρουσιάσει μία τέτοια ευελιξία και πολυπλοκότητα, αναφορικά με τις ηλεκτρονικές δομές, με τις μοριακές δομές, τις κρυσταλλικές διαμορφώσεις, τις φυσικές και χημικές ιδιότητες και τις απειράριθμες εφαρμογές των. Πολύ μεγάλο και πρωτοποριακό έργο έχει πραγματοποιηθεί στο Πανεπιστήμιο Georgetown University, ένα από τα λίγα ερευνητικά κέντρα των πολυοξο-μεταλλικών στον κόσμο.

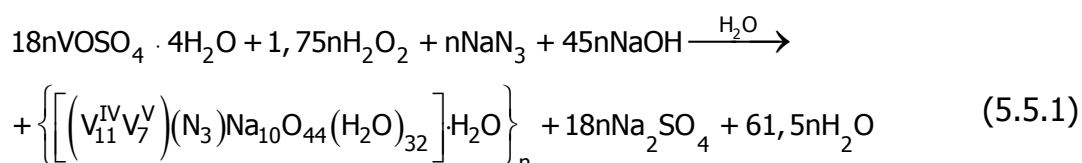
Κατά την συνθετική αντίδραση σχηματισμού ενός πολυοξο-μεταλλικού συμπλέγματος λαμβάνει χώρα η παραγωγή ενός μειο-εντροπικού προϊόντος, δεδομένου ότι από έναν πολύ μεγάλο αριθμό αντιδρώντων-μορίων ή σωματιδίων, προκύπτει ένας κατά πολύ μικρότερος αριθμός προϊόντων-σωματιδίων, εντός των οποίων βεβαίως έχουν εγκλωβισθεί πολλά μοριακά ή ατομικά ή ιοντικά συγκροτήματα, σε μία σταθερή και απομονώσιμη χημική ένωση. Κατ' αυτόν τον τρόπο προκύπτει πάντοτε έλλειμμα μορίων στα προϊόντα:



Στην αντίδραση 5.1.1 έχουμε  $10+6=16$  μόρια αντιδρώντων, ενώ δεξιά λαμβάνονται  $1+10=11$  μόρια προϊόντων. Συνεπώς προκύπτει έλλειμμα  $16-11=5$  σωματιδίων.



Επίσης στην αντίδραση 5.4.1, για  $x=2$ , εξάγεται ότι από 85 σωματίδια αντιδρώντων προκύπτουν 51 σωματίδια προϊόντων, οπότε δημιουργείται έλλειμμα  $85-51=34$  σωματιδίων.



Επίσης στην αντίδραση 5.5.1, για  $n=4$ , εξάγεται ότι από 551 σωματίδια αντιδρώντων προκύπτουν 161 σωματίδια προϊόντων, οπότε δημιουργείται έλλειμμα  $551-161=390$

σωματιδίων. Είναι πρόδηλο ότι τα προκύπτοντα μοριακά συγκροτήματα-προϊόντα αποτελούν σταθερά θερμοδυναμικά συστήματα, που διαθέτουν λίαν υψηλή μοριακή συμμετρία και χωροχρονική ευταξία, σε ένα ευρύτερο θερμοδυναμικό σύστημα (περιβάλλον), του οποίου όμως η εντροπία (αταξία) αργά και σταθερά αυξάνεται.

$$\Delta H_p = \Delta G + T \cdot \Delta S$$

Η ενθαλπία σχηματισμού των μεγαλομοριακών αυτών σωμάτων, με την μορφή της προσφοράς θερμικής ενέργειας, υπό σταθερά συνήθως ατμοσφαιρική πίεση ( $\Delta H_p$ ), αποθηκεύεται υποχρεωτικά εντός των γιγάντιων αυτών υπερ-μορίων, υπό την μορφή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs ( $\Delta G$ ), η οποία αυξάνεται σε θετικές τιμές, σε τρόπο ώστε η μεταβολή της εντροπίας της ενώσεως ( $\Delta S$ ), να έχει την δυνατότητα μείωσης, σε θερμοδυναμικές καταστάσεις, ηξημένης ευταξίας.

Τα πολυοξο-μεταλλικά συστήματα παρέχουν εξαιρετα μοντέλα, στην μελέτη διαδικασιών ανάπτυξης και ανοικοδόμησης ογκοδέστατων μοριακών συγκροτημάτων και ασυνήθιστων μοριακών ικριωμάτων (building motifs/blocks), καθώς και πρωτότυπων δυναμικών μοντέλων υποδοχέα-επισκέπτη (host-guest), βασισμένων σε πρότυπα του τύπου  $Mo_{11}$ - ή τύπου  $V_{10}$ - και σε ασυνήθιστες και γιγαντιαίες σφαιρικές και δακτυλιοειδείς δομές, με στοιχειομετρία  $Mo_{11n}$  ( $n = 12, 14, 16$ )-, που παραδόξως και ανεπίστως ευρίσκονται σε σχέσεις λόγων, οι οποίες πειθαρχούν στους νόμους της παγκόσμιας αρμονίας, των κοσμικών σφαιρών του Πυθαγόρα, [Müller Achim, Kögerler Paul, Bögge Hartmut, "Pythagorean Harmony in the World of Metal Oxygen Clusters of the  $Mo_{11}$  Type: Giant Wheels and Spheres, both Based on a Pentagonal Type Unit", Structure and Bonding, 96, 203-236, 2000] και [Pope M.T., and Müller A., "Polyoxometalates: From Platonic Solids to Anti-retro Viral Activity", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1994].

Το πεδίο αυτό έχει προσελκύσει το ακαδημαϊκό και το βιομηχανικό ενδιαφέρον, σε σχέση με τα καταλυτικά φαινόμενα και τις ιατρικές εφαρμογές των ενώσεων αυτών (antiviral and anti-retroviral activity). Οι εφαρμογές αυτών των πολυμεταλλικών Clusters επεκτείνονται ραγδαία στον τομέα της οξειδο-αναγωγικής χημείας, στον τομέα της κατάλυσης για την προστασία του περιβάλλοντος, στον τομέα της διαχείρισης πυρηνικών αποβλήτων, στον τομέα της δραστηριότητας των μεταλλο-πρωτεϊνών, στον τομέα των γεωργικών φαρμάκων και παρασιτοκτόνων και στον τομέα των βιοχημικών και βιοιατρικών εφαρμογών.

Στην ανά χείρας Διδακτορική Διατριβή **συνθέσαμε πέντε νέα σύμπλοκα του στοιχείου Βαναδίου (IV)**, με πέντε διαφορετικούς υποκαταστάτες και συγκεκριμένα: α)- **το νικοτιναμίδιο**, β)- **το αζίδιο του νατρίου**, γ)- **την πιπεραζίνη**, δ)- **την πυριδίνη** και ε)- **την καδαβερίνη**. Οι εν λόγω ενώσεις, που χρησιμοποιήθηκαν ως υποκαταστάτες έχουν γνωστή χημεία, εμπεριέχουν άτομα αζώτου στο μόριό τους, ενώ από την άλλη πλευρά εμφανίζουν ιδιότητες οργανικών βάσεων, με αξιοσημείωτη βιολογική και βιοχημική δραστηριότητα, [Vaupel P., and Harrison L., 2004], [Crofts Antony, 1996], [Perrone M.G., et al, 2009], [Medina R.M., et al, 2008], [Kallistratos George I., "Putrescine as Inhibitor of 3,4-Benzopyrene Cancerogenesis", European Journal of Cancer, Volume 11, pp. 717-719, 1975] και [Kallistratos G.I., and Kallistratos U., 1976].

**ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΝΕΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ.** Ξεκινώντας από το νικοτιναμίδιο, το οποίο αποτελεί μια ουσία με σαφή βιολογικό ρόλο και προέλευση, βλέπουμε ότι το σύμπλοκο που το εμπεριέχει (**Nicotivan, 2**) εμφανίζει αξιόλογες κυτταροτοξικές ιδιότητες, οι οποίες είναι δοσοεξαρτώμενες και αφορούν τόσο τα νεοπλασματικά κύτταρα όσο και τους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες του ποντικού. Οι κυτταροτοξικές δράσεις του συμπλόκου εμφανίζονται ανάλογες και στις τρεις κυτταρικές σειρές, που χρησιμοποιήθηκαν και για τον λόγο αυτόν δεν μπορούμε να μιλάμε για εκλεκτικότητα. Δηλαδή η τιμή  $IC_{50}$  είναι για τα κύτταρα του λειομυοσαρκώματος του αρουραίου, ίση προσεγγιστικά προς 4,7  $\mu M$  (μεταξύ 3,13 και 6,25  $\mu M$ ), ενώ για τα κύτταρα του καρκινώματος του μαστού είναι περί τα 6,9  $\mu M$ . Παράλληλα η τιμή  $IC_{50}$  για τους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες του ποντικού είναι λίγο μεγαλύτερη (περί τα 9,8  $\mu M$ ). Παράλληλα ή ίδια ουσία έχει την ιδιότητα να αναστέλλει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου *ex vivo*- δηλαδή στο φυσιολογικό τους αιματικό πλάσμα, εφόσον έχουν ήδη απομακρυνθεί τα ερυθροκύτταρα και τα λευκοκύτταρα. Η αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων λαμβάνει χώρα ανεξαρτήτως από την οδό ενεργοποίησης τους, όπως επίσης και από τον αντίστοιχο ειδικό αγωνιστή ενεργοποίησης. Δηλαδή παρατηρούμε ότι, σε αιμοπετάλια στα οποία όλοι οι οδοί συσσώρευσης είναι ανοιχτές το σύμπλοκο Nicotivan αναστέλλει δοσοεξαρτώμενα και χρονοεξαρτώμενα, τόσο την συσσωρευτική δράση του ADP, όσο την δράση του PAF, καθώς επίσης και αυτήν του ARA. Αυτό σημαίνει ότι οι αντιαιμοπεταλιακές δράσεις του συμπλόκου Nicotivan είναι πιθανόν ότι ασκούνται σε μια περιοχή του συσσωρευτικού μηχανισμού των αιμοπεταλίων, η οποία αποτελεί ένα κοινό και απαραίτητο βήμα για όλες τις οδούς συσσώρευσης. Κατωτέρω θα επικαλεσθούμε αναλυτικά κάποια βιβλιογραφικά δεδομένα, τα οποία μπορούν να μας υποδείξουν, ποια είναι αυτή η κρίσιμη σημασία περιοχή του αιμοπεταλιακού συσσωρευτικού μηχανισμού, που αναστέλλεται τόσο από το Nicotivan, όσο και από τα υπόλοιπα σύμπλοκα του Βαναδίου που συντέθηκαν και εξετάστηκαν στην διατριβή μας, [Evangelou A, Karkabounas S, et al., 1997] και [Evangelou A.M., 2002].

Το σύμπλοκο (**Azivan, 5**) εμφανίζει την μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα από όλα τα σύμπλοκα του βαναδίου που ετέθησαν υπό βιολογική μελέτη στην Διδακτορική μας Διατριβή. Κατ' αρχάς δίνει εναρκτήριες κυτταροτοξικές δράσεις σε λίαν χαμηλές συγκεντρώσεις και συγκεκριμένα σε 156 nM, για δύο τύπους νεοπλασματικών κυττάρων (λειομυοσάρκωμα αρουραίου και αδενοκαρκίνωμα μαστού ανθρώπου) και 630 nM για φυσιολογικούς εμβρυικούς ινοβλάστες. Οι αντίστοιχες τιμές  $IC_{50}$  για τις ίδιες νεοπλασματικές σειρές είναι κατά προσέγγιση ίσες αντιστοίχως προς 2,9  $\mu M$  για τα κύτταρα λειομυοσαρκώματος του αρουραίου, 3,4  $\mu M$  για τα κύτταρα του καρκινώματος MCF-7 του ανθρώπου, ενώ για την σειρά των φυσιολογικών ινοβλαστών του ποντικού η  $IC_{50}$  είναι ίση προς 12  $\mu M$ . Δηλαδή παρατηρούμε ότι το **σύμπλοκο του Βαναδίου με το αζίδιο εμφανίζει πολύ ισχυρές κυτταροτοξικές ιδιότητες ενάντια στα νεοπλασματικά κύτταρα** οι οποίες είναι τέσσερες φορές μεγαλύτερες από την κυτταροτοξική δράση που εμφανίζει επί των φυσιολογικών εμβρυικών ινοβλαστών του ποντικού. Η διαφορά αυτή

όμως των κυτταροτοξικών συγκεντρώσεων ενδεχομένως δεν είναι επαρκής για να προκαλέσει με τρόπο ασφαλή απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα αφήνοντας ανέπαφα τα φυσιολογικά ή έστω πλήττοντάς τα κατά τρόπο ελάχιστο και συμβατό με την αποκατάσταση τους. Αλλάζοντας πειραματικό μοντέλο και βλέποντας τις δράσεις του συμπλόκου Azivan στα αιμοπετάλια του ανθρώπου *ex vivo*, παρατηρούμε ότι αυτό είναι σε θέση να προκαλέσει πλήρη αναστολή της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης ανεξαρτήτως της χρησιμοποιούμενης οδού συσσώρευσης, δηλαδή ανεξαρτήτως του αν ο αιμοπεταλιακός αγωνιστής είναι το ADP, ο PAF ή το ARA. Δηλαδή το δεδομένο που λάβαμε κατά την μελέτη του συμπλόκου Nicotivan, βλέπουμε να επανέρχεται επίσης και με το σύμπλοκο Azivan, παρά το γεγονός ότι το νικοτιναμίδιο είναι ένας φυσιολογικής προέλευσης υποκαταστάτης ενώ το αζίδιο είναι ένας υποκαταστάτης, που δεν υπάρχει στην φύση αλλά προέρχεται εκ συνθέσεως. Συνεπώς αναγκαστικά οι δύο υποκαταστάτες διαθέτουν κάποια χημική ή φυσική ιδιότητα, που τους μετατρέπει σε ουσίες ανάλογης δράσης σε ό,τι αφορά τόσο την αιμοπεταλιακή συσσώρευση όσο και την κυτταροτοξική δράση. Οι ιδιότητες αυτές φαίνεται ότι προϋπήρχαν της σύνθεσης του συμπλόκου, αλλά το χημικό καθεστώς της συμπλοκοποίησης τις ενδυνάμωσε και τις έκανε πιο ισχυρές.

Το σύμπλοκο (**Pyriivan, 1**), που συντίθεται από τον υποκαταστάτη πυριδίνη και το στοιχείο Βανάδιο παρουσιάζει μια μικρότερη κυτταροτοξικότητα, εν σχέσει προς τα δύο προηγούμενα (Νικοτιβάν και Αζιβάν) επιδεικνύοντας μια τιμή IC<sub>50</sub> ίση προς 10,6 μΜ για τα κύτταρα του λειομυοσάρκωματος, ενώ οι αντίστοιχες για τα κύτταρα αδενοκαρκινώματος MCF-7 μαστού του ανθρώπου και για τους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες του ποντικού είναι ίσες προς 16,7 και 12,8 μΜ. Από την άλλη πλευρά η χορήγηση του Pyriivan στα αιμοπετάλια αναστέλλει δραστικά την συσσώρευσή τους που προκαλείται από τους τρεις κύριους αντιπροσωπευτικούς αγωνιστές των οδών, της αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης, δηλαδή το ADP, τον PAF και το ARA, υποδεικνύοντας έτσι ξανά την ύπαρξη του ίδιου κοινού μηχανισμού αντιαιμοπεταλιακής δράσης, που συναντήσαμε και για τα δύο ανωτέρω αναλυθέντα σύμπλοκα.

Το σύμπλοκο (**Pipervan, 3**) συντίθεται από το στοιχείο Βανάδιο και τον υποκαταστάτη πιπεραζίνη, εμφανίζοντας ένα πιο ήπιο επίπεδο βιολογικής δραστηριότητας, καθόσον η κυτταροτοξικότητά του είναι μικρότερη, σε σύγκριση με όλα τα σύμπλοκα του Βαναδίου που συντέθηκαν και δοκιμάστηκαν, στην ανά χείρας διατριβή. Οι δράσεις του συμπλόκου Pipervan στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση φαίνονται να ακολουθούν το συνολικό profile της αναστολής των αιμοπεταλιακών αντιδράσεων, το οποίο παρουσιάζουν όλες οι σύμπλοκες ενώσεις του Βαναδίου που συνθέσαμε και μελετήσαμε βιολογικά. Έτσι το Pipervan αναστέλλει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου όταν αυτή προκαλείται τόσο από την οδό του ADP, την οδό του PAF, όσο και την οδό του ARA. Συνεπώς και στην περίπτωση του συγκεκριμένου συμπλόκου έχουμε μια σύγκλιση βιολογικών ιδιοτήτων με τα σύμπλοκα του Βαναδίου που ήδη προαναφέραμε. Αυτό ενισχύει ακόμη περισσότερο την θεωρητική υπόθεση ότι το Pipervan αναστέλλει την ίδια περιοχή του αιμοπεταλιακού μεταβολισμού, που ευθύνεται για ένα τμήμα του μηχανισμού

της συσσώρευσης κοινό και στις τρεις συσσωρευτικές οδούς. Το ίδιο αυτό τμήμα αναστέλλεται και από τα υπόλοιπα σύμπλοκα του Βαναδίου που ελέγξαμε.

Το σύμπλοκο (**Cadivan, 4**) είναι το ισχυρότερο από τα πέντε σύμπλοκα, που συνθέσαμε και φαίνεται ότι η τοξικότητά του σχετίζεται άμεσα, με την παρουσία της κανταβερίνης ως υποκαταστάτη. Υπάρχουν δεδομένα, ότι η σύνδεση του Βαναδίου με μια άλλη πολυαμίνη – την πουτρεσκίνη – έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία μιας επίσης ισχυρής κυτταροτοξικής ένωσης (Putrevan). Στην περίπτωση του συμπλόκου Cadivan παρατηρούμε μια πολύ έντονη κυτταροτοξική δράση, η οποία ωστόσο δεν είναι εκλεκτική ως προς τα κακοήγη νεοπλασματικά κύτταρα, αλλά πλήττει με την ίδια ένταση και την φυσιολογική κυτταρική σειρά των εμβρυονικών ινοβλαστών του ποντικού. Έτσι οι τιμές  $IC_{50}$  του συμπλόκου Cadivan για τις χρησιμοποιηθείσες κυτταρικές σειρές είναι αντιστοίχως οι εξής :  $1,225 \pm 0,238 \mu M$  για τα λειομυοσαρκωματικά κύτταρα του επίμυος Wistar,  $2,367 \pm 0,368 \mu M$  για τα κύτταρα MCF – 7 καρκίνου του μαστού του ανθρώπου και  $2,433 \pm 0,125 \mu M$  για τους φυσιολογικούς εμβρυονικούς ινοβλάστες MRC – 5 του ποντικού. Επίσης το σύμπλοκο Cadivan αναστέλλει ισχυρά όλες τις οδούς συσσώρευσης των αιμοπεταλίων του ανθρώπου *ex vivo*, όπως έχει ήδη παρατηρηθεί και για τις ανωτέρω τέσσερες ενώσεις του Βαναδίου, που έχουμε συμπεριλάβει στην μελέτη μας. Από όλα τα ανωτέρω προκύπτει ότι είναι πιθανόν τόσο οι κυτταροτοξικές δράσεις των πέντε συμπλόκων του Βαναδίου, όσο και η δράση αναστολής της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης να εδράζονται επί κοινών μηχανισμών τόσο για τα κύτταρα, όσο και για τα αιμοπετάλια. Ποιοί θα μπορούσαν να είναι αυτοί οι κοινοί μηχανισμοί, για τα εν λόγω πέντε μόρια;

Κατ' αρχάς πρέπει να σημειωθεί ότι οι πέντε χρησιμοποιηθέντες υποκαταστάτες εμφανίζουν κυτταροτοξικότητα από μόνοι τους και συγκεκριμένα:

Το νικοτιναμίδιο εμφανίζει μια τιμή  $IC_{50}$  ίση προς  $47,4 \mu M$  εναντίον των κυττάρων LMS.

Το αζίδιο του νατρίου εμφανίζει μια αρκετά πιο χαμηλή τιμή  $IC_{50}$  ίση προς  $2,3 \mu M$  και συνεπώς έχει μια σαφώς μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα συγκριτικά με το νικοτιναμίδιο (για τα κύτταρα LMS).

Η  $IC_{50}$  τιμή της πυριδίνης είναι υψηλή και ίση προς  $107,6 \mu M$ , (LMS κύτταρα) γεγονός που δεικνύει ότι το μόριο αυτό έχει σχετικά χαμηλή κυτταροτοξικότητα.

Η  $IC_{50}$  τιμή της πιπεραζίνης είναι ίση προς  $126,6 \mu M$  (κύτταρα LMS), πράγμα που σημαίνει ότι το εν λόγω μόριο έχει επίσης σχετικά χαμηλή κυτταροτοξικότητα και σε σύγκριση με όλους τους υπόλοιπους υποκαταστάτες είναι το λιγότερο κυτταροτοξικό.

Η καδαβερίνη εμφανίζει τιμή  $IC_{50}$  ίση προς  $10,8 \mu M$  (κύτταρα LMS), οπότε η κυτταροτοξικότητά του είναι σημαντική και αμέσως μικρότερη από εκείνη του αζιδίου.

Η κλίμακα κυτταροτοξικότητας των πέντε υποκαταστατών απέναντι στα LMS κύτταρα είναι συγκριτικά μεταξύ τους η ακόλουθη: αζίδιο > καδαβερίνη > νικοτιναμίδιο > πυριδίνη > πιπεραζίνη. Η κλίμακα κυτταροτοξικότητας των πέντε συμπλόκων απέναντι στα κύτταρα LMS είναι η ακόλουθη: Cadivan ( $1,225 \pm 0,238 \mu M$ ) > Azivan ( $2,8 \mu M$ , LMS cells) > Nicotivan ( $4,767 \pm 0,525 \mu M$ ) > Pyrivan ( $10,6 \pm 0,883 \mu M$ ) > Pipervan ( $15,9 \pm 0,455 \mu M$ ). Θέτοντας τα σύμπλοκα σε σύγκριση με τους υποκαταστάτες παρατηρούμε μια διαδοχή

κυτταροτοξικότητας, που ακολουθεί την αντίστοιχη των υποκαταστατών αν εξαιρεθεί μόνον μια αντιστροφή, δηλαδή του Cadivan και του Azivan, όπου το μεν πρώτο αντιστοιχεί στην κανταβερίνη που έρχεται δεύτερη σε κυτταροτοξικότητα, το δε δεύτερο αντιστοιχεί στο αζίδιο που προηγείται σε κυτταροτοξικότητα της κανταβερίνης ως υποκαταστάτης. Όσον αφορά την ειδική ανασταλτική ικανότητα που εμφανίζουν τα σύμπλοκα απέναντι στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων, εδώ η σειρά δραστηριότητας είναι η εξής : Azivan (Τιμή  $IC_{50}$  PAF 1 – 2  $\mu$ M,  $IC_{50}$  ARA 4 – 6  $\mu$ M, ADP 4 – 10  $\mu$ M) > Nicotivan ( $IC_{50}$  PAF 1 – 2  $\mu$ M,  $IC_{50}$  ARA 2 – 4  $\mu$ M,  $IC_{50}$  ADP 20 – 30  $\mu$ M) > Cadivan ( $IC_{50}$  PAF 2 – 6  $\mu$ M,  $IC_{50}$  ARA 2 – 2,5  $\mu$ M,  $IC_{50}$  ADP 20 – 40  $\mu$ M) > Pygivan ( $IC_{50}$  PAF : 20 – 40 M,  $IC_{50}$ ARA : 20 – 40  $\mu$ M και  $IC_{50}$ ADP : 80 – 120  $\mu$ M > Piperivan (  $IC_{50}$ PAF 20 – 40  $\mu$ M,  $IC_{50}$ ARA 20 – 40  $\mu$ M,  $IC_{50}$ ADP 200 – 300  $\mu$ M). Όπως παρατηρούμε η σειρά δραστηριότητας είναι διαφορετική από αυτήν που παρουσιάζουν τα σύμπλοκα ως προς την κυτταροτοξικότητά τους και είναι πιθανόν η αιμοπεταλιακή αναστολή να διαφοροποιείται απολύτως από την κυτταροτοξικότητά που επιδεικνύεται επί των νεοπλασματικών σειρών και της φυσιολογικής κυτταρικής σειράς. Συνεπώς είναι ενδεχόμενο οι μεταβολικές οδοί που εμπλέκονται στην θανάτωση των κυττάρων να μην είναι οι ίδιες που εμπλέκονται στην αιμοπεταλιακή συσσώρευση, ή, εναλλακτικά, αν πρόκειται για τις ίδιες οδούς να υπάρχει διαφορετική λειτουργική έκφρασή τους στους διαφορετικούς τύπους κυττάρων. Δηλαδή αν υποθέσουμε ότι τα σύμπλοκα άλατα του Βαναδίου με τις ανωτέρω αμινικές ενώσεις αναστέλλουν την οδό του αραχιδονικού οξέος γενικά, τότε το γεγονός αυτής της αναστολής στα αιμοπετάλια θα εκφραστεί ως αναστολή της συσσώρευσης (και εν γένει των λειτουργικών τους αντιδράσεων), ενώ στις νεοπλασματικές σειρές ενδεχομένως να εκφραστεί ως πυροδότηση της διαδικασίας του αυτόματου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση), πράγμα που ήδη είδαμε να συμβαίνει, όπως θα αναφέρουμε παρακάτω.

Πολύ σημαντικό ρόλο παίζουν αναγκαστικά οι δομές στον χώρο των συμπλόκων του Βαναδίου, όπως επίσης και οι σχετικές διαστάσεις του μορίου τους. Στην περίπτωση αυτή πρέπει να υπογραμμίσουμε ότι παρά τις διαφοροποιήσεις των επί μέρους υποκαταστατών, εν τούτοις σε γενικές γραμμές τα εν λόγω σύμπλοκα εμφανίζουν στερεοτακτικές δομές οι οποίες έχουν μεταξύ τους γενικές ομοιότητες, εκτός από το Pygivan και το Piperivan. Στο Pygivan υπάρχει ένας πυρήνας που περιέχει 10 άτομα Βαναδίου και 28 άτομα οξυγόνου συνδεδεμένα κατάλληλα ώστε να σχηματίζουν ένα ογκώδες κεντρικό ανιονικό σύστημα  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ , [Εικόνα 5.1.2]. Η δομή του εν λόγω ανιόντος αποτελείται από 10 οκταεδρικές μονάδες  $[VO_6]$ . Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου αποτελείται από ιόντα  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$ , κατιόντα πυριδινίου και πλεγματικά μόρια  $H_2O$  σε αναλογία 1 : 6 : 2. Στο Piperivan η δομή έχει τα χαρακτηριστικά ενός ιοντικού πολυμερούς μορίου του οποίου ο γενικός τύπος είναι [Catena – δις-[τριοξοβαναδικό(V)]- 1,2-διαμμωνιοβουτάνιο]. Το πολυμερές τμήμα που εμπεριέχει το Βανάδιο έχει ανιοντικό χαρακτήρα, ενώ το κατιόν που εξασφαλίζει την ηλεκτρική ουδετερότητα είναι το δις-πρωτονιωμένο 1,4-διαμινοβουτάνιο. Το Nicotivan είναι ένα μόριο που ανήκει στην κατηγορία των πολυοξομεταλλικών συμπλόκων και έχει ανιοντικό χαρακτήρα. Ο γενικός μοριακός του τύπος είναι  $(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2]2L \cdot 2H_2O$ . Το

ιόν  $[V_{10}O_{26}(OH)_2]^{4-}$  πιο συγκεκριμένα είναι ένα ισο-πολυανιόν ή ομο-πολυανιόν, κατά τον [Housecroft C.E., 2008]. Το σύμπλοκο Nicotivan εμφανίζει έναν ογκώδη πυρήνα αποτελούμενο από οξοβανάδιο, ο οποίος εν δυνάμει θα μπορούσε να ενσωματωθεί σε ενζυμικές πρωτεΐνες, όπως π.χ η κυκλοξυγονάση 1 (COX1) ή η κυκλοξυγονάση 2 (COX2), παραλλάσσοντας την δομή τους κι εμποδίζοντας την λειτουργία τους. Αυτό θα είχε ως συνέπεια την αναστολή των αιμοπεταλίων, όπως επίσης και την ενεργοποίηση του αυτόματου κυτταρικού θανάτου. Η ίδια θεώρηση μπορεί να ισχύσει για όλα, τα μελετηθέντα σύμπλοκα.

Το Cadivan εμφανίζει έναν γενικό χημικό τύπο  $(L''H_2)_3[V^{IV}_9 V^V_6 O_{36}] \cdot 14H_2O$ . Στο εν λόγω σύμπλοκο και πάλι η βασική δομική μονάδα είναι τα πολυοξομεταλλικά ανιόντα, ενώ η κρυσταλλογραφική μελέτη αποκαλύπτει ότι η ένωση αποτελείται από κατιόντα  $L''H_2^{2+}$ , ιόντα  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  και πλεγματικά μόρια  $H_2O$  σε αναλογία 3 : 1 : 14. Το σύστημα που προκύπτει είναι ένα σφαιρικό μόριο όπου, 9 άτομα Βαναδίου εμφανίζονται με αριθμό οξειδωσης (IV) και 6 άτομα Βαναδίου, με τον αριθμό οξειδωσης (V). Η βασική ανιοντική δομή  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$ , ανάλογη της οποίας συναντήσαμε και ανωτέρω φαίνεται και στην περίπτωση αυτή να κυριαρχεί. Το σύμπλοκο Azivan αποτελεί επίσης μια δομή με γενικό μοριακό τύπο  $V_{18}O_{76}N_3Na_{10}$  και ιδιότητες που προαναφέραμε ανωτέρω. Οι ακριβείς ενδοκυττάριοι στόχοι των συμπλόκων, που συνθέσαμε και μελετήσαμε δεν μας είναι γνωστοί και εκφεύγουν από το πλαίσιο της διδακτορικής μας διατριβής. Ωστόσο οφείλουμε να αναφέρουμε, ότι οι δράσεις των συμπλόκων σε όλους τους τύπους κυττάρων, που δοκιμάστηκαν έχουν σαν αποτέλεσμα τον θάνατο μέσω απόπτωσης. Είναι πολύ πιθανόν ο τύπος αυτός θανάτου να προκαλείται μέσω διαφόρων μηχανισμών εκκίνησης, όπως :

**1<sup>ον</sup>)-** Η ενεργοποίηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών από τα μεταλλικά άτομα των υπό μελέτη συμπλόκων.

**2<sup>ον</sup>)-** Η παρεμπόδιση του ενεργειακού μεταβολισμού και συγκεκριμένα η μείωση της εισόδου γλυκόζης στο εσωτερικό των κυττάρων.

**3<sup>ον</sup>)-** Η δράση αναστολής ορισμένων ενζύμων όπως οι κυκλοξυγονάσες (COX1, COX2, LOX), τα οποία είναι πολύ σημαντικά για την λειτουργία κάθε τύπου κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων και των νεοπλασματικών.

**4<sup>ον</sup>)-** Η παρεμπόδιση της μεταγωγής σημάτων στο εσωτερικό των νεοπλασματικών κυττάρων εκ μέρους των συμπλόκων του Βαναδίου, αλλά και των χημικών τους ενδοκυττάρια δράσεων.

Η κυτταρομετρία ροής, με την χρήση της οποίας μελετήσαμε τις δράσεις των συγκεκριμένων πέντε συμπλόκων έδειξε, ότι οι δράσεις αυτών επί των νεοπλασματικών κυττάρων του λειομυοσάρκωματος, του επίμουσ Wistar (LMS) έχει ως αποτέλεσμα την θανάτωση των κυττάρων, μέσω ενεργοποίησης του μηχανισμού της απόπτωσης. Τα νεοπλασματικά αυτά κύτταρα εμφανίζουν το εξής προφίλ θανάτου, όταν εκτεθούν σε συγκεντρώσεις, ίσες προς την  $IC_{50}$  εκάστου συμπλόκου :

**1<sup>ον</sup>)-** Σύμπλοκο Nicotivan. Σε συγκέντρωση ίση με την τιμή IC<sub>50</sub> του εν λόγω συμπλόκου έχουμε τα εξής : έλεγχος χωρίς σύμπλοκο – βιώσιμα κύτταρα = 95,88%, βιώσιμα κύτταρα εκτεθέντα στην τιμή IC<sub>50</sub> = 49,22%, πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα = 22,04%, όψιμα αποπτωτικά κύτταρα = 24,29%, σύνολο αποπτωτικών κυττάρων = 46,33%, κύτταρα νεκρωτικά = 4,45%.

**2<sup>ον</sup>)-** Σύμπλοκο Azivan : Έλεγχος – βιώσιμα κύτταρα χωρίς σύμπλοκο = 95,88%. Βιώσιμα κύτταρα εκτεθέντα στην τιμή IC<sub>50</sub> του συμπλόκου = 38,74%, πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα = 18,64%, Όψιμα αποπτωτικά κύτταρα = 41,52%, Σύνολο αποπτωτικών κυττάρων = 60,16%, νεκρωτικά κύτταρα = 1,1%.

**3<sup>ον</sup>)-** Σύμπλοκο Pygivan : Έλεγχος – βιώσιμα κύτταρα χωρίς σύμπλοκο = 95,88%. Βιώσιμα κύτταρα εκτεθέντα στην τιμή IC<sub>50</sub> του συμπλόκου = 56,67%, πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα = 27,63%, όψιμα αποπτωτικά κύτταρα = 16,12 %, Σύνολο αποπτωτικών κυττάρων = 43,75%. Νεκρωτικά κύτταρα = 0,58%.

**4<sup>ον</sup>)-** Σύμπλοκο Pipervan : Έλεγχος – βιώσιμα κύτταρα χωρίς σύμπλοκο = 95,88%. Βιώσιμα κύτταρα εκτεθέντα στην IC<sub>50</sub> τιμή του συμπλόκου = 37,62%, Πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα = 12,92%, Όψιμα αποπτωτικά κύτταρα = 45,05%, Σύνολο αποπτωτικών = 57,97%, Νεκρωτικά κύτταρα = 4,41%

**5<sup>ον</sup>)-** Σύμπλοκο Cadivan : Έλεγχος – βιώσιμα κύτταρα χωρίς σύμπλοκο = 95,88%. Βιώσιμα κύτταρα εκτεθέντα στην τιμή IC<sub>50</sub> του συμπλόκου = 45,24%, Πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα = 31,67%, Όψιμα αποπτωτικά κύτταρα = 22,09 Σύνολο αποπτωτικών = 53,76, Νεκρωτικά κύτταρα = 1%.

Όλη η εν λόγω μελέτη δεικνύει σαφώς ότι τα συγκεκριμένα σύμπλοκα του Βαναδίου είναι παράγοντες, που πυροδοτούν την απόπτωση και πρέπει να αναλυθεί μέσω ποιάς οδού παράγουν αυτό το αποτέλεσμα. Επίσης είναι πολύ σημαντικό να αναλυθούν οι δράσεις τους, σε πολλές αντιπροσωπευτικές σειρές νεοπλασματικών κυττάρων, προερχομένων από ποικιλία κακοήθων όγκων του ανθρώπου, όπως επίσης να αναλυθεί και η δράση τους σε φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα, για την διαπίστωση εκλεκτικότητας. Ακόμη είναι σημαντικό να μελετηθεί η δράση τους σε in vivo μοντέλα του καρκίνου, δηλαδή σε πειραματόζωα.



### 7.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πιστεύουμε ότι η παρούσα Διατριβή αποτελεί μια σημαντική συνεισφορά στη χημεία των συμπλόκων ενώσεων και στη βιολογική (βιοανόργανη) χημεία του V.

Όσον αφορά στη χημεία των συμπλόκων ενώσεων του V:

**1)-** Το σύμπλοκο  $(pyH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O$  (**Pyrivan, 1**) είναι ένα ακόμα μέλος της οικογένειας των πολυοξοβαναδικών ενώσεων που περιέχουν στη στερεά κατάσταση το ανιόν  $[V^{VO}_{28}]^{6-}$ . Η διαφορά στη χημική φύση των δεκαβαναδικών ανιόντων που υπάρχουν στις ενώσεις **1** και **2** οφείλεται στο διαφορετικό pH του υδατικού διαλύματος κατά την έναρξη της κρυστάλλωσης.

**2)-** Το σύμπλοκο  $(LH)_4[V_{10}O_{26}(OH)_2] \cdot 2L \cdot 2H_2O$  (**Nicotivan, 2**) αποτελεί ένα νέο μέλος της οικογένειας των πολυοξοβαναδικών ενώσεων που περιέχουν το ιόν  $[V^{VO}_{26}(OH)_2]^{4-}$ . Άξια αναφοράς είναι η διαπίστωση ότι η αναφερθείσα στο παρελθόν ένωση με τις ίδιες σταθερές κυψελίδας είχε εσφαλμένα θεμελιωθεί ως  $(LH)_6[V_{10}O_{28}] \cdot 2H_2O$ . Όπως διαπιστώθηκε με  $^1H$  NMR φασματοσκοπία, το σύμπλοκο ιόν  $[V^{VO}_{26}(OH)_2]^{4-}$  μετατρέπεται στο  $[V_{10}O_{28}]^{6-}$  σε DMSO.

**3)-** Το πολυμερές σύμπλοκο  $\{(L'H_2)[(V^{VO}_3)]_2\}_n$  (**Pipervan, 3**) έχει ενδιαφέρουσα μοριακή και κρυσταλλική δομή και αποτελεί ένα νέο μέλος της οικογένειας των 1D ανιοντικών πολυμερών με γενικό τύπο  $\{(Κατιόν)^{2+}[(VO_3)]_2\}_n$ . Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μετατροπή της πιπεραζίνης σε **1,4-διαμινοβουτάνιο που αναφέρεται για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία.**

**4)-** Η ένωση  $(L''H_2)_3[V^{IV}_9V^V_6O_{36}] \cdot 14H_2O$  (**Cadivan, 4**) περιέχει το **δομικά εντυπωσιακό ανιόν**  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  που έχει σχήμα σφαίρας. **Αποτελεί ένα νέο μέλος** της οικογένειας των ενώσεων που περιέχουν το πολυοξοδεκαπεντεβαναδικό ιόν  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  και είναι το πρώτο δομικά χαρακτηρισμένο παράδειγμα στο οποίο τα 15 κέντρα V βρίσκονται στο επίπεδο οξειδωτικών βαθμίδων  $V^{IV}_9V^V_6$ . Επίσης αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το πολυοξοβαναδικό ιόν δεν έχει εγκλωβισμένο κάποιο ανιόν ή μόριο. Παρά την παρουσία παραμαγνητικών κέντρων  $V^{IV}$ , το  $^1H$  NMR φάσμα του συμπλόκου σε DMSO- $d_6$  εμφανίζει οξέα σήματα. Διαπιστώθηκε επίσης ότι στο ανιόν  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  υπάρχουν αντισηδηρομαγνητικές αλληλεπιδράσεις ανταλλαγής  $V^{IV} \dots V^{IV}$  και επιβεβαιώθηκαν θεωρητικές μελέτες σύμφωνα με τις οποίες οι αλληλεπιδράσεις ανταλλαγής ανάμεσα στα κέντρα  $V^{IV}$  ισχυροποιούνται όσο μειώνεται το αρνητικό φορτίο του ιόντος  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  και

**5)-** Τέλος το σύμπλοκο  $\{[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$  (**Azivan, 5**) είναι ένα **πρωτότυπο 3D πολυμερές με μοναδικά δομικά χαρακτηριστικά.** Τα ιόντα  $[V_{18}O_{44}(N_3)]^{10-}$  εγκλωβίζουν στα κέντρα του ένα γραμμικό ιόν  $N_3^-$  που δεν σχηματίζει δεσμούς ένταξης με τα κέντρα V. Τα δεκαοκτωβαναδικά ανιόντα συνδέονται μεταξύ τους μέσω κατιοντικών αλυσίδων  $Na^I/H_2O$ . Το σύμπλοκο **5** είναι μέλος μιας εξαιρετικά μικρής οικογένειας συμπλόκων ενώσεων που περιέχουν το ανιόν  $[V_{18}O_{44-x}(OH)_x(N_3)]^{n-}$ , αποτελώντας το πρώτο ανιόν τέτοιας φύσεως, στο επίπεδο ταυτόχρονης συνύπαρξης των οξειδωτικών βαθμίδων  $V^{IV}_{11}V^V_7$ .

Ενδιαφέρον από χημικής και δομικής πλευράς θα παρουσίαζαν αντιδράσεις πηγών  $V^V$  και  $V^{IV}$  με αμίδια, αμίνες και διαμίνες διαφορετικά(ές) από αυτά(αυτές) που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ενώσεων **1-4**, καθώς και η διερεύνηση της φύσης των προϊόντων που πιθανά θα προκύψουν από την αντικατάσταση των ιόντων  $Na^+$  από ιόντα άλλων αλκαλίων ( $Li^+$ ,  $K^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$ ) κατά την πορεία που οδήγησε στην ένωση **5**.

**6)**- Τα πέντε διαφορετικά σύμπλοκα του Βαναδίου εμφανίζουν υψηλή κυτταροτοξικότητα, η οποία δεν παρουσιάζει ουσιαστικές διαφορές εκλεκτικότητας μεταξύ νεοπλασματικών κακοήθων κυττάρων και φυσιολογικών εμβρυονικών ινοβλαστών.

**7)**- Η κλίμακα κυτταροτοξικότητας των πέντε συμπλόκων απέναντι στα κύτταρα LMS είναι η ακόλουθη : Cadivan ( $1,225 \pm 0,238 \mu M$ ) > Azivan ( $2,8 \mu M$ , LMS cells) > Nikotivan ( $4,767 \pm 0,525 \mu M$ ) > Pygivan ( $10,6 \pm 0,883 \mu M$ ) > Pipervan ( $15,9 \pm 0,455 \mu M$ ) Η κλίμακα κυτταροτοξικότητας των πέντε υποκαταστατών απέναντι στα LMS κύτταρα είναι συγκριτικά μεταξύ τους η ακόλουθη: αζίδιο > κανταβερίνη > νικοτιναμίδιο > πυριδίνη > πιπεραζίνη. Δηλαδή υπάρχει πολύ μεγάλη σύμπτωση στις σειρές κυτταροτοξικότητας μεταξύ συμπλόκων και των αντιστοιχών υποκαταστατών.

**8)**- Ο θάνατος των νεοπλασματικών κυττάρων του λειομυοσάρκωματος του επίμους Wistar προκύπτει μέσω της διαδικασίας της απόπτωσης, όπως αυτή αναδεικνύεται από την μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής λόγω της ενσωμάτωσης της πρωτεΐνης ανεξίνης.

**9)**- Τα πέντε διαφορετικά σύμπλοκα του Βαναδίου αναστέλλουν την αιμοπεταλιακή συσσώρευση, ανεξαρτήτως της οδού ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων σε ανθρώπινα αιμοπετάλια *ex vivo*, στα οποία οι τρεις οδοί είναι ανοιχτές (οδός ADP, οδός PAF, οδός ARA). Πρέπει να σημειωθεί ότι και οι πέντε υποκαταστάτες των συμπλόκων του Βαναδίου δίνουν ισχυρές αντιαιμοπεταλιακές δράσεις, οπότε είναι πιθανόν ότι οι αντιαιμοπεταλιακές δράσεις των συμπλόκων να οφείλονται σε αυτές.

**10)**- Δεν είναι σαφές αν η κυτταροτοξικότητα και οι αντιαιμοπεταλιακές δράσεις ακολουθούν ένα κοινό προφίλ ενδοκυττάρων δράσεων, όπως π.χ η παρεμπόδιση εισόδου γλυκόζης ή η αναστολή του αραχιδονικού μεταβολισμού.

## 7.4 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σύστημα αντίδρασης  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ /νικοτιναμίδιο (L) σε  $\text{H}_2\text{O}$  έδωσε το πορτοκαλί στερεό  $(\text{LH})_4[\text{V}^{\text{V}}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]\cdot 2\text{L}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**Nicotivan, 1**). Η υδρόλυση των ιόντων  $\text{NH}_4^+$  και η παρατεταμένη θέρμανση του υδατικού διαλύματος της αντίδρασης δημιουργούν το κατάλληλο pH για το σχηματισμό του ανιόντος  $[\text{V}^{\text{V}}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$ . Η πρωτονίωση των τεσσάρων μορίων L λαμβάνει χώρα στο πυριδινικό άτομο N, που είναι το πιο βασικό. Η δομή του ανιόντος αποτελείται από δέκα οκταεδρικές μονάδες  $\{\text{V}^{\text{V}}\text{O}_6\}$ , που έχουν κοινές ακμές. Το ανιόν έχει δύο  $\mu_6\text{-O}^{2-}$ , δύο  $\mu_3\text{-O}^{2-}$ , δύο  $\mu_3\text{-OH}^-$ , δεκατέσσερα  $\mu_2\text{-O}^{2-}$  και 8 τερματικά  $\text{O}^{2-}$ . Οι γεωμετρίες ένταξης των δέκα ιόντων  $\text{V}^{\text{V}}$  είναι παραμορφωμένες οκταεδρικές. Η κρυσταλλική δομή του συμπλόκου σταθεροποιείται από δεσμούς H και από π-π αλληλεπιδράσεις, μεταξύ των αρωματικών δακτυλίων.

Το τελικό υπόλειμμα της θερμικής διάσπασης του **1** είναι  $\text{V}_2\text{O}_5$ . Το  $^1\text{H}$  NMR φάσμα σε  $\text{DMSO-d}_6$  αποκαλύπτει την αποπρωτονίωση του ιόντος  $[\text{V}^{\text{V}}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$  και το σχηματισμό του ιόντος  $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ .

Η αντίδραση του  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  με πυριδίνη (py) σε  $\text{H}_2\text{O}$ , υπό θέρμανση, οδήγησε στην απομόνωση πορτοκαλί στερεού, με τύπο  $(\text{pyH})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**Pyrivan, 2**), σε απόδοση 40%. Η στοιχειομετρία, η διαμαγνητική φύση και τα μήκη δεσμού V-O αποδεικνύουν ότι όλα τα μεταλλικά κέντρα βρίσκονται στην οξειδωτική βαθμίδα +5. Η δομή του ανιόντος αποτελείται από δέκα οκταεδρικές μονάδες  $\{\text{V}^{\text{V}}\text{O}_6\}$ , που έχουν κοινές ακμές.

Αυτές οι μονάδες περιλαμβάνουν δύο  $\mu_6\text{-O}^{2-}$ , τέσσερα  $\mu_3\text{-O}^{2-}$ , δεκατέσσερα  $\mu_2\text{-O}^{2-}$  και οκτώ τερματικούς όξο- υποκαταστάτες. Υπάρχουν πέντε τύποι κρυσταλλογραφικώς ανεξάρτητων δεσμών H, που σταθεροποιούν την κρυσταλλική δομή του συμπλόκου, σχηματίζοντας ένα 2D δίκτυο.

Η ταινία στα  $3138\text{ cm}^{-1}$  στο IR φάσμα οφείλεται στη δόνηση τάσεως του δεσμού  $\text{N}^+\text{-H}$ , του ιόντος  $\text{pyH}^+$ . Το  $^{13}\text{C}$  NMR φάσμα του **2** σε  $\text{DMSO-d}_6$  είναι απλό και αποτελείται από τρία σήματα, των τριών χημικά ανισοδύναμων ατόμων άνθρακα του  $\text{pyH}^+$ . Το τελικό υπόλειμμα της θερμικής διάσπασης του συμπλόκου είναι  $\text{V}_2\text{O}_5$ .

Το σύστημα αντίδρασης  $\text{NH}_4\text{VO}_3$ /πιπεραζίνη (pipz) σε  $\text{CH}_3\text{COOH}$  1M στους  $80\text{ }^\circ\text{C}$  έδωσε πορτοκαλί κρυστάλλους του ιοντικού πολυμερούς  $\{(\text{L}'\text{H}_2)[(\text{VO}_3)]_2\}_n$  (**Pipervan, 3**), όπου  $\text{L}'\text{H}_2$  είναι το δικατιόν του 1,2-Διαμινοβουτανίου. Η μετατροπή της pipz σε 1,2-διαμινοβουτανίο προέρχεται από μια πολύπλοκη αντίδραση οξειδοαναγωγής, κατά την οποία τρία μόρια pipz ανάγονται προς  $\text{L}'$  (που στη συνέχεια πρωτονιώνεται διπλά), ενώ το τέταρτο μόριο οξειδώνεται προς πυραζίνη, που παραμένει στο διάλυμα. Η δομή του συμπλόκου περιέχει ανιοντικές αλυσίδες  $\{[\text{VO}_3]^{-}\}_n$ , με την καθεμιά να αποτελείται από άπειρο αριθμό τετραέδρων  $\{\text{V}^{\text{V}}\text{O}_4\}$ , που το καθένα έχει δύο κοινές κορυφές με τα δύο γειτονικά του.

Το περιβάλλον ένταξης γύρω από το  $\text{V}^{\text{V}}$  είναι τετραεδρικό, και η απόσταση μεταξύ δύο γειτονικών μεταλλικών κέντρων είναι  $3.417\text{ \AA}$ . Η κρυσταλλική δομή του **3** σταθεροποιείται από δεσμούς -H. Στο IR φάσμα του συμπλόκου, οι ισχυρές ταινίες στα  $927$  και  $913\text{ cm}^{-1}$  αποδίδονται σε δονήσεις τάσεως, των τερματικών δεσμών  $\text{V}^{\text{V}}=\text{O}$ .

Η παρατεταμένη θέρμανση του θειικού άλατος του δικατιόντος του 1,5-διαμινοπεντανίου (L<sup>''</sup>), VOSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O και NaOH σε H<sub>2</sub>O στους 80 °C έδωσε πολύ σκούρους πράσινους κρυστάλλους της ένωσης (L<sup>''</sup>H<sub>2</sub>)<sub>3</sub>[V<sup>IV</sup><sub>9</sub>V<sup>V</sup><sub>6</sub>O<sub>36</sub>]<sup>6-</sup>·14H<sub>2</sub>O (**Cadivan, 4**) με απόδοση 30-40%. Οι οξειδωτικές βαθμίδες των κέντρων V υπολογίσθηκαν με βάση τη μέθοδο **BVS**. Η ίδια ανάλυση έδειξε, ότι όλα τα άτομα O του δεκαπεντεβαναδικού ανιόντος είναι O<sup>2-</sup>. Το ιόν [V<sub>15</sub>O<sub>36</sub>]<sup>6-</sup> έχει σχήμα σφαίρας, με τα δεκαπέντε μεταλλικά κέντρα να βρίσκονται στην επιφάνεια της σφαίρας. Κάθε ιόν V είναι 5-ενταγμένο και σχηματίζει δεσμούς με ένα τερματικό όξο- υποκαταστάτη και τέσσερα γεφυρωτικά (μ<sub>2</sub><sup>-</sup>, μ<sub>3</sub><sup>-</sup>) ιόντα οξειδίου.

Η γεωμετρία ένταξης των ιόντων V είναι τετραγωνική πυραμιδική. Ο πλήρης δομικός πυρήνας του ανιόντος είναι {V<sup>IV</sup><sub>9</sub>V<sup>V</sup><sub>6</sub>O<sub>15</sub>(μ<sub>2</sub>-O)<sub>3</sub>(μ<sub>3</sub>-O)<sub>18</sub>}<sup>6-</sup>. Παρά την παρουσία παραμαγνητικών κέντρων V<sup>IV</sup> και τη συνεπακόλουθη παραμαγνητική φύση του **4**, το <sup>1</sup>H NMR φάσμα του σε DMSO-d<sub>6</sub> παρουσιάζει οξέα σήματα, που οφείλονται στα πρωτόνια, που είναι συνδεδεμένα με τα άτομα C του L<sup>''</sup>H<sub>2</sub><sup>2+</sup>. Το EPR φάσμα σε σκόνη του συμπλόκου στους 77 K είναι χαρακτηριστικό ιόντων [V<sub>15</sub>O<sub>36</sub>]<sup>n-</sup>, μικτού σθένους.

Η τιμή της ενεργού μαγνητικής ροπής του συμπλόκου στους 300 K (4.30 B.M.) υποδηλώνει σημαντικές αντισιδηρομαγνητικές αλληλεπιδράσεις ανταλλαγής. Το τελικό υπόλειμμα της θερμικής διάσπασης του συμπλόκου είναι V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Το σύστημα αντίδρασης VOSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O/NaN<sub>3</sub>/NaOH σε H<sub>2</sub>O υπό θέρμανση οδήγησε σε χακί-σκούρους πράσινους κρυστάλλους του 3D πολυμερούς συμπλόκου {[V<sup>IV</sup><sub>11</sub>V<sup>V</sup><sub>7</sub>Na<sub>10</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)<sub>32</sub>]<sup>n-</sup>·H<sub>2</sub>O}<sub>n</sub> (**Azivan, 5**) με απόδοση 35-40%. Η δομή του συμπλόκου αποτελείται από ανιόντα [V<sup>IV</sup><sub>11</sub>V<sup>V</sup><sub>7</sub>O<sub>44</sub>(N<sub>3</sub>)]<sup>10-</sup>, 1D κατιοντικές αλυσίδες με επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα την {Na<sub>10</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>32</sub>}<sup>10+</sup> και πλεγματικά μόρια H<sub>2</sub>O.

Τα ανιόντα συνδέονται με τις κατιοντικές αλυσίδες σχηματίζοντας ένα 3D πολυμερές δίκτυο. Οι θέσεις σύνδεσης των ανιόντων με τις κατιοντικές αλυσίδες είναι τερματικοί όξο- υποκαταστάτες του πολυοξοβαναδικού ανιόντος. Το βαναδικό ανιόν έχει σφαιρική δομή και εγκλωβίζει ένα ιόν αζιδίου, που δεν σχηματίζει χημικούς δεσμούς με τα κέντρα V. Κάθε ανιόν είναι το άθροισμα δεκαπέντε τετραγωνικών πυραμίδων {VO<sub>5</sub>}, που μοιράζονται κοινές ακμές και κορυφές. Από τους 44 όξο- υποκαταστάτες, οι δεκαοκτώ είναι τερματικοί, οι έξι μ<sub>2</sub> και οι υπόλοιποι μ<sub>3</sub>. Τα ιόντα Na<sup>I</sup> είναι 6- και 5-ενταγμένα, με τους ύδατο- υποκαταστάτες να είναι τερματικοί και γεφυρωτικοί. Στο IR φάσμα του **5**, οι ισχυρές ταινίες στα 962 και 940 cm<sup>-1</sup> οφείλονται στις δονήσεις τάσεως των τερματικών δεσμών V<sup>V</sup>=O και V<sup>IV</sup>=O, αντίστοιχα.

Στις βιολογικές δράσεις τα πέντε σύμπλοκα του Βαναδίου που συνθέσαμε (Nikotivan, Azivan, Pyrivan, Piperivan, Cadivan) εμφανίζουν κάποιες δομικές αναλογίες όπως π.χ μια ανιονική πολυοξοβαναδική δομή του τύπου [V<sub>x</sub>O<sub>y</sub>OH<sub>z</sub>]<sup>n-</sup>, η οποία φαίνεται να είναι αποφασιστικής σημασίας για τις βιολογικές λειτουργίες, των εν λόγω συμπλόκων. Στην διδακτορική μας διατριβή μελετήσαμε μερικές θεμελιώδεις βιολογικές δράσεις των πέντε συμπλόκων και συγκεκριμένα. Τις κυτταροτοξικές ιδιότητες σε τρεις διαφορετικούς τύπους κυττάρων, δηλαδή στα νεοπλασματικά κύτταρα λειομυοσάρκωματος επίμυος Wistar, στα νεοπλασματικά κύτταρα MCF – 7 καρκίνου του μαστού του ανθρώπου, καθώς και στα

κύτταρα τύπου φυσιολογικού εμβρυονικού ινοβλάστη του ποντικού. Τον μηχανισμό θανάτωσης, εκ μέρους των πέντε συμπλόκων χωριστά, των νεοπλασματικών λειομυοσαρκωματικών κυττάρων τύπου LMS, όπως αυτός αναδεικνύεται από την ενσωμάτωση της φθορίζουσας ανεξίνης, όταν έχει ενεργοποιηθεί η απόπτωση, με την μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής. Επίσης μελετήσαμε τις δράσεις των πέντε συμπλόκων ξεχωριστά στην συσσωρευτική λειτουργία των αιμοπεταλίων του ανθρώπου ex vivo, ενεργοποιώντας τα αιμοπετάλια μέσω των τριών διακεκριμένων οδών συσσώρευσης, την οδό του ADP, την οδό του PAF και την οδό του αραχιδονικού οξέος.

Ανεξάρτητα από τα σύμπλοκα μελετήθηκαν και οι κυτταροτοξικότητα των πέντε υποκαταστατών, όπως επίσης και οι αντίστοιχες δράσεις αυτών στην λειτουργία της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης

Τα σύμπλοκα που χρησιμοποιήθηκαν εμφάνισαν κυτταροτοξικές δράσεις σε κακοήθη κυτταρα LMS, ενώ στους φυσιολογικούς ινοβλάστες δεν εμφάνισαν αξιόλογη δράση. Κατά σειρά το IC<sub>50</sub> στα κακοήθη κυτταρα ήταν Cadivan (1,225±0,238 μM) > Azivan (2,8 μM, LMS cells) > Nicotivan (4,767 ± 0,525 μM) > Pyrivan (10,6±0,883 μM) > Pipervan (15,9±0,455 μM). Στην σειρά MCF-7 οι τιμές IC<sub>50</sub> στα σύμπλοκα είναι κατά σειρά Pyrivan (16,7 ± 0,23) > Pipervan (16,23 ± 0,74) > Nicotivan (6,93 ± 0,12) > Azivan (3,4 ± 0,37) > Cadivan (2.36 ± 0,37). Στους φυσιολογικούς ινοβλάστες και την σειρά MRC-5 οι τιμές IC<sub>50</sub> στα σύμπλοκα εμφανίζουν την παρακάτω σειρά: Pipervan (34,23 ± 1,35) > Azivan (12,93 ± 1,33) > Cadivan (2,43 ± 0,13) > Pyrivan (12,3 ± 0,21) > Nicotivan (9,83 ± 0,34).

Στους υποκαταστάτες οι τιμές IC<sub>50</sub> έχουν την παρακάτω σειρά: Πιπεραζίνη (126,6 ±1,6) > Πυριδίνη (107,6μM ±3,2) > Νικοτιναμίδιο (47,4 μM ±1,3) > Κανταβερίνη (10,8 μM ±0,4 > Αζίδιο του Νατρίου (2,3μM ±0,7).

Στα αποτελέσματα της κυτταρομετρίας ροής στα κύτταρα **LMS του επιμύος Wistar** ο έλεγχος των λειομυοσαρκωματικών κυττάρων LMS του επίμυος Wistar με την μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής έδειξε ότι η χορήγηση των πέντε διαφορετικών συμπλόκων του Βαναδίου σε δόσεις ίσες προς την IC<sub>50</sub> εκάστου συμπλόκου έχουν ως αποτέλεσμα το υψηλό ποσοστό θανάτων μέσω αποπτωτικών φαινομένων. Όπως είδαμε όλα τα σύμπλοκα εμφανίζουν δράση με πιο ισχυρή όσον αφορά το σύνολο των αποπτικών φαινομένων.

Στο σύνολο των αποπτωτικών φαινομένων η σειρά είναι Azivan (60,16%) > Pipervan > (57,97%) > Cadivan (53,76%) > Nicotivan (46,33%) > Pyrivan (43,75%) και το Control (3,22%).

Στα αποτελέσματα δράσεων των συμπλόκων του βαναδίου στην συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου Ex Vivo όλα τα σύμπλοκα του Βαναδίου, που συνθέσαμε στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής αναστέλλουν την συσσώρευση των αιμοπεταλίων του ανθρώπου στο φυσιολογικό τους αιματικό πλάσμα (Ex Vivo), σε αιμοπετάλια τα οποία είχαν ανοιχτές και τις τρεις φυσιολογικές οδούς συσσώρευσης. Συγκεκριμένα είχαμε τα εξής :

**Στο σύμπλοκο του Nicotivan:** Η τιμή  $IC_{50}$  του συμπλόκου κυμαίνεται για τον PAF μεταξύ 1  $\mu M$  έως 2  $\mu M$ , ενώ για το αραχιδονικό οξύ (ARA) μεταξύ 2 και 4  $\mu M$ . Η τιμή  $IC_{50}$  του Νικοτιβάν που αναστέλλει την δράση του ADP κυμαίνεται μεταξύ 20 και 30  $\mu M$ .

**Στο σύμπλοκο του Azivan:** Η τιμή  $IC_{50}$  κυμαίνεται για τον PAF μεταξύ 1  $\mu M$  – 2  $\mu M$ , ενώ για το αραχιδονικό οξύ μεταξύ 4  $\mu M$  έως 6  $\mu M$  και για το ADP μεταξύ 4 και 10  $\mu M$ .

**Στο σύμπλοκο του Pygivan:** Η τιμή  $IC_{50}$  για τον PAF κυμαίνεται μεταξύ 20 – 40  $\mu M$ , ενώ για το αραχιδονικό οξύ μεταξύ 20 – 40  $\mu M$ . Επίσης η  $IC_{50}$  για το ADP κυμαίνεται μεταξύ 80 – 120  $\mu M$ .

**Στο σύμπλοκο του Pipervan:** Η τιμή  $IC_{50}$  για τον PAF κυμαίνεται μεταξύ 20  $\mu M$  και 40  $\mu M$ , ενώ για το αραχιδονικό οξύ μεταξύ 20  $\mu M$  – 40  $\mu M$ . Επίσης η  $IC_{50}$  για το ADP κυμαίνεται μεταξύ 200  $\mu M$  και 300  $\mu M$ .

**Στο σύμπλοκο του Cadivan:** Η  $IC_{50}$  για τον PAF κυμαίνεται μεταξύ 2  $\mu M$  και 6  $\mu M$ , ενώ για το αραχιδονικό οξύ μεταξύ 2  $\mu M$  και 2,5  $\mu M$ . Επίσης η  $IC_{50}$  για το ADP κυμαίνεται μεταξύ 20  $\mu M$  και 40  $\mu M$ .

Οι υποκαταστάτες των συμπλόκων, δηλαδή το νικοτιναμίδιο, το αζίδιο του νατρίου, η πυριδίνη, η πιπεραζίνη και η κανταβερίνη εμφανίζουν επίσης ιδιότητες αναστολής των αιμοπεταλίων και από τις τρεις οδούς, αλλά τελικά η παρουσία του βαναδίου φαίνεται να ενισχύει την αντιαιμοπεταλιακή δράση των συγκεκριμένων συμπλόκων ουσιών. Συνεπώς η όλη μελέτη των εν λόγω συμπλόκων του στοιχείου Βαναδίου υποδεικνύει ότι αυτά εμφανίζουν σπουδαίες κυτταροτοξικές ιδιότητες, όπως επίσης και ιδιότητες αναστολής των αιμοπεταλίων.

Είναι πολύ σημαντικό η έρευνα επί της αιτιολογίας των εν λόγω ιδιοτήτων να εμβαθυνθεί περαιτέρω προκειμένου οι εν λόγω ουσίες να αποτελέσουν μια στερεή βάση ανάπτυξης αντικαρκινικών φαρμάκων στοχευμένης κυτταροτοξικότητας, που να περιορίζεται μόνο στα νεοπλασματικά κύτταρα και να αφήνει αλώβητα τα φυσιολογικά των ποικίλων ιστών του οργανισμού. Αυτό φαίνεται να είναι κατ' αρχάς εφικτό, αν θεωρήσουμε ότι η πλειονότητα των κακοήθων νεοπλασμάτων εμφανίζει κατά κύριο λόγο έναν ενεργειακό μεταβολισμό περιορισμένου βεληνεκούς, εστιαζόμενο ουσιαστικά στην γλυκολυτική αλυσίδα, ενώ η μιτοχονδριακή λειτουργία είναι περιορισμένη. Είναι ενδεχόμενο οι ενώσεις του Βαναδίου να λειτουργούν έτσι ώστε η γλυκόζη να μεταφέρεται κυρίως στο εσωτερικό των φυσιολογικών κυττάρων, ενώ να προκαλούν μια αυξημένη δυσχέρεια για την μεταφορά τους στο εσωτερικό των κακοήθων κυττάρων. Αν το φαινόμενο αυτό μπορεί να γενικευτεί τότε μπορούμε να οδηγήσουμε τους περισσότερους γλυκολυτικούς κακοήθεις όγκους σε μαζικό θάνατο με σημαντικό βιολογικό κέρδος για έναν πάσχοντα οργανισμό.

## 7.5 SUMMARY

In the present dissertation five novel polyvanadate complexes are being reported in the literature, with Nicotinamide, Pyridine, Piperazine, Cadaverine and Azides, as ligands. The complexes conventionally named as: **Nicotivan (1)**, **Pyrivan (2)**, **Pipervan (3)**, **Cadivan (4)** and **Azivan (5)** were synthesized and fully identified, by using several physical-chemical methods. Furthermore the five novel vanadium complexes are submitted to complicate and extended bio-medical experimental examinations, in order to qualify their antitumor and their cytotoxic activities.

**Chemical Data:** The reaction system  $\text{NH}_4\text{VO}_3/\text{Nicotinamide (L)}$  in distilled water gave the orange solid crystals  $(\text{LH})_4[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2] \cdot 2\text{L} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , of the new complex (**Nicotivan, 1**). The hydrolysis of ions  $\text{NH}_4^+$  and the prolonged heating of the aqueous solution, of the reaction system create the suitable pH, for the formation of the anion  $[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$ . The protonation of the four molecules L takes place on pyridinic ring N-atom, that is most basic. The structure of anion is constituted by ten octahedral units  $[\text{V}^{\text{VO}}_6]$ , that have common acnes. The anion has two  $\mu_6\text{-O}^{2-}$ , two  $\mu_3\text{-O}^{2-}$ , two  $\mu_3\text{-OH}^-$ , fourteen  $\mu_2\text{-O}^{2-}$  and 8 terminal  $\text{O}_2^-$ . The coordination geometries of the ten  $[\text{V}^{\text{V}}]$  cations, are octahedrally deformed. The crystallic structure of the complex is stabilised by -H bonds and even more, by  $\pi$ - $\pi$  interactions, between the aromatic rings. The  $^1\text{H-NMR}$  spectrum in  $\text{DMSO-d}_6$  reveals the deprotonation of the anion  $[\text{V}_{10}\text{O}_{26}(\text{OH})_2]^{4-}$  and the formation of the anion  $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ . The final residue from the thermal decomposition of complex **1** is the orange  $\text{V}_2\text{O}_5$ .

The reaction of  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  with pyridine (py) in  $\text{H}_2\text{O}$ , under heating, led to the isolation of orange monocrystalline solid, of the type  $(\text{pyH})_6[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  the (**Pyrivan, 2**), with 40% yields. The stoichiometry, the diamagnetic nature and the lengths of bond V-O confirm that, all the metal centres are found in the oxidant state +5. The structure of the polyvanadate anions are constituted by ten octahedric units  $[\text{V}^{\text{VO}}_6]$ , that have common acnes. These units include two  $\mu_6\text{-O}^{2-}$ , four  $\mu_3\text{-O}^{2-}$ , fourteen  $\mu_2\text{-O}^{2-}$  and eight terminal oxo - ligands. There exist five types of crystallographically independent hydrogen bonds, that stabilise the crystalline complex structure, creating a 2D network.

The band at  $3138\text{cm}^{-1}$  of the IR spectrum is attributed to the stretching vibration of the  $\text{N}^+\text{-H}$  bond, of the  $\text{pyH}^+$  cation. The  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum of the complex **2** in  $\text{DMSO-d}_6$ , is simple and presents three signals, of the three chemically non-equivalent C- atoms of the cation  $\text{pyH}^+$ .

The final residue of thermal degradation of the complex **2** is the orange  $\text{V}_2\text{O}_5$ .

The reaction system  $\text{NH}_4\text{VO}_3/\text{piperazine (pipz)}$  in  $\text{CH}_3\text{COOH}$  1M, heated on water bath at  $80^\circ\text{C}$ , gave orange lustrous ionic, multilateral monocrystals of  $[(\text{L}'\text{H}_2)(\text{VO}_3)_2]_n$  (**Pipervan, 3**), where  $\text{L}'\text{H}_2$  is the 1,2-diaminobutane dication. The oxidative transformation of pipz in 1,2-diaminobutane emanates from a complicated redox reaction, in which three molecules pipz are reduced to L (that then become doubly protonated), while the fourth molecule is

oxidised to pyrazine, that remains in the solution. The complex structure contains the anionic chains of  $[(VO_3)^-]_n$ , each one constituted by infinite number of tetrahedron  $[VO_4]$  units, every one of them having two common apices, with its two neighbouring. The coordination environment around the  $[V^V]$  is tetrahedral, and the distance between two neighbouring metal centres is 3.417Å. The crystalline structure of **3** is stabilised by -H bonds. In the IR spectrum of the complex **3**, the two powerful bands located at 927 and 913 $cm^{-1}$  are attributed to stretching vibrations, of the terminal  $V^V=O$  bonds.

The extended heating of the sulphate salt of the 1,5-diaminopentane dication ( $L''$ ), the salt  $VOSO_4 \cdot 4H_2O$  and the NaOH in  $H_2O$  in the 80°C gave very dark green, lustrous, needle-like crystals of the compound  $(L''H_2)_3[V^{IV}_9V^V_6O_{36}] \cdot 14H_2O$ , (**Cadivan, 4**), with a yield of 30-40%. The oxidant states of the vanadium centres were calculated, with the method BVS. The same analysis showed that, all the O- atoms of decapenta-vanadate anion are  $O_2^-$ . The anion  $[V_{15}O_{36}]^{6-}$  has a ball conformation, with the fifteen metal centres, to be found on the surface of the sphere.

Each vanadium cation is 5-coordinated and it forms bonds with a terminal oxo-ligand and four bridging ( $\mu_2^-$ ,  $\mu_3^-$ ) oxide dianions. The coordination geometry of V cations is square pyramidal. The complete structural core of the complex anion is  $[V^{IV}_9V^V_6O_{15}(\mu_2-O)_3(\mu_3-O)_{18}]^{6-}$ . Despite the presence of paramagnetic centres  $V^{IV}$  and the subsequent paramagnetic nature of the **4**, its  $^1H$ -NMR spectrum in DMSO- $d_6$  presents sharp signals, that are attributed to the protons, which are connected with the C-atoms, of the cation  $[L''H_2]^{2+}$ . The powder EPR spectrum of the complex **4**, at 77°K is characteristic of the mixed valence  $[V_{15}O_{36}]^{n-}$  ions. The active magnetic moment value of the complex **4** at 300°K (4.30 B.M.) implies significant antiferromagnetic exchange interactions. The final residue of thermal degradation of the complex **4**, is the orange  $V_2O_5$ .

The reaction system  $VOSO_4 \cdot 4H_2O/H_2O/NaN_3/NaOH$  in distilled water, under heating led to Khaki-dark green, lustrous monocrystals, of the novel 3D polymeric, mixed valence state complex,  $[V^{IV}_{11}V^V_7Na_{10}O_{44}(N_3)(H_2O)_{32}] \cdot H_2O\}_n$  (**Azivan, 5**), with output 35-40%. The crystal structure of this complex is constituted from anions  $[V^{IV}_{11}V^V_7O_{44}(N_3)]^{10-}$ , 1D cationic chains, with repeated structural unit, of the  $[Na_{10}(H_2O)_{32}]^{10+}$  and lattice  $H_2O$  molecules. The anions are connected with the cationic chains, forming a 3D polymeric network. The bonding positions of the anions, with the cationic chains are the terminal oxo-ligands of the polyoxo-vanadate anion. The vanadate anion has spherical structure it enclaves an azide anion, which does not form chemical bonds with V-centres. Each anion is the sum of fifteen square pyramids  $[VO_5]$ , that are sharing common apices and apices. From the 44 oxo-ligands, the eighteen are terminal, the six  $\mu_2$  and the remainder  $\mu_3$ . The  $Na^+$  cations are 6- and 5-coordinated, with the water-ligands to be terminals and bridging. In the IR spectrum of the novel complex **5**, the two strong bands at 962 and 940 $cm^{-1}$ , are attributed to the  $V^V=O$  and  $V^{IV}=O$ , stretching vibrations respectively, of the terminal bonds.

**Biomedical Data:** The biological activity of the five novel vanadium complexes, presented in this thesis (Nicotivan, Azivan, Pyrivan, Pipervan, Cadivan), is attributed to the



fact that they present certain structural analogies, as the anionic polyoxo-vanadate structure, of the general cluster  $[V_xO_yOH_z]^{n-}$ , which appears to have decisive importance, for the biological operations, of the complexes in question. In this doctoral thesis, we have studied certain fundamental biological activities of the five complexes. Concretely we have applied them **A)**- to the cytotoxic experiments in three different types of cells, that is: a)- in the malignant cells of Wistar rat leiomyosarcoma, b)-in malignant MCF-7 cancer cells, of the human breast, as well as c)- in the MRC-5 mouse cells of physiologic embryonic fibroblast type.

We have applied them also separately, in **B)**- the cytotoxic mechanism of the malignant LMS type of leiomyosarcomatic cells, as this is revealed by the incorporation of the fluorizing annexin, by using the flow cytometric method, where apoptotic phenomenon has been activated. **C)**- We have also separately studied the ex vivo potential of the five complexes, in the accumulative operation of human platelets, by activating the platelets via the three distinguished accumulation paths, the ADP path, the PAF pathway and the path of arachidonic acid. In addition there were been studied a)-the cytotoxicity of the five ligands, as well as b)-the corresponding activities of these ligands, in the platelet aggregation. The five novel complexes which we dealt with, in this dissertation presented cytotoxic action in malignant LMS cells, while in the same time they did not present any significant activity against the physiologic fibroblasts.

The  $IC_{50}$  in the malignant cells was according the sequence: Cadivan ( $1,225 \pm 0,238 \mu M$ ) > Azivan ( $2,8 \mu M$ , LMS cells) > Nicotivan ( $4,767 \pm 0,525 \mu M$ ) > Pyrivan ( $10,6 \pm 0,883 \mu M$ ) > Pipervan ( $15,9 \pm 0,455 \mu M$ ). In line MCF-7 the  $IC_{50}$  values of the complexes are at line: Pyrivan ( $16,7 \pm 0,23$ ) > Pipervan ( $16,23 \pm 0,74$ ) > Nicotivan ( $6,93 \pm 0,12$ ) > Azivan ( $3,4 \pm 0,37$ ) > Cadivan ( $2,36 \pm 0,37$ ). In physiologic fibroblasts and in the MRC-5 line the  $IC_{50}$  values of the novel complexes present activities, following the order: Pipervan ( $34,23 \pm 1,35$ ) > Azivan ( $12,93 \pm 1,33$ ) > Cadivan ( $2,43 \pm 0,13$ ) > Pyrivan ( $12,3 \pm 0,21$ ) > Nicotivan ( $9,83 \pm 0,34$ ). The  $IC_{50}$  values of the five ligands present the following order: Piperazine ( $126,6 \pm 1,6$ ) > Pyridine ( $107,6 mM \pm 3,2$ ) > Nicotinamide ( $47,4 mM \pm 1,3$ ) > Cadaverine ( $10,8 mM \pm 0,4$ ) > Sodium Azide ( $2,3 mM \pm 0,7$ ).

In the experimental results of flow cytometry in LMS cells, of Wistar rats the control of the leiomyosarcomatic cells LMS of Wistar rats, with the method of flow cytometry showed that affording the five different vanadium complexes, in doses equal to the  $IC_{50}$  of each of them, they resulted in high percentage of deaths, via apoptotic phenomena.

All of the new complexes appear important activities, with the more powerful of them, towards the total apoptotic phenomena. In the collective apoptotic phenomena the activity of the complexes follow the order: Azivan (60,16%) > Pipervan > (57,97%) > Cadivan (53,76%) > Nicotivan (46,33%) > Pyrivan (43,75%), in comparison with the Control value, (3,22%). From the experimental results of the ex vivo activity of the vanadium complexes, in the human platelet aggregation, we are driven in the conclusion that all of them inhibit the human platelet aggregation, in the human plasma (ex vivo), in platelets

which had free all the three physiologic aggregation pathways. Specifically the followings results were obtained:

**For the Nicotivan Complex:** The  $IC_{50}$  value of the complex for PAF ranges between  $1\mu\text{M}$  to  $2\mu\text{M}$ , while for arachidonic acid (ARA) between 2 and 4  $\mu\text{M}$ . The value  $IC_{50}$ , at which Nicotivan inhibits the action of ADP, ranges between 20 and 30  $\mu\text{M}$ .

**For the Azivan Complex:** The  $IC_{50}$  value for PAF ranges between  $1\mu\text{M}$  -  $2\mu\text{M}$ , while for arachidonic acid between 4  $\mu\text{M}$  and 6  $\mu\text{M}$  and for ADP between 4 and 10  $\mu\text{M}$ .

**For the Pyrivan Complex:** The  $IC_{50}$  value for PAF, ranges between 20 - 40  $\mu\text{M}$ , while for arachidonic acid between 20 - 40  $\mu\text{M}$ . Also the  $IC_{50}$  for ADP ranges between 80 - 120  $\mu\text{M}$ .

**For the Pipervan Complex:** The  $IC_{50}$  value for PAF ranges between 20  $\mu\text{M}$  and 40  $\mu\text{M}$ , while for arachidonic acid between 20  $\mu\text{M}$  - 40  $\mu\text{M}$ . Also the  $IC_{50}$  value for ADP ranges between 200  $\mu\text{M}$  and 300  $\mu\text{M}$ .

**For the Cadivan Complex:** The  $IC_{50}$  value for PAF ranges between 2  $\mu\text{M}$  and 6  $\mu\text{M}$ , while for arachidonic acid between 2  $\mu\text{M}$  and 2,5  $\mu\text{M}$ . Also the  $IC_{50}$  value for ADP ranges between 20  $\mu\text{M}$  and 40  $\mu\text{M}$ .

The organic ligands of these vanadium complexes, that is the nicotinamide, the sodium azide, the pyridine, the piperazine and the cadaverine, they had also anti-aggregating effects of platelets, but finally the presence of vanadium appears to promote the antiplatelet activity of the particular complex substances. Consequently the whole study of the proposed vanadium complexes indicates that all these substances present significant cytotoxic properties, as well as platelet aggregation inhibition. It is very important further research on the mechanisms of action of these substances, in order to constitute a rigid base on the studies of anticancer drugs with targeted cytotoxicity, which would be exclusively confined on neoplastic cells and would leave harmless the physiological cells, of the various tissues of the organism.

This seems to be firstly feasible, if we consider that the majority of the malignant neoplasms present mainly an energetic metabolism, of limited range, substantially focused in the glycolytic chain, while the mitochondrial operation is limited. It is possible that vanadium compounds operate in such a manner, that the glucose to be transported mainly, in the interior of physiologic cells, while they cause increased hindrance for its transfer in the interior of malignant cells. If this phenomenon can be generalised, then we can lead the most of the glycolytic malignant tumors, into massive death, with important biological benefit for a suffering human organism.

## 7.6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

### A

- Aaronsons S.A., "Growth Factors and Cancer", Science, Volume 254, No.5035, pp.1146-1153, 1991.
- AAT Bioquest Inc., "Photometric Detection of Nicotinamide Adenine Dinucleotides", Product Technical Information Sheet, 520 Mercury Drive, Sunnyvale, CA 94085, USA, Last Updated July 2012.
- Abdellah M.A., Hadjikakou S.K., Hadjiliadis N., Kubicki M., Bakas T., Kourkoumelis N., Simos Y.V., Karkabounas S., Barsan M.M., Butler I.S., "Synthesis, Characterization, and Biological Studies of Organotin(IV) Derivatives with o- or p-Hydroxybenzoic Acids", Bioinorganic Chemistry and Applications, Volume 2009, 542979, 12 pages, Article ID 542979, 2009.
- AbdEl-Maksoud S.A., and Fouda A.S., "Some Pyridine Derivatives as Corrosion Inhibitors for Carbon Steel in Acidic Medium", Materials Chemistry and Physics, Volume 93, Issue 1, pp. 84–90, 2005.
- Abderhalden Emil, Hall William T. and Defren George, "Text-Book of Physiological Chemistry in Thirty Lectures", First Edition, J. Wiley and Sons, New York, 1908.
- Abderhalden Emil, "Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden", Biochemische Untersuchungs methoden, Bands I-X, Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien, N.Friedrichstrasse 105b, 1909-1919.
- Abderhalden Emil, "Lehrbuch der Physiologischen Chemie", Fourth Edition, Urban und Schwarzenberg, Berlin and Vienna, 1920–1921.
- Abdullah Mohammad A. and Tofiq D. Ibrahim, "Synthesis and Characterization of a Novel Biological Mixed Organometallic Chromium (III) Complex of Potential Allyl -Sulfur Compounds of Garlic, Allicin", Journal of Zankoy Sulaimani (JZS), Part A, Volume 5(1), pp. 11-26, 2002.
- Abeysinghe P.M., and Harding M.M., "Antitumour Bis-(Cyclopentadienyl) Metal Complexes: Titanocene and Molybdocene Dichloride and Derivatives", Dalton Transactions, Volume 2007, Issue 32, pp. 3474-82, 2007.
- Aboulker P., and Thomas J., "Piperazine and Renal Lithiasis", Article in French, Semaine Hopitaux, Volume 43(43), pp. 2663-6, 1967.
- Ackermann D., "Cadaverine Structure", Zeitschr. Physiol. Chem., Volume 18, p.1922, 1885.
- Ackermann D., "Ein Beitrag zur Chemie der Fäulnis", Zeitschr. Physiol. Chem., Volume 54, pp. 1-31, 1907. *ibid*: Volume 54, p. 16, 1907.
- Ackermann D., "Üeber die Entstehung von Fäulnisbasen", Zeitschr. Physiol. Chem., Volume 60, pp. 482-501, 1909.
- Ackermann D., "Ein Fäulnisversuch mit Lysinfreiem Eiweiss", Zeitschr. Physiol. Chem., Volume 64, pp. 91-94, 1909
- Ackermann D., "Die Isolierung der Fäulnisbasen", Band II, pp. 1002-43, Urban und Schwarzenberg, Berlin und Wien, 1910.
- Adams Julian, and Kauffman Michael, "Development of the Proteasome Inhibitor Velcade (Bortezomib)", Cancer Investigation, Volume 22(2) , pp. 304-311, 2004.
- Addison Anthony W., Rao Nageswara T., Reedijk Jan, van Rijn Jacobus and Verschoor Gerrit C., "Synthesis, Structure and Spectroscopic Properties of Copper(II) Compounds Containing Nitrogen-Sulphur Donor Ligands; the Crystal and Molecular Structure of Aqua[1,7- bis-(N-

- Methylbenzimidazol-2-yl)- 2,6- Dithiaheptane]- Copper (II) Perchlorate", *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, Issue 7, pp. 1349-1356, 1984.
- Agarwal S., Tiwari H.P., and Sharma J.P., "Pyridinium Chlorochromate: an Improved Method for its Synthesis and Use of Anhydrous Acetic Acid as Catalyst for Oxidation Reactions", *Tetrahedron*, Volume 46(12), pp. 4417–4420, 1990.
  - Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), "Toxicological Profile for Pyridine", TP 91/24. US Dept Health and Human Services, Public Health Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1992.
  - Aghabozorg Hossein, Motyeian Elham, Aghajani Zahra, Ghadermazi Mohammad and Gharamaleki Jafar Attar, "Piperazinium Aquabis-(Oxalato)-Oxidovanadate(IV) Dihydrate", *Acta Crystallographica*, Volume E63, pp. m1754 – m1755, 2007.
  - AgroChemEx, "Pyridine's Development in China", Editor in Chief: Connie Ao, China Crop Protection Industry Association (CCPIA), Room 920, Anhuili 4th Area, Chaoyang District, Beijing, China Postal Code: 100723, [www.ccpia.org.cn/en](http://www.ccpia.org.cn/en), [www.agrochemex.org/en](http://www.agrochemex.org/en) (exhibition), 2010.
  - Aguirre J.D., Angeles-Boza A.M., Chouai A., Turro C., Pellois J.P., and Dunbar K.R., "Anticancer Activity of Heteroleptic Diimine Complexes of Dirhodium: A Study of Intercalating Properties, Hydrophobicity and in Cellulo Activity", *Dalton Transactions*, Volume 2009, 48, pp. 10806-12, 2009.
  - Ahmad Iqbal, Ansari Izhar A., and Ismail Tehmina, "Effect of Nicotinamide on the Photolysis of Cyanocobalamin in Aqueous Solution", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 31, Issue 2, pp. 369–374, 2003.
  - Ahuja I.S., and Singh Raghuvir, "1,3-Propanediamine, 1,4-Butanediamine (Putrescine) and 1,5-Pentanediamine (Cadaverine) Complexes with Zn(II), Cd(II) and Hg(II) Halides and Pseudohalides", *Journal of Coordination Chemistry*, Volume 4, Issue 3, pp. 181-190, 1975.
  - Aitken William Sir, "Animal Alkaloids, the Ptomaines, Leucomaines and Extractives, in their Pathological Relations", Volumes I, II, III, IV, V, VI, VII and VIII, P. Blakiston and Son Co., London and Philadelphia, Second Edition, A26 p.1, 1890.
  - Aitken William Sir, "The Science and Practice of Medicine", Third Edition, Volumes I and II, Smith Elder and Co., London, United Kingdom, 1885-1900.
  - AIST, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, "Spectral Database for Organic Compounds (SDBS)", NMR: Yamaji T., et al- MS: Wasada N. -ESR: Someno K.- IR: Kinugasa S., et al. - RAMAN: Tanabe K., and Hiraishi J., Tsukuba Science City, Ibaraki, Tokyo Japan, 2013. <http://sdb.sriodb.aist.go.jp>
  - Akane Suzukia, Tribidasari A. Ivandinia, Akihide Kamiyac, Satoshi Nomurad, Mikito Yamanukid, Koichi Matsumotod, Akira Fujishimae, and Yasuaki Einagaa, "Direct Electrochemical Detection of Sodium Azide in Physiological Saline Buffers Using Highly Boron-doped Diamond Electrodes", *Sensors and Actuators*, Volume B 120, pp. 500-507, 2007.
  - Alama Angela, Tasso Bruno, Novelli Federica, and Sparatore Fabio, "Organometallic Compounds in Oncology: Implications of Novel Organotins as Antitumor Agents", *Review Article, Drug Discovery Today*, Volume 14(9-10), pp. 500-8, 2009.
  - Alama Angela, Viale Maurizio, Cilli Michele, Bruzzo Cristina, Novelli Federica, Tasso Bruno, and Sparatore Fabio, "In vitro Cytotoxic Activity of Tri-n-butyltin(IV)-lupinyl-sulfide Hydrogen Fumarate (IST-FS 35) and Preliminary Antitumor Activity in vivo", *Investigational New Drugs*, Volume 27, Issue 2, pp 124-130, 2009.
  - Albihn A., Johnsen J.I., and Henriksson M.A., "MYC in Oncogenesis and as a Target for Cancer Therapies", *Advances in Cancer Research*, Volume 107, pp. 163-224, 2010.

- Alessio E., Mestroni G., Bergamo A., and Sava G., "Ruthenium antimetastatic agents", *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 4(15), pp. 1525-35, Review, 2004.
- Alfa Aesar, "Pyridines" and "Pyridine and Pyridine hydrochloride MSDS", Alfa Aesar GmbH & Co KG, A Johnson Matthey Company, Postfach 110765, 76057, Karlsruhe, Germany, 2013. [www.alfa.com](http://www.alfa.com).
- Ali H., and van Lier J.E., "Metal Complexes as Photo and Radoisensitizers", *Chemical Reviews*, Volume 99, pp. 2379-2450, 1999.
- Allardyce C.S., Dyson P.J., Ellis D.J., and Heath S.L., "[Ru(eta(6)-p-cymene)Cl<sub>2</sub>(pta)], (pta=1,3,5-Triaza-7-phosphatricyclo[3,3,1,1]-Decane): A Water Soluble Compound that Exhibits pH Dependent DNA Binding Providing Selectivity for Diseased Cells", *Chemical Communications*, pp. 1396–1397, 2001
- Allardyce C.S., and Dyson P.J., "Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects", *Platinum Metals Review*, Volume 45(2), pp. 62-69, 2001.
- Allen Alfred Henry, "Allen's Commercial Organic Analysis", Vol. VII: "Animals Bases", Chapter 4, pp. 195–340 and "Ptomaines or Putrfaction Bases", Chapter 5, pp. 341-356. Fifth Edition, Thirteen Volumes (I-XIII), Edited by Davis W.A., Sadtler S.S., Publisher: P.Blakiston's Son and Co., Philadelphia, USA, 1913.
- Allen Alfred Henry, "The Chemistry of Urine, A Practical Guide to the Analytical Examination of Diabetic, Albuminous and Gouty Urine", First Edition, Publisher: J & A Churchill, 11 New Burlington Street, London, United Kingdom, 1895.
- Altamirano-Lozano M., Valverde M., Alvarez-Barrera L., Molina B., and Rojas E., "Reprotoxic and Genotoxic Studies of Vanadium Pentoxide V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in Male Mice. II. Effects in Several Mouse Tissues", *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, Volume 19, pp. 243–55, 1999.
- American Pacific Corporation (AMPAC), "SEP® 100 a Safe Broad-Spectrum Pesticide", Safety Data Sheet, 3883 Howard Hughes Parkway, Suite 700, Las Vegas, NV 89169, USA, 2013.
- Anderson Von Th., "Producte der Trocknen Destillation Thierischer Materien", *Annalen der Chemie und Pharmacie*, Volume 70, p. 32, 1849 and "Ueber die Producte der Trocknen Destillation Thierischer Materien", *Annalen der Chemie und Pharmacie*, Volume 80, p. 44, 1851 and *Transactions of Royal Society of Edinburg*, Volume 16, p. 123, 1849.
- Andorsky D.J., and Timmerman J.M., "Interleukin-21: Biology and Application to Cancer Therapy", *Review Article, Expert Opinion on Biological Therapy*, Volume 8(9), pp. 1295-307, 2008.
- Angelotti T., Mireles S., and McMahon D., "Anesthetic Implications of a Near-Lethal Sodium Azide Exposure", *Anesthesia and Analgesia*, Volume 104, pp. 229-230, 2007.
- Angelusiu M.V., Almajan G.L., Rosu T., Negoiu M., Almajan E.R., and Roy J., "Copper (II) and Uranyl(II) Complexes with Acylthiosemicarbazide: Synthesis, Characterization, Antibacterial Activity and Effects on the Growth of Promyelocytic Leukemia Cells HL-60", *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 44(8), pp. 3323-3329, 2009.
- Ansari K.I., Grant J.D., Kasiri S., Woldemariam G., Shrestha B., Mandal S.S., "Manganese (III)-Salens Induce Tumor Selective Apoptosis in Human Cells", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 103(5), pp. 818-26, 2009.
- Antoine F.R., Wei C.I., Otwell W.S., Sims C.A., Littell R.C., Hogle A.D., and Marshall M.R., "Analysis of Biogenic Amines and their Precursor Free Amino Acids in Mahi-Mahi (*Coryphaena Hippurus*)", *Journal of Food Biochemistry*, Volume 26, Issue 2, pp. 131–152, 2002.
- Antsyshkina A.S., Sadikov G.G., Koksharova T.V., Gritsenko I.S., and Sergienko V.S., "Synthesis, Crystal and Molecular Structure of Tetraaqua-bis-(Nicotinamide)-Cobalt(II) Phthalate

- Dehydrate", *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, Volume 54, Issue 8, pp 1310-1315, 2009.
- Arai Isao, Yamamoto Takashi, and Naora Hirokazu, "Process for Producing Piperidine-Carboxylic Acid Amides", US6207834 (B1) 2001, EP0976735 (B1) - 2003-10-29.
- Aras M.A., Hara H., Hartnett K.A., Kandler K., and Aizenman E., "Protein Kinase C Regulation of Neuronal Zinc Signaling Mediates Survival during Preconditioning", *Journal of Neurochemistry*, Volume 110(1), pp. 106-107, 2009.
- Arayne M.S., Sultana N., Haroon U., Zuberi M.H., and Rizvi S.B.S., "Synthesis, Characterization and Biological Activity of a Series of Carboxamide Derivatives of Ofloxacin", *Archives of Pharmacal Research*, Volume 33(12), pp. 1901-1909, 2012.
- Armbruster Erich, Chuck Roderick J., Dettwiler Hans-Rudolf, Heveling Josef, Rohner Markus and Utiger Lukas, "Process for Preparing Nicotinamide", US Patent 5719045 A, CA2187979A1, 1998.
- Armstrong E.M., Beddoes R.L., Calviou L.J., Charnock J.M., Collison D., Ertok N., Naismith J.H., and Garner D.C., "The Chemical Nature of Amavadine", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 115, pp. 807-808, 1993.
- Aroney M. and Le Fevre R.J.W., "Molecular Polarizability. The Conformation of Various n-Substituted Anilines, Piperidines, and Piperazines", *Journal of the Chemical Society*, Paper Number 436, Volume 1960, Issue 0, pp. 2161-68, 1960.
- Arrieta J.M., "Total Synthesis of Decavanadates of Organic Bases. X-Ray Crystal Structures of Four Decavanadates", *Polyhedron*, Volume 11, Issue 23, pp. 3045–3068, 1992.
- Aschner M., and Aschner J.L., "Cellular and Molecular Effects of Trimethyltin and Triethyltin: Relevance to Organotin Neurotoxicity", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Volume 16(4), pp. 427-35, 1992.
- Asgedom Gebray, Sreedhara Alavattam, Kivikoski Jussi, and Rao Chebrolu P., "Synthesis and Characterization of Vanadyl(IV) Complexes of Schiff Bases Derived from Anthranilic Acid and Salicylaldehyde (or its Derivatives) or Acetylacetone. Single Crystal X-ray Structures of the Oxidized Products", *Polyhedron*, Volume 16, Issue 4, pp. 643–651, 1997.
- AshaRani P.V., Grace Low Kah Mun, Manoor Prakash Hande, and Suresh Valiyaveetil, "Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells", *ACS NANO*, Volume 3(2), pp. 279–290, 2009.
- Athimoolam S. and Natarajan S., "Bis- (Nicotinamidium)-Bis- [(2R,3R)- Tartrate] 1,25-Hydrate: Cations Incorporated into Hydrogen-Bonded Arrays of Anions and Water Molecules", *Acta Crystallographica*, Section E, Volume E63, Part 4, pp. 1811-1813, 2007.
- Athimoolam S. and Natarajan S., "3-(Amino-Carbonyl)- Pyridinium Trifluoro-Acetate", *Acta Crystallographica*, Volume E63, pp. 2430–2432, 2007.
- Au L., Zheng D., Zhou F., Li Z.Y., Li X., and Xia Y., "A Quantitative Study on the Photothermal Effect of Immuno Gold Nanocages Targeted to Breast Cancer Cells", *ACS Nano*, Volume 2(8), pp. 1645-1652, 2008.
- Aubrecht J., Narla R.K., Ghosh P., Stanek J., Uckum F.M., "Molecular genotoxicity profiles of apoptosis-inducing vanadocene complexes", *Toxicology and Applied Pharmacology*, Volume 154, pp. 228– 235, 1999.
- Aureliano Manuel, and Gândara R.M., "Decavanadate Effects in Biological Systems", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 99, pp. 979–985, 2005.
- Aureliano Manuel, and Crans Debbie C., "Decavanadate ( $V_{10}O_{28}^{6-}$ ) and Oxovanadates: Oxometalates with Many Biological Activities", 6th International Vanadium Symposium, *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 103, Issue 4, pp. 536–546, 2009.

- Avenidaño Carmen, and Menendez J. Carlos, "Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs", First Edition, Elsevier Science Inc., Linacre House, Jordan Hill, Oxford Ox2 8DP, United Kingdom, 2008. ISBN: 978-0-444-52824-7.
- Averbuch- Pouchot M.T. and Durif A., "Synthesis and Crystal Structure of Methyl Ammonium Polyvanadate  $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{VO}_3$ ", *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Serie II, Mecanique, Physique, Chimie, Sciences de l' Univers, Sciences de la Terre*, Volume 318(8), pp. 1067-1072, 1994.
- Averbuch-Pouchot M.T. and Durif A., "Preparation and Crystal Structure of Hexa- Isopropyl-Ammonium-Decavanadate Tetrahydrate", *European Journal of Solid State and Inorganic Chemistry*, Vol. 31, Number 5, pp. 351-361, 1994.
- Aw T.Y., Nicotera P., Manzo L., and Orrenius S., "Tributyltin Stimulates Apoptosis in Rats Thymocytes", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 283(1), pp. 46-50, 1990.
- Axelrod A.E., Madden R.J., and Elvehjem C.A., "The Effect of a Nicotinic Acid Deficiency upon the Coenzyme I Content of Animal Tissues", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 131(1), pp. 85-93, 1939.
- Aylward Gordon H., and Findlay Tristan J.V., "S.I. Chemical Data", Sixth Edition, 212 pages, John Wiley and Sons, Milton, Qld., Australia, 2008. ISBN 978-0-470-81638-7.

## B

---

- Badger G.M., Sasse W.H.F., "The Reaction of Metal Catalysts on Pyridines", Volume 2, pp. 179-202, in *Advances in Heterocyclic Chemistry Volumes 1-110*. Edited by A.R. Katritzky, Elsevier Inc., 1963. ISBN: 978-0-12-020602-5.
- Badmaev V., Prakash S., and Majeed M., "Vanadium: A Review of its Potential Role in the Fight Against Diabetes", *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, Volume 5, 273-291, 1999.
- Bai Y., Zhao X., Qi C., Wang L., Cheng Z., Liu M., Liu J., Yang D., Wang S., and Chai T., "Effects of Chromium Picolinate on the Viability of Chick Embryo Fibroblast", *Human and Experimental Toxicology*, Volume 33(2), 2014. 0960327113499042.
- Baik M.H., Friesner R.A., and Lippard S.J., "Theoretical Study of Cis-platin Binding to Purine Bases: Why does Cisplatin Prefers Guanine over Adenine?", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 125(46), pp. 14082-14092, 2003.
- Baker Robert J., Hashem Emtithal, Motevalli Majid, Ogilvie Helen V., and Walshe Aurora, "The Coupling of Pyridine and Dichloromethane Mediated by  $\text{UO}_2\text{Cl}_2$ ", *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, Volume 636, pp. 443-445, 2010.
- Bakke Jan M., Hegbom Ingrid, "Dinitrogen Pentoxide-Sulfur Dioxide, a New Nitrate Ion System", *Acta Chemica Scandinavica*, Volume 48, pp. 181-182, 1994.
- Βαλαβανίδης Α., και Ευσταθίου Κ., "Η Χημική Ένωση του Μήγα", Φεβρουάριος 2009", //users.sch.gr/stayrakant/lyk/par/enosimina.htm
- Balk E.M., Tatsioni A., Lichtenstein A.H., Lau J., and Pittas A.G., "Effect of Chromium Supplementation on Glucose Metabolism and Lipids. A Systematic Review of Randomized Controlled Trials", *Diabetes Care*, Volume 30(8), pp. 2154-2163, 2007.
- Balzarini Jan, Stevens Miguel, De Clercq Erik, Schols Dominique and Pannecouque Christophe, "Pyridine N-Oxide Derivatives: Unusual Anti-HIV Compounds with Multiple Mechanisms of Antiviral Action", *Oxford Journals, Medicine Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 55, Issue 2, pp. 135-138, 2005.

- Bamford C.H. and Tipper C.F.H (Editors), "Comprehensive Chemical Kinetics: Non-radical Polymerisation", Volume 15, pages 674, Published by Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1980, ISBN: 0-444-41252-2.
- Bandier Erik, "The Nicotinic Acid Content of Blood and Urine", *Acta Medica Scandinavica*, Volume 107, Issue 1, pp. 62–79, 1941.
- Banick W.M. and Holzer R.A., "Titration of Acids in Nonaqueous Solvents. Potentiometric Titration of Lithium(I) and Sodium(I) in Pyridine", *Analytical Chemistry*, Volume 35(10), pp. 1413–1415, 1963.
- Banick W.M.Jr. and Francis E.C., "Acid-Base Titrations in Nonaqueous Solvents Analysis of Dimethyl Sulphate", *Talanta*, Volume 13(7), pp. 979-83, 1966.
- Bansal Raj K., "Heterocyclic Chemistry", Third Edition, p. 216, New Age Publishers, 1999. ISBN 81-224-1212-2,
- Barbieri Federica, Viale M., Sparatore F., Favre A., Cagnoli M., Bruzzo C., Novelli F., and Alama A., "Cytotoxicity In Vitro and Preliminary Antitumor Activity In Vivo of a Novel Organotin Compound", *Anticancer Research*, Volume 20(2A), pp. 977-980, 2000.
- Barbieri Federica, Sparatore Fabio, Cagnoli Monica, Bruzzo Cristina, Novelli Federica, and Alama Angela, "Antiproliferative Activity and Interactions with Cell-cycle Related Proteins of the Organotin Compound Triethyltin(IV)-Lupinylsulfide-Hydrochloride", *Chemico-Biological Interactions*, Volume 134, pp. 27–39, 2001.
- Barceloux Donald G., "Vanadium", *Clinical Toxicology*, Volume 37, Number 2, pp. 265–78, 1999.
- Barek J., Švagrová I., and Zima J., "Polarographic and Voltammetric Determination of N,N'-Dinitrosopiperazine", *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, Volume 56, pp. 1434-1445, 1991.
- Barger George, and Dale Henry Hallett, "The Water-Soluble Active Principles of Ergot", *Journal of Physiology, Proceedings of the Physiological Society*, Volume 38, pp. 314–336, 1909.
- Barger George, "Isolation and Synthesis of p-Hydroxyphenylethylamine, an Active Principle of Ergot Soluble in Water", *Journal of the Chemical Society Transactions*, Volume 95, pp. 1123-28, 1909.
- Barger George, and Dale Henry Hallett, "Chemical Structure and Sympathomimetic Action of Amines", *Journal of Physiology*, Volume 41, pp. 19-59, 1910.
- Barger George, "The Simpler Natural Bases", *Monographs on Biochemistry*, p. 215, Longmans, Green and Co., 39 Paternoster Row, London, Great Britain, 1914.
- Barlos K., Papaioannou D. and Voliotis S., "Anwendung von N-tritylmethionin zur Darstellung von Biologisch und Synthetisch Interessanten Heterocyclen", *Liebigs Annalen der Chemie*, Volume 1988, Issue 12, pp. 1127–1133, 1988.
- Barnard P.J. and Bernes-Price S.J., "Targeting the Mitochondrial Cell Death Pathway with Gold Compounds", *Coordination Chemistry Review*, Volume 251, pp. 1889-1902, 2007.
- Barnes K.R. and Lippard S.J., "Cis-platin and Related Anticancer Drugs: Recent Advances and Insights", *Metal Ions in Biological Systems*, Volume 42, pp. 143-177, 2004.
- Barot Girish, Shahi Kimberly, Roner Michael R., and Carraher Charles E. Jr., "Synthesis, Structural Characterization and Ability to Inhibit Cancer Growth of Organotin Poly-Ethyleneglycols", *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, Volume 17, Issue 4, pp. 595-603, 2007.
- Barry Nicolas P. E., and Sadler Peter J., "Exploration of the Medical Periodic Table: towards New Targets", *Chemical Communications*, Volume 49, Issue 45, pp. 5106-5131, 2013.



- Bartkowiak D., Stempfhuber M., Wiegel T., and Bottke D., "Radiation- and Chemoinduced Multidrug Resistance in Colon Carcinoma Cells", *Strahlentherapie und Onkologie*, Volume 185(12), pp. 815-820, 2009.
- Bassetti S., Hu J., Agostino Jr. R.B., and Sherertz R.J., "Prolonged Antimicrobial Activity of Catheter Containing Chlorhexidine Silver Sulfadiazine Extends Protection Againsts Catheter Infection in vivo", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Volume 45(5), pp. 1535-1538, 2001.
- Bat-Chen W., Golan T., Peri I., Ludmer Z., and Schwartz B., "Allicin Purified from Fresh Garlic Cloves Induces Apoptosis in Colon Cancer Cells via Nrf2", *Nutr Cancer.*, Volume 62(7), pp. 947-57, 2010.
- Batterham T.J., "NMR Spectra of Simple Heterocycles", First Edition, pp. 8-24, John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 1973. ISBN: 0-471-05702-9 GD/VG.
- Baxter J.H., "Hepatic and Renal Injury with Calcium Deposits and Cirrhosis Produced in Rats by Pyridine", *American Journal of Pathology*, Volume 24, pp. 503-525, 1948.
- Behr Arno, "Angewandte Homogene Katalyse", First Edition, p. 722, Wiley-VCH, Weinheim, Deutschland, 2008. ISBN 3-527-31666-3.
- Belenky P., Bogan K.L. and Brenner C., "NAD and Metabolism in Health and Disease", *Trends in Biochemical Sciences*, Volume 32(1), pp. 12–9, 2007.
- Βελτσιστας Γ. Παναγιώτης, "Πεδίο των Εφαρμογών της Ανάλυσης και Σύνθεσης στις Βιολογικές και Βιοϊατρικές Μελέτες, σε Ερευνητικό Επίπεδο: α)-Ποσοτικές Μετρήσεις του Οξειδωτικού Στρες, β)- Σχεδιασμός, Σύνθεση και Βιολογικές Μελέτες των Οργανικών Συμπλόκων του Βαναδίου, του Κασσιτέρου και άλλων Στοιχείων, με Αντικαρκινικές και Αντιμεταστατικές Ιδιότητες, στην Αναστολή της Χημικής Καρκινογένεσης", Βιογραφικό Σημείωμα και Επιστημονικό Έργο, Σελίδα 16-19, Ιωάννινα, 2006.
- Benner R.A.Jr., Staruszkiewicz W.F., Rogers P.L., and Otwell W.S., "Evaluation of Putrescine, Cadaverine and Indole as Chemical Indicators of Decomposition in Penaeid Shrimp", *Journal of Food Science*, Volume 68, Issue 7, pp. 2178–2185, 2003.
- Benner R.A.Jr., Staruszkiewicz W.F., and Otwell W.S., "Putrescine, Cadaverine, and Indole Production by Bacteria Isolated from Wild and Aquacultured Penaeid Shrimp Stored at 0, 12, 24, and 36 Degrees C", *Journal of Food Protection*, Volume 67(1), pp. 124-33, 2004.
- Bensch W., Hug P., Reller A. and Oswald H.R., "Preparation, Crystal Structure and Thermal Behaviour of Ethylenediammonium-Vanadate", *Materials Research Bulletin*, Volume 22, pp. 577-583, 1987.
- Bergamo A., Gagliardi R., Scarcia V., Furlani A., Alessio E., Mestroni G., and Sava G., "In Vitro Cell Cycle Arrest, in Vivo Action on Solid Metastasizing Tumors, and Host Toxicity of the Antimetastatic Drug NAMI-A and Cis-platin", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Volume 289(1), pp. 559-64, 1999.
- Berisso Benjamin, "Investigación Microanalítica de la Urotropina, Licetol y Piperacina", *Microchimica Acta*, Volume 50, Issue 1-2, pp. 71-75, 1962.
- Berners-Price Susan J., Mirabelli Christopher K., Johnson Randall K., Mattern Michael R., McCabe Francis L., Faucette Leo F., Sung Chiu-Mei, Mong Shau-Ming, Sadler Peter J., and Croke Stanley T., "In Vivo Antitumor Activity and In Vitro Cytotoxic Properties of Bis-[1,2-Bis(Diphenyl-phosphino)-Ethane]-Gold(I) Chloride", *Cancer Research*, Volume 46, pp. 5486-5493, 1986.
- Bernstein Lawrence R., Tanner Trevor, Godfrey Claire, and Noll Bruce, "Chemistry and Pharmacokinetics of Gallium Maltolate, A Compound With High Oral Gallium Bioavailability",

Metal Based Drugs, Volume 7, Number 1, pp. 33-47, 2000.

- Berry Robert E., Armstrong Elaine M., Beddoes Roy L., Collison David, Ertok S. Nigar, Helliwell Madeleine, and Garner David C., "The Structural Characterization of Amavadin", *Angewandte Chemie International Edition*, Volume 38(6), pp. 795-798, 1999.
- Bertini Ivano, Gray Harry B., Lippard Stephen J., and Valentine Joan Selverstone, (Editors), "Bioinorganic Chemistry", University Science Books, Mill Valley California, USA, 1994. ISBN 0-935702-57-1.
- Berx Geert, and van Roy Frans, "Involvement of Members of the Cadherin Superfamily in Cancer", *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, Volume 1(6), a003129, pp. 1-27, 2009.
- Bevan A.P., Drake P.G., Yale J-F., Shaver A., and Posner B.I., "Peroxovanadium Compounds: Biological Actions and Mechanism of Insulin-mimetics", *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 153, pp. 49-58, 1995.
- Bichara Marcela D., and Goldman Ran D., "Magnesium for Treatment of Asthma in Children", *Canadian Family Physician*, Volume 55(9), pp. 887-889, 2009.
- Bilmes S.A., "SERS of Pyridine Adsorbed on Rhodium Electrodes", *Chemical Physics Letters*, Volume 171, Issues 1-2, pp. 141-146, 1990.
- Bino Avi, Cohen Sahmuel, and Heitner-Wirguin Carla, "Molecular Structure of a Mixed-Valence Isopolyvanadate", *Inorganic Chemistry*, Volume 21(1), pp. 429-431, 1982.
- Biotium Supplier of Fluorescent and Related Biochemical Reagents for Life Science Research and Drug Discovery, "Tetramethylrhodamine Cadaverine", Material Safety Data Sheet, Glowing Products for Science TM, 3423 Investment Blvd. Suite 8, Hayward, CA 94545 U.S.A, Revised: April 24, 2008. info@biotium.com
- Birkofer Leonhard, and Wegner Peter, "1,3-Cycloadditionen mit Trimethylsilyl-Azid. Über Isomere N-Acetyl-1,2,3-Triazole", *Chemische Berichte*, Volume 99, Issue 8, pp. 2512-2517, 1966.
- Bischler A., "Uric Acid Eliminants", *Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft*, Volume 24, pp. 717, 1891.
- Bishayee A., Karmakar R., Mandal A., Kundu S.N., and Chattrjee M., "Vanadium Mediated Chemoprevention against Chemical Hepatocarcinogenesis in Rats: Haematological and Histological Characteristics", *European Journal of Cancer Prevention*, Volume 6, pp. 58-70, 1997.
- Bishnoi Sanjay, and Rochelle Gary T., "Absorption of Carbon Dioxide into Aqueous Piperazine: Reaction Kinetics, Mass Transfer and Solubility", *Chemical Engineering Science*, Volume 55, Issue 22, pp. 5531-5543, 2000.
- Blau Fritz, "Die Destillation Pyridinmonocarbonsaurer Salze", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 21, Issue 1, pp. 1077-1078, 1888.
- Blom L., and Edelhausen L., "Determining Carbon Dioxide, Involving Absorption in Acetone or Pyridine", *Analytica Chimica Acta*, Volume 13, pp. 120-8, 1955.
- Blom L., and Kraus M.H., "A Six-Minute Determination of Carbon and Hydrogen with Titrimetric Finish", *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, Volume 205, Issue 1, pp. 50-58, 1964.
- Blum R.H., and Carter S.K., "Adriamycin. A New Anticancer Drug with Significant Clinical Activity", *Review Paper, Annals of Internal Medicine*, Volume 80(2), pp. 249-59, 1974.
- Blume-Jensen P., and Hunter T., "Oncogenic Kinase Signaling", *Nature*, Volume 411, pp. 355-365, 2001.

- Blyth Alexander Wynter, and Blyth Meredith Wynter, "Poisons: Their Effects and Detection", Fourth Edition, Enlarged, Revised and Rewritten, Charles Griffin and Company Limited, Exeter Street, Strand, United Kingdom, London, 1906.
- Bocklisch Oscar, "Über Faulnissbasen aus Fischen", Berichte, Volume 18, pp. 87-89, 1885.
- Bocklisch Oscar, "Biogenic Polyamine and Homolog of Putrescine, Produced by Decarboxylation of Lysine. Found in Cholera Discharge. Isolation", Berichte, Volume 18, pp. 1922-27, 1885.
- de Boer D., Bosman I.J., Hidvégi E., Manzoni C., Benkö A.A., dos Reys L.J., and Maes R.A., "Piperazine-like Compounds: A New Group of Designer Drugs-of-abuse on the European Market", Forensic Science International, Volume 121(1-2), pp. 47-56, 2001.
- Boese Roland, "Isotopic Polymorphism in Pyridine", Angewandte Chemie-International Edition, Volume 48, No. 4, pp. 755-757, 2009.
- Bonelli M., "Citrosalicylate of Piperazine in Therapy of Uric Acid Diathesis", Minerva Medica, Volume 45(8), pp. 221-3, 1954.
- Bonnard N., Brondeau M.T., Miraval S., Pilliere F., Protois J.C., and Schneider O., "Pyridine Caracteristiques", Fiche Toxicologique, No 85, (1/5), INRS, FT 85, Edition 2001.
- Boram Lee, Scopelliti Rosario and Severin Kay, "A Molecular Probe for the Optical Detection of Biogenic Amines", Chemical Communications, Volume 47, Issue 34, pp. 9639-41, 2011.
- Borthwick Alan D., "2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products", Chemical Reviews, Volume 112(7), pp 3641-3716, 2012.
- Botha Alfred, Paul Ida, Roux Cecilia, Kock Johan L.F., Coetzee Dennis J., Strauss Tersia, Maree Charlotte, An isolation procedure for arachidonic acid producing Mortierella species, Antonie van Leeuwenhoek, Volume 75, Issue 3, pp 253-256, 1999.
- Boyd D.W. and Kustin K., in "Advances in Inorganic Biochemistry", Eichorn G.L., and Marzilli L.G. (Editors), Volume 6, pp. 311-365, Elsevier, New York, 1984.
- Boyer I.J., "Toxicity of Dibutyltin, Tributyltin and Other Organotin Compounds to Humans and to Experimental Animals", Toxicology, Volume 55(3), pp. 253-98, 1989.
- Brabec V., and Kasparkova J., "Molecular Aspects of Resistance to Antitumor Platinum Drugs", Review Paper, Drug Resistance Updates, Volume 5(3-4), pp. 147-61, 2002.
- Bracken W.M., Sharma R.P., and Elsner Y.Y., "Vanadium Accumulation and Subcellular Distribution in Relation to Vanadate-induced Cytotoxicity in vitro", Cell Biology and Toxicology, Volume 1, pp. 259-68, 1985.
- Bradbury F.R., Campbell A., Suckling C.W., Jameson H.R., and Peacock F.C., "The Nematicidal Properties of Azides", Annals of Applied Biology, Volume 45, Issue 2, pp. 241-250, 1957.
- Brahim-Loghmani S. and Kenani A., "Apoptosis Induced by Bleomycin: Influence of Cellular Models", Review Paper, Archives de L' Institut Pasteur de Tunis, Volume 86(1-4), pp. 15-25, 2009.
- Bräse Stefan, Gil Carmen, Knepper Kerstin and Zimmermann Victor, "Organic Azides: An Exploding Diversity of a Unique Class of Compounds", Angewandte Chemie International Edition, Volume 44(33), pp. 5188-5240, 2005.
- Brauer G., "Handbook of Preparative Inorganic Chemistry", Second Edition, Volume 1: 1963 and Volume 2: 1965, Academic Press, London, United Kingdom.
- Braun von Julius Jakob, "Cadaverine", Berichte, Volume 37, pp. 3583-3588, 1904.
- Braun von Julius Jakob, und Kindler Karl, "Untersuchungen über Morphium-Alkaloide", Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Volume 49, pp. 2655-2663, 1916.

- Brazier C.R., and Bernath P.F., "Laser Spectroscopy of Calcium and Strontium Monoazide Free Radicals", *Journal of Chemical Physics*, Volume 88, pp. 2112-2117, 1988.
- Bremer H.J. and Kohne E., "The Excretion of Diamines in Human Urine. II. Cadaverine, Putrescine, 1,3-Diaminopropane, 2,2'-Dithiobis(ethylamine) and Spermidine in Urine of Patients with Cystinuria and Cystinlysinuria", *Clinica Chimica Acta*, Volume 32(3), pp. 407-18, 1971.
- Brieger Ludwig, "Weitere Untersuchungen Über Ptomaine", S. 81, Editor: Hirschwald August, Berlin, Deutschland, 1885.
- Brieger Ludwig, "Microbes Ptomaines et Maladies", Translators: Roussy Baptiste, and Winter J., Editor: Doin, Paris, France, p.235, 1887.
- Brieger Ludwig, "Über Ptomaine", Volumes 1-3, Publisher: Nabu Press, United States, 2010. ISBN-13: 9781141881420
- British Pharmacopoeia 2980, Her Majesty's Stationery Office, Volume 11, p. 557, London, United Kingdom, 1980.
- Brown Alexander Menzies, "The Animal Alkaloids, Cadaveric and Vital Ptomaines and Leucomaines Chemically, Physiologically and Pathologically Considered in Relation to Scientific Medicine", Second Edition, Volume XXV, pages 252, Hirschfeld Bros. Editor, London, 1889.
- Brown I.D. and Altermatt D., "Bond-Valence Parameters Obtained from a Systematic Analysis of the Inorganic Crystal Structure Database", *Acta Crystallographica Section B, Structural Science*, Volume 41, Part 4, pp. 244-247, 1985.
- Brown M.D., Davis M.F., Dyke J.M., Ferrante F., Levason W., Ogden J.S. and Webster M., "Synthesis, Structures and DFT Calculations on Alkaline-earth Metal Azide-crown Ether Complexes", *Chemistry-A European Journal*, Volume 14(8), pp. 2615-2624, 2008.
- Browning E., "Pyridine", In: "Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents", pp. 304-309, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1965.
- Brunton T.L., "Alkaloids Formed by Putrefaction. Ptomaines", Section from the Book: "A Text-Book of Pharmacology, Therapeutics and Materia Medica", Third Edition, Publisher: Macmillan and Co., London, 1885.
- Bruttel Peter, "Non-Aqueous Titration of Acids and Bases with Potentiometric Endpoint Indication", *Metrohm Monograph*, Printed in Switzerland by Metrohm Ltd., CH-9101 Herisau, 8.024.5003, 08.1999.
- Bryan M.C., Whittington D.A., Doherty E.M., Falsey J.R., Cheng A.C., Emkey R., Brake R.L., and Lewis RT., "Rapid Development of Piperidine Carboxamides as Potent and Selective Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibitors", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 55(4), pp. 1698-705, 2012.
- Buczowska Magdalena Karolina, "Synthesis, Characterization, Antitumor and Antimicrobial Activities of Heterocyclic Transition Metal Complexes", PhD Thesis, an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Bundesland Mecklenburg-Vorpommern, Greifswald, Bundesrepublik Deutschland, Mai 2011.
- Burdock G.A., (Editor), "Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients", Vol. II, Third Edition, CRC Press, Boca Raton, 1995. ISBN 0-8493-2710-5.
- Burkhardt Elizabeth, "Pyridine Borane Complexes", EP 2 066 631 B1, European Patent Office (EPO), Munich Headquarters Erhardtstrasse 27, 80469 Munich, Germany, Official Journal, Special Edition 3, 2007.

- Burrows George H., and King Louis A., "The Free Energy Change that Accompanies Hydrogenation of Pyridines to Piperidines", *Journal of the American Chemical Society* Volume 57(10), pp. 1789-1791, 1935.
- Burrows P.E., Sapochak L.S., McCarty D.M., Forrest S.R., and Thompson M.E., "Metal Ion Dependent Luminescence Effects in Metal Tris-quinolate Organic Heterojunction Light Emitting Devices", *Applied Physics Letters*, Volume 64, Number 20, pp. 2718-2720, 1994.
- Butler R.N., Stephens John C., and Burke Luke A., "First Generation of Pentazole (HN<sub>5</sub>, Pentazolic acid), the Final Azole, and a Zinc Pentazolate Salt in Solution: A New N-Dearylation of 1-(p-Methoxyphenyl)-Pyrazoles, a 2-(p-Methoxyphenyl)-Tetrazole and Application of the Methodology to 1-(p-Methoxyphenyl)-Pentazole", *Chemical Communication*, Issue 8, pp. 1016-1017, 2003.
- Buttery R.G., Seifert R.M., Guadagni D.G., and Ling L.C., "Characterization of Volatile Pyrazine and Pyridine Components of Potato Chips", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 19(5), pp. 969-971, 1971.
- Byrska Bogumila, Zuba Dariusz, and Stanaszek Roman, "Determination of Piperazine Derivatives in Legal Highs", *Problems of Forensic Sciences*, Volume LXXXI, pp. 101-113, 2010.

## C

- 
- Cagnoli M., Alama A., Barbieri F., Novelli F., Bruzzo C., and Sparatore F., "Synthesis and Biological Activity of Gold and Tin Compounds in Ovarian Cancer Cells", *Anticancer Drugs*, Volume 9(7), pp. 603-10, 1998.
  - Çakır Semiha, Biçer Ender, Aoki Katsuyuki, and Coşkun Emine, "Structural Features of a New [Fe(Nicotinamide)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>][Fe(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>](SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O Complex", *Crystal Research and Technology*, Volume 41(3), pp. 314-320, 2006.
  - Cam M.C., Brownsey R.W., and McNeill J.H., "Mechanisms of Vanadium Action: Insulin-Mimetic or Insulin Enhancing Agent?", *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, Volume 78, pp. 829-847, 2000.
  - Camenisch U., and Nageli H., "XPA Gene, its Product and Biological Roles", *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Volume 637, pp. 28-38, 2008.
  - Cameron B.R., Darkes M.C., Yee H., and Olsen P., "Ruthenium (III) Polyaminocarboxylate Complexes: Efficient and Effective Nitric Oxide Scavenger", *Inorganic Chemistry*, Volume 42, pp. 1868-1876, 2003.
  - Camins A., Crespo-Biel N., Junyent F., Verdaguer E., Canudas A.M., and Pallàs M., "Calpains as a Target for Therapy of Neurodegenerative Diseases: Putative Role of Lithium", *Review, Current Drug Metabolism*, Volume 10(5), pp. 433-47, 2009.
  - Canepa E.T., Scassa M.E., Ceruti J.M., Marazita M.C., Carcagno A.L., Sirkin P.F., and Ogara M.F., "INK4 Proteins, a Family of Mammalian CDK Inhibitors, with Novel Biological Functions", *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, Volume 59(7), pp. 419-426, 2007.
  - Cantley L.C., Josephson L. Jr., Warner R., Yanagisawa M., Lechene C., and Guidotti G., "Vanadate is a Potent (Na, K)-ATPase Inhibitor Found in ATP Derived from Muscle", *The Journal of Biological Chemistry*, Volume 252(21), pp. 7421-7423, 1977.
  - Capella L.S., Alcantara J.S., Maura-Neto V., Lopes A.G., and Capella M.A., "Vanadate is Toxic to Adherent-Growing Multidrug-Resistant Cells", *Tumor Biology*, Volume 21, pp. 54-62, 2000.
  - Carpenter K.J., and Laguna J., "Raw Versus Processed Corn in Niacin-deficient Diets", *Journal of Nutrition*, Volume 45(1), pp. 21-8, 1951.

- Carraher C.E., Roner Michael R., Shahi Kimberly, Ashida Yuki, and Barot Girish, "Synthesis and Initial Cell Lines Result of Organotin Polyethers Containing Diethylstilbestrol", *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers*, Volume 18, Issue 1, pp. 180-188, 2008.
- Caruso F., and Rossi M., "Antitumor Titanium Compounds and Related Metallocenes", *Metal Ions in Biological Systems*, Volume 42, pp. 353-84, 2004.
- Casini A., Hartinger C., Gabbiani C., Mini E., Dyson P.J., Keppler B.K., and Messori L., "Gold (III) Compounds as Anticancer Agents: Relevance of Gold-protein Interactions for their Mechanism of Action", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 102, pp. 564-575, 2008.
- Castellano Eduardo E., Piro Oscar E., Parajon-Costa Beatriz S., and Baran Enrique J., "Crystal Structure and Vibrational Behaviour of Tetraqua-di-(Nicotinamide)-M(II)-Saccharinates, with M(II)=Co, Ni, Zn", *Zeitschrift für Naturforschung*, Volume 57b, pp. 657–660, 2002.
- Catz P., Shinn W., Kapetanovic I.M., Kim H., Kim M., Jacobson E.L., Jacobson M.K., and Green C.E., "Simultaneous Determination of Myristyl Nicotinate, Nicotinic Acid, and Nicotinamide in Rabbit Plasma by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Using Methyl-ethyl-ketone as a Deproteinization Solvent", *Journal of Chromatography*, Volume B 829(1-2), pp. 123-35, 2005.
- Chabner Bruce A., and Longo Dan L. (Editors), "Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice", Fifth Edition, Pages: 848, Lippincott Williams and Wilkins, 2010. ISBN-13: 9781605474311.
- Chakraborty T., Chatterjee A., Saralaya M.G., Dhachinamoorthi D., and Chatterjee M., "Vanadium Inhibits the Development of 2-Acetylaminofluorene-Induced Premalignant Phenotype in a Two-Stage Chemical Rat Hepatocarcinogenesis Model", *Life Sciences*, Volume 78(24), pp. 2839-2851, 2006.
- Chakravarty P.K., Ghosh A., and Chowdhury J.R., "Zinc in Human Malignancies", *Neoplasma*, Volume 33, pp. 85–90, 1986.
- Chande V.T., and Skoner D.P., "A Trial of Nebulized Magnesium Sulfate to Reverse Bronchospasm in Asthmatic Patients", *Annals of Emergency Medicine*, Vol. 21(9), pp. 1111-1115, 1992.
- Chang K.L., Hung T.C., Hsieh B.S., Chen Y.H., Chen T.F., and Cheng H.L., "Zinc at Pharmacologic Concentrations Affects Cytokine Expression and Induces Apoptosis of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells", *Nutrition*, Volume 22, pp. 465–74, 2006.
- Chasapis C.T., Hadjikakou S.K., Garoufis A., Hadjiliads N., Bakas T., Kubicki M., and Ming Y., "Organotin(IV) Derivatives of L-Cysteine and Their In Vitro Anti-Tumor Properties", *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Volume 2(1-2), pp. 43-54, 2004.
- Chaubey Ajit, Pandeya S.N., "Pyridine. A Versatile Nucleuse in Pharmaceutical Field", *Review Article, Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Volume 4(4), pp. 5-8, 2011.
- Chen D., Milacic V., Frezza M., and Dou Q.P., "Metal Complexes, their Cellular Targets and Potential for Cancer Therapy", *Review Paper, Current Pharmaceutical Design*, Volume 15(7), pp. 777-91, 2009.
- Chen Qin, and Zubieta Jon, "Coordination Chemistry of Soluble Metal Oxides of Molybdenum and Vanadium", *Original Research Article, Coordination Chemistry Reviews*, Volume 114, Issue 2, pp. 107-167, 1992.
- Chen X., Tang L.-J., Sun Y.-N., Qiu P.-H., and Liang G., "Syntheses, Characterization and Antitumor Activities of Transition Metal Complexes with Isoflavone", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 104, pp. 379-384, 2010.
- Chichibabin A.E., "Über Kondensation der Aldehyde mit Ammoniak zu Pyridinebasen", *Journal für Praktische Chemie*, Volume 107, pp.122, 1924 and *Journal of Russian Physical Chemistry Society*, Volume 37, p. 1229, 1906.

- Chikh Z., Ha-Duong N.T., Miquel G., and El Hage Chahine J.M., "Gallium Uptake by Transferrin and Interaction with Receptor 1", *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, Volume 12(1), pp. 90-100, 2007.
- Chitambar C.R., "Gallium Compounds as Antineoplastic Agents", *Current Opinion in Oncology, Review*, Volume 16(6), pp. 547-52, 2004.
- Christe Karl O., "Recent Advances in the Chemistry of  $N^{5+}$ ,  $N^{5-}$  and High-Oxygen Compounds", *Propellants Explosives and Pyrotechnics*, Volume 32(3), pp. 194–204, 2007.
- Christiansen J.J., and Rajasekaran A.K., "Reassessing Epithelial to Mesenchymal Transition as a Prerequisite for Carcinoma Invasion and Metastasis", *Cancer Research*, Volume 66, pp. 8319–26, 2006.
- Chu E., and DeVita V.T.Jr, "Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual. 2006", Jones and Barlett, New York, 2007.
- Ciamician G.L., and Dennstedt M., "Ciamician-Dennstedt Rearrangement", *Berichte*, Volume 14, pp. 1153, 1881.
- Ciomei M., Pastori W., Capolongo L., Ceroni C., Melegaro G., Pennella G., and Grandi M., "Decreased Tyrosine Phosphorylation in Tumor Cells Resistant to FCE 24517 (Tallimustine)", *British Journal of Cancer*, Volume 76(6), pp. 1504–08, 1995.
- Ciranni R., Antonetti M., and Migliore L., "Vanadium Salts Induce Cytogenic Effects In Vivo Treated Mice", *Mutation Research*, Volume 343, pp. 53–60, 1995.
- Clarke A.M., Solomon J., Keogh J., Nixon M., and Burchett J., "Chlorhexidine with Silver-Sulphadiazine in the Treatment of Burns", *Medical Journal of Australia*, Volume 2(8), p. 446, 1971.
- Clarke A.M., "Topical Use of Silver Sulphadiazine and Chlorhexidine in the Prevention of Infection in Thermal Injuries", *Medical Journal of Australia*, Volume 1(13), pp. 413-5, 1975.
- Clarke M.J., "Ruthenium Metallopharmaceuticals", *Coordination Chemistry Reviews*, Volume 236, pp. 209-233, 2003.
- Clayden J., Greeves N., Warren S., and Wothers P., "Organic Chemistry", Chapter 44, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2001.
- Cloez S., "Nouveau Groupe de Bases Volatiles Derivee de la Liqueur des Hollandais", *Institut*, Volume 21, pp. 213-214, 1853- *ibid.*, *Jahresbericht der Chemie*, pp. 468-469, 1853.
- Cloyd D.R., "Handling Hazardous Materials", Technical Survey Number SP-5032, Murphy W.J., NASA, Washington, USA, 1965.
- Colditz G.A., Sellers T.A., and Trapido E., "Epidemiology-Identifying the Causes and Preventability of Cancer", *Nature Reviews Cancer*, Volume 6, pp. 75-83, 2006.
- Colin M., Madoulet C., Baccard N., Arsac F., and Jardiller J.C., "Study of Sodium Orthovanadate as a Reverser of Multidrug Resistance on Lymphoblastic Leukemic CEM/VLB100 Cells", *Anticancer Research*, Volume 14, pp. 2383–7, 1994.
- Collery P., Domingo J.L., and Keppler B.K., "Preclinical Toxicology and Tissue Gallium Distribution of a Novel Antitumour Gallium Compound: Tris-(8-Quinololato)-Gallium (III)", *Anticancer Research*, Volume 16(2), pp. 687-91, 1996.
- Collery P., Keppler B., Madoulet C., and Desoize B., "Gallium in Cancer Treatment", *Critical Reviews in Oncology and Hematology*, Volume 42, Number 3, pp. 283–296, 2002.
- Collier W.A., und Krauss F., "Die Wirkung Einer Schwere Metal auf Experimental Murine Krebs ist Nicht nur Wegen der Metal Allein, Sondern Auch auf die Struktur der Verbindungen und der Art der Verbindung", *Zeitschrift für Krebsforschung*, Volume 34, pp. 527-530, 1931.

- Collins J.C., Hess W.W., and Frank F.J., "Dipyridine-Chromium(VI) Oxide Oxidation of Alcohols in Dichloromethane", *Tetrahedron Letters*, Volume 9(30), pp. 3363–3366, 1968 and Collins J.C. and Hess W.W., "Aldehydes from Primary Alcohols by Oxidation with Chromium Trioxide: Heptanal", *Organic Synthesis, Collective Volume 6*, pp. 644, 1988.
- Cooke M., Leeves N., and White C., "Time Profile of Putrescine, Cadaverine, Indole and Skatole in Human Saliva", *Archives of Oral Biology*, Volume 48, Issue 4, pp. 323–327, 2003.
- Cooper Geoffrey M., "Oncogenes", Second Edition, Jones and Barlett, Boston, Massachusetts, USA, 1995.
- Cooper Geoffrey M., and Hausman Robert E., "The Cell, A Molecular Approach", Fourth Edition, ASM Press, Washington D.C., USA, 2007.
- Cooper Jean, "Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health Office of In Vitro Diagnostic Device Evaluation and Safety", The National Academies Press: Disposal of Waste, 10903 New Hampshire Avenue, Silver Spring, Maryland 20993, USA, 21/03/2013.
- Copéret C., Adolfsson H., Khuong T.A.V., Yudin A.K., and Sharpless K. B., "A Simple and Efficient Method for the Preparation of Pyridine N-Oxides", *Journal of Organic Chemistry*, Volume 63(5), pp. 1740–1741, 1998.
- Corey E.J. and Suggs W., "Pyridinium Chlorochromate. An Efficient Reagent for Oxidation of Primary and Secondary Alcohols to Carbonyl Compounds", *Tetrahedron Letters*, Volume 16(31), pp. 2647–2650, 1975.
- Cornelisse C.J., Cornelis R.S., and Devilee P., "Genes Responsible for Familial Breast Cancer", *Pathology Research and Practice*, Volume 192, Issue 7, pp. 684–93, 1996.
- Cornforth R.H., Cornforth J.W., and Popjak G., "Preparation of R- and S-mevalonolactones", *Tetrahedron*, Volume 18(12), pp. 1351–54, 1962.
- Cornman C.R., Colpas G.J., Hoeschele J.D., Kampf J.W., and Pecoraro V.L., "Implications for the Spectroscopic Assignment of Vanadium Biomolecules: Structural and Spectroscopic Characterization of Mono-Oxovanadium(V) Complexes Containing Catecholate and Hydroximate -Based Non-Innocent Ligands", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 114, pp. 9925–9933, 1992.
- Correia Isabel, Avecilla Fernando, Marcão Susana Pessoa, and João Costa, "Structural Studies of Decavanadate Compounds with Organic Molecules and Inorganic Ions in their Crystal Packing", *Inorganica Chimica Acta*, Volume 357, Issue 15, pp. 4476–4487, 2004.
- Cortizo A.M., Bruzzonze L., Molinueve S., and Echeverry S.B., "A Possible Role of Oxidative Stress in the Vanadium-Induced Cytotoxicity and the MC3T3E1 Osteoblast and UMR106 Osteosarcoma Cell Lines", *Toxicology*, Volume 147, pp. 89–99, 2000.
- Corwin A.H., in "Heterocyclic Compounds", Editor: Elderfield R.C., Volume I, Chapter 6, Review, pp. 309, John Wiley and Sons Inc., New York, 1950.
- Cosmetic Ingredient Review Expert Panel, "Final Report of the Safety Assessment of Niacinamide and Niacin", *International Journal of Toxicology*, Volume 24, Suppl. 5, pp. 1–31, 2005.
- Costello L.C., and Franklin R.B., "The Clinical Relevance of the Metabolism of Prostate Cancer; Zinc and tumor Suppression: Connecting the Dots", *Molecular Cancer*, Volume 5, p. 17, 2006.
- Cots Lucille, and Oleson J.J., "Studies on Nicotinamide Derivatives", *Journal of Bacteriology*, Volume 61(4), pp. 463–467, 1951.
- Cotton F.A., Wilkinson G., Murillo C.A. and Bochmann M., "Advanced Inorganic Chemistry", Sixth Edition, pp. 718 and 719, John Wiley, New York, USA, 1999.



- Cox E.G., "Crystal Structure of Benzene", *Reviews of Modern Physics*, Volume 30, Issue 1, pp. 159-162, 1958.
- Cox John Desmond, and Pilcher G., "Thermochemistry of Organic and Organometallic Compounds", Academic Press, London, New York, Volume 1, 636 pages, 1970.
- Crabtree Robert, "Iridium Compounds in Catalysis", *Accounts of Chemical Research*, Volume 12(9), pp. 331-337, 1979.
- Crans D.C., Rithmer C.D. and Theisen L.A., "Application of Time-resolved  $^{51}\text{V}$  2-D NMR for Quantitation Studies of Kinetic Exchange between Vanadate Oligomers", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 112, pp. 2901-2908, 1990.
- Crans D.C., Yang L.Q., Alfano J.A., Chi L.A.H., Jin W.Z., Mahroof-Tahir M., Robbins K., Toloue M.M., Chan L.K., Plante A.J., Grayson R.Z., and Willsky G.R., "(4-Hydroxypyridine-2,6-Dicarboxylato)-Oxovanadate(V)-a New Insulin-like Compound: Chemistry, Effects on Myoblast and Yeast Cell Growth and Effects on Hyperglycemia in Rats with STZ-Induced Diabetes", *Coordination Chemistry Reviews*, Volume 237, pp. 13-22, 2003.
- Cremlyn R.J.W., "Some Reactions of O,O-Diphenylphosphoryl Azide", *Australian Journal of Chemistry*, Volume 26, pp. 1591-93, 1973.
- Crofts Antony, "Cytochrome Oxidase, Complex IV", Course Outline, Lectures 1-27, Biophysics 354, University of Illinois at Urbana-Champaign, 1996. a-crofts@uiuc.edu
- Crouse J.R. Third, "New Developments in the Use of Niacin for Treatment of Hyperlipidaemia: New Considerations in the Use of an Old Drug", *Coronary Artery Disease*, Volume 7(4), pp. 321-326, 1996.
- Cruz T.F., Morgan A., and Min W., "In Vitro and In Vivo Antineoplastic Effects of Orthovanadate", *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 153, pp. 161-66, 1995.
- Cullen K.J., Yang Z., Schumaker L., and Guo Z., "Mitochondria as a Critical Target of the Chemotherapeutic Agent Cis-platin in Head and Neck Cancer", Review Paper, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, Volume 39(1), pp. 43-50, 2007.
- Currance P.L., Clements B., and Bronstein A.C. (Editors), "Emergency Care for Hazardous Materials Exposure", Third Edition, p. 160, Elsevier Mosby, St. Louis Missouri, USA, 2005.
- Curtius Theodor Julius, "Über Stickstoffwasserstoffsäure (Azoimid)  $\text{N}_3\text{H}$ ", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 23, pp. 3023-3033, 1890.
- Curtius Theodor Julius, "Hydrazide und Azide Organischer Säuren I. Abhandlung", *Journal für Praktische Chemie*, Volume 50, pp. 275-294, 1894.
- Curvall Margareta, Enzell Curt R., and Pettersson Bertil, "An Evaluation of the Utility of Four In Vitro Short Term Tests for Predicting the Cytotoxicity of Individual Compounds Derived from Tobacco Smoke", *Cell Biology and Toxicology*, Volume 1(1), pp. 173-93, 1984.
- Cushny Arthur Robertson, "A Text-book of Pharmacology and Therapeutics. The Action of Drugs in Health and Disease", Eighth Edition, University of California Libraries, Lea and Febiger, Philadelphia and New York, USA, 1926.
- Cvitkovic F., Armand J.P., Tubiana-Hulin M., Rossi J.F., and Warrell R.P.Jr., "Randomized, Double-blind, Phase II Trial of Gallium Nitrate Compared with Pamidronate for Acute Control of Cancer-related Hypercalcemia", *The Cancer Journal*, Volume 12(1), pp. 47-53, 2006.

## D

- Dalmia A., Wasmus S., Savinell R.F., and Liu C.C., "The Anodic Behavior of Azide Ions at Carbon Electrodes in Neutral Electrolyte", *Journal of the Electrochemical Society*, Volume 143(2), pp. 556-560, 1996.
- Damayanthi Y., and Lown J.W., "Podophyllotoxins: Current Status and Recent Developments", *Review Paper, Current Medicinal Chemistry*, Volume 5(3), pp. 205-52, 1998.
- Damian Diona L., Patterson Clare R.S., Stapelberg Michael, Park Joohong, Barnetson Ross St. C., and Halliday Gary M., "UV Radiation-Induced Immunosuppression is Greater in Men and Prevented by Topical Nicotinamide", *Journal of Investigative Dermatology*, Volume 128, pp. 447–454, 2008.
- Danielian S., "The Tyrosine Kinases of the Src Family: Properties and Roles in Cells", *Pathology Biology*, Volume 41(7), pp. 619-35, 1993.
- Danilenko V.F., Portnyagina V.A., Klebanov B.M., and Ryabukha T.K., "Synthesis and Anti-inflammatory Properties of Carboxyphenylamides of Nicotinic and Isonicotinic Acid 1-oxides", *Pharmaceutical Chemistry Journal*, Volume 13, Issue 7, pp. 714-717, 1979.
- Davies David T., "Aromatic Heterocyclic Chemistry", First Edition, *Oxford Chemistry Primers*, Oxford University Press Inc., Wiley-VCH, New York, 1992. ISBN: 0-19-855660-8.
- De Clercq E., "The Bicyclam AMD3100 Story", *Nature Reviews Drug Discovery*, Volume 2, pp. 581-587, 2003.
- De Cruz O.J., and Uckun F.M., "Metvan: A Novel Oxovanadium(IV) Complex with Broad Spectrum Anticancer Activity", *Expert Opinion on Investigational Drugs*, Volume 11, Number 12, pp. 1829-1836, 2002.
- Dehnicke Kurt, "The Chemistry of Iodine Azide", *Angewandte Chemie International Edition in English*, Volume 18, Issue 7, pp. 507–514, 1979.
- De Koning A., Budzelaar P.H.M., Boersma J., and Van Der Kerk G.J.M., "Specific and Selective Reduction of Aromatic Nitrogen Heterocycles with the Bis-Pyridine Complexes of Bis-(1,4-Dihydro-1-Pyridyl)-Zinc and Bis-(1,4-Dihydro-1-Pyridyl)-Magnesium", *Journal of Organometallic Chemistry*, Volume 199, Issue 2, pp. 153-169, 1980.
- De la Presa P., Rueda T., del Puerto Morales M., Javier Chichón F., Arranz R., Valpuesta J.M., and Hernando A., "Gold Nanoparticles Generated in Ethosome Bilayers, as Revealed by Cryo-Electron-Tomography", *Journal of Physical Chemistry, B.12*, Volume 113(10), pp. 3051-3057, 2009.
- Delarge J., "Chemistry and Pharmacological Properties of the Pyridine-3-Sulfonylurea Derivative Torasemide", *Arzneimittelforschung*, Volume 38(1A), pp. 144-50, 1988.
- Demopoulos C.A., Pinckard R.N., and Hanahan D.J., "Platelet-Activating Factor. Evidence for 1-O-Alkyl-2-Acetyl-sn-Glycerol-3-Phosphorylcholine as the Active Component, a New Class of Lipid Chemical Mediators", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 254(19), pp. 9355-9358, 1979.
- Desoize Bernard, "Metals and Metal Compounds in Cancer Treatment", *Review Article, Anticancer Research*, Volume 24, pp. 1529-1544, 2004.
- Dewar J., "On the Oxidation Products of Picoline", *Chemical News*, Volume 23, pp. 38-41, 1871 and *Proceedings of the Royal Society, Edinburgh*, Volume 7, pp. 192-193, 1872, and *Transactions of the Royal Society, Edinburgh*, Volume 26, pp. 189-96, 1872.
- Dewick Paul M., "Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach", Second Edition, pp. 311–315, John Wiley and Sons Ltd., West Sussex, PO19 1UD, England, 2002.

- Dharwan S., Singh S., and Aggarwal B.B., "Induction of Endothelial Cell Surface Adhesion Molecules by Tumor Necrosis Factor is Blocked by Protein Tyrosine Phosphatase Inhibitors: Role of Nuclear Transcription Factor NF- $\kappa$ B", *European Journal of Immunology*, Volume 27, pp. 2172–79, 1997.
- Δημόπουλος Κ.Α., και Αντωνοπούλου Σ., "Βασική Βιοχημεία", 2η Έκδοση με Βελτιώσεις και Προσθήκες, 754 Σελίδες, Εκδότες: Κ.Α. Δημόπουλος - Σ. Αντωνοπούλου, Αθήνα, 2009. ISBN: 960-91461-0-4.
- Diaz-Cano S.J., "General Morphological and Biological Features of Neoplasms: Integration of Molecular Findings", *Histopathology*, Volume 53(1), pp. 1-19, 2008.
- Dick C.R., "Reactions of Aziridines. A Mechanism of Piperazine Formation from Aziridines", *Journal of Organometallic Chemistry*, Volume 32, pp. 72-75, 1967.
- Dillman Robert O., "Cancer Immunotherapy", *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, Volume 26(1), pp. 1-64, 2011.
- Ding Min, Li Jian J., Leonard Stephen S., Ye Jian-Ping, Shi Xianglin, Colburn Nancy H., Castranova Vince, and Vallyathan Val, "Vanadate-Induced Activation of Activator Protein-1. Role of Reactive Oxygen Species", *Carcinogenesis*, Volume 20, Number 4, pp. 663–668, 1999.
- Djordjevitc C., and Wampler G.L., "Antitumor Activity of Peroxo Heteroligant Vanadates (V) in Relation to Biochemistry of Vanadium", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 25, pp. 51–5, 1985.
- Djordjevic C., Vuletic N., Renslo M.L., Puryear B.C., and Alimard R., "Peroxo Heteroligant Vanadates (V): Synthesis, Spectra- Structure Relationships and Stability toward Decomposition", *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 153, pp. 25–29, 1995.
- Djordjevitc C., "Antitumor Activity of Vanadium Compounds", In: "Metal Ions in Biological Systems", Siegel H., and Siegel A. (Editors), Marcel-Decker, New York, Volume 31, pp. 595–616, 1995.
- Domalski Eugene S., and Hearing Elizabeth D., "Heat Capacities and Entropies of Organic Compounds in the Condensed Phase", *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, Volume 25, Issue 1, pp. 1-525, 1996.
- Donate Louis E., and Blasco Maria A., "Telomeres in Cancer and Ageing", *Philosophical Transactions of the Royal Society, Biological Sciences, Bond B.*, Vol. 366, No 1561, pp76-84, 2011.
- Dondela B., and Sliwa W., "Alkylbenzonaphthyridinones and Benzonaphthyridinium Quaternary Salts", *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Volume 36, Issue 7, pp 830-836, 2000.
- Dong B., Peng J., Chen Y., Kong Y., Tian A., Liu H., and Sha J., "pH-Controlled Assembly of Two Polyoxovanadates Based on  $[V_{16}O_{38}(Cl)]^{8-}$  and  $[V_{15}O_{36}(Cl)]^{6-}$  Building Blocks", *Journal of Molecular Structure*, Volume 788, Number 1-3, pp. 200-205, 2006.
- Dong B., Gomez- Garcia C.J., Peng J., Benmansour S., and Ma J., "A Novel Oxovanadate Structural Type - Synthesis, Single Crystal Structure and Magnetic Properties of a Mixed-Valence Polyoxovanadate Formed by  $\{V_{17}O_{40}(Cl)\}$  and  $\{V_{15}O_{36}(Cl)\}$  Clusters", *Polyhedron*, Volume 26, Issue 6, pp. 1310-1316, 2007.
- Doulgkeris C.M., Galanakis D., Kourounakis A.P., Tsiakitzis K.C., Gavalas A.M., Eleftheriou P.T., Victoratos P., Reka E.A., and Kourounakis P.N., "Synthesis and Pharmacochemical Study of Novel Polyfunctional Molecules Combining Anti-inflammatory, Antioxidant, and Hypocholesterolemic Properties", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Volume 16(4), pp. 825-29, 2006.

- Drezen Thierry, Joubert Olivier, Ganne Marcel and Brohan Luc, "Synthesis and Structure Determination of a Novel  $[\text{NH}_3(\text{CH}_2)_8\text{NH}_3]_3[\text{V}_{15}\text{O}_{36}(\text{Cl})](\text{NH}_3)_6(\text{H}_2\text{O})_3$  Centered Tricosahedral Cluster Compound Related to the Müller-Type Structure", *Journal of Solid State Chemistry*, Volume 136, Issue 2, pp. 298-304, 1998.
- Duan W.J., Cui X.B., Xu Yan, Xu J.Q., Yu H.H., Yi Z.H., Cui J.W., and Wang T.G., "Two New Hydrogen Bond-supported Supramolecular Compounds Assembly from Polyoxo-vanadate and Organoamines", *Journal Solid State Chemistry*, Volume 180(6), pp. 1875–1881, 2007.
- Duensing A., and Duensing S., "Centrosomes, Polyploidy and Cancer", *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Volume 676, pp. 93-103, 2010.
- Duffy Joseph L. and Laali Kenneth K., "Aprotic Nitration ( $\text{NO}_2^+\text{BF}_4^-$ ) of 2-Halo- and 2,6-Dihalopyridines and Transfer-Nitration Chemistry of Their N-Nitropyridinium Cations", *The Journal of Organic Chemistry*, Volume 56(9), pp. 3006-3009, 1991.
- DUSA Pharmaceuticals Inc., "Nicomide US Patent No. 6979468", DUSA Dermatology Solutions for an Active Life, 555 Richmond Street, West Suite 300, P.O. Box 704, Toronto, Ontario M5V 3B1, 2013.

## E

- Eicher Theophil, and Hauptmann Siegfried, "The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications", Second Edition, Completely Revised, and Enlarged Edition, Translated by Hans Suschitzky and Judith Suschitzky, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Printed in the Federal Republic of Germany, 2003. ISBN: 3-527-30720-6.
- Edel J., and Sabbioni E., "Retention of Intratracheally Instilled and Ingested Tetravalent and Pentavalent Vanadium in Rat", *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, Volume 21(2), pp. 23–30, 1988.
- Elder R.C., and Eidsness M.K., "Synchrotron X-ray Studies of Metal-based Drugs and Metabolites", *Chemical Reviews*, Volume 87, pp. 1027–1046, 1987.
- Eller K., Henkes E., Roszbacher R., and Hoke H., "Aliphatic Amines", in: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Weinheim, Deutschland, 2005.
- Ellinger P., and Coulson R.A., "The Urinary Elimination of Nicotinamide Methochloride by Man", *Biochemical Journal*, Volume 38(3), pp. 265–270, 1944.
- El-Naggar M.M., El-Waseef A.M., El-Halafawy K.M., and El-Sayed I.H., "Antitumor Activities of Vanadium (IV), Manganese (IV), Iron (III), Cobalt (II) and Copper (II) Complexes of 2-Methylaminopyridine", *Cancer Letters*, Volume 133, pp. 71–76, 1998.
- Elschenbroich Christoph, "Organometallchemie", Sixth Edition, pp. 524–525, Vieweg and Teubner, 2008, ISBN 3-8351-0167-6 and "Organometallics", Third Edition, John Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., KGaA, Weinheim, Deutschland, 2006. ISBN: 3-527-29390-6.
- McElvain Samuel Marion, "Nicotinic Acid", *Organic Syntheses, Collective Volume 1*, p. 385, 1941. Also McElvain Samuel Marion and Goese M.A., "Preparation of Nicotinic Acid from Pyridine", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 63, pp. 2283-84, 1941.
- Elvehjem Conrad Arnold, Madden R.J., Strong F.M., and Woolley D.W., "Relation of Nicotinic Acid and Nicotinic Acid Amide to Canine Black Tongue", *Journal of American Chemical Society*, Volume 59, pp. 1767-68, 1937.
- Elvehjem Conrad Arnold, Madden R.J., Strong F.M., and Woolley D.W., "The Isolation and Identification of the Anti-black Tongue Factor", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 123(1), pp. 137-149, 1938.

- Encyclopædia Britannica on-line Premium, "Pyridine", Facts Matter, Digital Innovation, Advancing Education, Encyclopædia Britannica Inc., United Kingdom, 2013.
- EPA (Environmental Protection Agency), The ECOTOX (Ecotoxicology) Release 4.0. Database, of the USEPA Headquarters West (EPA West), Old Customs Building, 1301 Constitution Avenue N.W., 20004, Washington, D.C. ECOTOX Database Reference Guide, Last updated on 22/3/2013, [www.epa.gov/ecotox](http://www.epa.gov/ecotox).
- Equi A.M., Brown A.M., Cooper A., Her S.K., Watson A.B., and Robins D.J., "Oxidation of Putrescine and Cadaverine Derivatives by Diamine Oxidases", *Tetrahedron*, Volume 47, Issue 3, pp. 507–518, 1991.
- Esmelindro Maria Carolina, Oestreicher Enrique G., Márquez-Alvarez Heiddy, Dariva Cláudio, Egues Sílvia M.S., Fernandes Christiane, Bortoluzzi Adailton J., Drago Valderes, and Antunes O.A.C., "Catalytic Oxidation of Cyclohexane by a Binuclear Fe(III) Complex Biomimetic to Methane Monooxygenase", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 99, Issue 10, pp. 2054–2061, 2005.
- ETS Laboratories, "Biogenic Amines Automated Analysis of Yeast Count and Viability", *Technical Bulletin Biogenic Amines*, pp. 1-2, 899 Adams Street, St. Helena, CA, 94574, 20 January 2011. [info@etslabs.com](mailto:info@etslabs.com).
- von Euler-Chelpin Hans, "Ergebnisse und Ziele der Allgemeinen Enzym-Chemie", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, Volume 55, Issue 11, pp. 3583–3600, 1922.
- von Euler-Chelpin Hans, Karrer P., und Becker B., "Charakterisierung von Zuckerphosphorsäuren und Konstitution der Pentose-phosphorsäure aus Cozymase", *Helvetica Chimica Acta*, Volume 19, Issue 1, pp. 1060–1062, 1936.
- von Euler-Chelpin Hans, Schlenk F., Melzer L., und Hogberg B., "Nicotinsaureamid und Cozymase in Normalen und in Avitaminotischen Ratten", *Zeitschrift für Physiologische Chemie*, Volume 258, Issue 5-6, pp. 212-218, 1939.
- von Euler-Chelpin Hans, "Ergebnisse der Enzymforschung", Herausgegeben von F.F. Nord und R. Weidenhagen. VII. Band. Mit 29 Abbildungen, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig 1938. Preis geh. RM. 32, geb. RM. 34, *Angewandte Chemie*, Volume 52, Issue 17, p. 320, 1939.
- von Euler-Chelpin Hans, Skarżyński Bolesław, und Ahlström Lucie, "Nukleoproteide in Normalen und Cancerösen, Zellen 1", *Book : German, Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi*, Bd. 19 A, 12, Publisher: Almqvist und Wiksell, Stockholm, 1945.
- von Euler-Chelpin Hans, The Nobel Prize in Chemistry 1929. Nobel Lecture: "Fermentation of Sugars and Fermentative Enzymes", May 23, 1930. From *Nobel Lectures, Chemistry 1922-1941*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1966.
- European Commission Employment, Social Affairs and Inclusion, "Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Pyridine", *SCOEL/SUM/106*, November 2004.
- European Pharmacopoeia, Sainte-Ruffine, Maisonneuve, Second Edition, Monograph Number 425, 1985.
- European Union Risk Assessment Report, European Commission, EUR 21642 EN, "Piperazine, CAS No: 110-85-0, EINECS No: 203-808-3", *European Communities*, Editors: Munn S.J., Allanou R., Aschberger K., Cosgrove O., Pakalin S., Paya-Perez A., Pellegrini G., Schwarz-Schulz B., Vegro S., Series: 3, Third Priority List, Volume 56, pp.1-159, Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, Printed in Italy, 2005.

- Evangelou A., Karkabounas S., Kalpouzou G., Malamas M., Liasko Roman, Stefanou D., Vlahos A.T., and Kabanos T.A., "Comparison of the Therapeutic Effects of two Vanadium Complexes Administered at Low Doses on Benzo(a)-pyrene Induced Malignant Tumors in Rats", *Cancer Letters*, Volume 119, Issue 2, pp. 221–25, 1997.
- Evangelou A., Kalpouzou G., Karkabounas S., Liasko R., Nonni A., Stefanou D., and Kallistratos G., "Dose-Related Preventive and Therapeutic Effects of Antioxidants-Anticarcinogens on Experimentally Induced Malignant Tumors in Wistar Rats", *Cancer Letters*, Volume 115, Number 1, pp. 105-111, 1997.
- Evangelou A.M., "Vanadium in Cancer Treatment", *Critical Reviews in Oncology and Hematology*, Volume 42(3), pp. 249-265, 2002.
- Evans G.W., and Bowman T.D., "Chromium Picolinate Increases Membrane Fluidity and Rate of Insulin Internalization", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 46(4), pp. 243-50, 1992.
- Evans G.W., and Pouchnik D.J., "Composition and Biological Activity of Chromium-Pyridine Carboxylate Complexes", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 49, Issue 3, pp. 177–187, 1993.
- Evans H.T.Jr., "Crystal Structure Refinement and Vanadium Bonding in the Metavanadates  $KVO_3$ ,  $NH_4VO_3$  and  $KVO_3 \cdot H_2O$ ", *Zeitschrift für Kristallographie*, Volume 114, pp. 257-277, 1960.

## F

---

- Failli P., Bani D., Bencini A., Cantore M., Di C., Mannelli L., Ghelardini C., Giorgi C., Innocenti M., Rugi F., Spepi A., Udisti R., and Valtancoli B., "A Novel Manganese Complex Effective as Superoxide Anion Scavenger and Therapeutic Agent against Cell and Tissue Oxidative Injury", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 52(22), pp. 7273-83, 2009.
- Famiglietti J., Sun J., DeLisser H.M., and Albeda S.M., "Tyrosine Residue in Exon 14 of the Cytoplasmic Domain of Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 (PECAM-1/CD31), Regulates Ligand Binding Specificity", *Journal of Cell Biology*, Volume 138, pp. 1425–35, 1997.
- Farmer Peter B., and Walker John M. (Editors), "The Molecular Basis of Cancer", First Edition, 349 pages, Routledge & Kegan Paul, 1985. ISBN: 0709910444.
- Farquharson A.C., Senior Assistant Medical Officer, County Asylum, Lichfield, "Ptomaines and Other Animal Alkaloids. Their Detection, Separation and Clinical Features", Last Edition, 170 pages, Kessinger Publishing LLC, Whitefish, Montana, USA, 2007. Also in *The British Journal of Psychiatry*, Volume 8(38), pp. 593-594, 1892.
- Farrell Nicholas, Qu Yun, and Hacker Miles P., "Cytotoxicity and Antitumor Activity of Bis-Platinum Complexes. A Novel Class of Platinum Complexes Active in Cell Lines Resistant to Both Cis-platin and 1,2-Diaminocyclohexane Complexes", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 33, Issue 8, pp. 2179-2184, 1990.
- Faure R., Vincent M., Dufour M., Shaver A., and Posner B.I., "Arrest of the G2/M Transition of the Cell Cycle by Protein Tyrosine Phosphatase Inhibition: Studies on a Neuronal and a Glial Cell Line", *Journal of Cellular Biochemistry*, Volume 40, pp. 389–401, 1995.
- Federico A., Iodice P., Federico P., Del Rio A., Mellone M.C., and Catalano G., "Effects of Selenium and Zinc Supplementation on Nutritional Status in Patients with Cancer of Digestive Tract", *European Journal of Clinical Nutrition*, Volume 55, pp. 293–7, 2001.

- Feigl Fritz, "Spot Tests in Inorganic Analysis", Elsevier Publishing Company, Fifth Enlarged and Revised Edition, Printed in the Netherlands, 1958.
- Felgner Andrea, "Titration in Non-Aqueous Media, Solvents and Titrating Agents for Quantitative Analyses of Acids and Bases", Sigma-Aldrich, AnalytiX Volume 9, Article 2, 2013, andrea.felgner@sial.com.
- Feng H.L., Leng Y., Ma C.H., Zhang J., Ren M., and Chuang D.M., "Combined Lithium and Valproate Treatment Delays Disease Onset, Reduces Neurological Deficits and Prolongs Survival in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model", *Neuroscience*, Volume 155(3), pp. 567-572, 2008.
- Ferles Miroslav, "The Electrolytic Reduction of Pyridine Produces ( $\Delta$ 3,4)-Tetrahydropyridine", *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, Volume 24, pp. 1029–1033, 1959.
- Ferles Miroslav, Liboska Radek, and Trška Petr, "Synthesis and Reactions of Novel 1,3-Dipyridinyl-1,3-Propanediones", *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, Volume 55, Issue 5, pp.1228-1233, 1990.
- Fialkow Philip J., "Clonal Origin of Human Tumors", *Annual Review of Medicine*, Volume 30, pp. 135-143, 1979.
- Fidler I.J., "The Pathogenesis of Cancer Metastasis: the Seed and Soil Hypothesis Revised", *Nature Reviews Cancer*, Volume 3, Number 6, pp. 1-6, 2002.
- Finger H., "Über Abkömmlinge des Cyanurs. Vorläufige Mitteilung", *Journal für Praktische Chemie*, Volume 75, Issue 1, pp. 103–104, 1907.
- Fischer D.S., Durivage H.J., Knobf M.T., and Beaulieu N.J., "The Cancer Chemotherapy Handbook", Sixth Edition, Elsevier Health Sciences, New York, 2003.
- Fischer Karl, "Neues Verfahren zur Maßanalytischen Bestimmung des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und Festen Körpern", *Angewandte Chemie*, Volume 48, pp. 394–396, 1935. Also Schöffski K., "Die Wasserbestimmung mit Karl-Fischer-Titration", *Chemie in Unserer Zeit*, Volume 34, pp. 170-175, 2000.
- Fleischmann M., Hendra P.J., and McQuillan A.J., "Raman Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode", *Chemical Physics Letters*, Volume 26, Issue 2, pp. 163-166, 1974.
- Flores H.E., Protacio C.M., and Signs M.W., "Primary and Secondary Metabolism of Polyamines in Plants", pp. 329-393. In "Plant Nitrogen Metabolism", Editors: Poulton J.E., Romeo J.T., and Conn E.E., Plenum Press, New York, 1989.
- Flores H.E., Arteca R.N., and Shannon J.C., "Polyamines and Ethylene: Biochemistry, Physiology, and Interactions: Proceedings", *Current Topics in Plant Physiology*, Volume 5, p. 425, American Society of Plant Physiologists, Cornell University, Ithaca, New York, USA, 1990.
- Folkman J., "Role of Angiogenesis in Tumor Growth and Metastasis", *Seminars in Oncology*, Volume 29, pp. 15-18, 2002.
- Fotsing Joseph Rodolph, "Synthesen und Reaktionen Neuer 2-Funktionalisierter 2H-Azirine", *Dissertation Thesis*, Chemnitz University of Technology, Faculty of Natural Science, Institute of Chemistry, Organic Chemistry, Chemnitz University of Technology, Strasse der Nationen 62, 09111 Chemnitz, Germany, 2004.
- Φούντζηλας Γ., "Βασικές Αρχές Θεραπείας του Καρκίνου", Εκδόσεις University Studio, Θεσσαλονίκη, 2006.
- Fraker P.J., and Lill-Elghanian D.A., "The Many Roles of Apoptosis in Immunity as Modified by Aging and Nutritional Status", *The Journal of Nutrition Health and Aging*, Volume 8, pp. 56–63, 2004.

- Frank R.L., and Seven R.P., "Pyridines. IV. A Study of the Chichibabin Synthesis", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 71(8), pp. 2629–2635, 1949.
- Franklin R.B., and Costello L.C., "Zinc as an Anti-tumor Agent in Prostate Cancer and in Other Cancers", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 463, pp. 211–7, 2007.
- Franklin R.B., and Costello L.C., "The Important Role of the Apoptotic Effects of Zinc in the Development of Cancers", *Journal of Cellular Biochemistry*, Volume 106, pp. 750–7, 2009.
- Freeman Stephanie A., Dugas Ross, van Wagener David, Nguyen Thu, and Rochelle Gary T., "Carbon Dioxide Capture with Concentrated, Aqueous Piperazine", *Energy Procedia*, Volume 1, Number 1, pp. 1489-1496, 2009.
- Frezza M., Verani C.N., Chen D., and Dou Q.P., "The Therapeutic Potential of Gallium-based Complexes in Antitumor Drug Design", *Letters in Drug Design and Discovery*, Volume 4, Number 5, pp. 311–317, 2007.
- Friedkin M., and Lehninger A.L., "Esterification of Inorganic Phosphate Coupled to Electron Transport between Dihydrodiphosphopyridine Nucleotide and Oxygen", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 178(2), pp. 611–23, 1949.
- Fu Y., Li S., Zu Y., Yang G., Yang Z., Luo M., Jiang S., Wink M., and Efferth T., "Medicinal Chemistry of Paclitaxel and its Analogues", *Current Medicinal Chemistry*, Volume 16(30), pp. 3966-85, 2009.
- Fuertes M.A., Alonso C., and Perez J.M., "Biochemical Modulation of Cis-Platin Mechanisms of Action: Enhancement of Antitumor Activity and Circumvention of Drug Resistance", *Chemical Reviews*, Volume 103, pp. 645-662, 2003.
- Fukushima T., Horike H., Fujiki S., Kitada S., Sasaki T., and Kashihara N., "Zinc Deficiency Anemia and Effects of Zinc Therapy in Maintenance Hemodialysis Patients", *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, Volume 3, pp. 213-219, 2009.
- Furuta H., Yamane T., and Sugiyama K., "Separation of Cadaverine from Putrescine, Histamine and Polyamines in Rat Kidney by Phosphocellulose Chromatography", *Journal of Chromatography*, Volume 337(1), pp. 103-109, 1985.

## G

- 
- Gabriel Siegmund, "Note on Nicotinic Acid from Pyridine", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 15, Issue 1, pp. 834-842, 1882.
  - Galanski M., Arion V.B., Jakupec M.A., and Keppler B.K., "Recent Developments in the Field of Tumor-Inhibiting Metal Complexes", *Review Paper, Current Pharmaceutical Design*, Volume 9(25), pp. 2078-89, 2003.
  - Gamarnik A., and Frydman R.B., "Cadaverine: an Essential Diamine for the Normal Root Development of Germinating Soybean (*Glycine Max*) Seeds", *Plant Physiology*, Volume 97, pp. 778-785, 1991.
  - Gambacorta A., Nicoletti R., Cerrini S., Fedeli W., and Gavuzzo E., "Trapping and Structure Determination of an Intermediate in the Reaction between 2-Methyl-5-t-Butylpyrrole and Dichlorocarbene", *Tetrahedron Letters*, Volume 19(27), pp. 2439-2442, 1978.
  - Ganescu I., and Popescu A., "Complexometric Determination of Piperazine as Thiocyanato-Chromium Complexes", *Revue Roumaine de Chimie*, Volume 15, p.1343, 1970.
  - Gangyue Li, Xuhong Qian, Jingnan Cui, Qingchun Huang, Rong Zhang, and Huai Guan, "Synthesis and Herbicidal Activity of Novel 3-Aminocarbonyl-2-oxazolidinethione Derivatives Containing a Substituted Pyridine Ring", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 54(1), pp. 125-129, 2006.



- Ganne M., Piffard Y., and Tournoux M., "Structure Cristalline de  $TiVO_3$ ", Canadian Journal of Chemistry, Volume 52, pp. 3539-3543, 1974.
- Gao F., Chao H., and Ji L.N., "DNA Binding, Photocleavage, and Topoisomerase Inhibition of Functionalized Ruthenium(II)-Polypyridine Complexes", Review Paper, Chemistry and Biodiversity, Volume 5(10), pp. 1962-79, 2008.
- Garbutcheon-Singh K.B., Grant M.P., Harper B.W., Krause-Heuer A.M., Manohar M., Orkey N., and Aldrich-Wright J.R., "Transition Metal Based Anticancer Drugs", Review Paper, Current Topics in Medicinal Chemistry, Volume 11(5), pp. 521-542, 2011.
- Garrou Diletta, and Montanaro Alice, "Zinc and Prostate Cancer", Wikigenes Collaborative Publishing, Nature Genetics, 12/04/2012.
- Gasson E.J. and Hadley D.J., "Preparation of Nicotinamide from 3-Cyanopyridine", US Patent: 2904552, 1959 to Distillers.
- Gattermann L., and Skita A., "Eine Synthese von Pyridin-Derivaten", Berichte, Volume 49(1), pp. 494-501, 1916.
- Gerber G.B., and Leonard A., "Mutagenicity, Carcinogenicity and Teratogenicity of Germanium Compounds", Review Paper, Mutation Research, Volume 387(3), pp. 141-146, 1997.
- Ghosh P., D'Cruz O.J., Narla R.K., and Uckum F.M., "Apoptosis-Inducing Vanadocene Compounds against Human Testicular Cancer", Clinical Cancer Research, Volume 6, pp. 1536-1545, 2000.
- Gielen Marcel, "Tin-based Antitumour Drugs", Coordination Chemistry Reviews, Volume 151, pp. 41-51, 1996.
- Gielen M., Biesemans M., de Vos D., and Willem R., "Synthesis, Characterization and In Vitro Antitumor Activity of Di- and Triorganotin Derivatives of Polyoxa- and Biologically Relevant Carboxylic Acids", Journal of Inorganic Biochemistry, Volume 79(1-4), pp. 139-145, 2000.
- Gielen Marcel and Tiekink Edward R.T., "Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine", John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Chichester, England, 2005.
- Gielen M., and Tiekink E.R.T. (Editors), "Tin Compounds and Their Therapeutic Potential", in "Metallotherapeutic Drugs and Metal Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine", pp. 421-439, John Wiley and Sons, Chichester, United Kingdom, 2005.
- Gilchrist Thomas L., "Heterocyclic Chemistry", Third Edition, Volume XVII+414 pages, University of Liverpool, Addison Wesley Longman, Essex, United Kingdom, 1997.
- Gillan Edward G., "Synthesis of Nitrogen-Rich Carbon Nitride Networks from an Energetic Molecular Azide Precursor", Chemistry of Materials, Volume 12(12), pp. 3906-3912, 2000.
- Gligorijevic N., Todorovic T., Radulovic S., Sladic D., Filipovic N., Godevac D., Jeremic D., and Andelkovic K., "Synthesis and Characterization of New Pt(II) and Pd(II) Complexes with 2-Quinolinecarboxaldehyde-selenosemicarbazone: Cytotoxic Activity Evaluation of Cd(II), Zn(II), Ni(II), Pt(II) and Pd(II) Complexes with Heteroaromatic Selenosemicarbazones", European Journal of Medicinal Chemistry, Volume 44, pp. 1623-1629, 2009.
- Glodek Cass, "A History of the Michigan Cancer Foundation, the Beginnings and Growth of Detroit's Anticancer Movement", p. 68, Michigan Cancer Foundation, Detroit, USA, 1990.
- Gómez-Ruiz Santiago, Kaluđerović Goran N., Prashar Sanjiv, Hey-Hawkins Evamarie, Erić Aleksandra, Žižak Željko, and Juranić Zorica D., "Study of the Cytotoxic Activity of di- and tri-Phenyltin(IV)- Carboxylate Complexes", Journal of Inorganic Biochemistry, Volume 102, Issue 12, pp. 2087-2096, 2008.

- Gong Y., Hu C.W., Li H., Tang W., Huang K.L., and Hou W.B., "Synthesis, Crystal Structure and Calcination of Three Novel Complexes Based on 2-Aminopyridine and Polyoxometalates", *Journal of Molecular Structure*, Volume 784, pp. 228-238, 2006.
- González-Villalva A., Piñón-Zárate G., De la Peña Díaz A., Flores-García M., Bizarro-Nevarés P., Rendón-Huerta E.P., Colín-Barenque L., Fortoul T.I., "The Effect of Vanadium on Platelet Function", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Volume 32(3), pp. 447-56, 2011.
- Goodbody Woodcock F., "The Action of Lysidine and Piperazine as Uric Acid Solvents", *British Medical Association, Annual meeting, British Medical Journal*, 1896.
- Good Norman E., Winget Douglas G., Winter Wilhelmina, Connolly Thomas N., Izawa Seikichi, and Singh Raizada M.M., "Hydrogen Ion Buffers for Biological Research", *Biochemistry*, Volume 5(2), pp. 467-477, 1966.
- Goodwin Trevor Walworth, "The Biosynthesis of Vitamins and Related Compounds", First Edition Illustrated IX, pages 366, University of Minnesota, Academic Press Inc., 1963.
- Gordon J.A., "Use of Vanadate as Protein-Phosphotyrosine Phosphate Inhibitor", *Methods in Enzymology*, Volume 201, pp. 478-82, 1991.
- Gossauer A., "Struktur und Reaktivität der Biomoleküle. Eine Einführung in die Organische Chemie", Wiley-VCH Verlag, Weinheim, pp. 495-496, 2006, ISBN: 3-906390-29-2.
- Gosselin R.E., Smith R.P., and Hodge H.C., "Clinical Toxicology of Commercial Products", Fifth Edition, Williams and Wilkins, Baltimore, p. II-408, USA, 1984.
- Gottesman Michael M., "Mechanisms of Cancer Drug Resistance", *Annual Review of Medicine*, Volume 53, pp. 615-627, 2002.
- Gottesman Michael M., Fojo Tito, and Bates Susan E., "Multidrug Resistance in Cancer: Role of ATP-Dependent Transporters", *Nature Reviews Cancer*, Volume 2, pp. 48-58, 2002.
- Grant J.A., Hunter J.A., and Massie W.H.S., "The Determination of Carbon Dioxide by Non-aqueous Titrimetry", *Analyst, Short Papers*, Volume 88, pp. 134-136, 1963.
- Gratchev A., Strein P., Utikal J., and Sergij G., "Molecular Genetics of Xeroderma Pigmentosum Variant", *Experimental Dermatology*, Volume 12(5), pp. 529-36, 2003.
- Green K.N., Steffan J.S., Martinez-Coria H., Sun X., Schreiber S.S., Thompson L.M., and LaFerla F.M., "Nicotinamide Restores Cognition in Alzheimer's Disease Transgenic Mice via a Mechanism Involving Sirtuin Inhibition and Selective Reduction of Thr231-Phosphotau", *The Journal of Neuroscience*, Volume 28(45), pp. 11500-510, 2008.
- Gresham William F., and Bruner Walter M., "Manufacture of Piperazine", US Patent: 2267686, Primary Class: 544/358, International Classes: C07D295/023, 04/12/1949.
- Gresser M.J., and Tracey A.S., "Vanadate as Phosphate Analogs in Biochemistry", In: "Vanadium in Biological Systems", Chasteen N.D., Editor, Dordrecht, Netherlands: Kluwer, pp. 63-79, 1990.
- Gribble G.W., and Gilchrist T.L., "Progress in Heterocyclic Chemistry", First Edition, Volume 11, pages 368, Pergamon Press, 2003. ISBN: 0-08-043407-X.
- Groagová A., and Přebyl M., "Bestimmung von RCOO-Gruppen in Stannylestern durch Titration in Nichtwäßrigem Medium", *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, Volume 234, Issue 6, pp. 423-428, 1968.
- Gromer S., Urig S., and Becker K., "The Thioredoxin System. From Science to Clinic", *Medical Research Reviews*, Volume 24, pp. 40-80, 2004.

- Guggenheim M., and Loffler H., "Das Schicksal Proteinogener Amine im Tierkörper", *Biochemistry*, Volume 72, pp. 325-350, 1916.
- Guggenheim M., "Die Biogenen Amine und Ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie des Pflanzlichen und Tierischen Stoffwechsels", Fourth Edition, Karger S. (Editor), Basel, Switzerland, p.74, and pp. 240–42, 1951.
- Gun J., Ekeltchik I., Lev O., Shelkov R., and Melman A., "Bis-(Hydroxyamino)-Triazines: Highly Stable Hydroxylamine-Based Ligands for Iron(III) Cations", *Chemical Communications*, pp. 5319-21, 2005.
- Gündüz T., Gündüz N., Kiliç E., Köseoğlu F., and Öztas S.G., "Titrations in Non-Aqueous Media. Part X. Potentiometric and Conductimetric Titrations of Amino Acids with Tetrabutylammonium Hydroxide in Pyridine and Acetonitrile Solvents", *Analyst*, Volume 113, pp. 715-719, 1988.
- Guo M.L., "4-Ammonio-1-Methyl-Piperazin-1-Ium-Oxalate-Dihydrate", *Acta Crystallographica*, Section E, Volume 60, Part 4, pp. 576-577, 2004.
- Gupta Das V., "Quantitative Determination of Piperazine Citrate in Piperazine Citrate Syrup USP", *American Journal of Hospital Pharmacy*, Volume 33(3), pp. 283-4, 1976.
- Gupta S.K., Singh S.P., and Shukla V.K., "Copper, Zinc, and Cu/Zn Ratio in Carcinoma of the Gallbladder", *Journal of Surgical Oncology*, Volume 91, pp. 204–208, 2005.
- Gyepes Róbert, Pacigová Silvia, Tatiersky Jozef, and Sivák Michal, "Anion–π, Lone Pair–π and π–π Interactions in VO(O<sub>2</sub>)<sup>+</sup> Complexes with one Dipicolinato(2-)-N,O,O Ligand and Bearing Picolinamidium, Nicotinamidium or Phenanthroline as Counterions", *Journal of Molecular Structure*, Volume 1041, pp. 113–121, 2013.

## H

- Haase Jürgen, "Large Scale Preparation and Usage of Azides", Chapter 2, pp. 29-51, in "Organic Azides: Syntheses and Applications", Edited by Stefan Bräse and Klaus Banert, First Edition, John Wiley and Sons Ltd. Printed in Great Britain by CPI Antony Rowe Ltd, Chippenham, Wiltshire, United Kingdom, 2010. ISBN: 9780470682517.
- Haddad J.J., "Thymulin and Zinc (Zn<sup>2+</sup>)-mediated Inhibition of Endotoxin-induced Production of Proinflammatory Cytokines and NF-κB Nuclear Translocation and Activation in the Alveolar Epithelium: Unraveling the Molecular Immunomodulatory, Antiinflammatory Effect of Thymulin/Zn<sup>2+</sup> In Vitro", *Molecular Immunology*, Volume 47(2-3), pp. 205-214, 2009.
- Hadjikakou S.K., Ozturk I.I., Xanthopoulou M.N., Zachariadis P.C., Zartilas S., Karkabounas S., and Hadjiliadis N., "Synthesis, Structural Characterization and Biological Study of New Organotin(IV), Silver(I) and Antimony(III) Complexes with Thioamides", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 102(5-6), pp. 1007-15, 2008.
- Hadjikakou S.K. and Hadjiliadis N., "Antiproliferative and Anti-tumor Activity of Organotin Compounds", *Coordination Chemistry Reviews*, Volume 253, pp. 235-249, 2008.
- Hajnoczky G., Csordas G., Das S., Garcia-Perez C., Saotome M., Sinha Roy S., and Yi M., "Mitochondrial Calcium Signalling and Cell Death: Approaches for Assessing the Role of Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> Uptake in Apoptosis", *Review Paper, Cell Calcium*, Volume 40(5-6), pp. 553-60, 2006.
- Haiges Ralf, Boatz Jerry A., and Christe Karl O., "The Syntheses and Structure of the Vanadium (IV) and Vanadium (V) Binary Azides V(N<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, [V(N<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>2-</sup>, and [V(N<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>-</sup>", *Angewandte Chemie*, International Edition, Volume 49, Issue 43, pp. 8008–8012, 2010.

- Hakozaki T., Minwalla L., Zhuang J., Chhoa M., Matsubara A., Miyamoto K., Greatens A., Hillebrand G.G., Bissett D.L., and Boissy R.E., "The Effect of Niacinamide on Reducing Cutaneous Pigmentation and Suppression of Melanosome Transfer", *British Journal of Dermatology*, Volume 147(1), pp. 20-31, 2002.
- Halliwell Barry, and Gutteridge John M.C., "The Importance of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease", *Molecular Aspects of Medicine*, Volume 8, pp. 89–193, 1985.
- Halliwell Barry, and Gutteridge John M.C., "Free Radicals. Reactive Species and Toxicology", In: Halliwell B., Gutteridge J.M.C., (Editors), "Free Radicals in Biology and Medicine", Third Edition, pp. 544 –616, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 1999.
- Halova-Lajoie B., Brumas V., Fiallo M.M., and Berthon G., "Copper(II) Interactions with Non-steroidal Anti-inflammatory Agents. III--3- Methoxyanthranilic Acid as a Potential \*OH-Inactivating Ligand: A Quantitative Investigation of its Copper Handling Role In Vivo", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 100(3), pp. 362-373, 2006.
- Han Zhengxu, Krishnamurthy Dhileepkumar, Grover Paul, Fang Q. Kevin, Pflum Derek A., and Senanayake Chris H., "Effective Tuning of the Arene and Alkanesulfonamides for Highly Enantioselective Synthesis of (S)-4-Chlorophenylphenylmethylamine, a Key Intermediate for Antihistamic (S)-Cetirizine", *Tetrahedron Letters*, Volume 44(22), pp. 4195–4197, 2003.
- Hanahan D., and Weinberg R.A., "The Hallmarks of Cancer", *Cell*, Volume 100(1), pp. 57-70, 2000.
- Hansen T.V., Aaseth J., and Alexander J., "The Effects of Chelating Agents on Vanadium Distribution in the Rat Body and Uptake by Human Erythrocytes", *Archives of Toxicology*, Volume 50, pp. 195–202, 1982.
- Hantzsch A.R., "Condensationsprodukte aus Aldehydammoniak und Ketonartigen Verbindungen", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 14(2), p. 1637, 1881.
- Harden A., and Young W.J., "The Alcoholic Ferment of Yeast-Juice", *Proceedings of the Royal Society of London*, Volume 78(526), pp. 369–375, 1906.
- Harding M.M., and Moksdi G., "Antitumor Metalloenes: Structure-Activity Studies and Interactions with Biomolecules", *Current Medicinal Chemistry*, Volume 7, pp. 1289–93, 2000.
- Harris M., "Monoclonal Antibodies as Therapeutic Agents for Cancer", *Review Paper, Lancet Oncology*, Volume 5, pp. 292-302, 2004.
- Harris Robert S., and Thimann Kenneth V., "Vitamines and Hormones", Volume II, Academic Press Inc., Printed in USA, New York, 1944.
- Hartinger C.G., Jakupec M.A., Zorbas-Seifried S., Groessl M., Egger A., Berger W., Zorbas H., Dyson P.J., and Keppler B.K., "KP1019, a New Redox-active Anticancer Agent-Preclinical Development and Results of a Clinical Phase I Study in Tumor Patients", *Review Paper, Chemistry and Biodiversity*, Volume 5(10), pp. 2140-55, 2008.
- Hashimoto R., Fujimaki K., Jeong M.R., Senatorov V.V., Christ L., Leeds P., Chuang D.M., and Takeda M., "Neuroprotective Actions of Lithium", *Seishin Shinkeigaku Zasshi (Psychiatria et Neurologia Japonica)*, Volume 105(1), pp. 81-86, 2003.
- Hathcock John N., "Niacin, Nicotinic Acid and Nicotinamide", *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B Folate, Vitamin B<sub>12</sub>, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*, Food and Nutrition Board, Council for Responsible Nutrition (CRN), Vitamin and Mineral Safety, Second Edition, National Academy Press, Washington DC, 2004.
- Haurowitz Felix, "Progress in Biochemistry. A Report on Biochemical Problems and on Biochemical Research Since 1949", Editor: Karger S., Fifth Edition, pages 357, Interscience Publishers, AG. Verlag, Basel, Switzerland, 1959. OL: 6267614M.

- Hawthorne S.B., and Sievers R.E., "Emissions of Organic Air Pollutants from Shale Oil Wastewaters", *Environmental Science and Technology*, Volume 18(6), pp. 483-490, 1984.
- Hayashi A., Naseri A., Pennesi M.E., de Juan E. Jr., "Subretinal Delivery of Immunoglobulin G with Gold Nanoparticles in the Rabbit Eye", *Japanese Journal of Ophthalmology*, Volume 53(3), pp. 249-256, 2009.
- Hayashi Yoshihito, Miyakoshi Noboru, Shinguchi Takayuki, and Uehara Akira, "A Stepwise Growth of Polyoxovanadate by Reductive Coupling Reaction with Organometallic Palladium Complex: Formation of  $[(\eta^3\text{-C}_4\text{H}_7)\text{Pd}]_2\text{V}_4\text{O}_{12}]^{2-}$ ,  $[\text{V}_{10}\text{O}_{26}]^{4-}$  and  $[\text{V}_{15}\text{O}_{36}(\text{Cl})]^{4-}$ ", *Chemistry Letters*, Volume 30, Number 2, pp. 170-171, 2001.
- Heijden van Der R., Jacobs D.I., Snoeijer W., Hallard D., and Verpoorte R., "The Catharanthus Alkaloids: Pharmacognosy and Biotechnology", *Review Paper, Current Medicinal Chemistry*, Volume 11(5), pp. 607-628, 2004.
- Heinisch Gottfried, and Frank Hannelore, "Blood Platelet Aggregation Inhibitors and Antithrombotics", in Ellis G.P., and West G.B., (Editors), "Progress in Medicinal Chemistry", Volume 27, Chapter One, pp. 17-20, Elsevier Science Publishers, Biomedical Division, Amsterdam, The Netherlands, 1990. ISBN 0-444-81309.
- Hellwinkel D., "Die Systematische Nomenklatur der Organischen Chemie", Fourth Edition, p. 45, Springer Verlag, Berlin, 1998. ISBN: 3-540-63221-2.
- Henninger A., "Aus Paris, 12 April 1877, Heterocyclische Verbindungen, Pyridine (En)", *Korrespondenz Artikel, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 10, Issue 1, pp. 727-737, 1877.
- Herman G.A., Stevens C., Van Dyck K., Bergman A., B Yi, De Smet M., Snyder K., Hilliard D., Tanen M., Tanaka W., Wang A.Q., Zeng W., Musson D., Winchell G., Davies M.J., Ramael S., Gottesdiener K.M., and Wagner J.A., "Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Sitagliptin, an Inhibitor of Dipeptidyl Peptidase IV, in Healthy Subjects: Results from Two Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Studies with Single Oral Doses", *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Volume 78(6), pp. 675 – 688, 2005.
- Hermon Tal, and Tshuva Edit Y., "Synthesis and Conformational Analysis of Constrained Ethylene-Bridged Bis-(Hydroxylamino-1,3,5-Triazine) Compounds as Tetradentate Ligands; Structure of Rigid Dinuclear Ti(IV) Complex", *The Journal of Organic Chemistry*, Volume 73(15), pp. 5953-5958, 2008.
- Herr H.W., and Morales A., "History of Bacillus Calmette-Guerin and Bladder Cancer: An Immunotherapy Success Story", *Journal of Urology*, Volume 179(1), pp. 53-56, 2008.
- Hill Matthew D., "Direct Synthesis of Pyridine and Pyrimidine Derivatives", PhD Thesis, The Massachusetts University of Technology, USA, 2008.
- Hill Matthew D., "Recent Strategies for the Synthesis of Pyridine Derivatives", *Chemistry - A European Journal*, Volume 16, Issue 40, pp. 12052–12062, 2010.
- Hirsch L.R., Jackson J.B., Lee A., Halas N.J., and West J.L., "A Whole Blood Immunoassay Using Gold Nanoshells", *Analytical Chemistry*, Volume 75, pp. 2377-2381, 2003.
- Ho E., "Zinc Deficiency, DNA Damage and Cancer Risk", *Journal of Nutritional Biochemistry*, Volume 15, pp. 572–8, 2004.
- Hoekenga M.T., "Experiments in the Therapy of Human Ascariasis, with Particular Reference to the Piperazine Salts", *World Medical Journal*, Volume 3(5), pp. 279-83, 1956.
- Hoerr C.W. and Ralston A.W., "Studies on High Molecular Weight Aliphatic Amines and Their Salts. XI. Transference Numbers of Some Primary Amine Hydrochlorides in Aqueous Solution and Their Significance in the Interpretation of the Micelle Theory", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 65, pp. 976-983, 1943.

- Hoerr C.W., McCorkle M.R., and Ralston A.W., "Studies on High Molecular Weight Aliphatic Amines and their Salts. X. Ionization Constants of Primary and Symmetrical Secondary Amines in Aqueous Solution", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 65, pp. 328-329, 1943.
- Hoerr C.W., Harwood H.J., and Ralston A.W., "Solubilities of High Molecular Weight Symmetrical Normal Aliphatic Secondary Amines", *Journal of Organic Chemistry*, Volume 9(2), pp. 201-210, 1944.
- Hofmann von August Wilhelm, "Recherches sur les Bases Polyammoniques", *Comptes Rendus de L' Académie des Sciences*, Volume 46, pp. 255-260, 1858. Also in *Philosophical Magazine and Journal of Science*, Volume 4(16), pp. 309-312, 1858.
- Hofmann von August Wilhelm, "Notes of Researches on the Polyammonias", Number VII. "On the Diatomic Ammonias", *Proceedings of the Royal Society of London*, Volume 10, pp. 224-234, 619, 1859-1860, *ibid.* Volume 11, pp. 413-424, 1862.
- Hofmann von August Wilhelm, "Beobachtungen Vermischten Inhalts", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 3, Issue 2, pp. 761–772, 1870, *ibid.* 4, 666, 1871, *ibid.* 23, 3297, 3711, 1890.
- Hong Li, Huarui He, Wolfbeis O.S., "An Optical Biosensor for Lysine Based on the Use of Lysine Decarboxylase and a Cadaverine-Sensitive Membrane", *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 7, Issue 10, pp. 725–732, 1992.
- Hopper A.V., "Recent Developments in Polymer Research", Nova Science Publisher Inc., New York, 2007. ISBN: 1-60021-346-4.
- Hoque K.M., Sarker R., Guggino S.E., and Tse C.M., "A New Insight into Pathophysiological Mechanisms of Zinc in Diarrhea", *Annals of the New York Academy of Sciences*, Volume 1165, pp. 279-84, 2009.
- Hosford David, and Braquet Pierre, "Antagonists of Platelet-Activating Factor: Chemistry, Pharmacology and Clinical Applications", in Ellis G.P., and West G.B., (Editors), "Progress in Medicinal Chemistry", Volume 27, Chapter Eight, pp. 326-380, Elsevier Science Publishers, Biomedical Division, Amsterdam, The Netherlands, 1990. ISBN 0-444-81309.
- Hosoya K., Kyoko H., Toyooka N., Kato A., Orihashi M., Tomi M., and Tachikawa M., "Evaluation of Amino Acid-mustard Transport as L-type Amino Acid Transporter 1 (LAT1)-Mediated Alkylating Agents", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Volume 31(11), pp. 2126-30, 2008.
- Höti Naseruddin, Zhu De E., Song Zhiyin, Wu Zhengsheng, Tabassum Sartaj, and Wu Mian "p53-Dependent Apoptotic Mechanism of a New Designer Bimetallic Compound Tri-phenyl Tin Benzimidazolethiol Copper Chloride (TPT-CuCl<sub>2</sub>): In Vivo Studies in Wistar Rats as well as In Vitro Studies in Human Cervical Cancer Cells", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Volume 311(1), pp. 22-33, 2004.
- Housecroft Catherine E. and Sharpe Alan G., *Inorganic Chemistry*, Third Edition, p. 696, Pearson Education Limited, Edinburgh Gate, Harlow Essex, England, 2008.
- Huang C., Chen N., Ma W.Y., and Dong Z., "Vanadium Induces AP-1 and NF-Kappa B Dependent Transcription Activity", *International Journal of Oncology*, Volume 13, pp. 711–15, 1998.
- Hubregtse T., Neeleman E., Maschmeyer T., Sheldon R.A., Hanefeld U., and Arends I.W.C.E., "The First Enantioselective Synthesis of the Amavadin Ligand and Its Complexation to Vanadium", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 99, pp. 1264-1267, 2005.
- Hulley P.A., Gordon F., and Hough F.S., "Inhibition of Mitogen-Activated Protein Kinase Activity and Proliferation of an Early Osteoblast Cell Line (MBA 15.4) by Dexamethasone: Role of Protein Phosphatases", *Endocrinology*, Volume 139, pp. 2423–2431, 1998.

–Hussain Ashiq, Saraiva Luis R., Ferrero David M., Ahuja Gaurav, Krishna Venkatesh S., Liberles Stephen D., and Korsching Sigrun I., "High-Affinity Olfactory Receptor for the Death-Associated Odor Cadaverine", *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, Volume 110 (48), pp. 19579-19584, 2013.

## I

---

–IARC Monographs, "Toxicological Profile for Pyridine", Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Public Health Service, Volume 77, OSHA, Washington D.C., 1985.

– IARC, International Agency for Research on Cancer, "Pyridine Summary and Evaluation", IARC Summaries and Evaluations, IPCS INCHEM, Volume 77, pp. 77-16, 2000.

–ICI DE-AS Patent Number 1.917.037, (1968) and Nippon Kayaku, Japanese Patent No. 7039545 (1967) and Koei Chemicals, Patent BE 758 201 (1969).

–Idhayadhulla Akbar, Kumar Radhakrishnan Surendra, Nasser Abdul Jamal Abdul and Manilal Aseer, "Synthesis of Some New Pyrrole and Pyridine Derivatives and their Antimicrobial, Anticancer Activities", *International Journal of Biological Chemistry*, Volume 7, Issue 1, pp. 15-26, 2013.

–IFA, "Record of Pyridine", in the GESTIS Substance Database, Accessed on 21 October 2010.

–Imai S., Armstrong C.M., Kaeberlein M., and Guarente L., "Transcriptional Silencing and Longevity Protein Sir2 is an NAD-Dependent Histone Deacetylase", *Nature*, Volume 403(6771), pp. 795–800, 2000.

–IUPAC SC-Database, "A Comprehensive Database of Published Data on Equilibrium Constants of Metal Complexes and Ligands", IUPAC Congress/General Assembly, July 2001. Database Conflation and Management by L.D.Pettit, lesp@acadsoft.co.uk

## J

---

–Jacobs J.P., "Characteristics of a Human Diploid Cell Designated MRC-5", *Nature*, Volume 227, pp. 168-170, 1970.

–Jacobson Elaine L., "Nicotinic Acid", Linus Pauling Institute, Micronutrient Information Center, 121 The Valley Library, Oregon State University, Corvallis Oregon, USA 97331-3411, 2000-2013.

–Jacquamet L., Sun Y., Hatfield J., Gu W., Cramer S.P., Crowder M.W., Lorigan G.A., Vincent J.B., and Latour J.M., "Characterization of Chromodulin by X-ray Absorption and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopies and Magnetic Susceptibility Measurements", *J. Am. Chem. Soc.*, Volume 125(3), pp. 774-80, 2003.

–Jain J., Arora S., Rajwade J.M., Omray P., Khandelwal S., and Paknikar K.M., "Silver Nanoparticles in Therapeutics: Development of an Antimicrobial Gel Formulation for Topical Use", *Molecular Pharmaceutics*, Volume 6(5), pp. 1388-1401, 2009.

–Jakupec M.A., and Keppler B.K., "Gallium in Cancer Treatment", Review Paper, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Volume 4(15), pp. 1575-83, 2004.

–Jakupec M.A., Galanski M., Arion V.B., Hartinger C.G., and Keppler B.K., "Antitumour Metal Compounds: More than Theme and Variations", *Dalton Transactions*, Number 2, pp. 183–194, 2008.

–James A.L., Mukesh Mistry, and Yeoman P., "A Sensitive Method for Demonstration of Decarboxylase Activities Amongst Enterobacteriaceae without Use of pH Indicators", *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, and Parasitology*, Volume 262, Issue 4, pp. 455–461, 1986.

- Jaspers I., Samet J.M., Erzurum S., and Reed W., "Vanadium-Induced kB Dependent Transcription Depends upon Peroxide-Induced Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase", *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, Volume 23, pp. 95–102, 2000.
- Jeffery J.C., Moore C.S.G., Psillakis E., Ward M.D., and Thornton P., "The Coordination Chemistry of Mixed Pyridine-Phenol and Phenanthroline-Phenol Ligands - the Crystal-Structure of 2-(2-Hydroxyphenyl)-1,10-Phenanthroline (HL) and the Crystal-Structure and Properties of  $[\text{FeL}_2][\text{PF}_6]$ ", *Polyhedron*, Volume 14(5), pp. 599 – 604, 1995.
- Jensen Torben R., Jørgensen Jens-Erik, Hazell Rita G., Jakobsen Hans J., Chevallier Marie-Agnes, Jørgensen Lene, and Wiedermann Aleksandra, "Piperazinium Dihydrogen Phosphate,  $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ : Synthesis,  $^{31}\text{P}$  CP/MAS NMR, Structural and Thermal Investigations", *Solid State Sciences*, Volume 9, Issue 1, pp. 72–81, 2007.
- Jeong Wook Lee, Dokyun Na, Jong Myoung Park, Joungmin Lee, Sol Choi and Sang Yup Lee, "Systems Metabolic Engineering of Microorganisms for Natural and Non-natural Chemicals", *Nature Chemical Biology*, Volume 8, pp. 536–546, 2012.
- Jobelius Horst H., and Scharff Hans-Dieter, "Hydrazoic Acid and Azides" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2005.
- Johnson Garrett K. and Schlemper E.O., "Existence and Structure of the Molecular Ion 18-Vanadate(IV)", *Journal of American Chemical Society*, Volume 100(11), pp. 3645–3646, 1978.
- Jones Chris J., and Thornback John R., in "Medicinal Applications of Coordination Chemistry", pp. 272-273, *The Royal Society of Chemistry, Science Books, Thomas Graham House, Science Park, RSC Publishing*, 2007.
- Jones G., in "Comprehensive Heterocyclic Chemistry II", Editors: Katritzky A.R., Rees C.W., Scriven E.F.V., and McKillop A., *Pergamon Press, Oxford*, Volume 5, pp. 167 –243, 1996.
- Jones R.L., and Rees C.W., "Mechanism of Heterocyclic Ring Expansions. Part III. Reaction of Pyrroles with Dichlorocarbene", *Journal of the Chemical Society, Volume C: Organic*, Issue 18, pp. 2249-2251, 1969.
- Jori A., Calamari D., Cattabeni F., Di Domenico A., Galli C.L., Galli E., and Silano V., "Ecotoxicological Profile of Pyridine", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 7, pp. 251-275, 1983.
- Jouffret Laurent, Rivenet Murielle, and Abraham Francis, "A New Polymeric Chain in the Dihydrogen-decavanadate (V)–Decavanadate(V)  $\text{H}_2(\text{CH}_2)_4]_5[\text{V}_{10}\text{O}_{28}\text{H}_2]_{0.5}[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]_{0.5}$  Obtained by In Situ Synthesis of the Organic Cation", *Inorganic Chemistry Communications*, Volume 13, Issue 1, pp. 5–9, 2010.
- Joule J.A., and G.F. Smith, "Heterocyclic Chemistry", Second Edition, *Van Nostrand Reinhold (UK) Co. Ltd., Berkshire England*, 1978. Also Joule J.A., and Mills K., "Pyridines, in *Heterocyclic Chemistry at a Glance*", Second Edition, *John Wiley and Sons Ltd, Chichester, UK*, 2012.
- Judas Nenad, and Kaitner Branko, "Hydrogen-Bond-Driven Self-Assembly of Bis-(3-Benzylpentane-2,4-Dionato)-(Nicotinamide)-Copper(II) in the Solid State", *Acta Crystallographica, Section E, Structure Reports E62*, pp. 241–243, 2006.
- Jung Y., and Lippard S.J., "Direct Cellular Responses to Platinum Induced DNA Damage", *Chemical Reviews*, Volume 107, pp. 1387-1407, 2007.
- Jurisson S., Berning D., Jia W., and Da M., "Coordination Compounds in Nuclear Medicine", *Chemical Reviews*, Volume 93, Number 3, pp. 1137–1156, 1993.



## K

- Kadam S.S., Mahadik K.R., and Bothara K.G., (Authors), "Principles of Medicinal Chemistry", Eighteenth Edition, Volumes I (p.470) and II (p.463), Editor: Pragati Books Pvt. Ltd., Published by Nirali Prakashan, Pune, Maharashtra, India, 2008. ISBN: 8185790043.
- Kagara N., Tanaka N., Noguchi S., and Hirano T., "Zinc and its Transporter ZIP10 are Involved in Invasive Behavior of Breast Cancer Cells", *Cancer Science*, Volume 98, pp. 692–7, 2007.
- Kallistratos George I., "Putrescine as Inhibitor of 3,4-Benzopyrene Cancerogenesis", *European Journal of Cancer*, Volume 11, pp. 717-719, 1975.
- Kallistratos G.I., and Fasske Erhard E., "Prevention of 3,4-Benzopyrene Carcinogenesis in Presence of Putrescine", *Zeitschrift fur Krebsforschung und Klinische Onkologie*, Volume 87, pp. 81-92, 1976.
- Kallistratos G.I., and Kallistratos U., "3,4-Benzopyrene Carcinogenesis and Its Inhibition by Natural and Synthetic Compounds", *Folia Biochimica et Biologica Graeca*, Volume 13, pp. 1-10, 1976.
- Kallistratos George I., and Fasske Erhard E., (Authors), "Endogenous and Exogenous Inhibitors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Carcinogenesis", p. 144, Scientific Press, G. Parisianos (Editor), Athens, 1980. Reprint from Institute of Marine Molecular Biology Volume XVII, Fasc. 1/2, 1980.
- Kallistratos G.I., Fasske Erhard E., Karkabounas S., and Charalambopoulos K., "Prolongation of the Survival Time of Tumor Bearing Wistar Rats Through a Simultaneous Oral Administration of Vitamins C+E and Selenium with Glutathione", *Progress in Clinical and Biological Research*, Volume 259, pp. 377-89, 1988.
- Kao C.L., Tang Y.H., Lin Y.C., Chiu L.T., Chen H.T., Hsu S.C., Hsieh K.C., Lu C.Y., and Chen Y.L., "Copper Complex of a Pyridine-Modified Poly-(Amidoamine) Dendrimer as a Chemical Nuclease: Synthetic and Catalytic Study", *Nanomedicine*, Volume 7(3), pp. 273-76, 2011.
- Kapoor S., "Lanthanum and its Rapidly Emerging Role as an Anti-Carcinogenic Agent", *Journal of Cellular Biochemistry*, Volume 106(2), p. 193, 2009.
- Karet G.B., Sun Z.M., Streib W.E., Bollinger J.C., Hendrickson D.N., and Christou G., "Stepwise Assembly of a Polyoxovanadate from Mononuclear Units in an Organic Solvent: Carboxylate-stabilised Fragments in the Conversion of  $[\text{VOCl}_4]^{2-}$  to  $[\text{V}_{15}\text{O}_{36}]^{5-}$ ", *Chemical Communications, Cambridge*, Volume 22, pp. 2249-2250, 1999.
- Karrer P., und Keller H., "Quantitative Bestimmung von Nicotinsäure-Amid in Tierischen Organen", *Helvetica Chimica Acta*, Volume 21, Issue 1, pp. 1170-1171, 1938. *ibid.* Volume 22, Issue 1, pp. 1292–1293, 1939.
- Katritzky A.R., and Pozharskii A.F., "Handbook of Heterocyclic Chemistry", Second Edition, p. 734, Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands, 2000.
- Katsaros N., and Anagnostopoulou A., "Rhodium and Its Compounds as Potential Agents in Cancer Treatment", *Critical Reviews in Oncology and Hematology*, Volume 42(3), pp. 297-308, 2002.
- Kelland Lloyd, "Broadening the Clinical Use of Platinum Drug-based Chemotherapy with New Analogues, Satraplatin and Picoplatin", *Expert Opinion on Investigational Drugs*, Volume 16, Number 7, pp. 1009-1021, 2007.
- Keller R.J., Sharma R.P., Grover T.A., and Piette H., "Vanadium Lipid Peroxidation: Evidence for Involvement of Vanadyl and Hydroxyl Radicals", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 265, pp. 524–33, 1988.
- Kemp M.M., Kumar A., Mousa S., Dyskin E., Yalcin M., Ajayan P., Linhardt R.J., and Mousa S.A.,

- "Gold and Silver Nanoparticles Conjugated with Heparin Derivative Possess Anti-angiogenesis Properties", *Nanotechnology*, Volume 20(45), pp. 4551-04, 2009.
- Kepert David Leslie, "The Early Transition Metals", Academic Press Inc., 24/28 Oval Road, NW 1, London, 1972, ISBN: 012404350X.
- Khalili Farhad, Henni Amr, and East Allan L.L., "pK<sub>a</sub> Values of Some Piperazines at 298, 303, 313, and 323°K", *Journal of Chemical and Engineering Data*, Volume 54(10), pp. 2914-2917, 2009.
- Khan G., and Merajver S., "Copper Chelation in Cancer Therapy Using Tetrathiomolybdate: An Evolving Paradigm", *Expert Opinion on Investigational Drugs*, Volume 4, pp. 541-548, 2009.
- Khan Salim, Al-Qurainy Fahad, and Anwar Firoz, "Sodium Azide: A Chemical Mutagen for Enhancement of Agronomic Traits of Crop Plants", *International Journal of Environmental Science and Technology*, Volume 4, pp. 1-21, 2009.
- Kiat H.C., Weng K.L., Gerard J., Lawrence L., Siden T., and Anne V., "Organometallic Cluster Analogues of Tamoxifen", *Journal of Organometallic Chemistry*, Volume 69, pp. 9-19, 2006.
- Kim E., Sage P.T., Love K.R., Mempel T.R., Springer T.A., von Andrian U.H., and Oró J., "Synthesis of Putrescine under Possible Primitive Earth Conditions", *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, Springer Netherlands, 1991. ISSN: 0169-6149.
- King Roger J. B., and Robins Mike W., "Cancer Biology", Third Edition, p. 292, Pearson Educational Ltd., Prentice Hall, Harlow Essex, England, 2006.
- Kirk Raymond Eller, and Othmer Donald Frederick, "Encyclopedia of Chemical Technology", University of Michigan, Third Edition, Volumes 1-26, p. V24-59, John Wiley and Sons, New York, 1980.
- Kirschner K., and Melton D.W., "Multiple Roles of the ERCC1-XPF Endonuclease in DNA Repair and Resistance to Anticancer Drugs", *Anticancer Research*, Volume 30(9), pp. 3223-32, 2010.
- Kitchen Leland J., and Pollard C.B., "Derivatives of Piperazine. XXI. Synthesis of Piperazine and C-Substituted Piperazines", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 69(4), pp. 854–855, 1947.
- Kivistö K.T., Kroemer H.K., and Eichelbaum M., "The Role of Human Cytochrome P450 Enzymes in the Metabolism of Anticancer Agents: Implications for Drug Interactions", *Review Paper, British Journal of Clinical Pharmacology*, Volume 40(6), pp. 523-30, 1995.
- Klug A., "The Discovery of Zinc Fingers and their Applications in Gene Regulation and Genome Manipulation", *Annual Review of Biochemistry*, Volume 79, pp. 213–31, 2010.
- Knezevich A., Muzic J., Hatsukami D.K., Hecht S.S., and Stepanov I., "Pyridine", in *Taber's Cyclopedic Medical Dictionary*, Editors: Taber C.W., and Thomas C.L., Eighteenth Edition, p.2207, Publisher: F.A. Davis Co, Philadelphia, USA, 1997. ISBN: 0803601948.
- Knipp M., "Metallothioneins and Platinum(II) Anti-Tumor Compounds", *Review Paper, Current Medicinal Chemistry*, Volume 16(5), pp. 522-37, 2009.
- Knoevenagel E., and Fries A., "Synthesen in der Pyridinreihe. Über eine Erweiterung der Hantzsch'schen Dihydropyridinsynthese", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 31, Issue 1, pp. 761-767, 1898.
- Kohno J., Kawahata T., Otake T., Morimoto M., Mori H., Ueba N., Nishio M., Kinumaki A., Komatsubara S., and Kawashima K., "Boromycin, An Anti-HIV Antibiotic", *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, Volume 60(6), pp. 1036–37, 1996.

- Kondos G.C., "Determination of Piperazine in Solutions Containing 1,1,4,4-Tetramethyl-Piperazinium Diiodide, Thiamine and Pyridoxine", *Analyst*, Volume 102, Issue 1210, pp. 59-62, 1977.
- Kopf-Majer P., "Complexes of Metals Other than Platinum as Antitumor Agents", *European Journal of Clinical Pharmacology*, Volume 47, pp. 1–16, 1994.
- Korchagin V.B., Tomashchik A.D., and Vasil'ev V.I., "Differential Titration of the Monosodium Salt of Novobiocin and Nicotinamide in a Medium of Nonaqueous Solvents", *Pharmaceutical Chemistry Journal*, Volume 5, Issue 8, pp 501-504, 1971.
- Korfel A., Scheulen M.E., Schmoll H.J., Grundel O., Harstrick A., Knoche M., Fels L.M., Skorzec M., Bach F., Baumgart J., Sass G., Seeber S., Thiel E., and Berdel W.E., "Phase I Clinical and Pharmacokinetic Study of Titanocene Dichloride in Adults with Advanced Solid Tumors", *Clinical Cancer Research*, Volume 4(11), pp. 2701-08, 1998.
- Kornberg A., "The Participation of Inorganic Pyrophosphate in the Reversible Enzymatic Synthesis of Diphosphopyridine Nucleotide", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 176(3), pp. 1475–76, 1948.
- Koerner Wilhelm G., "Fatti per Servire alla Determinazione del Luogo Chimico Nelle Sostanze Aromatiche", *Giornale di Scienze Naturali ed Economiche di Palermo*, Volume 5, pp. 208–256, 1869.
- Koerner Wilhelm G., "Studi Sull' Isomeria Della Così Dette Sostanze Aromatiche a Sei Atomi di Carbonio", *Gazzetta Chimica Italiana*, Volume 4, pp. 305–446, 1874.
- Kostelc J.G., Preti G., Nelson P.R., Brauner L., and Baehni P., "Oral Odors in Early Experimental Gingivitis", *Journal of Periodontal Research*, Volume 19(3), pp. 303–312, 1984.
- Kostova I., "Ruthenium Complexes as Anticancer Agents", *Current Medicinal Chemistry*, Volume 13(9), pp. 1085-1107, 2006.
- Kotkar R.M., and Srivastava A.K., "Polarographic Behaviour of Nicotinamide in Surfactant Media and Its Determination in Cetyltrimethyl-Ammonium Bromide Surfactant System", *Analytical Sciences*, Volume 24, pp. 1093 – 1098, 2008.
- Kotkar R.M., and Srivastava A.K., "Complexation of Macrocyclic Compounds with Nicotinamide in Dimethylsulphoxide and Its Water Mixture", *Supramolecular Chemistry*, Volume 20, pp. 545 – 552, 2008.
- Kotkar R.M., and Srivastava A.K., "Electrochemical Behavior of Nicotinamide Using Carbon Paste Electrode Modified with Macrocyclic Compounds", *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, Volume 60, pp. 271–279, 2008.
- Kouinis J.K., Velsistas P.T., and Tsangaris J.M., Complexes of Oxamic Acid with Au(III) and Rh(III), *Monatshefte für Chemie*, Volume 113(S), pp. 155-161, 1982.
- Kovala-Demertzi D., Hadjipavlou-Litina D., Primikiri A., Staninska M., Kotoglou C., Demertzis M.A., "Anti-inflammatory, Antiproliferative, and Radical-scavenging Activities of Tolfenamic Acid and its Metal Complexes", *Chemistry & Biodiversity*, Volume 6, pp. 948-960, 2009.
- Kowol Christian R., Reisner, Erwin, Chiorescu Ion, Arion Vladimir B., Galanski Markus, Deubel Dirk V., Keppler Bernhard K., "An Electrochemical Study of Antineoplastic Gallium, Iron and Ruthenium Complexes with Redox Noninnocent  $\alpha$ -N-Heterocyclic Chalcogen-semicarbazones", *Inorganic Chemistry*, Volume 47, Number 23, pp. 11032–11047, 2008.
- Κουρουνάκη Αγγελική, "Σημειώσεις Μοριακής Φαρμακολογίας", Αθήνα, 2006.
- Κουτσελίνης Αντώνης, "Τοξικολογία", Επιστημονικές Εκδόσεις Γ. Παρισιάνου, Αθήνα, 1997.

- Kratz F., Nuber B., Weiß J., and Keppler B.K., "Synthesis and Characterization of Potential Antitumour and Antiviral Gallium(III) Complexes of N-Heterocycles", *Polyhedron*, Volume 11, Number 4, pp. 487–498, 1992.
- Kresja C.M., Nadler S.G., Esselstyn J.M., Kavanagh J.T., Ledbetter J.A., and Scieven G.L., "Role of Oxidative Stress in the Action of Vanadium Phosphotyrosine Phosphatase Inhibitors", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 272, pp. 11541–49, 1997.
- Kresja C.M., and Schieven G.L., "Impact of Oxidative Stress on Signal Transduction Control by Phosphotyrosine Phosphatases", *Environmental Health Perspectives*, Volume 106(5), pp. 1179–84, 1998.
- Krygowski T.M., Szatyowicz H., and Zachara J.E., "How H-bonding Modifies Molecular Structure and  $\pi$ -Electron Delocalization in the Ring of Pyridine/Pyridinium Derivatives, Involved in H-Bond Complexation", *Journal of Organic Chemistry*, Volume 70(22), pp. 8859–65, 2005.
- Kuryшева A.S., Ledenkov S.F., and Sharnin V.A., "The Enthalpies of Formation of Copper(II) Complexes with Nicotinamide in Aqueous Ethanol and DMSO", *Russian Journal of Physical Chemistry*, Volume 80, Issue 8, pp. 1244-1248, 2006.
- Κωστόκη Ε., Φυτά Γ., και Μαράκου Π., "Σημειώσεις Φαρμακευτική Χημείας με Στοιχεία Medicinal Chemistry", Αθήνα, 1994.
- Kyrides Lucas P., "Manufacture of Piperazine", Monsanto Chemicals, United States Patent No. 2267686, Primary Class: 544/358, International Class: C07D295/023, Publication Date: 12/23/1941.

## L

- 
- Labows Jr., and John N., "Odorants as Chemical Messengers", In Moskowitz H.R., "Odor Quality and Chemical Structure", Warren Craig B., Washington DC, American Chemical Society, pp.195–210, 1981. ISBN: 9780841206076.
  - Ladenburg Albert and Abel J., "Über das Aethylenimin (Spermin)", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 21, Issue 1, pp. 758–766, 1888.
  - Ladenburg Albert, "Über die Imine und Darstellung von Pentamethylendiamin", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 18, pp. 2956-61, 1885, *ibid*: Volume 19, pp. 2585, 1885. *ibid*: Volume 19, pp. 780, 1886. *ibid*: Volume 27, pp. 2958, 1894.
  - Ladenburg Albert, "Lectures on the History of the Development of Chemistry Since the Time of Lavoisier", pp. 283–287, Printed at the Darien Press, Simpkin, Marshall, Hamilton, Kent Co. Ltd., William F. Clay, 18 Teviot Place, Edinburgh, 1900.
  - Laird A.D., and Shalloway D., "Oncoprotein Signalling and Mitosis", *Cellular Signalling*, Volume 9(3-4), pp. 249-55, 1997.
  - Lange T.S., Kim K.K., Singh R.K., Strongin R.M., McCourt C.K., and Brard L., "Iron (III)-salophene: An Organometallic Compound with Selective Cytotoxic and Anti-proliferative Properties in Platinum-resistant Ovarian Cancer Cells", *PLOS ONE*, Volume Volume 3, Issue 5, e2303, pp. 1-10, 2008.
  - Larijani G.E., Bartkowski R.R., Azad S.S., Seltzer J.L., Weinberger M.J., Beach C.A., and Goldberg M.E., "Clinical Pharmacology of Pipecuronium Bromide", *Anesthesia and Analgesia*, Volume 68(6), pp. 734-39, 1989.
  - Larrea Edurne S., Mesa Jose L., Pizarro Jose L., Arriortua Maria I., and Rojo Teofilo, "Hydrothermal Synthesis and Crystal Structure of the  $[\text{Ni}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2)(\text{V}_4\text{O}_{12})(\text{H}_2\text{O})_2]$  and  $[\text{Ni}_3(\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2)_3(\text{V}_8\text{O}_{23})]$  Inorganic–Organic Hybrid Compounds. Thermal, Spectroscopic and

- Magnetic Studies of the Hydrated Phase", *Journal of Solid State Chemistry*, Volume 180, pp. 1149–1157, 2007.
- Larrea Edurne S., "New Transition Metal Hybrid Vanadates. Hydrothermal Synthesis, Structural Study and Their Spectroscopic and Magnetic Properties", Doctoral thesis, Universidad del País Vasco, (UPV/EHU), España, 2009.
  - Larrea Edurne S., Pizarro José L., Mesa José L., Rojo Teofilo, and Arriortua Maria I., "Synthesis, Crystal Structure and Thermal Behaviour of  $[M(C_{16}H_{16}N_3)_2(VO_3)_4]$  Compounds", *Acta Crystallographica, Section A*, Volume 67, p. C380, 2011.
  - Larsen P.O., Sundahl M., and Wieczorkowska E., "Hydride Ion and Sulfite Ion Attack on Pyridine Derivatives. Correspondence Between Biochemical and Chemical Reactions as Demonstrated by UV Spectroscopy", *Journal of Chemical Education*, Volume 59, Issue 12, pp. 1080-81, 1982.
  - Lau K.W., Mercer D., Itani K.M., Nicolau D.P., Kuti J.L., Mansfield D., and Dana A., "Randomized, Open-Label, Comparative Study of Piperacillin-Tazobactam Administered by Continuous Infusion Versus Intermittent Infusion for Treatment of Hospitalized Patients with Complicated Intra-Abdominal Infection", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Volume 50(11), pp. 3556–61, 2006.
  - Lawrence Stephen A., "Amines: Synthesis, Properties and Applications", First Edition, 372 pages, Cambridge University Press, 100 Brook Hill Drive, West Nyack, NY, USA, 2004.
  - Lazarescu V., Gutu A., Totir N., and Hamelin A., "Electrocatalytic Effects in the Electrochemical Reduction of Pyrazine on Single Crystal IB Metal Electrodes", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Volume 486, Issue 1, pp. 16–22, 2000.
  - Lednicer Daniel, and Mitscher Lester A., "Piperazines and Pyrazines", in the "Organic Chemistry of Drug Synthesis", Volume 2, pp. 298-302, John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 1980.
  - Lee T.H., Colton R.J., White M.G., and Rabalais J.W., "Electronic Structure of Hydrazoic Acid and the Azide Ion from X-ray and Ultraviolet Electron Spectroscopy", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 97(17), pp. 4845-4851, 1975.
  - Lee U., Jung Y.H., Joo H.C., and Park K.M., "A New Decavanadate with a Tricobalt(II) Cation and 18-Crown-6, Tris-[Hexaaqua-Cobalt(II)] Decavanadate Bis-(18-Crown-6)-Deca-hydrate", *Acta Crystallographica, Section E*, Volume 59, Part 7, pp. m421-m424, 2003.
  - Lenhardt J., Baruah B., Crans D.C., and Johnson M.D., "Self Exchange Electron Transfer in High Oxidation State Non-Oxo Metal Complexes. Amavadin", *Chemical Communications*, Volume 44, pp. 4641-4643, 2006.
  - Leslie G.B., Hanahoe T.H.P., Ireson J.D., and Sturman G., "Some Pharmacological Properties of Pyridine", (in German), *Pharmacological Research Communications*, Volume 5, pp. 654-664, 1935.
  - Levenson A.S., and Jordan V.C., "MCF-7 the First Hormone –Responsive Breast Cancer Cell Line", *Cancer Research*, Volume 57(15), pp. 3071-8, 1997.
  - Levina A., Mitra A., and Lay P.A., "Recent Developments in Ruthenium Anticancer Drugs", Review Article, *Metallomics*, Volume 1(6), pp. 458-70, 2009.
  - Li Fang, Wu Xiangyang, Zou Yanmin, Zhao Ting, Zhang Min, Feng Weiwei, and Yang Liuqing, "Comparing Anti-hyperglycemic Activity and Acute Oral Toxicity of Three Different Trivalent Chromium Complexes in Mice", *Food and Chemical Toxicology*, Volume 50, Issue 5, pp. 1623–1631, 2012.
  - Li H., and Qian Z.M., "Transferrin/Transferring Receptor-Mediated Drug Delivery", *Medicinal Research Reviews*, Volume 22, pp. 225-250, 2002.

- Li J., Hing Y.H., Ge M.F., Wang C.G., Li Z.P., and Niu S.Y., "A New Polyoxovanadium Supramolecular Complex  $[(N(CH_2CH_2NH_3)_3)_2(V_6O_{18})] \cdot 3H_2O$ : Synthesis, Structure, and Thermal Properties", *Journal of Structural Chemistry (Zhurnal Strukturnoi Khimii, Russian)*, Volume 50, Issue 3, pp. 532-538, 2009.
- Li M., Zhang Y., Liu Z., Bharadwaj U., Wang H., Wang X., Zhang S., Liuzzi J.P., Chang S.M., Cousins R.J., Fisher W.E., Brunnicardi F.C., Logsdon C.D., Chen C., Yao Q., "Aberrant Expression of Zinc Transporter ZIP4 (SLC39A4) Significantly Contributes to Human Pancreatic Cancer Pathogenesis and Progression", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Volume 104, pp. 18636–41, 2007.
- Li P.C., Wang C.R., Shieh D.B., Wei C.W., Liao C.K., Poe C., Jhan S., Ding A.A., and Wu Y.N., "In vivo Photoacoustic Molecular Imaging with Simultaneous Multiple Selective Targeting Using Antibody-conjugated Gold Nanorods", *Optics Express*, Volume 16(23), pp. 18605-18615, 2008.
- Li Y.G., Lu Y., Luan G.Y., Wang E.B., Duan Y.B., Hu C.W., Hu N.H., and Jia H.Q., "Hydrothermal Syntheses and Crystal Structures of New Cage-Like Mixed-Valent Polyoxovanadates", *Polyhedron*, Volume 21(25-26), pp. 2601-2608, 2002.
- Liang X.Y., Parkinson J.A., Weishaupl M., Gould R.O., Paisey S.J., Park H.S., Hunter T.M., Blindauer C.A., Parsons S., and Sadler P.J., "Structure and Dynamics of Metallomacrocycles: Recognition of Zinc Xylyl-bicyclam by an HIV Coreceptor", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 124, pp. 9105-9112, 2002.
- Liang X.Y., Weishaupl M., Parkinson J.A., Parsons S., McGregor P.A., and Sadler P.J., "Selective Recognition of Configurational Substates of Zinc Cyclam by Carboxylates: Implications for the Design and Mechanism of Action of Anti-HIV Agents", *Chemistry-a European Journal*, Volume 9, pp. 4709-4717, 2003.
- Liasko R., Karkabounas S., Kabanos T., Collery P., Malamas M., Thomas C., Stefanou D., and Evangelou A., "Antitumor Effects of a Vanadium Complex with Cysteine on Malignant Cell Lines and Tumor-Bearing Wistar Rats", *Metal Ions in Biology and Medicine- International Symposium*, Volume 6, pp. 577–9, 2000.
- Liasko R., Kabanos T.A., Karkabounas S., Malamas M., Tasiopoulos A.J., Stefanou D., Collery P., and Evangelou A., "Beneficial Effects of a Vanadium Complex with Cysteine, Administered at Low Doses on Benzo-(alpha)-Pyrene-Induced Leiomyosarcomas in Wistar Rats", *Anticancer Research*, Volume 18(5A), pp. 3609-13, 1998.
- Libavius Andreas, *Alchemia Andreae Libavii [T.1]*, First Edition, Frankfurt 1597, French Edition: Published by Hachette Livre- BNF, pages 462, 2012. ISBN 10: 2012635172.
- Lichten L.A., and Cousins R.J., "Mammalian Zinc Transporters: Nutritional and Physiologic Regulation", *Annual Review of Nutrition*, Volume 29, pp. 153-76, 2009.
- Linde D.R., and Milne G.W.A. (Editors), "Handbook of Data on Organic Compounds", Vol. I and Vol. II., Third Edition, CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA, 1994 and Lide D.R. and Milne G.W.A. (Editors), "Properties of Organic Compounds", CRC Press, Version 5.0, Boca Raton, FL, USA, 1996.
- Lin Jing-Xiang, Lü Jian, Cao Rong, Chen Jiu-Tong, and Su Cheng-Yong, "Supramolecular Assembly from Decavanadate Anion and Decamethylcucurbit-[5]-Urill", *Dalton Transactions*, Issue 7, pp. 1101-1103, 2009.
- Linnell Robert, "Notes- Dissociation Constants of 2-Substituted Pyridines", *Journal of Organic Chemistry*, Volume 25, Issue 2, pp. 290-290, 1960.
- Lippard S.J., "Platinum, Gold and Other Metal Chemotherapeutic Agents", ACS Symposium Series, American Chemical Society, 1983. ISBN:0-8412-0758-5.

- Lippard Stephen J., and Berg Jeremy M., (Editors), "Principles of Bioinorganic Chemistry", University Science Books, Mill Valley California, USA, 1994. ISBN: 0935702725.
- Lissauer H., "Zwei Fälle von Leukaemie", Berliner Klinische Wochenschrift, Volumen 2, Seite 100, pp. 403-404, 1865.
- Liu Haixing, Wang Jing, Li Yufeng, and Jian Fangfang, "Synthesis and Crystal Structure of the Heteronuclear Decavanadates Complex:  $[\text{Fe}(\text{phen})_3]_2 \cdot [\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 15\text{H}_2\text{O}$ ", Journal of Chemical Crystallography, Volume 41, Issue 9, pp. 1254-1257, 2011.
- Liu H.G., Wang Y., Lian L., and Xu L.H., "Tributyltin Induces DNA Damage as well as Oxidative Damage in Rats", Environmental Toxicology, Volume 21, pp. 166-171, 2006.
- Liu Kevin K.C., Cornelius Peter, Patterson Terrell A., Zeng Yuan, Santucci Stephanie, Tomlinson Elizabeth, Gibbons Colleen, Maurer Tristan S., Marala Ravi, Brown Janice, Kong Jimmy X., Lee Eunsun, Werner Wendy, Wenzel Zane, and Vage Chandra, "Design and Synthesis of Orally-Active and Selective Azaindane 5HT<sub>2c</sub> Agonist for the Treatment of Obesity", Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Volume 20, Issue 1, pp. 266–271, 2010.
- Liu Mao Chin, Lin Tai Shun, and Sartorelli Alan C., "Synthesis and Antitumor Activity of Amino Derivatives of Pyridine-2-Carboxaldehyde Thio-Semicarbazone", Journal of Medicinal Chemistry, Volume 35(20), pp. 3672–3677, 1992.
- Liu Mao Chin, Lin Tai Shun, Cory Joseph G., Cory Ann H., and Sartorelli Alan C., "Synthesis and Biological Activity of 3- and 5-Amino Derivatives of Pyridine-2-Carboxaldehyde Thiosemi-Carbazone", Journal of Medicinal Chemistry, Volume 39(13), pp. 2586–2593, 1996.
- Lloyd D.R., Phillips D.H., and Carmichael P.L., "Generation of Putative Intrastrand Cross-Links and Strand Breaks in DNA by Transition Metal Ion-Mediated Oxygen Radical Attack", Chemical Research in Toxicology, Volume 10, pp. 393–400, 1997.
- Lloyd D.R., Carmichael P.L., and Phillips D.H., "Comparison of the Formation of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and Single- and Double-Strand Breaks in DNA Mediated by Fenton Reactions", Chemical Research in Toxicology, Volume 11, pp. 420–27, 1998.
- Long Kathryn R., Long Robert C. Jr., and Goldstein J.H., "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Investigation of Pyridine, Nicotinamide, Their Cations and Related Compounds", Journal of Magnetic Resonance, Volume 8, Issue 3, pp. 207–216, 1972.
- Loo C., Lin A., Hirsch L., Lee M.H., Barton J., Halas N., West J., and Drezek R., "Nanoshell-enabled Photonics-based Imaging and Therapy of Cancer", Technology in Cancer Research and Treatment, Volume 3(1), pp. 33-40, 2004.
- Lorisean P.M., Carciunescu D.G., Doadrio Villarejo J.C., Certad Fombona G., and Gayyal P., "Pharmacomodulation of New Organometallic Complexes of Ir, Pt, Os, Rh, Pd: In vivo and in vitro Trypanocidal Study Against Trypanosoma Brucci Brucci", Tropical Medicine and Parasitology, 43(2), 110-114, 1992.
- Lowry Michael S., Hudson William R., Pascal Robert A.Jr., and Bernhard Stefan, "Accelerated Luminophore Discovery Through Combinatorial Synthesis", Journal of the American Chemical Society, Volume 126(43), pp. 14129–14135, 2004.
- Luboldt W., Pinkert J., Matzky C., Wunderlich G., and Kotzerke J., "Radiopharmaceutical Tracking of Particles Injected into Tumors: A Model to Study Clearance Kinetics", Current Drug Delivery, Volume 6(3), pp. 255-260, 2009.
- Lukevits É., "Pyridine Derivatives in the Drug Arsenal -150 Years of Pyridine Chemistry", Chemistry of Heterocyclic Compounds, Volume 31, Issue 6, pp. 639-650, 1995.
- Lummen G., Sperling H., Luboldt H., Otto T., and Rubben H., "Phase II Trial of Titanocene Dichloride in Advanced Renal-Cell Carcinoma, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, Volume 42(5), pp. 415-17, 1998.

- Lund Henrik, Oeckler Oliver, Schröder Thorsten, Schulz Axel, Villinger Alexander, "Mercury Azides and the Azide of Millon's Base", *Angewandte Chemie International Edition*, Volume 52, Issue 41, pp. 10900–10904, 2013.
- Lunn George, "Reduction of Heterocycles with Nickel-Aluminum Alloy", *Journal of Organic Chemistry*, Volume 52(6), pp. 1043–1046, 1987.
- Lv Yao-Kang, Jiang Zhan-Guo, Gan Li-Hua, Liu Ming-Xian and Feng Yun-Long, "Three Novel Organic-Inorganic Hybrid Materials Based on Decaoxovanadates Obtained from a New Liquid Phase Reaction", *CrystEngComm*, Issue 1, 14, 314-322, 2012.

## M

---

- Mabbs F.E., "Some Aspects of the Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy of d-Transition Metal Compounds", *Chemical Society Reviews*, Volume 22, Issue 5, 313-324, 1993.
- MacCullough J.P., Douslin D.R., Messerly J.F., Hossenlopp I.A., Kincheloe T.C., and Waddington Guy, "Pyridine: Experimental and Calculated Chemical Thermodynamic Properties between 0 and 1500°K: A Revised Vibrational Assignment", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 79(16), pp. 4289- 4295, 1957.
- MacDonald M.L., Rogers Q.R., and Morris J.G., "Nutrition of the Domestic Cat, a Mammalian Carnivore", *Annual Review of Nutrition*, Volume 4, pp. 521–562, 1984.
- MacKinnell Robert Gilmore, Parchment Ralph E., Perantoni Alan O., and Pierce Barry G., "The Biological Basis of Cancer", First Edition, Volume XIX, pages 378, Publisher: Cambridge University Press, New York, USA, 1998. ISBN: 0521596955.
- MacLean J.D., and Daniels O.L., "Polarographic Determination of Piperazine in Animal Feeds", *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Volume 54(3), pp. 555-57, 1971.
- Madaan P., and Tyagi V.K., "Quaternary Pyridinium Salts: A Review", *Journal of Oleo Science*, Volume 57(4), pp. 197-215, 2008.
- Magoulas G.E., Bariamis S.E., Athanassopoulos C.M., and Papaioannou D., "Synthetic Studies Towards the Development of Novel Minoxidil Analogs and Conjugates with Polyamines", *Tetrahedron Letters*, Volume 51, Issue 15, pp. 1989-1993, 2010.
- Mailman R.B., and Lewis M.H., "Neurotoxicants and Central Catecholamine Systems", Review Article, *Neurotoxicology*, Volume 8(1), pp. 123-39, 1987.
- Majer V., and Svoboda V., "Enthalpies of Vaporization of Organic Compounds: A Critical Review and Data Compilation", Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1985. ISBN0-632-01529-2.
- Manessi A., Papaefstathiou G.S., Raptopoulou C.P., Terzis A., and Zafiropoulos T.F., "Synthetic Analogue Approach to Metallobleomycins: Syntheses, Structure and Properties of Mononuclear and Tetranuclear Gallium(III) Complexes of a Ligand that Resembles the Metal-binding Site of Bleomycin", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 98, Number 12, pp. 2052–2062, 2004.
- Mann Frederick George, "Hofmann's Ethylene Bases. Synthesis of  $\beta\beta'$ -Diaminodiethylamine and of  $\beta\beta'$ - Diaminodiethylmethylamine", *Journal of the Chemical Society*, Paper Number: 107, pp 461-466, 1934.
- Mann Frederick George, "The Constitution of Complex Metallic Salts. Part II. The Platinum Derivatives of  $\beta\beta'$ -Diaminodiethylamine", *Journal of the Chemical Society*, Paper Number: 108, pp. 466-474, 1934. *ibid*: "Hofmann's Ethylene Bases. Synthesis of  $\beta\beta'$ -Diaminodiethylamine and of  $\beta\beta'$ -Diaminodiethylmethylamine", Paper Number: 107, pp. 461-466, 1934.



- Mann Frederick George, and Saunders Bernard Charles, "Practical Organic Chemistry", Fourth Edition, Longman Group Limited, Northampton, United Kingdom, 1960.
- Mann Frederick George, "The Chemistry of Heterocyclic Compounds", Wiley-Interscience, United States, 15 September 2009. ISBN:0470188006.
- Manning D.L., Robertson J.F., Ellis I.O., Elston C.W., McClelland R.A., Gee J.M.W., Jones R.J., Green C.D., Cannon P., Blamey R.W. and Nicholson R.I., "Oestrogen Regulated Genes in Breast Cancer: Association of pLIV1 with Lymph Node Involvement", *European Journal of Cancer*, Volume 30A, pp. 675–78, 1994.
- Mantri Y., Lippard S.J., and Baik M.H., "Bifunctional Binding of Cis-Platin to DNA: Why does Cis-Platin Form 1,2-Intrastrand Cross-Links with AG but not with GA? ", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 129, pp. 5023-5030, 2007.
- Manzanares J., Cantón R., and Zaragoza F., "Effect of Beta-Pyridyl-Carbinol on Platelet Aggregation", *Thrombosis Research*, Volume 49(6), pp. 501-8, 1988.
- Maragoudakis M.E., Peristeris P., Missirlis E., Aletras A., Andriopoulou P., and Haralabopoulos G., "Inhibition of Angiogenesis by Anthracyclines and Titanocene Dichloride", *Annals of the New York Academy of Sciences*, Volume 732, pp. 280-93, 1994.
- Marcon G., Carotti S., Coronello M., Messori L., Mini E., Orioli P., Mazzie T., Cinellu M.A., and Minghetti G., "Gold (III) Complexes with Bipyridyl Ligands: Solution Chemistry, Cytotoxicity, and DNA Binding Properties", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 45, pp. 1672-1677, 2002.
- Margalioth E.J., Schenker J.G., and Chevion M., "Copper and Zinc Levels in Normal and Malignant Tissues", *Cancer*, Volume 52, pp. 868–72, 1983.
- Marsh M.M., and Hilty W.W., "Pharmaceuticals and Natural Drugs", *Analytical Chemistry*, Volume 22(2), pp. 245–253, 1950.
- Martin C., Berrige G., Mistry P., Higgins C., Charlton P., and Callaghan R., "Drug Binding Sites on P-Glycoprotein are Altered by ATP Binidng Prior to Nucleotide Hydrolysis", *Biochemistry*, Volume 39, pp. 11901–06, 2000.
- Martin William B., and Martell Arthur E., "Preparation of Piperazine", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 70(5), pp. 1817–1818, 1948.
- Martyn D.C., Cortese J.F., Tyndall E., Dick J., Mazitschek R., Munoz B., and Clardy J., "Anti-plasmodial Activity of Piperazine Sulfonamides", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Volume 20(1), pp. 218-21, 2010.
- Marvin Cohen, "Antihyperlipidemic Properties of  $\beta$ -Pyridylcarbinol a Review of Preclinical Studies", *Life Sciences*, Volume 37, Issue 21, pp. 1949–1961, 1985.
- Masayuki Ohtani, Susumu Kuwabata, and Hiroshi Yoneyama, "Electrochemical Oxidation of Reduced Nicotinamide Coenzymes at Au Electrodes Modified with Phenothiazine Derivative Monolayers", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Volume 422, Number 1, pp. 45-54, 1997.
- Mason P.A., and Sturman Gillian, "Some Pharmacological Properties of Piperazine", *British Journal of Pharmacology*, Volume 44, Issue 2, pp. 169–176, 1972.
- Mason Pamela, "Handbook of Dietary Supplements: Vitamins and Other Health Supplements", pages 256, Blackwell Science, Oxford, Cambridge, United Kingdom, 1995.
- Matsuno Yagi A., and Hatefi Y., "Studies on the Mechanism of Oxidative Phosphorylation. ATP Synthesis by Submitochondrial Particles Inhibited at F<sub>0</sub> by Venturicidin and Organotin Compounds", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 268(9), pp. 6168-6173, 1993.

- MCA (Manufacturing Chemists' Association), "Guide for Safety in the Chemical Laboratory", Second Edition, Volume VI Illustrated, pages 505, Van Nostrand Reinhold Co., New York, USA, 1972. OCLC Number: 00239983.
- Medina M.A., Urdiales J.L., Rodríguez-Caso C., Ramírez F.J., and Sánchez-Jiménez F., "Biogenic Amines and Polyamines: Similar Biochemistry for Different Physiological Missions and Biomedical Applications", *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, Volume 38(1), pp. 23-59, 2003.
- Medina M.A., Correa-Fiz F., Rodríguez-Caso C., and Sánchez-Jiménez F., "A Comprehensive View of Polyamine and Histamine Metabolism to the Light of New Technologies", *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, Volume 9(4), pp. 854-64, 2005.
- Medina R.M., Rodríguez J., Quiroga A.G., Ramos-Lima F.J., Moneo V., Carnero A., Navarro-Ranninger C., and Macazaga M.J., "Influence of (Hydroxymethyl)-Pyridine and Pyridine-Carboxylic acids, in Trans-Position to the Isopropylamine and Amine Ligands, on the Cytotoxicity of Platinum Complexes", *Chemistry and Biodiversity*, Volume 5(10), pp. 2090-2100, 2008.
- Mehdi M.Z., Pandey S.K., Theberge J.F., and Srivastava A.K., "Insulin Signal Mimicry as a Mechanism for the Insulin-like Effects of Vanadium", *Cell Biochemistry and Biophysics*, Volume 44(1), pp. 73-81, 2006.
- Mehlen P., and Fearon E.R., "Role of the Dependence Receptor DCC in Colorectal Cancer Pathogenesis", *Journal of Clinical Oncology*, Volume 22(16), pp. 3420-28, 2004.
- Mendelsohn John, "The Molecular Basis of Cancer", Second Edition, pages 691, University of Michigan, Publisher: W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A, 2001.
- Mendham J., Denney R.C., Barnes J.D., Denney R.C., and Thomas M.J.K., "Vogel's Quantitative Chemical Analysis", Sixth Edition, pages 418, Prentice Hall, New York, 2000. ISBN: 0-582-22628-7.
- Mensch F., and Mensch Fritz "Heterocyclic Compounds such as Pyrroles, Pyridines, Indoles, Pyrollidins, Piperidines, Imidazol and Pyrazins", Essen-Steele, Deutschland, Erdöl Kohle Erdgas Petrochemie, Volume 2, pp. 67–71, 1969.
- Messori L., Abbate F., Marcon G., Orioli P., Fontani M., Mini E., and Carroti S., "Gold (III) Complexes as Potential Antitumor Agents: Solution Chemistry, Cytotoxicity and DNA Binding Properties", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 43, pp. 3541-3548, 2000.
- Michael J.P., "Indolizidine and Quinolizidine Alkaloids", Review Article, *Natural Product Reports*, Volume 22(5), pp. 603-26, 2005.
- Michael J.P., "Quinoline, Quinazoline and Acridone Alkaloids", *Natural Product Reports*, Volume 22, pp. 627–646, 2005. *ibid*: Review Article, *Natural Product Reports*, Volume 25(1), pp. 166-87, 2008.
- Milcent R., and Chau F., "Chimie Organique Hétérocyclique: Structures Fondamentales", pp. 241–282, EDP Sciences, 2002. ISBN: 2-86883-583-X.
- Mirabelli C.K., Badger A.M., Sung C.P., Hillegass L., Sung C.M., Johnson R.K., Picker D., Schwartz D., Dorman J., and Martellucci S., "Pharmacological Activities of Spiro-Germanium and Other Structurally Related Azaspiranes: Effects on Tumor Cell and Macrophage Functions", *Anti-Cancer Drug Design*, Volume 3(4), pp. 231-42, 1989.
- Mirabelli C.K., Johnson R.K., Hill D.T., Faucette L.F., Girard G.R., Kuo G.Y., Sung C.M., and Croke S.T., "Correlation of the In Vitro Cytotoxic and In Vivo Antitumor Activities of Gold(I) Coordination Complexes", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 29(2), pp. 218-23, 1986.

- Mirabelli C.K., Johnson R.K., Sung C.M., Faucette L., Muirhead K., and Crooke S.T., "Evaluation of the In Vivo Antitumor Activity and In Vitro Cytotoxic Properties of Auranofin, a Coordinated Gold Compound, in Murine Tumor Models", *Cancer Research*, Volume 45(1), pp. 32-39, 1985.
- Miras Haralampos N., Raptis Raphael G., Lalioti Nikolia, Sigalas Michael P., Baran Peter, and Kabanos Th. A., "A Novel Series of Vanadium-Sulfite Polyoxometalates: Synthesis, Structural, and Physical Studies", *Chemistry-A European Journal*, Volume 11, Issue 8, pp. 2295–2306, 2005.
- Mishra S., Mathur R., and Hamburger A.W., "Modulation of Cytotoxic Activity of Tumor Necrosis Factor by Protein Tyrosine Phosphatase Inhibitors", *Lymphokine and Cytokine Research*, Volume 13, pp. 77–83, 1994.
- Mohn L., *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 48, 590, 1965.
- Mojumdar S.C., Melník M., and Jóna E., "Thermoanalytical Investigation of Magnesium(II) Complexes with Nicotinamide as Bio-Active Ligand", *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Volume 56, Issue 2, pp. 533-539, 1999.
- Möller E.F., and Birkofer L., "Konstitutionsspezifität der Nicotinsäure als Wuchsstoff bei *Proteus Vulgaris* und *Streptobacterium Plantarum*", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, Volume 75(9), pp. 1108-1118, 1942.
- Mootz D., "Crystal Structures of Pyridine and Pyridine Trihydrate", *The Journal of Chemical Physics*, Volume 75(3), pp. 1517, 1981.
- Morinville A., Maysinger D., and Shaver A., "From Vanadis to Atropos: Vanadium Compounds as Pharmacological Tools in Cell Death Signaling", *Trends in Pharmacological Sciences*, Volume 19, pp. 452–60, 1998.
- Mosher H.S., in "Heterocyclic Compounds", Editor: Elderfield R.C., Volume I, pp. 475, John Wiley and Sons Inc., New York, 1950
- Mosi R., Seguin B., Cameron B., and Amankawa L., "Mechanistic Studies on AMD6221: A Ruthenium Based Nitric Oxide Scavenger", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 292, pp. 519-529, 2002.
- Moussa A.A., and Abou Romia M.M., "Electrochemistry of the Azide Ion—I. Electrocapillary Behaviour of Mercury in Aqueous Sodium Azide Solutions", *Electrochimica Acta*, Volume 15, Issue 8, pp. 1373–1380, 1970.
- Moussa A.A., and Abou Romia M.M., "Electrochemistry of the Azide Ion—II. Differential Capacitance of Mercury in Aqueous Sodium Azide Solutions; Specific Adsorption of Azide Ion Compared with that of Halide Ions", *Electrochimica Acta*, Volume 15, Issue 8, pp. 1381–1390, 1970.
- Moussa A.A., Abou Romia M.M., and Heakal F. El-Taib, "Electrochemistry of the Azide Ion—III. Reactivity of the Azide Ion Compared with that of Chloride and Bromide Ions towards Electron Transfer at Electrodes", *Electrochimica Acta*, Volume 15, Issue 8, pp. 1391–1397, 1970.
- Μπαρμπούνάκη-Κωνσταντάκου Ε., "Χημειοθεραπεία", Εκδόσεις ΒΗΤΑ, Ιατρικές εκδόσεις, Αθήνα, 2004.
- Mukherjee B., Patra B., Mahapatra S., Banerjee P., Tiwari A., and Chatterjee M., "Vanadium-an Element of a Typical Biological Significance", *Toxicology Letters*, Volume 150(2), pp. 135-143, 2004.
- Mullally Ann and Ebert Benjamin L., "NF1 Inactivation Revs up Ras in Adult Acute Myelogenous Leukemia", *Clinical Cancer Research*, Volume 16(16), pp. 4074-76, 2010.

- Müller Achim, Krickemeyer Erich, Penk Michael, Walberg Heinz Jürgen, and Bögge Hartmut, "Spherical Mixed-Valence  $[V_{15}O_{36}]^{5-}$ , an Example from an Unusual Cluster Family", *Angewandte Chemie International Edition in English*, Volume 26(10), pp. 1045-46, 1987.
- Müller Achim, Penk Michael, Rohlfing Ralf, Krickemeyer Erich, and Döring Joachim, "Topologically Interesting Cages for Negative Ions with Extremely High Coordination Number: An Unusual Property of V-O Clusters", *Angewandte Chemie International Edition in English*, Volume 102, Issue 8, pp. 927-929, 1990 and Volume 29, Issue 8, pp. 926-927, 1990.
- Müller Achim, Krickemeyer Erich, Penk Michael, Rohlfing Ralf, Armatage Anja, and Bögge Hartmut, "Template- Controlled Formation of Cluster Shells or a Type of Molecular Recognition: Synthesis of  $[HV_{22}O_{54}(ClO_4)]^{6-}$  and  $[H_2V_{18}O_{44}(N_3)]^{5-}$ ", *Angewandte Chemie International Edition in English*, Volume 103, Issue 12, pp. 1720-1722, 1991 and Volume 30, Issue 12, pp. 1674-1677, 1991.
- Müller Achim, Rohlfing Ralf, Krickemeyer Erich, and Bögge Hartmut, "Control of the Linkage of Inorganic Fragments of V-O Compounds: From Cluster Shells as Carcerands via Cluster Aggregates to Solid-State Structures", *Angewandte Chemie International Edition in English*, Volume 105, Issue 6, pp. 916-918, 1993 and Volume 32, Issue 6, pp. 909-912, 1993.
- Müller Achim, Reuter Hans, and Dillinger Stephan, "Supramolecular Inorganic Chemistry: Small Guests in Small and Large Hosts", *Angewandte Chemie International Edition in English*, Volume 34, Issue 21, pp. 2328–2361, 1995.
- Müller Achim, Sessoli Roberta, Krickemeyer Erich, Bögge Hartmut, Meyer Jochen, Gatteschi Dante, Pardi Luca, Westphal Jörg, Hovemeier Kai, Rohlfing Ralf, Döring Joachim, Hellweg Frank, Beugholt Christian, and Schmidtman Marc, "Polyoxovanadates: High-Nuclearity Spin Clusters with Interesting Host-Guest Systems and Different Electron Populations. Synthesis, Spin Organization, Magnetochemistry, and Spectroscopic Studies", *Inorganic Chemistry*, Volume 36(23), pp. 5239-5250, 1997.
- Müller Achim, Kögerler Paul, Bögge Hartmut, "Pythagorean Harmony in the World of Metal Oxygen Clusters of the  $Mo_{11}$  Type: Giant Wheels and Spheres, both Based on a Pentagonal Type Unit", *Structure and Bonding*, 96, 203-236, 2000
- Munemori M., Niwa I., and Musha S., "Coulometric Titration of Pyridine with Electrolytically Generated Hydrogen Ion", *Bulletin of University of Osaka Prefecture, Series A, Engineering and Natural Sciences*, Volume 9(1), pp. 45-49, 1960.
- Murakami M., and Hirano T., "Intracellular Zinc Homeostasis and Zinc Signalling", *Cancer Science*, Volume 99, pp. 1515–22, 2008.
- Muralikrishna U., Krishnamurthy Mannam, and Rao N. Someswara, "Analytical Uses of Charge-Transfer Complexes: Determination of Pure and Dosage Forms of Piperazine", *Analyst*, Volume 109, Issue 10, pp. 1277-1279, 1984.
- Murashima Takashi, Nishi Keiji, Nakamoto Ken-ichi, Kato Atsushi, Tamai Ryuji, Uno Hidemitsu, and Ono Noboru, "Preparation of Novel Heteroisindoles from Nitropyridines and Nitropyridones", *Heterocycles, Special Issue*, Volume 58, Number 1, pp. 301-310, 2002.
- Murray Michael F., "Nicotinamide: An Oral Antimicrobial Agent with Activity Against Both Mycobacterium Tuberculosis and Human Immunodeficiency Virus", *Oxford Journals Medicine, Clinical Infectious Diseases*, Volume 36, Issue 4, pp. 453-460, 2003.

## N

- Nahas R., and Moher M., "Complementary and Alternative Medicine for the Treatment of Type 2 Diabetes", *Review Article, Canadian Family Physician*, Volume 55(6), pp. 591-596, 2009.

- Najajreh Y., Perez J.M., Navarro-Ranninger C., and Gibsin D., "Novel Soluble Cationic trans-Diaminedichloroplatinum (II) Complexes that are Active Against cis-platin Resistant Ovarian Cancer Cell Lines", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 45, pp. 5189-5195, 2002.
- Nakamoto Kazuo, "Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds", Fifth Edition, Part A: Theory and Applications in Inorganic Chemistry, ISBN 978-0-471-74339-2 and Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry, ISBN: 0471163929. Publisher: John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 1997.
- Nakamura Setsuko, and Ozeki Tomoji, "Hydrogen-bonded Aggregates of Protonated Decavanadate Anions in Their Tetraalkylammonium Salts", *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions*, Volume 42, pp. 472-480, 2001.
- Nakanishi T., "Endocrine Disruption by Organotin Compounds; Organotins Function as a Powerful Agonist for Nuclear Receptors rather than an Aromatase Inhibitor", *Journal of Toxicological Sciences*, Volume 33, pp. 269-276, 2008.
- Nakanishi T., Nishikawa J., and Tanaka K., "Molecular Targets of Organotin Compounds in Endocrine Disruption: Do Organotin Compounds Function as Aromatase Inhibitors in Mammals?", *Review Article, Environmental Sciences*, Volume 13(2), pp. 89-100, 2006.
- Narciso Hugh L. Jr., Cheong Wai-Fung, Crilley Richard J., Doiron Daniel R., Spears J. Richard, "Retention of Tin Ethyl Etiopurpurin (SnET2) by Atheromatous Plaques: Studies in vitro and in vivo Rabbit", *SPIE Proceedings, Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Interventions IV*, Volume 2130, p. 30, 1994.
- Narla R.K., Dong Y., D'Cruz O.J., Navara C., Uckum F.M., "Bis-(4,7-Dimethyl 1-1,10 Phenanthroline)-Sulfato-Oxovanadium (IV) as a Novel Apoptosis-Inducing Anticancer Agent", *Clinical Cancer Research*, Volume 6, pp. 1546–56. 2000
- Narla Rama Krishna, Dong Yanhong, Ghosh P., Thoen K., Uckun Fatih M., "Apoptosis-Inducing Vanadium Complexes", *Drugs of the Future*, 25(10), 1053-1068, 2000.
- Nash P., and Clegg D.O., "Proriatic Arthritis Therapy: NSAID and Traditional DMARDS", *Annals of the Rheumatic Diseases*, Volume 64, pp. 74-77, 2005.
- National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, "National Occupational Exposure Survey", Cincinnati, OH, USA, 1981–83.
- National Toxicology Program (NTP), "Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Pyridine in F344/N Rats and B6C3F1 Mice", *Drinking Water Studies, National Toxicology Program, Technical Report Series, No 470*, US Department of Health and Human Services, 1-327, March 2000.
- Navaneeswari R., and Raveendra Reddy P., "Analytical Method for Piperazine in an Active pharmaceutical Ingredient Using Chemical Derivatization and HPLC-UV", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, Volume 4(6), pp. 2854-2859, 2012.
- Nawijn M.C., Alendar A., and Berns A., "For Better or for Worse: the Role of Pim Oncogenes in Tumorigenesis", *Nature Reviews Cancer*, Volume 11(1), pp. 23-34, 2011.
- Nesnow S., Argus M., Bergman H., Chu K., Frith C., Helmes T., McGaughy R., Ray V., Slaga T.J., Tennant R., and Weisberger E., "Chemical Carcinogens. A Review and Analysis of the Literature of Selected Chemicals and the Establishment of the Gene-Tox Carcinogen Data Base. A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program", *Mutation Research*, Volume 185(1-2), pp. 1-195, 1987.
- Niault T.S., and Baccharini M., "Targets of Raf in Tumorigenesis", *Carcinogenesis*, Volume 31(7), pp. 1165-74, 2010.

- Nicolaou K.C., Scarpelli R., Bollbuck B., Werschkun B., Pereira M.M.A., Wartmann M., Altmann K.H., Zaharevitz D., Gussio R., and Giannakakou P., "Chemical Synthesis and Biological Properties of Pyridine Epothilones", *Chemistry and Biology*, Volume 7, Issue 8, pp. 593–599, 2000.
- Nikula K.I., and Lewis J.L., "Olfactory Mucosal Lesions in F344 Rats Following Inhalation Exposure to Pyridine at Threshold Limit Value Concentrations", *Fundamental and Applied Toxicology*, Volume 23(10), pp. 510-517, 1994.
- Niren N.M., "Pharmacologic Doses of Nicotinamide in the Treatment of Inflammatory Skin Conditions: A Review", *Cutis*, Volume 77, Suppl.1, pp. 11–6, 2006.
- Nirmalendu Datta-Gupta, Debasis Malakar, and Rudeen Glover Ramcharan, "Binding of Pyridine to a Zinc Porphyrin in Aromatic Solvents", *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, Volume 43, Issue 9, pp 2079–2080, 1981.
- Nisha A.S., "Biotechnological Studies for the Production of Arachidonic Acid from *Mortierella Alpina*", Doctoral Thesis, University of Mysore, Department of Food Microbiology, Karnataka, India, 2009
- Nobili S., Mini E., Landini I., Gabbiani C., Casini A., and Messori L., "Gold Compounds as Anticancer Agents: Chemistry, Cellular Pharmacology, and Preclinical Studies", Review Article, *Medicinal Research Reviews*, Volume 30(3), pp. 550-80, 2010.
- Noboru O., Murashima T., Nishi K., Nakamoto K.I., Kato A., Tamai R., and Hidemitsu U., "Preparation of Novel Heteroisindoles from Nitropyridines and Nitropyridones", *Heterocycles*, Volume 58S, pp. 301-310, 2002.
- Nolte Matthias, Pantenburg Ingo, and Meyer Gerd, "Three Piperazine Complexes of Divalent Mercury:  $\text{Hg}(\text{CF}_3)_2(\text{Pip})$ ,  $\text{Hg}(\text{SCN})_2(\text{Pip})$ , and  $(\text{Hg}(\text{SCN})_2)_2(\text{Pip})$ ", *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, Volume 631(13-14), pp. 2923-2927, 2005.
- Novakova O., and Brabec V., "DNA Binding Mode of Ruthenium Complexes and Relationship to Tumor Cell Toxicity", Review Article, *Drug Resistance Updates*, Volume 9(3), pp. 111-122, 2006.
- Novartis Pharma AG, "Gleevec, Imatinib Mesylate, Tablets Prescribing Information", East Hanover, N.J., USA, Anon. *Drugs of Choice for Cancer, Treatment Guidelines from the Medical Letter*, Volume 1, pp. 41–52, 2003.
- Nowell P.C., "Mechanisms of Tumor Progression", *Cancer Research*, Volume 46, pp. 2203-2207, 1986.
- Nuchtavorn Nantana, and Suntornsuk Leena, "Simultaneous Analysis of Biologically Active Pyridines in Pharmaceutical Formulations by Capillary Zone Electrophoresis", *Journal of Chromatographic Science*, Volume 50(2), pp. 151-156, 2012.
- Nunes Giovana G., Bonatto Ana C., de Albuquerque Carla G., Barison Andersson, Ribeiro Ronny R., Back Davi F., Andrade André Vitor C., de Sá Eduardo L., de Pedrosa Fábio O., Soares Jaísa F., and de Souza Emanuel M., "Synthesis, Characterization and Chemoprotective Activity of Polyoxovanadates Against DNA Alkylation", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 108, pp. 36-46, 2012.
- Nurhidayati Liliek Nurdiani, "Simultaneous Determination of Caffeine and Nicotinamide in Energy Drinks by First-Order Derivative Spectrophotometry", *The Second International Conference on Pharmacy and Advance Pharmaceutical Sciences, Proceeding International Conference, Book 1 Pharmaceutical Science*, pp 71-75, Yogyakarta, Indonesia, 2011.

- Ochiai Eiji, "Recent Japanese Work on the Chemistry of Pyridine-1-Oxide and Related Compounds", *Journal of Organic Chemistry*, Volume 18(5), pp. 534–551, 1953.
- von Oettingen Wolfgang Felix, "Therapeutic Agents of the Pyrrole and Pyridine Group, Including the Tropinol, Scopoline, Ecgonine and Granatoline Derivatives", in "Haskell Laboratory of Industrial Toxicology", Volume XII, pp. 258, Lithoprinted by Edwards Brothers Inc., Ann Arbor, Michigan, 1936. Also in *Archive of Internal Medicine*, American Medical Association, Chicago, Volume 60, Number 1, p. 176, 1937.
- Oexmann Jochen, Hensel Christian, and Kather Alfons, "Post-Combustion CO<sub>2</sub>-Capture from Coal-fired Power Plants: Preliminary Evaluation of an Integrated Chemical Absorption Process with Piperazine-promoted Potassium Carbonate", *International Journal of Greenhouse Gas Control*, Volume 2, Issue 4, pp. 539-552, 2008.
- Offing O.E., Etok C., and Martelli S., "Synthesis and Biological Activity of Pt Group Metal Complexes of o-Vanillin- Thiosemicarbazones", *Farmaco*, Volume 51(12), pp. 801-808, 1996.
- Olin K.L., Stearns D.M., Armstrong W.H., and Keen C.L., "Comparative Retention/ Absorption of <sup>51</sup>Chromium (<sup>51</sup>Cr) from <sup>51</sup>Cr Chloride, <sup>51</sup>Cr Nicotinate and <sup>51</sup>Cr Picolinate in a Rat Model", *Trace Elements Electrolytes*, Volume 11, pp. 182-186, 1994.
- Olszewski U., and Hamilton G., "Mechanisms of Cytotoxicity of Anticancer Titanocenes", *Review Article, Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, Volume 10(4), pp. 302-11, 2010.
- O' Neil Maryadele J. (Editor), "The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals", Fourteenth Edition, pp.1756, Whitehouse Station, N.J., USA, Merck and Co. Inc., 2006.
- Onodera Shinji, and Ikegami Yusaku, "Far-Infrared Spectra of Ammonium, Potassium, Rubidium and Cesium Metavanadates", *Inorganic Chemistry*, Volume 18(2), pp. 466–468, 1979.
- Oppenheimer N.J., Arnold L.J., and Kaplan N.O., "A Structure of Pyridine Nucleotides in Solution", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States, USA*, Volume 68(12), pp. 3200–3205, 1971.
- Ortho-McNeil-Janssen Pharmaceuticals Inc., "Floxin Tablets, Ofloxacin Tablets", Medication Guide, Approved by the U.S. Food and Drug Administration, Raritan, N.J., 08869, USA, FDA, 2008.
- Osada S., Nishikawa J., Nakanishi T., Tanaka K., and Nishihara T., "Some Organotin Compounds Enhance Histone Acetyltransferase Activity", *Toxicology Letters*, Volume 155, pp. 329-335, 2005.
- Osol A.O., and Hoover J.E., (Editors), "Remington's Pharmaceutical Sciences", Fifteenth Edition, 950 pages, Mack Publishing Co., Easton Pa., Pennsylvania, 1975.
- Ott Erwin, und Ohse Ernst, "Zur Kenntnis Einfacher Cyan- und Cyanurverbindungen. II. Über das Cyanurtriazid, (C<sub>3</sub>N<sub>12</sub>)", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, A and B Series*, Volume 54, Issue 2, pp. 179–186, 1921.
- Ott Ingo, and Gust Ronald, "Non Platinum Metal Complexes as Anti-cancer Drugs", *Review Article, Archiv der Pharmazie, Weinheim*, Volume 340, Issue 3, pp. 117–126, 2007.
- Özogul Fatih, and Özogul Yesim, "Formation of Biogenic Amines by Gram-Negative Rods Isolated from Fresh, Spoiled, VP-packed and MAP-packed Herring (*Clupea Harengus*)", *European Food Research and Technology*, Volume 221, Issue 5, pp. 575-581, 2005.
- Özogul Fatih, and Özogul Yesim, "The Ability of Biogenic Amines and Ammonia Production by Single Bacterial Cultures", *European Food Research and Technology*, Volume 225, Issue 3-4, pp. 385-394, 2007.

- Pacigová S., Rakovský E., Sivák M., and Žák Z., "Hexakis-[3-(Aminocarbonyl)-Pyridinium] Decavanadate (V) Dehydrate", *Acta Crystallographica*, Volume C63, pp. 419–422, 2007.
- Padoley K., Mudliar S., and Pandey R., "Microbial Degradation of Pyridine and  $\alpha$ -Picoline Using a Strain of the Genera *Pseudomonas* and *Nocardia* sp", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, Volume 32, Issue 4, p. 501-510, 2009.
- Pan Cheng-Ling, Xu Ji-Qing, Li Guang-Hua, Cui Xiao-Bing, Ye Ling, and Yang Guang-Di, "A Two-Dimensional Framework of Novel Vanadium Clusters Bridged by  $[\text{Ni}(\text{en})_2]^{2+}$ :  $\text{K}\{\text{V}_{12}^{\text{IV}}\text{V}_6^{\text{VO}}\text{O}_{42}\text{Cl}[\text{Ni}(\text{en})_2]_3\}\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ", *Communication Paper, Dalton Transactions*, Volume 3, Issue 4, pp. 517-518, 2003.
- Panagiotopoulos A., Perlepes S.P., Bakalbassis E.G., Terzis A., and Raptopoulou C.P., "Modeling the Use of Lanthanides (III) as Probes at Calcium (II) Binding Sites in Biological Systems: Preparation and Characterization of Neodymium (III) and Calcium (II) Malonamato(-1) Complexes", *Polyhedron*, Volume 29, pp. 2465-2472, 2010.
- Pandey S.K., Chiasson J.L., and Srivastava A.K., "Vanadium Salts Stimulate Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinases and Ribosomal S6 Kinases", *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 153, pp. 69–78, 1995.
- Pandu V., Ranga Rao, and Anjaneyulu Y., "Extraction and Spectrophotometric Determination of Vanadium as a Mixed Ligand Complex of Oxine and Azide", *Microchimica Acta*, Volume 61, Issue 4, pp. 481-490, 1973.
- Papaioannou A., Manos M., Karkabounas S., Liasko R., Evangelou A.M., Correia I., Kalfakakou V., Pessoa J.C., and Kabanos T., "Solid State and Solution Studies of a Vanadium (III)-L-Cysteine Compound and Demonstration of Its Antimetastatic, Antioxidant and Inhibition of Neutral Endopeptidase Activities", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 98(6), pp. 959-968, 2004.
- Pappas I.S., Niopas I., and Tsiftoglou A.S., "Ureido- Derivatives of Pyridine: a New Class of Inducers of Murine Erythroleukemia Cell Differentiation", *Anticancer Drug Design*, Volume 7(2), pp. 153-61, 1992.
- Parikh Jekishan R., and Doering William V.E., "Sulfur Trioxide in the Oxidation of Alcohols by Dimethyl Sulfoxide", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 89(21), pp. 5505–5507, 1967.
- Patai Saul (Editor), "The Chemistry of the Amino Group", The Hebrew University Jerusalem, Israel, Interscience Publishers, London - New York, 1968.
- Παταριάς Θ.Α., Κομητοπούλου Κ., και Κουγιανού Σ., "Εισαγωγή στη Βιολογία", Βιολογικό Τμήμα Πανεπιστημίου Αθηνών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 1996. Επίσης Παταριάς Θ.Α., "Θέματα Βιοχημείας Γενετικής του Ανθρώπου", Βιολογικό Τμήμα Πανεπιστημίου Αθηνών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 1983.
- Pearson R.G., and Williams F.V., "Rates of Ionization of Pseudo Acids.<sup>1</sup>V. Steric Effects in the Base-Catalyzed Ionization of Nitroethane", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 75(13), pp. 3073- 3075, 1953.
- Pedersen M.O., Larsen A., Pedersen D.S., Stoltenberg M., and Penkova M., "Metallic Gold Treatment Reduces Proliferation of Inflammatory Cells, Increases Expression of VEGF and FGF, and Stimulates Cell Proliferation in the Subventricular Zone Following Experimental Traumatic Brain Injury", *Histology and Histopathology*, Volume 5, pp. 573-586, 2009.
- Pelengaris Stella, and Michael Khan, "The Molecular Biology of Cancer", First Edition, p. 544, Blackwell Publishing Ltd., 350 Main Street, Malden MA, USA, 2006. ISBN: 978-1-4051-1814-9.



- Perez J.M., Matesanz A.I., Martin-Ambite A., Navarro P., Alonso C., and Souza P., "Synthesis and Characterization of Complexes of p-Isopropyl benzaldehyde and Methyl 2- pyridyl-ketone- thiosemicarbazones with Zn(II) and Cd(II) Metallic Centers. Cytotoxic Activity and Induction of Apoptosis in Pam-ras Cells", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 75, pp. 255-261, 1999.
- Peri Dani, Alexander Jacob S., Tshuva Edit Y., and Melman Artem, "Distinctive Structural Features of Hydroxyamino-1,3,5-Triazine Ligands Leading to Enhanced Hydrolytic Stability of their Titanium Complexes", *Dalton Transactions*, Issue 34, pp. 4169–4172, 2006.
- Perlepes S.P., Huffman J.C., and Christou G., "Preparation and Characterization of Dinuclear Copper(II) Complexes Containing the  $[\text{Cu}_2(\mu\text{-OAc})_2]^{2+}$  Core", *Polyhedron*, Volume 11, pp. 1471-79, 1992.
- Perlepes S.P., Kabanos Th., Lazaridou V., and Tsangaris J.M., "The Coordination Chemistry of N-(2-Aminophenyl)- and N-(3-Amino-Phenyl)-Quinoline-2'-Carboxamide: Two Potentially Tridentate Ligands Containing Secondary Amide and N-donor Groups", *Inorganica Chimica Acta*, Volume 117, pp. 27-37, 1986.
- Perona R., "Cell Signalling: Growth Factors and Tyrosine Kinase Receptors", *Clinical and Translational Oncology*, Volume 8(2), pp. 77-82, 2006.
- Perrone M.G., Bleve L., Santandrea E., Vitale P., Niso M., and Scilimati A., "The Tertiary Amine Nitrogen Atom of Piperazine Sulfonamides as a Novel Determinant of Potent and Selective Beta-3-Adrenoceptor Agonists", *ChemMedChem*, Volume 4(12), pp. 2080-97, 2009.
- Pessoa João Costa, Duarte Maria Teresa, Gillard Robert D., Madeira Catarina, Matias Pedro M. and Tomaz Isabel, "Preparation of  $[\text{VO}(\text{sal-L-Trp})(\text{H}_2\text{O})]$  (sal-L-Trp = N-salicylidene-L-Tryptophanate) and Characterisation of an Unusual Product Obtained from Its Solutions in Water–Pyridine", *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions*, Issue 23, pp. 4015-4020, 1998.
- Pessoa João Costa, and Tomaz Isabel, "Transport of Therapeutic Vanadium and Ruthenium Complexes by Blood Plasma Components", *Current Medicinal Chemistry*, Volume 17(31), pp. 3701-38, 2010.
- Pettersson Lage, Hedman Britt, Nennen Ann-Marie, and Andersson Ingegard, "Multicomponent Polyanions. Hydrolysis and Redox Equilibria of the  $\text{H}^+\text{-HVO}_4^{2-}$  System in 0,6M NaCl. A Complementary Potentiometric and  $^{51}\text{V}$  NMR Study at Low Vanadium Concentrations in Acid Solutions", *Acta Chemica Scandinavica, Series A*, Volume 39, pp. 499-506, 1985.
- Peyrone Michele, (Discoverer of Cis-platin), "Üeber die Einwirkung des Ammoniaks auf Platinchlorür", *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, Volume 51, Issue 1, pp. 1-29, 1844. *ibid*: Volume 55, Issue 2, pp. 205–213, 1845. *ibid*: Peyrone Michele, *Berzelius JahresBericht*, Volume 26, pp. 181-184, 1847.
- Pfuhl P., Kärcher U., Häring N., Baumeister A., Tawab M.A., and Schubert-Zsilavec M., "Simultaneous Determination of Niacin, Niacinamide and Nicotinuric acid in Human Plasma", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 36(5), pp. 1045-52, 2005.
- Pharmacopoeia of Japan, Yakuji Nippo, Eighth Edition, Part I, Volume I, pp. 605 [6], Japan, 1971.
- Piccioli F., Sabatini S., Messori L., Orioli P., Hartinger Ch.G., and Keppler B.K., "A Comparative Study of Adduct Formation between the Anticancer Ruthenium(III) Compound HInd Trans- $[\text{RuCl}_4(\text{Ind})_2]$  and Serum Proteins", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 98(6), pp. 1135-42, 2004.
- Pigeon Pascal, Top Siden, Vessieres Anne, Huche Michel, Hillard Elizabeth A., Salomon Emmanuel, and Jaouen Gerard, "Selective Estrogen Receptor Modulators in the

- Ruthenocene Series. Synthesis and Biological Behavior", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 48, pp. 2814-2821, 2005.
- Pinckard R.N., McManus L.M., Demopoulos C.A., Halonen M., Clark P.O., Shaw J.O., Kniker W.T., and Hanahan D.J., "Molecular Pathobiology of Acetyl Glyceryl Ether Phosphoryl-choline: Evidence for the Structural and Functional Identity with Platelet-Activating Factor", *Journal of the Reticuloendothelial Society*, Volume 28(Suppl), pp. 95-103, 1980.
  - Pircher A., Bauer F., and Paulsen P., "Formation of Cadaverine, Histamine, Putrescine and Tyramine by Bacteria Isolated from Meat, Fermented Sausages and Cheeses", *European Food Research and Technology*, Volume 226, Issue 1-2, pp. 225-231, 2007.
  - Piulats J.M., Jiménez L., García del Muro X., Villanueva A., Viñals F., and Germà-Lluch J.R., "Molecular Mechanisms Behind the Resistance of cis-platin in Germ Cell Tumours", *Clinical and Translational Oncology*, Volume 12, pp. 780-786, 2009.
  - Pockrand I., "Raman Spectroscopy of Pyridine-Exposed Ag, Cu and Au Films in UHV. A Comparative Study", *Chemical Physics Letters*, Volume 85, Issue 1, pp. 37-42, 1982.
  - Podsiadlo P., Sinani V.A., Bahng J.H., Kam N.W., Lee J., and Kotov N.A., "Gold Nanoparticles Enhance the Anti-leukemia Action of a 6-Mercaptopurine Chemotherapeutic Agent", *Langmuir*, Volume 24(2), pp. 568-574, 2008.
  - Pollak N., Dölle C., and Ziegler M., "The Power to Reduce: Pyridine Nucleotides–Small Molecules with a Multitude of Functions", *Biochemical Journal*, Volume 402(2), pp. 205–18, 2007.
  - Pollard C.B., Adelson D.E., and Bain J.P., "Derivatives of Piperazine. II. Utilization in Identification of Fatty Acids", *Journal of American Chemical Society*, Volume 56(8), pp. 1759–1760, 1934.
  - Pollard C.B., and Adelson D.E., "Derivatives of Piperazine. I", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 56(1), pp. 150–150, 1934.
  - Pollock L.J., Finkelman I., and Arieff A.J., "Toxicity of Pyridine in Man", *Archives of Internal Medicine*, Volume 71, pp. 95-106, 1943.
  - Pommier Y., Leo E., Zhang H., and Marchand C., "DNA Topoisomerases and Their Poisoning by Anticancer and Antibacterial Drugs", *Review Article, Chemistry and Biology*, Volume 17(5), pp. 421-33, 2010.
  - Pope M.T., "Heteropoly- and Isopoly- Oxometalates", Springer-Verlag, Berlin, 1983.
  - Pope M.T., and Müller A., "Polyoxometalate Chemistry: An Old Field with New Dimensions in Several Disciplines", *Angewandte Chemie, International Edition in English*, Volume 30, pp. 34-48, 1991.
  - Pope M.T., and Müller A., "Polyoxometalates: From Platonic Solids to Anti-retro Viral Activity", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1994.
  - Posner B.I., Faure R., Burges J.W., Bevan A.P., Lachance D., Zhang-Sun G., Fantus I.G., Ng J.B., Hall D.A., and Lum B.S., "Peroxo vanadium Compounds. A New Class of Potent Phosphotyrosine Phosphatase Inhibitors which are Insulin Mimetics", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 269(6), pp. 4596–4604, 1994.
  - Powell W.H., "Revision of the Extended Hantzsch-Widman System of Nomenclature for Hetero Mono-Cycles", *Pure and Applied Chemistry*, Volume 55(2), pp. 409–416, 1983.
  - Prasad Atmakuri S., "Zinc: An Overview", *Nutrition*, Volume 11, pp. 93–9, 1995.
  - Prasad Atmakuri S., Beck F.W., Doerr T.D., Shamsa F.H., Penny H.S., Marks S.C., Kaplan J., Kucuk O., and Mathog R.H., "Nutritional and Zinc Status of Head and Neck Cancer Patients: An Interpretive Review", *Journal of the American College of Nutrition*, Volume 17(5), pp. 409–18, 1998.

- Prasad Atmakuri S., and Kucuk O., "Zinc in Cancer Prevention", *Cancer and Metastasis Reviews*, Volume 21, pp. 291–5, 2002.
- Preiss J., and Handler P., "Biosynthesis of Diphosphopyridine Nucleotide. I. Identification of Intermediates", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 233(2), pp. 488–92, 1958. *ibid.* Volume 233(2), pp. 493–500, 1958.
- Price-Whelan Alexa, Dietrich Lars E.P., and Newman Dianne K., "Rethinking Secondary Metabolism: Physiological Roles for Phenazine Antibiotics", *Nature Chemical Biology*, Volume 2, Number 2, pp. 71–78, 2006.
- Pribsch Wolfgang, and Rehder Dieter, "Oxovanadium Alkoxides: Structure, Reactivity and Vanadium-<sup>51</sup>NMR Characteristics. Crystal and Molecular Structures of Tris-(2-Chloro-Ethoxy)-Oxovanadium and Aqua-Dichloro-Oxobis-(Tetrahydrofuran)-Vanadium", *Inorganic Chemistry*, Volume 29, pp. 3013–3019, 1990.
- Pribsch Wolfgang, and Rehder Dieter, "Preparation and Vanadium-51 NMR Characteristics of Oxovanadium(V) Compounds. Relation between Metal Shielding and Ligand Electronegativity", *Inorganic Chemistry*, Volume 24(19), pp. 3058–3062, 1985.
- Prodromidis Mamas I., Veltsistas Panayotis G., and Karayannis Miltiades I., "Gravimetric and Spectrophotometric Methods for the Determination of Piperazine. Picronic vs. Picric Acid", *ACH– Models in Chemistry*, Volume 131(5), pp. 621–626, 1994.
- Provinciali M., Di Stefano G., and Fabris N., "Dose-dependent Opposite Effect of Zinc on Apoptosis in Mouse Thymocytes", *International Journal of Immunopharmacology*, Volume 17, pp. 735–44, 1995.
- Pugmire R.J., and Grant D.M., "Carbon-13 Magnetic Resonance 10. The Six-Membered Nitrogen Heterocycles and Their Cations", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 90, Number 3, pp. 697–706, 1968.

## Q

---

- Qiao J., Wang L.D., Duan L., Li Y., Zhang D.Q., and Qiu Y., "Synthesis, Crystal Structure, and Luminescent Properties of a Binuclear Gallium Complex with Mixed Ligands", *Inorganic Chemistry*, Volume 43, Number 16, pp. 5096–5102, 2004.
- Quin Louis D., and Tyrell John A., "Fundamentals of Heterocyclic Chemistry. Importance in Nature and in the Synthesis of Pharmaceuticals", University of North Carolina Wilmington, Published by John Wiley and Sons Inc., Hoboken, New Jersey, USA, 2010.
- Qu Yun, and Farrell Nicholas, "The Product of the Reaction of trans-Diammine-Dichloroplatinum(II) with Diamines is Dependent on Chain Length. Example of a Bridging Ethylenediamine and Formation of a Novel trans-Chelated Structure with 1,5-Pentanediamine", *Inorganic Chemistry*, Volume 31, pp. 930–932, 1992.
- Qu Yun and Farrell Nicholas, "Effect of Diamine Linker on the Chemistry of Bis-(Platinum) Complexes. A Comparison of the Aqueous Solution Behavior of 1,4-Butanediamine and 2,5-Dimethyl-2,5-Hexanediamine Complexes", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 40, Issue 3, pp. 255–264, 1990.
- Qutob S.S., Multani A.S., Pathak S., Feng Y., Kendal W.S., and Ng C.E., "Comparison of the X-radiation, Drug and Ultraviolet-Radiation Responses of Clones Isolated from a Human Colorectal Tumor Cell Line", *Radiation Research*, Volume 161(3), pp. 326–334, 2004.

## R

- Radermacher K.A., Beghein N., Boutry S., Laurent S., Vander Elst L., Muller R.N., Jordan B.F., and Gallez B., "In vivo Detection of Inflammation Using Pegylated Iron Oxide Particles Targeted at E-selectin: a Multimodal Approach Using MR Imaging and EPR Spectroscopy", *Investigative Radiology*, Volume 44(7), pp. 398-404, 2009.
- Radha N., and Mostafa A.E., "Changing Catalytic Activity during Colloidal Platinum Nanocatalysis Due to Shape Changes: Electron- Transfer Reaction", *Journal of American Chemical Society*, Volume 126(23), pp. 7194-7195, 2004.
- Rafique Shazia, Idrees Muhammad, Nasim Anwar, Akbar Haji and Athar Amin, "Transition Metal Complexes as Potential Therapeutic Agents", *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, Volume 5(2), pp. 38-45, 2010.
- Rajendiran C., Ravikumar R.N., Eswaraprasad R.D., and Eswaraiyah P., "An Elegant Method for the Preparation of 3-Cyanomethyl Derivatives of Imidazo[1,2-a]-Pyridines", *Der Pharma Chemica*, Volume 4(6), pp. 2466-2469, 2012.
- Ramachandran Balasubramanian, and Subramanian Sorimuthu, "Amelioration of Diabetic Dyslipidemia by Macrocyclic Binuclear Oxovanadium Complex on Streptozotocin Induced Diabetic Rats", *Molecular and Cellular Biochemistry*, Volume 272, Issue 1-2, pp. 157-164, 2005.
- Ramsay W., "On the Heat of Formation of Aniline, Picoline, Toluidine, Lutidine, Pyridine, Dipicoline, Pyrrol, Glycerin and Furfurol", *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, Volume 35, pp. 696-703, 1879.
- Ramsay W., and Dobbie J.J., "On the Decomposition Products of Quinine, Part I Oxidation with Permanganate", *Journal of the Chemical Society*, Volume 33, pp. 102-104, 1878.
- Rao G.S., and McLennon D.A., "High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Carcinogenic N-Nitroso Derivatives of Piperazine Resulting from Drug-Nitrite Interactions", *Journal of Analytical Toxicology*, Volume 1, Issue 1, pp. 43-45, 1977.
- Räth C., und Binz A., "Mercaptane und Sulfosäuren des Pyridins. XII. Mitteilung über Derivate des Pyridins", *Justus Liebig's Annalen der Chemie*, Volume 487, Issue 1, pp. 105-119, 1931.
- Rauscher-Gabernig E., Gabernig R., Brueller W., Grossgut R., Bauer F., and Paulsen P., "Dietary Exposure Assessment of Putrescine and Cadaverine and Derivation of Tolerable Levels in Selected Foods Consumed in Austria", *European Food Research and Technology*, Volume 235, Issue 2, pp. 209-220, 2012.
- Ray R.S., Roy S., Samanta S., Maitra D., and Chatterjee M., "Protective Role of Vanadium on the Early Process of Rat Mammary Carcinogenesis by Influencing Expression of Metallothionein, GGT-Positive Foci and DNA Fragmentation", *Cell Biochemistry and Function*, Volume 23, pp. 447-456, 2005.
- Ray R.S., Basu M., Ghosh B., Samanta K., Chatterjee M., "Vanadium, a Versatile Biochemical Effector in Chemical Rat Mammary Carcinogenesis", *Nutrition and Cancer*, Volume 51(2), pp. 184-196, 2005.
- Ray S., Mohan R., Singh J.K., Samantaray M.K., Shaikh M.M., Panda D., and Ghosh P., "Anticancer and Antimicrobial Metallopharmaceutical Agents Based on Palladium, Gold, and Silver N-heterocyclic Carbene Complexes", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 129(48), pp. 15042-15053, 2007.
- Reed R.L., "Pyridine", In: "Ethel Browning's Toxicology and Metabolism of Industrial Solvents", Buhler D.R., and Reed D.J. (Editors), Second Edition, Volume 2, pp. 259-267, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1990.

- Rehder Dieter, Weidemann Carola, Duch Andreas, and Priebisch Wolfgang, "Vanadium-51 Shielding in Vanadium(V) Complexes: A Reference Scale for Vanadium Binding Sites in Biomolecules", *Inorganic Chemistry*, Volume 27, pp. 584-587, 1988.
- Rehder Dieter, "Structure and Function of Vanadium Compounds in Living Organisms", *Biometals*, Volume 5, Issue 1, pp. 3-12, 1992.
- Rehder Dieter, Polenova Tatyana, and Bühl M., "Vanadium-<sup>51</sup>NMR", *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, Volume 62, pp. 49-114, 2007.
- Reinert Susanne, and Mohr Gerhard J., "Chemosensor for the Optical Detection of Aliphatic Amines and Diamines", *Chemical Communications*, Issue 19, pp. 2272-2274, 2008.
- Rethy L.A., and Balo-Banga J.M., "The Allergic and Other Side Effects of Non- Steroid Anti-inflammatory Drugs and Gold Salts", *Orvosi Hetilap*, Volume 145(38), pp. 1943-1949, 2004.
- Rishi I., Baidouri H., Abbasi J.A., Bullard-Dilland R., Kajdacsy-Balla A., Pestaner J.P., Skacel M., Tubbs R., and Bagasra O., "Prostate Cancer in African American Men is Associated with Downregulation of Zinc Transporters", *Applied Immuno-histochemistry & Molecular Morphology*, Volume 11, pp. 253-260, 2003.
- Rivers J.P.W., Sinclair A.J., and Crawford M.A., "Inability of the Cat to Desaturate Essential Fatty Acids", *Nature*, Volume 258, pp. 171-173, 1975.
- De Robertis A., De Stefano C., Gianguzza A., and Sammartano S., "Binding of Polyanions by Biogenic Amines. I. Formation and Stability of Protonated Putrescine and Cadaverine Complexes with Inorganic Anions", *Talanta*, Volume 46(5), pp. 1085-93, 1998.
- De Robertis A., De Stefano C., Foti C., Giuffrè O., and Sammartano S., "Thermodynamic Parameters for the Binding of Inorganic and Organic Anions by Biogenic Polyammonium Cations", *Talanta*, Volume 54(6), pp. 1135-52, 2001.
- Robins R.K., "Heterocyclic Compounds", Editor: Elderfield R.C., Volume 8, John Wiley Inc., New York, USA, 1967.
- Robbins and Cotran, "Pathologic Basis of Disease", Authors: Kumar Vinay, Abbas Abul K., Fausto Nelson, and Aster Jon C., Eighth Edition, 1464 Pages, Saunders Elsevier Inc., Philadelphia PA, USA, 2010. ISBN: 978-1-4160-3121-5.
- Robinson Ward T.Jr, "Nonaqueous Titration of Hindered Phenols", Legacy Tobacco Documents Library, University of California, San Fransisco (UCSF), USA, DivisionAnalytical Research, RDM Number 13, pp. 1-7, 1964.
- Rocklage S.M., Cacheris W.P., Quay S.C., Hahn F.E., and Raymond K.N., "Manganese(II) N,N'-dipyridoxyl-ethylenediamine-N,N'-diacetate-5,5'-bis-(phosphate). Synthesis and Characterization of a Paramagnetic Chelate for Magnetic Resonance Imaging Enhancement", *Inorganic Chemistry*, Volume 28, pp. 477-85, 1989.
- Rodd E.H., "Chemistry of Carbon Compounds", Bd. IV, Teil B: Heterocyclic Compounds, Erste Aufl., XVIII, p.1257, Elsevier Publication Co., Amsterdam-London-Princeton, 1959.
- Rodman J.H., Flynn P.M., Robbins B., Jimenez E., Bardeguet A.D., Rodriguez J.F., Blanchard S., and Fridland A., "Systemic Pharmaco-Kinetics and Cellular Pharmacology of Zidovudine in Human Immuno-Deficiency Virus Type 1-Infected Women and Newborn Infants", *Journal of Infectious Diseases*, Volume 180(6), pp. 1844-50, 1999.
- Roeder Julia, and Schink Bernhard, "Syntrophic Degradation of Cadaverine by a Defined Methanogenic Coculture", *Applied and Environmental Microbiology*, Volume 75, Number 14, pp. 4821-4828, 2009.

- Rogers P.R., and Staruszkiewicz W.F., "Modification of the GLC Procedure for the Determination of Cadaverine and Putrescine", FDA Laboratory Information Bulletin, Number 3794, Issue 7, 1993.
- Rogers P.R., Staruszkiewicz W.F., and Benner R.A.Jr., "Gas Chromatographic Method for Putrescine and Cadaverine in Shrimp", Journal of AOAC International, Food Chemical Contaminants, Volume 86(6), Number 6, 1172-78, 2003.
- Roman P., Aranzabe A., Luque A., and Gutierrez-Zorilla J.M., "Preparation and Solid State Characterization of Some Alkylammonium Decavanadates. Crystal Structure of the Hexakis(n-Hexylammonium) Decavanadate Dehydrate", Materials Research Bulletin, Volume 26, pp. 731-740, 1991.
- Roman P., Macias R., Luque A., and Gutiérrez-Zorrilla J.M., "Preparation and Solid State Characterization of Protonated Diethylenetriamine Isopolyvanadates. Molecular and Crystal Structure of the 3-Aza-1,5-Pentamethylene-Diammonium Metavanadate(V)", Original Research Article, Materials Research Bulletin, Volume 27, Issue 5, pp. 573-580, 1992.
- Römpp Hermann, "Römpp Online Lexikon Für Die Chemie", Version 3.5, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Deutschland, 2009. sales@roempp.com.
- Rosenberg Barnett, Van Camp L., and Krigas T., "Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode", Nature, Volume 205, pp. 698-699, 1965.
- Rosenberg Barnett, Van Camp L., Grimley E.B., and Thomson A.J., "The Inhibition of Growth or Cell Division in Escherichia Coli by Different Ionic Species of Platinum(IV) Complexes", Journal of Biological Chemistry, Volume 242(6), pp. 1347-1352, 1967.
- Rosenberg Barnett, Van Camp L., Trosko J.E., and Mansour V.H., "Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents", Nature, Volume 222, pp. 385-386, 1969.
- Rosenberg Barnett, "Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy", Review Paper, Naturwissenschaften, Volume 60, pp. 399-406, 1973.
- Rosenberg Barnett, "Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy", Springer-Verlag, Heidelberg, 1974.
- Rosenberg Barnett, "Noble Metal Complexes in Cancer Chemotherapy", Review Article, Advances in Experimental Medicine and Biology, Volume 91, pp. 129-150, 1977.
- Rosenberg Barnett, "Noble Metal Complexes in Cancer Chemotherapy", Inorganic and Nutritional Aspects of Cancer Series, Plenum, New York, 1978.
- Rosenberg Barnett, "Fundamental Studies with Cis-Platin", General Motors Cancer Research Foundation Prizes. Charles F. Kettering Prize, Cancer, Volume 55, Issue 10, pp. 2303-2316, 1985.
- Roskoski R.Jr., "RAF Protein-Serine/Threonine Kinases: Structure and Regulation", Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 399(3), pp. 313-17, 2010.
- Ross R.W., Zietman A.L., Xie W., Coen J.J., Dahl D.M., Shipley W.U., Kaufman D.S., Islam T., Guimaraes A.R., Weissleder R., and Harisinghani M., "Lymphotropic Nanoparticle-enhanced Magnetic Resonance Imaging (LNMRI) Identifies Occult Lymph Node Metastases in Prostate Cancer Patients prior to Salvage Radiation Therapy", Clinical Imaging, Volume 4, pp. 301-305, 2009.
- Rother Kristina I., "Diabetes Treatment—Bridging the Divide", The New England Journal of Medicine, Volume 356(15), pp. 1499-1501, 2007.
- Rudine A.B., Walter M.G., and Wamser C.C., "Reaction of Dichloromethane with Pyridine Derivatives under Ambient Conditions", Journal of Organic Chemistry, Volume 75(12), pp. 4292–4295, 2010.

- Ruddell W.S.J., Bone E.S., Hill M.J., Blendis L.M., and Walters C.L., "Gastric-Juice Nitrite: A Risk Factor for Cancer in the Hypochlorhydric Stomach?", *The Lancet*, Volume 308, Issue 7994, pp. 1037–1039, 1976.
- Ruddon Raymond W., "Cancer Biology", Fourth Edition, p.530, Oxford University Press Inc., 196 Madison Avenue, New York, USA, 2007. ISBN: 0195175433.
- Russo J., and Russo I.H., "The Role of Estrogen in the Initiation of Breast Cancer", *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, Volume 102(1-5), pp. 89-96, 2006.
- Russo I., Del Mese P., Viretto M., Doronzo G., Mattiello L., Trovati M., and Anfossi G., "Sodium Azide, a Bacteriostatic Preservative Contained in Commercially Available Laboratory Reagents, Influences the Responses of Human Platelets via the cGMP/PKG/VASP Pathway", *Clinical Biochemistry*, Volume 41(4-5), pp. 343-349, 2008.

## S

- Sabbioni E., Pozzi G., Devos S., Pintar A., Gasella L., and Fischbach M., "The Intensity of Vanadium (V)-Induced Cytotoxicity and Morphological Transformation in BALB/3T3 Cells is Dependent on Glutathione Mediated Bio-reduction to Vanadium", *Carcinogenesis*, Volume 14, pp. 2565–8, 1993.
- Sah Peter P.T., "p-Nitrobenzazide and p-Nitrophenyl Isocyanate as Reagents for the Identification of Amines", *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, Volume 59, Issue 3, pp. 231–237, 1940.
- Sakurai H., Shimomura S., Fukuzawa K., and Ishizu K., "Detection of Oxovanadium (IV) and Characterization of its Ligand Environment in Subcellular Fractions of the Liver of Rats Treated with Pentavalent Vanadium(V)", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 96(1), pp. 293–98, 1980.
- Sakurai H., "Vanadium Distribution in Rats and DNA Cleavage by Vanadyl Complex: Implication for Vanadium Toxicity and Biological Effects", *Environmental Health Perspectives*, Volume 3, pp. 35–36, 1994.
- Sakurai H., Tamura H., and Okatani K., "Mechanism for a New Vanadium Complex: Hydroxyl Radical-Dependent DNA Cleavage by 1,10-Phenanthroline-Vanadyl Complex in the Presence of Hydrogen Peroxide", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 206, pp. 133–7, 1995.
- Samet James M., Graves Lee M., Quay Jacqueline, Dailey Lisa A., Devlin Robert B., Ghio Andrew J., Wu Weidong, Bromberg Philip A., and Reed William, "Activation of MAPK's in Human Bronchial Epithelial Cells Exposed to Metals", *American Physiological Society, Lung Cellular and Molecular Physiology, American Journal of Physiology*, Volume 275, pp. L551–L558, 1998.
- Samson M.K., Fraile R.J., Baker L.H., and O'Bryan R., "Phase I-II Clinical Trial of Gallium Nitrate (NSC-15200)", *Cancer Clinical Trials*, Volume 3(2), pp. 131-36, 1980.
- Santhanam K.S.V., and Elving Philip J., "Electrochemical Redox Pattern for Nicotinamide Species in Nonaqueous Media", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 95, Issue 17, pp. 5482–5490, 1973.
- Santhanam K.S.V., Schmamel Conrad O., and Elving Philip J., "Nicotinamide-NAD Sequence: Electrochemical and Allied Chemical Behavior", *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, Volume 1, pp. 147-161, 1974.
- Sanyal S., Karas R.H., and Kuvin J.T., "Present-day Uses of Niacin: Effects on Lipid and Non-lipid Parameters", *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, Volume 8(11), pp. 1711-7, 2007.

- Sarkar Anindita, and Pal Samudranil, "Decavanadates with the  $[\text{Me}_2\text{HN}(\text{CH}_2)_2\text{NHMe}_2]^{2+}$  and the  $[\text{Et}_3\text{NH}]^+$ : Variation in Protonation State and Self-Assembly", *Polyhedron*, Volume 27, Issue 17, pp. 3472–3476, 2008.
- Sarsam S.W., Nutt D.R., Strohfeltdt K., and Watson K.A., "Titanocene Anticancer Complexes and Their Binding Mode of Action to Human Serum Albumin: A Computational Study", *Metallomics*, Volume 3(2), pp. 152-61, 2011.
- Sasi P.K., and Raj R.K., "Colorimetric Determination of Piperazine", *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, Volume 20(3), pp. 180-2, 1976.
- Sasse W.H.F., "2,2'-Bipyridine", in *Organic Syntheses, Collective Volume 5*, pp. 102, 1973. *ibid*: *Collective Volume 46*, pp. 5-8, 1966. *ibid*: "Eine Synthese von Pyridin-Derivaten", *Berichte*, Volume 49 (1), pp. 494–501, 1966.
- Sathisha M.P., Budagumpi S., Kulkarni N.V., Kurdekar G.S., Revankar V.K., and Pai K.S.R., "Synthesis, Structure, Electrochemistry and Spectral Characterization of (D- gluco-pyranose) -4-phenylthiosemicarbazide Metal Complexes and their Antitumor Activity against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice", *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 45, pp. 106-113, 2010.
- Sava G., and Bergamo A., "Ruthenium-Based Compounds and Tumour Growth Control", *Review Article, International Journal of Oncology*, Volume 17(2), pp. 353-65, 2000.
- Sava G., Pacor S., Bregant F., Ceschia V., and Mestroni G., "Metal Complexes of Ruthenium: Antineoplastic Properties and Perspectives", *Review Article, Anticancer Drugs*, Volume 1(2), pp. 99-108, 1990.
- Schellens Jan H.M., McLeod Howard L., and Newell David R., (Editors) "Cancer Clinical Pharmacology", First Edition, 280 pages, Oxford University Press, 2001 Evans Road, Cary, North Carolina 27513, U.S.A., 2005. ISBN: 978-0-19-262966-1.
- Schilling T., Keppler K.B., Heim M.E., Niebch G., Dietzfelbinger H., Rastetter J., and Hanuske A.R., "Clinical Phase I and Pharmacokinetic Trial of the New Titanium Complex Budotitane", *Investigational New Drugs*, Volume 13(4), pp. 327-332, 1996.
- Schmidt Hauke, Andersson Ingegärd, Rehder Dieter, and Pattersson Lage, "A Potentiometric and  $^{51}\text{V}$ -NMR Study of the Aqueous  $\text{H}^+/\text{H}_2\text{VO}_4^-/\text{H}_2\text{O}_2/\text{L-}\alpha\text{-Alanyl-L-Histidine}$  System", *Chemistry a European Journal*, Volume 7, Issue 1, pp. 251-57, 2001.
- Schneider Jens, and Wendisch Volker F., "Biotechnological Production of Polyamines by Bacteria: Recent Achievements and Future Perspectives", *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 91, Issue 1, pp. 17-30, 2011.
- Schneider C.J., Penner-Hahn J.E., and Pecoraro V.L., "Elucidating the Protonation Site of Vanadium Peroxide Complexes and the Implications for Biomimetic Catalysis", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 130, pp. 2712-2713, 2008.
- Schwartz A.E., Leddicotte G.W., Fink R.W., and Friedman E.W., "Trace Elements in Normal and Malignant Human Breast Tissue", *Surgery*, Volume 76, pp. 325–9, 1974.
- Schwarz K., and Mertz W., "Chromium(III) and the Glucose Tolerance Factor", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 85, pp. 292-5, 1959.
- Scriven E.F.V., Toomey J.E.Jr., and Murugan R., "Pyridine and Pyridine Derivatives", Reilly Industries Inc., in Kirk-Othmer "Encyclopedia of Chemical Technology", Fourth Edition, Volume 20, pp. 1-33, 2000.
- Scriven E.F.V., in "Comprehensive Heterocyclic Chemistry", Editors: Katritzky A.R. and Rees C.W., Vol. 2, Pergamon Press, Oxford, U.K., 1984.



- Sebastian S., Azzariti A., Silvestris N., Porcelli L., Russo A., and Paradiso A., "p53 as the Main Traffic Controller of the Cell Signaling Network", *Frontiers in Bioscience*, Volume 15, pp. 1172-90, 2010.
- Sefström Nils Gabriel, "Über das Vanadin, Ein Neues Metall, Gefunden im Stangeneisen von Eckersholm, Einer Eisenhütte, die Ihr Erz von Taberg in Småland Bezieht", *Annalen der Physik und Chemie*, Volume 97, Issue 1, pp. 43–49, 1831.
- Seiler N., "On the Role of GABA in Vertebrate Polyamine Metabolism", *Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR*, Volume 12(5), pp. 411-429, 1980.
- Serra M.A., Pintar A., Casella L., and Sabbioni E., "Vanadium Effects on the Activity of Horseradish Peroxidase, Catalase, Glutathione Peroxidase, and Superoxide Dismutase In Vitro", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 46, pp. 161–174, 1992.
- Sessa C., ten Bokkel Huinik W., Clavel M., Lev L.M., Joss R.A., Renard J., and Cavalli F., "A Phase II Study of Spirogermanium in Patients with Advanced Malignant Lymphoma", *Investigational New Drugs*, Volume 7(2-3), pp. 219-222, 1989.
- Sessler J.L., Doctrow S.R., McMurry T.J., and Lippard S.J., (Editors), "Medicinal Inorganic Chemistry", American Chemical Society, Washington D.C., USA, 2005.
- Shan Yongkui, and Huang Songping D., "Hydrothermal Crystallization and X-ray Structure Determination of a New Decavanadate with Mixed Cations  $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{O})_6]_2[\text{N}(\text{CH}_3)_4]_2[\text{V}_{10}\text{O}_{28}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ", *Journal of Chemical Crystallography*, Volume 29, Issue 1, pp. 93-97, 1999.
- Shan Yongkui, Huang Rui H., and Huang Songping D., "Ein Neuer Weg zu Intercalaten aus Vanadiumpentoxid und Pyridinen:  $(4\text{-H}_2\text{N-C}_5\text{H}_5\text{NH})\text{V}_2\text{O}_5$ ", *Angewandte Chemie International Edition*, Volume 111, Issue 12, pp. 1864–1868, 1999.
- Shannon R.D., and Calvo C., "Crystal Structure of  $\text{LiVO}_3$ ", *Canadian Journal of Chemistry*, Volume 51, pp. 265-273, 1973.
- Shanyin Y., Wenqiu C., Xiaojin Y., Chuan C., Mingfu H., Zushun X., Kelvin W.K., and Yeung C.Y., "Soluble Polyimides Based on a Novel Pyridine-Containing Diamine m,p-PAPP and Various Aromatic Dianhydrides", *Polymer Bulletin*, Volume 66, pp. 1191–1206, 2011.
- Sharnin V.A., Aleksandriysky V.V., Dushina S.V., and Gamov G.A., "Stability of H-Complexes of Nicotinamide Nitrogen Heteroatom with Water and Ethanol in Mixed Solvents by  $^{13}\text{C}$ -NMR Probing", *Magnetic Resonance in Chemistry*, Volume 51, Issue 4, pp. 193–198, 2013.
- Shechter Y., Goldwasser I., Mironchic M., Fridkin M., and Gefel D., "Historic Perspective and Recent Developments on the Insulin-Like Actions of Vanadium; Toward Developing Vanadium-Based Drugs for Diabetes", *Coordination Chemistry Reviews*, Volume 237, pp. 3-11, 2003.
- Sherman Angela R., "Pyridine" in e-EROS "Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis", Leo Paquette (Editor), J. Wiley and Sons, New York, USA, 2004.
- Shi Shu-Yun, Chen Yan, Liu Bo, Lu Yu-Kun, Xu Jia-Ning, Cui Xiao-Bing, and Xu Ji-Qing, "Two Supramolecular Compounds Based on Cage-like Polyoxovanadates: Syntheses, Crystal Structures, and Characterizations", *Journal of Coordination Chemistry*, Volume 62, Issue 18, pp. 2937-2948, 2009.
- Shi X., and Dalal N.S., "Hydroxyl Radical Generation in the NADH/Microsomal Reduction of Vanadate", *Free Radical Research Communications*, Volume 17, pp. 369–76, 1992.
- Shimizu Shinkichi, Watanabe Nanao, Kataoka Toshiaki, Shoji Takayuki, Abe Nobuyuki, Morishita Sinji, and Ichimura Hisao, "Pyridine and Pyridine Derivatives" in "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry", Wiley-VCH, Weinheim, Deutschland, 2005.

- Shimizu Toru, Nozawa Tsunenori, and Hatano Masahiro, "Magnetic Circular Dichroism Studies of Pyridine-Heme Complexes in Aqueous Media", *Bioinorganic Chemistry*, Volume 6, Issue 2, pp. 119–131, 1976.
- Shreve R.N., Riechers E.H., Rubenkoenig H., and Goodman A.H., "Amination in the Heterocyclic Series by Sodium Amide", *Industrial and Engineering Chemistry*, Volume 32 (2), pp. 173-178, 1940.
- Shukla O.P., "Microbial Transformation of Pyridine Compounds", *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Chemical Sciences*, Volume 93, Issue 7, pp. 1143-1153, 1984.
- Σιβρίδη Ευθυμίου, Παθολογική Ανατομική, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα, Τόμος 1<sup>ος</sup>, Σελίδες 149-150, 2007.
- SIELC Technologies, "HPLC Analysis of Piperazine on Primesep Columns", 65 East Palatine Road, Suite 221, Prospect Heights, Illinois, USA, 2012.
- Sigma-Aldrich Catalogue, "Volumetric Titration, High-quality Titration Reagents, Iodine Solution, 0.02M in THF/Pyridine/H<sub>2</sub>O- 70:20:10" and "Hydranal® Going Green Ethanol-Based Karl Fischer Titration with Hydranal E-Type Reagents", Sigma-Aldrich Company Ltd., The Old Brickyard, New Road, Gillingham, Dorset SP8 4XT, United Kingdom, 2011.
- Sigma-Aldrich, "9-Fluorenyl-MethylN-(5-Aminopentyl)-Carbamatehydrobromide", Aldrich Catalogue Number: 47544, CAS-Number: 352351-57-6, Material Safety Data Sheet, pp. 1-7, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Riedstrasse 2, Steinheim 89555, Deutschland.
- Silverstein R.M., Bassler C.C., and Morrill T.C., "Spectrometric Identification of the Organic Compounds", Fourth Edition, pp. 134, 135, 197, 198, 267, 268, John Wiley, New York, USA, 1981.
- Sims Gerald K., and Sommers Lee E., "Biodegradation of Pyridine Derivatives in Soil Suspensions", *Environmental Toxicology and Chemistry*, Volume 5, Issue 6, pp. 503–509, 1986.
- Sims Gerald K., and O'Loughlin Edward J., "Degradation of Pyridines in the Environment", *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, Volume 19(4), pp. 309–340, 1989.
- Sims Gerald K., and O'Loughlin Edward J., "Riboflavin Production During Growth of *Micrococcus Luteus* on Pyridine", *Applied and Environmental Microbiology*, Volume 58(10), pp. 3423–3425, 1992.
- Singh Balraj, and Arlinghaus R.B., "Mos and the Cell Cycle", *Progress in Cell Cycle Research*, Volume 3, pp. 251-9, 1997.
- Singh R.V., and Chaudhary A., "Biologically Relevant Tetra-azamacrocyclic Complexes of Manganese. Spectral, Antimicrobial, Antifertility, and Anti-inflammatory Approach", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 98(11), pp. 1712-1721, 2004.
- Sistonen L., and Alitalo K., "Activation of c-Ras Oncogenes by Mutations and Amplification", *Annals of Clinical Research*, Volume 18(5-6), pp. 297-303, 1986.
- Σιπαρά Νικολάου Μ., "Φαρμακολογία από Αμφιθεάτρου", Σελίδες 262, Εκδόσεις (Cn+n), Communication News and Newsletters, Αθήνα, 1998.
- Skeel Roland T., (Editor), University of Toledo, Ohio, "Handbook of Cancer Chemotherapy", Seventh Edition, Lippincott Williams and Wilkin, Baltimore, USA, 2007.
- Skell Philip S., and Sandler Stanley R., "Reactions of 1,1-Digalocyclopropanes with Electrophilic Reagents. Synthetic Route for Inserting a Carbon Atom Between the Atoms of a Double Bond", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 80(8), pp. 2024-2025, 1958.
- Sliwa Wanda, "Quaternary Salts of Pyridines and Related Compounds", *Current Organic Chemistry*, Volume 7, Issue 10, pp. 995-1048 (54), 2003.

- Sliwińska Urszula, Pruchnik Florian P., Pelińska Irena, Ułaszewski Stanisław, Wilczok Adam, and Zajdel Alicja, "Synthesis, Structure and Antitumor Activity of  $[\text{RhCl}_3(\text{N-N})(\text{DMSO})]$  Polypyridyl Complexes", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 102(10), pp. 1947-51, 2008.
- Smith Paul D., Berry Robert E., Harben Spencer M., Beddoes Roy L., Helliwell Madeleine, Collison David, and Garner David C., "New Vanadium-(IV) and -(V) Analogues of Amavadin", *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, Issue 23, pp. 4509-4516, 1997.
- Smith M.D., Blau S.M., Chang K.B., Tran T.T., Zeller M., Halasyamani P.S., Schrier J., and Norquist A.J., "Inducing Polarity in  $[\text{VO}_3]_n$  Chain Compounds Using Asymmetric Hydrogen Bonding Networks", *Journal of Solid State Chemistry*, Volume 195, pp. 86-93, 2012.
- Sobel J.D., Karpas Z., and Lorber A., "Diagnosing Vaginal Infections Through Measurement of Biogenic Amines by Ion Mobility Spectrometry", *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, Volume 163(1), pp. 81-4, 2012.
- Soignet S.L., Tong W.P., Hirschfeld S., and Warrell R.P.Jr., "Clinical Study of an Organic Arsenical, Melarsoprol, in Patients with Advanced Leukemia", *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, Volume 44(5), pp. 417-21, 1999.
- Sorasaene K., Fu P.K., Angeles-Boza A.M., Dunbar K.R., and Turro C., "Inhibition of Transcription In Vitro by Anticancer Active Dirhodium(II) Complexes", *Inorganic Chemistry*, Volume 42(4), pp. 1267-71, 2003.
- Soriano G., Guarner C., Tomás A., Villanueva C., Torras X., González D., Sainz S., Anguera A., Cussó X., and Balanzó J., "Norfloxacin Prevents Bacterial Infection in Cirrhotics with Gastrointestinal Hemorrhage", *Gastroenterology*, Volume 103(4), pp. 1267-72, 1992.
- Soule H.D., Vazquez J., Long A., Albert S., and Brennan M., "A Human Cell Line from a Pleural Effusion Derived from a Breast Carcinoma 2", *Journal of the National Cancer Institute*, Volume 51, Issue 5, pp. 1409-1416, 1973.
- Soundappan Thiagarajan, Shen-Ming Chen, and Kao-Hui Lin, "Electrochemical Preparation of  $\text{VPtCl}_6$  Film and Its Electrocatalytic Properties with  $\text{NAD}^+$  and Sulfur Oxoanions", *Journal of the Electrochemical Society*, Volume 155(3), pp. E33-E41, 2008.
- Spasojevic I., Batinic-Harberle I. Reboculus, "Electrostatic Contribution in the Catalysis of  $\text{O}_2$ -Dismutation by Superoxide Dimutase Mimics", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 278, pp. 6831-6837, 2003.
- Spies Thomas Douglas, Cooper Graham Clark, and Blankenhorn Marion Arthur, "The Use of Nicotinic Acid in the Treatment of Pellagra", *Journal of the American Medical Association (JAMA)*, Volume 110, Number 9, pp. 622-627, 1938.
- Sporn Michael B., and Roberts Anita B., "Autocrine Growth Factors and Cancer", Review Article, Nature Publishing Group, *Nature*, Volume 313, pp. 745-747, 1985.
- Sreeranth R., Pattabhi Vasantha, Rajan S.S., "Molecular Basis of Chromium Insulin Interactions", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Volume 369, Issue 2, pp. 725-729, 2008.
- Stafforini D.M., McIntyre T.M., Carter M.E., and Prescott S.M., "Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 262, pp. 4215-4222, 1987.
- Stafforini D.M., Tjoelker L.W., McCormick S.P., Vaitkus D., McIntyre T.M., Gray P.W., Young S.G., and Prescott S.M., "Molecular Basis of the Interaction between Plasma Platelet-Activating Factor Acetylhydrolase and Low Density Lipoprotein", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 274, pp. 7018-7024, 1999.

- Standen O.D., Rogers E.W., Goodwin L.G., and Stephenson D., "Activity of Piperazine", *British Medical Journal*, Volume 2(4936), pp. 437–438, 1955.
- Stanojkovic T.P., Kovala-Demertzi D., Primikyri A., Garcia-Santos I., Castineiras A., Juranic Z., Demertzis M.A., "Zinc(II) complexes of 2-acetyl pyridine 1-(4- fluorophenyl)-piperazinyl-thiosemicarbazone: Synthesis, Spectroscopic Study and Crystal Structures – Potential Anticancer Drugs", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 104, pp. 467-476, 2010.
- Stefanidou M., Maravelias C., Dona A., and Spiliopoulou C., "Zinc: A Multipurpose Trace Element", *Archives of Toxicology*, Volume 80, pp. 1–9, 2006.
- de Stefano Concetta, Gianguzza Antonio, Maniaci Roberta, Piazzese Daniela, and Sammartano Silvio, "Binding of Polyanions by Biogenic Amines. II. Formation and Stability of Protonated Putrescine and Cadaverine Complexes with Carboxylic Ligands", *Talanta*, Volume 46(5), pp. 1079-84, 1998.
- de Stefano Concetta, Gianguzza Antonio, Piazzese Daniela, Porcino Nunziatina, and Sammartano Silvio, "Sequestration of Biogenic Amines by Alginic and Fulvic Acids", *Biophysical Chemistry*, Volume 122(3), pp. 221-31, 2006.
- Stochs S.J., and Bagchi D., "Oxidative Mechanisms and Toxicity of Metal Ions", *Free Radical Biology and Medicine*, Volume 18, pp. 321–36, 1995.
- von Stoehr C., "Über Pyrazine und Piperazine", *Journal für Praktische Chemie*, Verlag GmbH, Weinheim, Deutschland, Volume 47, Issue 1, pp. 439–522, 1893.
- von Stoehr C., "Über Pyrazine und Piperazine. IV. Abhandlung", *Journal für Praktische Chemie*, Volume 51, Issue 1, pp. 449–476, Verlag GmbH, Weinheim, Deutschland, 1895.
- Stolberg Arnold L., Morin Sylvie, Lipkowski Jacek, and Irish Donald E., "Adsorption of Pyridine at the Au(111)-Solution Interface", *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, Volume 307, Issues 1–2, pp. 241–262, 1991.
- Suber Lorenza, Bonamico Mario, and Fares Vincenzo, "Synthesis, Magnetism, and X-ray Molecular Structure of the Mixed-Valence Vanadium(IV/V)–Oxygen Cluster  $[\text{VO}_4(\text{V}_{18}\text{O}_{45})]^{9-}$ ", *Inorganic Chemistry*, Volume 36(10), pp. 2030–2033, 1997.
- Sun Q., van Dam R.M., Willett W.C., and Hu FB., "Prospective Study of Zinc Intake and Risk of Type 2 Diabetes in Women", *Diabetes Care*, Volume 32(4), pp. 629-634, 2009.
- Sun R.W., Ma D.L., Wong E.L., and Che C.M., "Some Uses of Transition Metal Complexes as Anti-cancer and Anti-HIV Agents", *Dalton Transactions*, Volume 43, pp. 4884-4892, 2007.
- Syng-Ai C., Basu Baul T.S., and Chatterjee A., "Inhibition of Cell Proliferation and Antitumor Activity of a Novel Organotin Compound", *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, Volume 20(4), pp. 333-42, 2001.

## T

- Tábi Tamás, Lohinai Zsolt, Pálfi Melinda, Levine Martin, and Szökő Éva, "CE–LIF Determination of Salivary Cadaverine and Lysine Concentration Ratio as an Indicator of Lysine Decarboxylase Enzyme Activity", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Volume 391(2), pp. 647-651, 2008.
- Tabuteau A., Cousson A., Pagés M., and Gasperin M., "The Crystal Structure of the Neptunium Metavanadate  $\text{Np}(\text{VO}_3)_4$ ", *Acta Crystallographica Section B*, Volume 35, Part 9, pp. 2000-2002, 1979.

- Taipale J., and Beachy P.A., "The Hedgehog and Wnt Signalling Pathways in Cancer", *Nature*, Volume 411, pp. 349-354, 2001.
- Tamba K., "Studien Über das Verhalten der Ptomaine bei Forensisch-Chemischen Arbeiten", Inaugural Dissertation, Erlangen, 1886 und *Archiv der Pharmazie*, Volume 3(25), pp.408, 1887.
- Tan C.P., Hu S., Liu J., and Ji L.N., "Synthesis, Characterization, Antiproliferative and Antimetastatic Properties of Two Ruthenium-DMSO Complexes Containing 2,2'-Biimidazole", *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 46(5), pp. 1555-63, 2011.
- Tang Shou Yuan, Evangelisti Luca, Velino Biagio, and Caminati Walther, "Pyridine", *Columbia Electronic Encyclopedia*, Sixth Edition, pp.1, 2013.
- Tang Shou Yuan, Evangelisti Luca, Velino Biagio, and Caminati Walther, "Rotational Spectrum and Molecular Properties of Pyridine...Xenon", *Journal of Chemical Physics*, Volume 129, Issue 14, pp. 144301(1)- 144301(6), 2008.
- Tanner D.D., and Yang Chi Ming, "On the Structure and Mechanism of Formation of the Lansbury Reagent, Lithium Tetrakis (N-Dihydropyridyl) Aluminate", *The Journal of Organic Chemistry*, Volume 58(7), pp. 1840-1846, 1993.
- Tarr John B., and Arditti Joseph, "Niacin Biosynthesis in Seedlings of Zea Mays", *Plant Physiology*, Volume 69(3), pp. 553–56, 1982.
- Tasiopoulos A.J., Troganis A.N., Evangelou A., Raptopoulou C.P., Terzis A., Deligiannakis Y., and Kabanos T.A., "Synthetic Analogues for Oxovanadium (IV/V)-Glutathione Interaction: An NMR, EPR, Synthetic and Structural Study of Oxovanadium (IV/V) Compounds with Sulfhydryl-containing Pseudopeptides and Dipeptides", *Chemistry: A European Journal*, Volume 5, pp. 910-921, 1999. Also in *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 79, pp. 159–66, 2000.
- Tateno T., Okada Y., Tsuchidate T., Tanaka T., Fukuda H., and Kondo A., "Direct Production of Cadaverine from Soluble Starch Using *Corynebacterium Glutamicum* Coexpressing Alpha-Amylase and Lysine Decarboxylase", *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 82(1), pp. 115-21, 2009.
- Täufel A., Ternes W., Tunger L., and Zobel M., "Lebensmittel-Lexikon", Fourth Edition, pp. 218 and 450, Behr, 2005. ISBN: 3-89947-165-2.
- Taylor E.C.Jr., and Croveti Aldo J., "Nicotinamide-1-Oxide", *Organic Syntheses*, Volume 37, pp. 63-64, 1957 and *Collective Volume 4*, pp. 704-705, 1963.
- Taylor K.M., Morgan H.E., Smart K., Zahari N.M., Pumford S., Ellis I.O., Robertson J.F., Nicholson R.I., "The Emerging Role of the LIV-1 Subfamily of Zinc Transporters in Breast Cancer", *Molecular Medicine*, Volume 13, pp. 396–406, 2007.
- Teixeira L.J., Seabra Marta, Reis Elisa, Girão da Cruz M.T., Conceição Pedroso de Lima M., Pereira Eulália, Adelaide Miranda M., and Marques M.P.M., "Cytotoxic Activity of Metal Complexes of Biogenic Polyamines: Polynuclear Platinum(II) Chelates", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 47(11), pp. 2917-25, 2004.
- Terentyuk G.S., Maslyakova G.N., Suleymanova L.V., Khlebtsov B.N., Kogan B.Y., Akchurin G.G., Shantrocha A.V., Maksimova I.L., Khlebtsov N.G., and Tuchin V.V., "Circulation and Distribution of Gold Nanoparticles and Induced Alterations of Tissue Morphology at Intravenous Particle Delivery", *Journal of Biophotonics*, Volume 5, pp. 292-302, 2009.
- Terhell A.J., Haarbrink M., van den Biggelaar A., Mangali A., Sartono E., and Yazdanbakhsh M., "Long-Term Follow-Up of Treatment with Diethylcarbamazine on Anti-Filarial IgG4: Dosage, Compliance, and Differential Patterns in Adults and Children", *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Volume 68(1), pp. 33-39, 2003.

- Terry C.E., Ryan R.P., and Leffingwell S.S., "Toxicology Desk Reference (TDR): The Toxic Exposure and Medical Monitoring Index", Fifth Edition, p.1062, Washington DC, Taylor and Francis, 1999. ISBN: 1-56032-795-2.
- Thambiayya Kalidasan, Kaynar A. Murat, St. Croix Claudette M., Pitt Bruce R., "Functional Role of Intracellular Labile Zinc in Pulmonary Endothelium", Pulmonary Circulation, Volume 2, Issue 4, pp. 443-451, 2012.
- Thompson H.J., Chasteen N.D., and Meeker L.D., "Dietary Vanadyl (IV) Sulfate Inhibits Chemically Induced Mammary Carcinogenesis", Carcinogenesis, Volume 5, pp. 849-851, 1984.
- Thompson K.H., McNeill J.H., and Orvig C., "Vanadium Compounds as Insulin Mimics", Review Article, Chemical Reviews, Volume 99, Issue 9, pp. 2561-2571, 1999.
- Thompson K.H., and Orvig C., "Coordination Chemistry of Vanadium in Metallopharmaceutical Candidate Compounds", Review Article, Coordination Chemistry Reviews, Volume 219, pp. 1033-1053, 2001.
- Thorne Research, "Niacinamide Monograph", Thorne Research Inc., Alternative Medicine Review, Volume 7, Number 6, pp. 525- 529, 2002.
- Tidmarsh Ian S., Laye Rebecca H., Brearley Paul R., Shanmugam M., Sañudo E. Carolina, Sorace Lorenzo, Caneschi Andrea, and McInnes E. J. L., "Highly Reduced Polyoxo-(Alkoxo)-Vanadium (III/IV) Clusters", Chemistry-A European Journal, Volume 13, Issue 22, pp. 6329-6338, 2007.
- Tidwell T.T., "Dimethyl Sulfoxide-Sulfur Trioxide-Pyridine", University of Toronto, Ontario, Canada, in "e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis", John Wiley On Line Nibrary, Article Online Posting Date: April 15, 2001.
- Til H.P., Falke H.E., Prinsen M.K., and Willems M.I., "Acute and Subacute Toxicity of Tyramine, Spermidine, Spermine, Putrescine and Cadaverine in Rats", Volume 35, Number 3-4, pp. 337-348, 1997.
- Τζημόπουλου Δ.Ι., Χημικού, "Σύνθεση και Μελέτη της Μοριακής και της Ηλεκτρονιακής Δομής Ετεροδιμεταλλικών Ενώσεων Συναρμογής. Συναρμογή Τριοργανοκασιτερικών Παραγώγων Πυριδινυλ-2-ιμινο Υποκατεστημένων Αρωματικών Οξέων προς Κέντρα Μονοσθενούς Χαλκού", Διδακτορική Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Θεσσαλονίκη, 2009.
- Tojo G., and Fernandez M., "Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones: A Guide to Current Common Practice", Springer Verlag, New York, 2006. ISBN: 0-387-23607-4.
- Top S., Vessières A., Cabestaing C., Laios I., Leclercq G., Provot C., and Jaouen G., "Studies on Organometallic Selective Estrogen Receptor Modulators. (SERMs) Dual Activity in the Hydroxy-ferrocifen Series", Journal of Organometallic Chemistry, Vol. 637-639, pp.500-506, 2001.
- Toxipedia, "Pyridine Toxicological Profile: Regulations and Advisories", Connecting Science and People, Providing Scientific Information in the Context of History, Society and Culture, Seattle, WA, Toxipedia@toxipedia on line, 2013.
- Tracey Alan C., Willsky Gail R., Takeuchi Esther S., (Editors), "Vanadium Chemistry, Biochemistry, Pharmacology and Practical Applications", CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, USA, 2007. ISBN:1420046136.
- Transportation Department of USA, "Emergency Response Guidebook. A Guide Book for First Responders During the Initial Phase of a Dangerous Goods/Hazardous Materials Incident", Washington, D.C., USA, 2004.

- Travnicek Z., Krystof V., and Sipl M., "Zinc(II) Complexes with Potent Cyclin-dependent Kinase Inhibitors Derived from 6-benzylaminopurine: Synthesis, Characterization, X-ray Structures and Biological Activity", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Volume 100, pp. 214-225, 2006.
- Trejbal Jiri, Petrisko Miroslav, and Pasek Josef, "Reactions of Ethoxylates of Ethylenediamine and Piperazine over ZSM-5 Zeolite", *Petroleum and Coal*, Volume 54(4), pp. 340-347, 2012.
- Troll Walter, "Prevention of Cancer by Vitamin B<sub>3</sub>, Nicotinamide and Nicotinic Acid", *Protease Inhibitors as Cancer Chemopreventive Agents*, Chapter 10, pp. 177-189, Editors: Ann R. Kennedy and Walter Troll, XVIII, pp. 315, US Springer, 1993. ISBN: 978-1-4613-6249-4.
- Truchan A., and Davidson J.B., "Preparation of Nicotinamide, by Passing Ammonia Gas into Molten Nicotinic Acid", US 2993051, Cowles Chemical Co., 1961.
- Trudel S., Paquet M.R., and Grinstein S., "Mechanism of Vanadate-Induced Activation of Tyrosine Phosphorylation and of the Respiratory Burst in HL60 Cells. Role of Reduced Oxygen Metabolites", *Biochemical Journal*, Volume 276, pp. 611-19, 1991.
- Tsangaris J.M., and Veltsistas P., "Complexes of Oxamic Acid with Pt(II) and Pd(II)", *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, Volume 17, pp. 35-39, 1981.
- Tsiani E., and Fantus I.G., "Vanadium Compounds. Biological Actions and Potential as Pharmacological Agents", *Trends in Endocrinology and Metabolism*, Volume 8, pp. 51-8, 1997.
- Tsoupras A.B., Iatrou C., Frangia C., and Demopoulos C.A., "The Implication of Platelet Activating Factor in Cancer Growth and Metastasis: Potent Beneficial Role of PAF-Inhibitors and Antioxidants", *Infectious Disorders - Drug Targets*, Volume 9, pp. 390-399, 2009.
- Tsuruo T., Kawabata H., Ida H., and Yamamori T., "Tumor-Induced Platelet Aggregation and Growth Promoting Factors as Determinants for Successful Tumor Metastasis", *Clinical and Experimental Metastasis*, Volume 4, pp. 25-33, 1986.

## U

- 
- Ulická L., Pavelčík F., and Huml K., "Structure of Barium Metavanadate Monohydrate", *Acta Crystallographica Section C*, Volume 43, Part 12, pp. 2266-2268, 1987.
  - Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Sixth Edition, Volume 1, V38 256, Federal Republic of Germany, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003.
  - Unciti-Broceta J.D., Maceira J., Morales S., García-Pérez A., Muñoz-Torres M.E., and Garcia-Salcedo J.A., "Nicotinamide Inhibits the Lysosomal Cathepsin b-like Protease and Kills African Trypanosomes", *Journal of Biological Chemistry*, Volume 288(15), pp. 10548-57, 2013.
  - United Nations Office on Drugs and Crime, "Recommended Methods for Identification and Analysis of Piperazines in Seized Materials", For Use by National Drug Analysis Laboratories, United Nations Publication, Laboratory and Scientific Section, United Nations, New York, Printed in Austria, V.13-80247- January 2013-300.
  - United States Pharmacopeia (USP), Twenty-Three Revision, The National Formulary, Eighteenth Edition, US Pharmacopeial Convention, p. 1090, Rockville, Maryland, Baltimore-Washington Metropolitan Area, United States, 1995.
  - Urbanski Tadeusz, Institute of Organic Chemistry and Technology, Technical University (Politechnika), Warsaw, Poland, "Chemistry and Technology of Explosives", Volume 1, 1964- Volume 2, 1965- Volume 3, 1967, and Volume 4, 1984, Maxwell Macmillan Pergamon Publishing Corporation, London, Oxford, Printed in Great Britain, 1964-84.

- Van Der Heijden R., Jacobs D.I., Snoeijer W., Hallard D., and Verpoorte R., "The Catharanthus Alkaloids: Pharmacognosy and Biotechnology", Review Paper, *Current Medicinal Chemistry*, Volume 11(5), pp. 607-28, 2004.
- Van Rijt S.H., and Sadler P.J., "Current Applications and Future Potential for Bioinorganic Chemistry in the Development of Anticancer Drugs", Review Paper, *Drug Discovery Today*, Volume 14(23-24), pp. 1089-97, 2009.
- Varmus Harold Elliot, and Weinberg R.A., "Genes and the Biology of Cancer", Scientific American Library, New York, United States, 1993. ISBN: 1040-3213.
- Vaughan G.A., and Swithenbank Jim J., "The Enthalpimetric Titration of Basic Nitrogen Compounds", *Analyst*, Volume 92, pp. 361-370, 1967.
- Vaughan G.A., Toreki R., Schrock R.R., and Davis W.M., "A Reversible '3+2 Cycloaddition' of Ethylene to the C=Re·C Unit in Complexes of the Type  $\text{Re}(\text{C-t-Bu})(\text{CHR}')(\text{OR})_2$ ", *Journal of the American Chemical Society*, Volume 115, p. 2980, 1993.
- Vaughan Victor Clarence, and Novy Frederick George, "Ptomaines, Leucomaines, of the Putrefactive and Physiological Alkaloids", First Edition, p. 337, Lea Brothers Publications, Philadelphia, USA, 1888.
- Vaughan Victor Clarence, and Novy Frederick George, "Ptomaines, Leucomaines, Bacterial Proteids: Or The Chemical Factors in the Causation of Disease", Second Edition, Lea Brothers Publications, Philadelphia, USA, 1891.
- Vaughan Victor Clarence, and Novy Frederick George, "Ptomaines, Leucomaines, Toxins and Antitoxins: The Chemical Factors in the Causation of Disease", Third Edition, p. 604, Publisher: Lea Brothers Publications, Philadelphia and New York, USA, 1896.
- Vaupel Peter, and Harrison Louis, "Tumor Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanisms, and Cellular Response", *The Oncologist*, Volume 9, pp. 4-9, 2004.
- Veltsistas Panayotis G., Prodromidis Mamantos I., and Karayannis Miltiades I., "Application of a Picrolonate Ion-Selective Electrode to the Assay of Calcium and Piperazine in Pharmaceuticals and Serum", *Analyst*, Vol. 119, pp. 1613-1617, 1994.
- Verginadis I.I., Karkabounas S., Simos Y., Kontargiris E., Hadjikakou S.K., Batistatou A., Evangelou A., and Charalabopoulos K., "Anticancer and Cytotoxic Effects of a Triorganotin Compound with 2-Mercapto-Nicotinic acid in Malignant Cell Lines and Tumor Bearing Wistar Rats", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Volume 42(3), pp. 253-61, 2010.
- Verma Poonam, and Pathak K., "Therapeutic and Cosmeceutical Potential of Ethosomes: An Overview", Review Article, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, Volume 1, Issue 3, pp. 274-282, 2010.
- Vertellus Performance BioMaterials Inc., "Pyridine, Picolines and Vitamin B-3 Manufacturers", Vertellus Agriculture and Nutrition Specialties Inc., Indianapolis, Indiana, USA, 2006-2012. [www.pcbiomaterials.com](http://www.pcbiomaterials.com), on line [vertellus.com](http://vertellus.com).
- Vessieres Anne, Huche Michel, Hillard Elizebeth A., and Salomon Emmanuel, "Selective Estrogen Receptor Modulators in the Ruthenocene Series", *Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 48, pp. 2814-2821, 2005.
- Viera Margarita, and Davis-McGibony C. Michele, "Isolation and Characterization of Low-Molecular-Weight Chromium-binding Substance (LMWCr) from Chicken Liver", *The Protein Journal*, Volume 27, Issue 6, pp. 371-375, 2008.
- Villinger Alexander, Schulz Axel, "Binary Bismuth(III) Azides:  $\text{Bi}(\text{N}_3)_3$ ,  $[\text{Bi}(\text{N}_3)_4]^-$ , and  $[\text{Bi}(\text{N}_3)_6]^{3-}$ ", *Angewandte Chemie International Edition*, Volume 49, Issue 43, pp. 8017–8020, 2010.



- Vincent John B., "The Biochemistry of Chromium", American Society for Nutritional Sciences, Journal of Nutrition, Volume 130, pp. 715–718, 2000.
- Vincent J.B., "Chromium(III) Complexes", Drugs of the Future, Volume 28(11), pp. 1079, 2003.
- Viviani B., Rossi A.D., Chow S.C., and Nicotera P., "Triethyltin Interferes with Ca<sup>2+</sup> Signaling and Potentiates Norepinephrine Release in PC12 Cells", Toxicology and Applied Pharmacology, Volume 140, pp. 289-295, 1996.
- Vogelstein Bert, and Kinzler Kenneth W., "Cancer Genes and the Pathways the Control", Nature Medicine, Volume 10, pp. 789-799, 2004.
- Vogelstein Bert, and Kinzler Kenneth W., (Editors), "The Genetic Basis of Human Cancer", Second Edition, 821 pages, McGraw Hill Companies Inc., Printed in United States of America, 2002. ISBN: 0071370501.
- Volkter W.A., and Hoffman T.J., "Therapeutic Radiopharmaceuticals", Chemical Reviews, Volume 99, pp. 2269-2292, 1999.

## W

---

- Walters C.L., Johnson E.M., and Ray N., "Separation and Detection of Volatile and Non-volatile N-nitrosamines", Analyst, Volume 95(130), pp. 485-9, 1970.
- Walter F. Boron, and Emile L. Boulpaep "Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach", Second Edition, pages 1319, W.B. Saunders and Elsevier Inc., Philadelphia, USA, 2009. ISBN 1-4160-2328-3.
- Walters C.L., Downes M.J., Edwards M.W., and Smith P.L.R., "Determination of a Non Volatile N-Nitrosamine on a Food Matrix", Analyst, 103(1232), 1127-1133, 1978.
- Wang Cong-Ling, Zhang Zhi-Bin, Fu Jie, Xu Yan, and Zhu Dun-Ru, "A New Fully Reduced Polyoxo-Vanadate Constructed from Nanosized Triangle-Shaped [V<sup>III</sup><sub>3</sub>V<sup>IV</sup><sub>18</sub>P<sub>6</sub>O<sub>60</sub>(DACH)<sub>3</sub>]<sup>9-</sup> Cluster Anions Exhibiting Ferrimagnetic Interactions", Chemistry-A European Journal, Volume 18, Issue 38, pp. 11909–11912, 2012.
- Wang J.P., Zhao J.W., Niu J.Y., and Bo Y., "Hydrothermal Synthesis and Crystal Structure of a New Polyoxovanadate: [Mn(en)<sub>3</sub>]<sub>2</sub>en<sub>0.5</sub>[HV<sub>16</sub>O<sub>38</sub>(Cl)]·4,5H<sub>2</sub>O (en=Ethylenediamine)", Chinese Journal of Structural Chemistry (Jiegou Huaxue), Volume 23, pp. 555-560, 2004. *ibid*: Volume 169(11), pp. 25-30, 2008.
- Wang Li, Sun Xiu-Ping, Liu Mei-Ling, Gao Yue-Qiang, Gu Wen, and Liu Xin, "Syntheses, Structures and Properties of Three Heteonuclear Complexes Containing [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]<sup>6-</sup> Units", Journal of Cluster Science, Volume 19, pp. 531-542, 2008.
- Wang Xin, Liu Hai-Xin, Xu Xue-Xiang, and You Xiao-Zeng, "The Crystal Structure of the Addition Compound of Decavanadate and Guanidine", Polyhedron, Volume 12, Issue 1, pp. 77–81, 1993.
- Wang Xiu-Li, Li Jin, Lin Hong-Yan, Hu Hai-Liang, Chen Bao-Kuan, and Mu Bao, "Synthesis, Structures and Electrochemical Properties of Two Novel Metal–Organic Coordination Complexes Based on Trimesic Acid (H<sub>3</sub>BTC) and 2,5-Bis(3-Pyridyl)-1,3,4-Oxadiazole (BPO)", Solid State Sciences, Volume 11, Issue 12, pp. 2118–2124, 2009.
- Wang Y.T., Tang G.M., and Qin D.W., "Metal-Controlled Assembly Tuning Coordination Polymers with Flexible 2-(1H-Imidazole-1-yl)-Acetic Acid (Hima)", Australian Journal of Chemistry, Volume 59, pp. 647–652, 2006.

- Wang Y.T., Tang G.M., Wu Y., Qin X.Y., and Qin D.W., "Metal-Controlled Assembly Tuning the Topology and Dimensionality of Coordination Polymers of Ag(I), Cd(II) and Zn(II) With the Flexible 2-(1H-Imidazole-1-yl)-Acetic Acid (Hima)", *Journal of Molecular Structure*, Volume 831, pp. 61–68, 2007.
- Warburg Otto Heinrich, und Christian W., "Ein Zweites Sauerstoffübertragendes Ferment und Sein Adsorptions Spektrum", *Naturwissenschaften*, Volume 20, p. 688, 1932. *ibid*: "Über das Neue Oxydationsferment", *Naturwissenschaften*, Volume 20, p. 980, 1932.
- Warburg Otto Heinrich, und Christian W., "Über das Gelbe Ferment und Seine Wirkungen", *Biochemische Zeitschrift*, Volume 266, p. 377, 1933.
- Warburg Otto Heinrich, und Christian W., "Co-Ferment Problem", *Biochemie (Paris)*, Volume 274, pp. 122-125, 1934.
- Warburg Otto Heinrich, und Christian W., "Pyridin, the Hydrogen-Transferring Component of the Fermentation Enzymes, Pyridine Nucleotide", *Biochemische Zeitschrift*, Volume 287, pp. 291, 1936.
- Warburg Otto Heinrich, "On the Origin of Cancer Cells", *Science*, Volume 123, Number 3191, pp. 309-314, 1956.
- Ward P.P., Paz E., and Conneely O.M., "Multifunctional Roles of Lactoferrin: A Critical Overview", *Cellular and Molecular Life Sciences*, Volume 62(22), pp. 2540-2548, 2005.
- Washington-Hughes Clorissa L., Cheng Yixing, Duan Xinrui, Cai Li., Andrew Lee L., Q.; and Wang Qian "In Vivo Virus-Based Macrofluorogenic Probes Target Azide-Labeled Surface Glycans in MCF-7 Breast Cancer Cells", *Molecular Pharmaceutics*, Volume 10, pp. 43-50, 2013.
- Wear James O., "Azide Hazards With Automatic Blood Cell Counters", *Journal of Chemical Education*, Volume 52(1), pp. A23-25, 1975.
- Weidel H., "Zur Kenntniss des Nicotins", *Justus Liebig Annalen der Chemie und Pharmacie*, Volume 165(2), pp. 330–349, 1873.
- Weinberg Robert Allan, "The Biology of Cancer", First Edition, Second Volume, p.796, Garland Science, Taylor and Francis, 2007. ISBN: 0-8153-4078-8.
- Weissberger A., Klingberg A., Barnes R.A., Brody F., and Ruby P.R., "Pyridine and its Derivatives", in "Physical Methods of Organic Chemistry", (Editor: Weissberger Andrew J.), Volume 1, Interscience Publishers Inc., New York, USA, 1960.
- Wells Harry Gideon, "Chemical Pathology", Fourth Edition, Editor: Saunders W.B. Company, Philadelphia and London, 1907.
- Werner A., "Beitrag zur Konstitution Anorganischer Verbindungen", *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, Volume 33, p.267, 1893.
- Wiberg N., Fischer G., and Bachhnber H., "Cis- and Trans-Diazene (Diimine)", *Angewandte Chemie International Edition*, Volume 16(11), pp. 780-781, 1977.
- Wiberg E., Wiberg N., and Holleman A.F., "Inorganic Chemistry", First Edition, p. 1924, Academic Press, San Diego, USA, 2001. ISBN-10: 0123526515.
- Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., and King H., "Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the Year 2000 and Projections for 2003", *Diabetes Care*, Volume 27(5), pp. 1047-1053, 2004.
- Willand-Charnley R., Fisher Th.J., Johnson B.M., and Dussault P.H., "Pyridine Is an Organo-Catalyst for the Reductive Ozonolysis of Alkenes", *Organic Letters*, Volume 14(9), pp. 2242–2245, 2012.
- Winship K.A., "Toxicity of Tin and its Compounds", *Adverse Drug Reactions and Acute Poisoning Reviews*, Volume 7(1), pp.19-38, 1988.

- Wislicenus Johann Adolf, "Eine Synthese von Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ) aus Natriumamid ( $\text{NaNH}_2$ ) und Lachgas ( $\text{N}_2\text{O}$ )", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 25, pp. 2084-87, 1892.
- Wolff Ludwig, "Über das Pyrazin", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 26, Issue 1, pp. 721-725, 1893.
- Wolff Ludwig, "Synthese des Pyrazins", *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, Volume 26, Issue 2, pp. 1830-1833, 1893.
- World Health Organization (WHO), "Environmental and Health Criteria for Paraquat and Diquat", International Labour Organisation, United Nations Environment Programme, International Program on Chemical Safety, Documentation Centre, Department of Reproductive Health and Research, 1211 Geneva, 27, Switzerland, Vol.39, 1984.
- Wozniak Katarzyna, and Blasiak Janusz, "Recognition and Repair of DNA Cis-Platin Adducts", Review Paper, *Acta Biochimica Polonica*, Volume 49, Number 3, pp. 583-596, 2002.

## X

---

- Χαρβάλα Αικατερίνη, "Αλκαλοειδή και μη Μορφοποιημένες Δρόγες", Αθήνα, 1994.
- Xiao-Fei Zhu, and De-Qing Shi, "Convenient Synthesis and Biological Activities of Pyridine Derivatives of 3,4-Dihydropyrimidin-2(1H)-Ones", *Journal of Heterocyclic Chemistry*, Volume 48, Issue 3, pp. 572-576, 2011.
- Χιωτέλλης Ε., και Παπαγιαννοπούλου Δ., Κεφάλαια Βιοανοργάνου Φαρμακοχημείας, Τετάρτη Έκδοση, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Θεσσαλονίκη, 2011.

## Y

---

- Yamase Toshihiro, Ohtaka Kazuo, and Suzuki Mamoru, "Structural Characterization of Spherical Octadeca-Vanadates Encapsulating  $\text{Cl}^-$  and  $\text{H}_2\text{O}$ ", *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions*, Number 3, pp. 283-289, 1996.
- Yamase Toshihiro, Suzuki Mamoru, and Ohtaka Kazuo, "Structures of Photochemically Prepared Mixed-Valence Polyoxovanadate Clusters: Oblong  $[\text{V}_{18}\text{O}_{44}(\text{N}_3)^{14-}]$ , Superkeggin  $[\text{V}_{18}\text{O}_{42}(\text{PO}_4)^{11-}]$  and Doughnut-Shaped  $[\text{V}_{12}\text{B}_{32}\text{O}_{84}\text{Na}_4^{15-}]$  Anions", *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions*, Issue 14, pp. 2463-2472, 1997.
- Yamase Toshihiro, Yang L., and Suzuki R., "Photochemically Self-Assembly Reactions of Polyoxo-Vanadates. Structure of  $[\text{MoO}_4^{2-}]$  Encapsulated Mixed-Valent Cluster  $[\text{V}_{22}\text{O}_{55}(\text{MoO}_4)^{8-}]$  and Template-Exchange Reaction of  $[\text{V}_{18}\text{O}_{42}(\text{H}_2\text{O})^{12-}]$ ", *Journal of Molecular Catalysis A*, Volume 147, pp. 179-190, 1999.
- Yang J., Huang K.L., Pu Z.F., Gong Y., Li H., and Hu C.W., "Synthesis and Crystal Structure of Two Supramolecular Compounds Constructed from Amantadine and Polyoxometalate", *Journal of Molecular Structure*, Volume 789, pp. 162-168, 2006.
- Yeluri S., Madhok B., Prasad K.R., Quirke P., and Jayne D.G., "Cancer's Craving for Sugar: an Opportunity for Clinical Exploitation", *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, Volume 135(7), pp. 867-77, 2009.

- Yeung S.C., Habra M.A., and Thosani S.N., "Lung Cancer-Induced Paraneoplastic Syndromes", *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, Volume 17(4), pp. 260-8, 2011.
- Yi Zhihui, Yu Xiaoyang, Xia Wujiong, Zhao Liyan, Yang Chao, Chen Qian, Wang XiaoLin, Xu Xianzhu, and Zhang Xiao, "Influence of the Steric Hindrance of Organic Amines on the Supramolecular Network Based on Polyoxovanadates", *CrystEngComm.*, Volume 12, pp. 242-249, 2010.
- Yoshino Jun, Mills Kathryn F., Yoon Myeong Jin, and Imai Shin-Ichiro, "Nicotinamide Mono-Nucleotide, a Key NAD<sup>+</sup> Intermediate, Treats the Pathophysiology of Diet- and Age-Induced Diabetes in Mice", *Cell Metabolism*, Volume 14, Issue 4, pp. 528-536, 2011.
- Yraola Francesc, Albericio Fernando, Royo Miriam, and Solans Xavier, "Crystal Structure of (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>FN)<sub>6</sub>[V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]·4H<sub>2</sub>O, Hexakis-(4-Fluorophenylethylammonium)-Decavanadate(V)-Tetrahydrate", *Zeitschrift für Kristallographie*, Volume 223, pp. 45-47, 2008.
- Yue Bingfang, Kushnir Mark M., Urry F.M., and Rockwood Alan L., "Quantitation of Nicotine, its Metabolites and Other Related Alkaloids in Urine, Serum and Plasma Using LC-MS-MS", *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J., USA)*, Volume 603, pp. 389-398, 2010.
- Yunlan Li, Zhuyan Gao, Pu Guo, and Qingshan Li, "Pharmacokinetic Study of Di-Phenyl-Di-(2,4-Difluorobenzohydroxamato)-Tin(IV): Novel Metal-Based Complex with Promising Antitumor Potential", *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Volume 2012, Article ID 210682, 8 pages, 2012.

## Z

- 
- Zanias Stergios, Papaefstathiou Giannis S., Papazisis Konstantinos T., Kyriakidis Dimitrios A., Vala Vasiliki, Raptopoulou Catherine P., Zambouli Dimitra, and Zafiropoulos Theodoros F., "Synthesis, Structure, and Antiproliferative Activity of Three Gallium(III) Azole Complexes", *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Volume 2010, 10 pages, Article ID 168030, 2010.
  - Zeise William Christopher, "De Chlorido Platinae et Alchhole Vini Sese Invicem Permutantibus Nec non de Novis Substantiis inde Oriundis", in *Annalen der Physik und Chemie (Editor: Poggendorffs)*, Volume 21, pp. 497-541, und pp. 542-549, 1831.
  - Zeleňák Vladimír, Györyová Kararína, and Vargová Suzana, "Synthetic, Spectroscopic and X-Ray Crystallographic Studies of Nicotinamide and Antipyrine Zinc(II) Complexes", *Main Group Metal Chemistry*, Volume 22, Issue 3, pp. 179–184, 2011.
  - Zeleňák Vladimír, Györyová K., and Císarová I., "Preparation, Properties and Structure of Dibromo-Bis-(Nicotinamide-N-Acetato) Zinc(II)", *Main Group Metal Chemistry*, Volume 18, Issue 4, pp. 211–216, 2011.
  - Zhang C.D., Liu S.X., Gao B., Sun C.Y., Xie L.H., Yu M., and Peng J., "Hybrid Materials Based on Metal–Organic Coordination Complexes and Cage-like Polyoxovanadate Clusters: Synthesis, Characterization and Magnetic Properties", *Polyhedron*, Volume 26, Issue 7, pp. 1514-1522, 2007.
  - Zhang Jianguo, Zheng Huihui, Zhang Tonglai, and Feng Lina, "Theoretical Study for High-Energy-Density Compounds from Cyclophosphazene III. A Quantum Chemistry Study: High Nitrogen-Contented Energetic Compound of 1,1,3,3,5,5,7,7-Octaazido-Cyclo-Tetra-Phosphazene: N<sub>4</sub>P<sub>4</sub>(N<sub>3</sub>)<sub>8</sub>", *Inorganica Chimica Acta*, Volume 361, Issues 14–15, pp. 4143-4147, 2008.
  - Zhao H., and Eide D., "The Yeast ZRT1 Gene Encodes the Zinc Transporter Protein of a High-affinity Uptake System Induced by Zinc Limitation", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Volume 93, pp. 2454–8, 1996.

- Zheng Y., and Sanche L., "Gold Nanoparticles Enhance DNA Damage Induced by Anticancer Drugs and Radiation", *Radiation Research*, Volume 172(1), pp. 114-119, 2009.
- Zhou Jing, Sargiannidou Irene, and Tuszynski George P., "The Role of Adhesive Proteins in the Hematogenous Spread of Cancer", *In Vivo*, Volume 14, pp. 1999-2080, 2000.
- Zhou Jing, Rothman Vicki L., Sargiannidou Irene, Dimitrov Svetoslav, Qiu Cuie, Smith Elana, Sheffield Joel, Sharma Mahesh, and Tuszynski George P., "Cloning and Characterization of Angiocidin, a Tumor Cell Binding Protein for Thrombospondin-1", *Journal of Cellular Biochemistry*, Volume 92, Issue 1, pp. 125-146, 2004.
- Zhu C.Y., Li Y.T., Wu J.D., Wu Z.Y., and Wu X., "Tris-[(3-Aminopropyl)-Dimethyl Ammonium] Decavanadate(V)-Hexahydrate", *Acta Crystallographica Section E*, Volume 63, Part 6, pp.1777-1778, 2007.
- Zubay Geoffrey L., (Coordinating Author), "Biochemistry", Second Edition, XXIX, Macmillan Publishing Company and Collier Macmillan Publishers, New York, USA, 1988. ISBN: 0-02-432080.