



Τεχνολογικό  
Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών  
Επιστημών και  
Διαχείρισης  
Περιβάλλοντος

**Πτυχιακή εργασία**

**FTIR ΚΑΙ UV/VIS ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΟΣ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Cu-  
ΒΛΕΟΜΥCIN ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΥΣΙΑ DNA**

**Αγαθάγγελος Χριστοφόρου**

**Λεμεσός, Μάιος 2017**



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Πτυχιακή εργασία

FTIR ΚΑΙ UV/VIS ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΟΣ  
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ Cu-BLEOMYCIN  
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΥΣΙΑ DNA

του

Αγαθάγγελου Χριστοφόρου

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Κωνσταντίνος Κουτσουπάκης

Λεμεσός, Μάιος 2017



## **Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Αγαθάγγελος Χριστοφόρου, 2017

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Κωνσταντίνο Κουτσουπάκη, για την συνεχή υποστήριξη και καθοδήγηση που μου πρόσφερε καθ' όλη την διάρκεια διεκπεραίωσης της παρούσας πτυχιακής. Επίσης, τον ευχαριστώ θερμά για τον χρόνο που μου αφιέρωσε και για τις πολύτιμες γνώσεις που μου παρείχε όχι μόνο στο πεδίο έρευνας της πτυχιακής, αλλά και σε ένα πιο ευρύ επιστημονικό τομέα. Τέλος, αποτελεί άνθρωπο που εκτιμώ για την εμπιστοσύνη που έδειξε σε εμένα και την ώθηση του προς την έρευνα και εξέλιξη.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Δρ. Κωνσταντίνο Βαρώτση για την παροχή των εργαστηρίων Περιβαλλοντικής Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, όπου εκπονήθηκε η πτυχιακή μου εργασία αλλά και για τις χρήσιμες συμβουλές του στον επιστημονικό τομέα.

**"Ο μεγαλύτερος εχθρός της γνώσης  
δεν είναι η άγνοια, είναι η ψευδαίσθηση της γνώσης"**  
Stephen Hawking

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι μπλεομυκίνες (bleomycins, BLMs) ανήκουν στην κατηγορία των γλυκοπεπτιδίων και χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση καρκίνων όπως του δέρματος, του εγκεφάλου, των γεννητικών οργάνων, το λέμφωμα Hodgkin's και του λαιμού. Η θεραπευτική ικανότητα τους με την παράλληλη χρήση τους σε χημειοθεραπείες, πηγάζει από το γεγονός ότι προκαλούν μονόκλωνες και δίκλωνες σχάσεις στο γενετικό υλικό, με την τελευταία να θεωρείται υπαίτια για την κυτταροτοξικότητά τους. Ο μηχανισμός δράσης των μπλεομυκινών με τρόπο ώστε να επιτευχθεί κυρίως δίκλωνη σχάση του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) απαιτεί την παρουσία ενός μετάλλου μετάπτωσης (χαλκού (Cu), σιδήρου (Fe)), οξυγόνου ( $O_2$ ) και ενός ηλεκτρονίου (αναγωγικό μέσο). Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός και η *in vivo* συμπεριφορά/χωροδιάταξη δεν έχουν προσδιοριστεί πλήρως, με αποτέλεσμα να προτείνονται πολλά μοντέλα. Όσο περισσότερες γνώσεις λαμβάνονται για την όλη δράση του εν λόγω φαρμάκου, τόσο αποδοτικότερη θα γίνεται σε χαμηλότερες δόσεις μειώνοντας ταυτόχρονα τις πιθανότητες για παρενέργειες.

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματεύεται κυρίως την φασματοσκοπική (UV/Vis και FTIR) συμπεριφορά της μπλεομυκίνης στην σύμπλοκο μορφή με χαλκό, παρουσία και απουσία DNA. Αρχικώς, πραγματοποιείται οπτικός UV/Vis χαρακτηρισμός του συστήματος Cu/BLM/DNA μέσω του οποίου χαρακτηρίζεται η δέσμευση του μεταλλικού κατιόντος από την BLM, όπως επίσης και η μέσω παρεμβολής αλληλεπίδραση της BLM με το DNA με την τελευταία να είναι ανεξάρτητη της παρουσίας ή όχι μετάλλου. Στην συνέχεια, μέσω της χρήσης της φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR) χαρακτηρίζεται δονητικά το ενεργό κέντρο του συμπλόκου CO-Cu<sup>I</sup>-BLM. Η δέσμευση του μονοξειδίου του άνθρακα (CO) στο σύμπλοκο Cu-BLM εμπίπτει στις προσπάθειες προσομοιώσεις του *in vivo* ενεργού συμπλόκου O<sub>2</sub>-Cu<sup>I</sup>-BLM και παρέχει σημαντικές πληροφορίες, τόσο για την φυσικοχημική συμπεριφορά του μεταλλικού κατιόντος, όσο και για την γενική συμπεριφορά του συμπλόκου Cu-BLM. Η δόνηση C≡O του συμπλόκου CO-Cu<sup>I</sup>-BLM ανιχνεύεται στους 2098 cm<sup>-1</sup> φανερώνοντας μία σχετικά ασθενή δέσμευση του υποκαταστάτη ( $\nu_{CO_{solvated}}$ : 2143 cm<sup>-1</sup>), χαρακτηριζόμενη από μειωμένο φαινόμενο π επαναφοράς (weak π-back bonding effect) του μετάλλου προς τον υποκαταστάτη,

ενδεικτικό της επίσης ασθενούς δέσμευσης του μετάλλου στην BLM και της παραμορφωμένης προκύπτουσας τρισδιάστατης δομής.

**Λέξεις κλειδιά:** Μπλεομυκίνη (Bleomycin), φασματοσκοπία ορατού/υπεριώδους και FTIR, CO-Cu<sup>I</sup>-BLM



## ABSTRACT

Bleomycins (BLMs) belong to the glycopeptide class and are used to treat cancers such as skin, brain, throat, testicular cancers and Hodgkin's lymphoma. Their therapeutic ability with their parallel use in chemotherapies, stems from the fact that they cause single-stranded and double-stranded cleavage in the genetic material, the latter being considered responsible for their cytotoxicity. The mechanism of action of the bleomycin in a way to achieve mainly double-stranded cleavage of deoxyribonucleic acid (DNA) requires the presence of a transition metal (copper, iron, etc.), oxygen and an electron (reducing agent). However, the exact mechanism and behavior / conformation *in vivo* has not been fully determined, with many models being proposed. As more knowledge is obtained for the whole effect of the drug, the more efficient when applied at lower dose reducing at the same time the possibilities of side effects.

This thesis deals mainly with the physicochemical behavior of the complex copper - bleomycin in the presence and absence of DNA. Initially, optical (UV/Vis) characterization of the Cu/BLM/DNA system is performed. Complete characterization of the metal to BLM binding is achieved together with the through intercalation interaction of BLM with DNA, the latter being independent of the metal identity and presence. Through the use of the redox and structure sensitive Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy, the active center of the CO-Cu<sup>I</sup>-BLM complex is vibrationally characterized as a model of the biologically active O<sub>2</sub>-Cu<sup>I</sup>-BLM complex. The CO vibration mode of the CO-Cu<sup>I</sup>-BLM complex is detected at 2098 cm<sup>-1</sup> revealing a weak binding of the ligand ( $\nu_{\text{CO}_{\text{solvated}}}$ : 2143 cm<sup>-1</sup>), indicative of a weak  $\pi$  back-bonding metal-to-ligand effect arising possibly from a weak and distorted metal-to-BLM binding.

**Keywords:** Bleomycin, spectroscopic UV/Vis and FTIR, CO-Cu<sup>I</sup>-BLM