

**A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kölcsönhatása
 α -alaninhidroxámsavval**



TDK DOLGOZAT

Készítette: **Parajdi-Losonczy Péter László**
Kémia BSc III. évf.

Témavezető: **Dr. Buglyó Péter**
egyetemi docens

Debreceni Egyetem
Természettudományi és Technológiai Kar
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék
Debrecen 2012

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni *Dr. Buglyó Péter* egyetemi docensnek a munkám során nyújtott sokrétű segítségét.

Köszönet illeti *Bíró Linda* PhD hallgatót és *Godó Attila* műszaki szolgáltatót a munkám során nyújtott hasznos tanácsaikért és az NMR-mérésekben nyújtott segítségükért.

Köszönöm továbbá a *Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport* minden tagjának, hogy a munkám elvégzéséhez baráti légkört biztosítottak.

Tartalomjegyzék:

Köszönetnyilvánítás	1
1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1 A hidroxámsavak jellemzése	4
2.2 Az aminoszavak jellemzése	5
2.3 A ruténium és komplexei	8
2.4 A félszendvics Ru(II) kölcsönhatása hidroxámsavakkal	13
3. Célkitűzés	14
4. A kísérleti körülmények és az alkalmazott módszerek	15
4.1 A felhasznált vegyszerek	15
4.2 Az alkalmazott eszközök és módszerek	15
4.2.1 pH-potenciometria	15
4.2.2 Mágneses magrezonancia spektroszkópia	17
4.2.3 Tömegspektrometria	18
4.3 A ligandum és a prekursor előállítása	19
4.3.1 A ligandum előállítása	19
4.3.2 A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ előállítása	20
5. Az eredmények és értékelésük	20
5.1 A ligandum előállítása és jellemzése	20
5.1.1 A DL-alanin metilészter előállítása	20
5.1.2 A DL- α -alaninhidroxámsav előállítása	21
5.2 A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ előállítása és jellemzése	22
5.3 Vizsgálatok oldatfázisban	23
5.3.1 A ligandum protonálódási folyamatai	23
5.3.2 A fémes rendszerek jellemzése	24
6. Összefoglalás	36
7. Summary	37
Irodalomjegyzék	38

1. Bevezetés

A modern orvostudománynak köszönhetően napjainkban számos betegség megelőzhető, vagy hatékonyabban kezelhető, mint valaha. Azonban a mai napig vannak olyan betegségek, melyek komoly kihívást jelentenek a kutatók számára, kezelésükre sok esetben nincs megfelelő módszer. Ezen betegségek közül a legismertebbek a daganatos megbetegedések, melyek évente több millió ember életét követelik világszerte. A kezelésükre irányuló hatásos módszerek kifejlesztése rendkívül nehéz, már csak a nagyszámú különböző fajtájuk miatt is.

A gyógymódok egyik évtizedek óta ismert csoportját a különböző fémkomplexek alkalmazása jelenti, melyek legismertebb képviselője a cisz-(dikloro-diammin-platina(II)), vagyis a ciszplatin. Ez a vegyület és több másik platinakomplex eredményesen alkalmazható egyes rákos megbetegedések kezelésében, közülük többet jelenleg is használnak. Sajnos azonban ezen vegyületek alkalmazása során gyakoriak a nagyon súlyos mellékhatások, mivel ezek a kemoterápiás gyógyszerek gyakran a rákos sejtek mellett az egészségeseket is károsítják. Mindezek arra ösztönzik a kutatókat, hogy egyéb átmenetifém-komplexeket állítsanak elő, melyeknek használata hasonló antitumor hatás mellett remélhetőleg kevesebb mellékhatással jár. Így kerültek az elmúlt évtizedekben az érdeklődés középpontjába a különböző ruténium-vegyületek is, melyek közül több eredményesnek bizonyult a rákos sejtekkel végzett kutatásokban, így ígéretes vegyületeknek számítanak e téren.

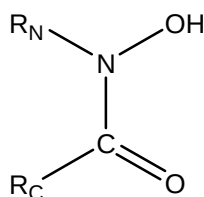
A Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén már több mint két évtizede foglalkoznak a hidroxámsavak kutatásával. Ez a vegyületcsalád jó komplexképző sajátosságáról ismert, emellett pedig biológiai jelentősége is nagy. Bizonyos természetes vegyületek is tartalmazzak hidroxámsavcsoportot, közülük talán a legismertebbek a sziderofórok, melyek mikroorganizmusokban felelnek egyes fémionok szállításáért és tárolásáért. Másik fontos hatásuk a metalloenzim-inhibíciós tulajdonságuk, emellett a vegyületcsalád antibiotikus, és antitumor hatása is ismeretes.

Mivel ismert bizonyos ruténium-vegyületek, és egyes hidroxámsavak daganatellenes hatása, hidroxámsav ligandumokon alapuló ruténium komplexeket előállítva esélyünk van megnövekedett aktivitású rákellenes vegyületekhez jutni. Érdekes lehet továbbá a hidroxámsavak származékainak tulajdonságait is vizsgálni az említett szempontokból. Ezen származékok közül talán a legtöbbet vizsgált vegyületcsalád az aminosavak hidroxámsav-származékai, azaz az aminohidroxámsavak. Utóbbi vegyületek komplexképző sajátosságát már több fémionnal is megvizsgálták, azonban (a hidroxámsavaktól eltérően) a ruténiummal való kölcsönhatásuk irodalmi előzmény nélküli.

2. Irodalmi áttekintés

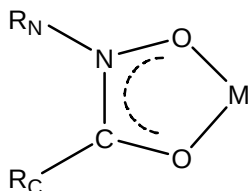
2.1 A hidroxámsavak jellemzése

Hidroxámsavaknak nevezzük azon vegyületeket, melyek tartalmazzák az 1. ábrán látható hidroxámsavcsoportot.



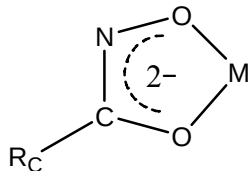
1. ábra: a hidroxámsavcsoport általános szerkezete

Ha a nitrogénhez kapcsolódó szubsztituens, az R_N hidrogén, akkor primer, ha egyéb szerves csoport (alkil/aril), akkor szekunder hidroxámsavakról beszélünk. A csoportosítás a funkciós csoportok száma szerint is lehetséges. Ha a molekula egy hidroxámsavcsoportot tartalmaz, akkor mono-, két, illetve három csoport esetén di-, illetve trihidroxámsavakról beszélhetünk. A hidroxámsavak egyértékű gyenge savak, 9 körüli pK értékkel (melynek értéke függ a szubsztituensektől)^{1,3,4}. A hidroxilcsoport deprotonálódásával képződő anion a hidroxamát, melyben a deprotonálódást követően töltésdelokalizáció megy végbe, ez pedig megnöveli a szerkezet stabilitását. Az egyszerű hidroxámsavak a komplexképződési reakcióik során az oxigén atomokkal koordinálódnak a fémionhoz, azzal öttagú kelátgyűrűt alkotva (2. ábra). Ez az öttagú (O,O) típusú kelát a hidroxamát-kelát, melyet először Schwarzenbach és munkatársai írtak le 1963-ban.^{1,5,6,7}



2. ábra: a hidroxamát-kelát szerkezete (M = fémion)

Primer hidroxámsavak esetén a kellően nagy stabilitású hidroxamát-kelát kialakulását követően $\text{pH} = 10$ felett a hidroxamát-NH is deprotonálódhat, melynek eredményeképpen kialakul a hidroximát-kelát (3. ábra). Ezen részecske a nitrogénen visszamaradt negatív töltés miatt nagyobb töltéssűrűségű, így stabilabb.

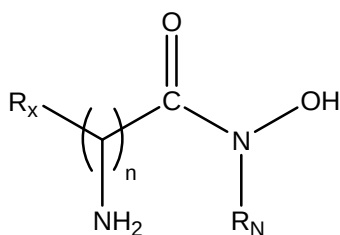


3. ábra: a hidroximát-kelát szerkezete

A hidroxámsavakat általában hidroxilamin és valamilyen acilezőszer (savklorid, vagy észter) reakciójában állíthatjuk elő.^{8,9}

2.2 Az aminosavak jellemzése

Az aminosavak az aminosavak hidroxámsav-származékai. Ezen vegyületcsalád molekulái a hidroxámsavcsoporthoz képest különböző pozíciókban egy aminocsoportot is tartalmaznak (emellett természetesen az aminosavra jellemző oldalláncban további aminocsoportok lehetnek). Az aminosavak általános szerkezete a 4. ábrán látható.

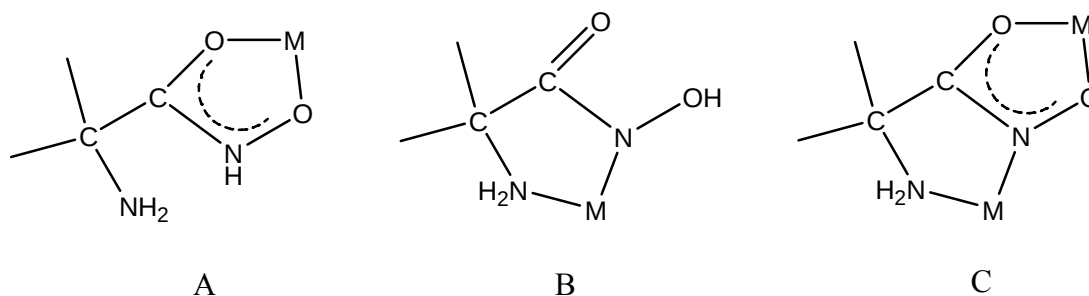


4. ábra: az aminosavak általános szerkezete

Csoportosításuk lehetséges az oldallánc, a rendűség, és az aminocsoport hidroxámsavcsoporthoz képesti helyzete alapján. Ha $\text{R}_\text{N} = \text{H}$, akkor primer-, ha pedig $\text{R}_\text{N} =$ alkil/aril, akkor szekunder aminosavakról beszélhetünk. Az oldalláncban koordinálódó aminosavak esetén az analóg aminosavra jellemző oldallánc (az ábrán R_X) egyéb komplexképzésre alkalmas funkciós csoportokat (amino, hidroxil, karboxil, stb.

csoportokat) tartalmaz. Ha $n = 1$, akkor az aminocsoport a hidroxámsavcsoporthoz képesti α -helyzetű szénatomhoz kapcsolódik, tehát a vegyület egy α -aminohidroxámsav. Ennek megfelelően $n = 2$ esetén β -, míg $n = 3$ esetén a megfelelő γ -aminohidroxámsavról beszélünk. A molekulában jelen lévő aminocsoport jelentősen befolyásolja a vegyületek sav-bázis tulajdonságait és koordinációs sajátosságait. Az aminocsoport a szabad ligandumban széles pH-tartományban protonált formában, vagyis ammóniumcsoportként van jelen. A molekulában lévő aminocsoport, és hidroxamátcsoporthoz a $\text{pH} = 7\text{--}10$ közötti tartományban átfedő folyamatokban protonálódik.¹ Az α -aminohidroxámsavak esetén lehetséges koordinációs módokat az 5. ábra foglalja össze. Ezen vegyületek esetén nem csupán a hidroxámsavakra jellemző hidroxamát-kelát képződhet (5. ábra A szerkezet), hanem a hidroxamát-nitrogén és az aminocsoport részvételével öttagú (N,N) kelát is kialakulhat (5. ábra B szerkezet). Ezen felül a kétféle kelát egy időben is képződhet (5. ábra C szerkezet), ekkor a molekula hídligandumként köthet össze fémionokat, így lehetőség van többmagvú komplexek képződésére is. Ezek alapján az α -aminohidroxámsavak jó komplexképzői lehetnek a nitrogén donoratomokat jobban kedvelő, szoftabb jellegű fémionoknak is. Ezen ionok közé tartozik a Ru(II) is.

A β -aminohidroxámsavak esetén hattagú (N,N) kelát képződhet az amino- és a hidroxamát-nitrogén részvételével.



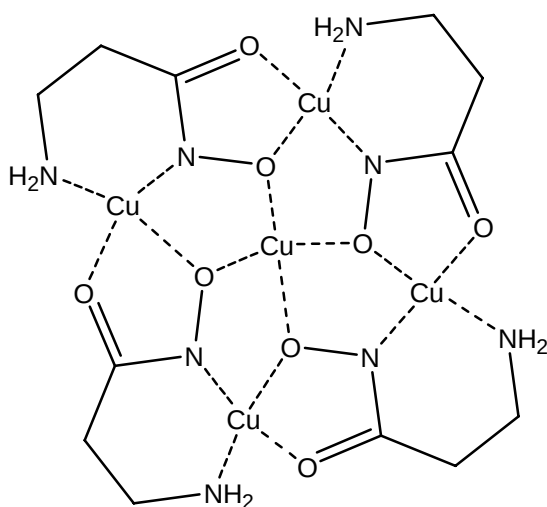
5. ábra: Az α -aminohidroxámsavak esetében lehetséges koordinációs módok

A ligandumcsalád komplexképződési folyamatait már több fémionnal is vizsgálták. A hard sajátosságú, tehát az oxigén donoratomokat jobban kedvelő fémionok, mint például a Fe(III) és Al(III) esetében csak a hidroxamát-kelát képződését figyelték meg, és a képződő részecskék kevésbé voltak stabilak, mint a megfelelő hidroxámsav esetében.^{1,10} A szoftabb jellegű fémionok aminohidroxámsavakkal való kölcsönhatása során a várakozásnak megfelelően már az (N,N) kelátok is számottevően képződnek. A Ni(II) esetén jellemzően csak a ligandum-nitrogén donoratomjaival történik kölcsönhatás, mind az α -, mind a β -származékok esetén.

Mindkét esetben síknégyzetes geometriájú biszkomplexek képződnek.^{1,11,12} A Zn(II) és a Co(II) α -alaninhidroxámsavval alkotott rendszereiben közepes stabilitású komplexek képződését tapasztalták. Kisebb pH-n főleg hidroxamát-kelátok képződnek, majd a pH növelésével, és így az ammóniumcsoport deprotonálódásával már az (N,N) kelátok is megjelennek.^{2,13}

A Cu(II)-ionnál kisebb pH-n a koordináció szintén az oxigéneken keresztül történik, majd a pH-t növelve kialakul a vegyes kötémód (5. ábra, C szerkezet). Az α -aminohidroxámsavakkal egy nem túl széles, pH = 4-6 közötti tartományban van jelen mindkét típusú kelát egyidőben. Ekkor az aminohidroxamátok hídligandumként kötik össze a fémionokat, a fémionok pedig a ligandumokat, melynek eredményeképpen gyűrűs szerkezetek, úgynevezett fémkorona (metallacrown) típusú vegyületek jönnek létre.

A fémkoronák a makrociklusos vegyületek egyik csoportját képviselik, és az utóbbi időben nagy érdeklődés övezi őket. Szerkezetileg a koronaéterek analógjainak tekinthetők, csak esetükben a metilén-csoportok helyén átmenetifémionok és valamilyen egyéb heteroatom található. A 6. ábrán egy fémkorona típusú vegyület szerkezetét láthatjuk.



6. ábra: A Cu(II) – β -Alaha rendszerben képződő fémkorona típusú vegyület¹⁵

Alapesetben a makrociklus fém-nitrogén-oxigén ismétlődő egységekből áll. Az elnevezésük a koronaéterekkel analóg módon történik, például az irodalomban gyakran előforduló 12-MC-4 rövidítés jelentése: 12 tagú gyűrű; MC a „MetallaCrown” szóból; az utolsó szám pedig a gyűrűben lévő fémionok, valamelyik heteroatom, vagy a szerkezetet felépítő ligandum molekulák száma. A szerkezet a központi üregében általában egy további fémiont köthet komplexképződési reakcióban, amely fémion lehet azonos a gyűrűben lévő fémionokkal, de lehet azoktól különböző is. Legkiterjedtebben a Cu(II) fémkoronáit tanulmányozták (ahol a

Cu(II) a gyűrűt alkotó fémion), az aminosavak pedig hagyományosan az egyik legalkalmasabb ligandumcsalád ilyen vegyületek képzésére, hiszen molekulái két kelátképző donorcsoportot tartalmaznak, így kelátképző hídligandumként viselkedhetnek. Kimutatták, hogy mind az α -, mind a β -, mind a γ -aminosavak lehetnek ligandumok ilyen vegyületekben.¹⁴

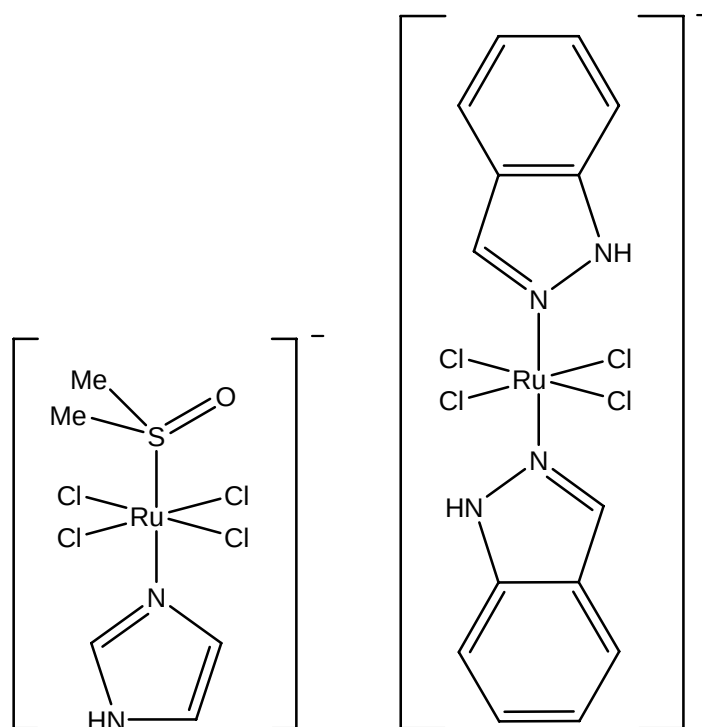
A fémkorona vegyületek első képviselőjét, a Cu(II) – β -Ala komplexet a Tanszéken állították elő, és a szerkezetét is megadták röntgenkristallográfiai módszerrel.¹⁵

A Cu(II) – β -aminosav rendszerekben tehát az α -származékokhoz hasonlóan fémkorona vegyületek képződnek, melyek jellemzően igen stabilak, széles pH-tartományban vannak jelen.^{2,15} Pecoraro és munkatársai szerint β -származékoknál négy Cu(II)-iont és négy ligandumot tartalmazó fémkoronák (12-MC-4) jönnek létre, melyek közéjük bekötődhet az ötödik fémion, így egy ötmagvú komplex alakul ki.¹⁶

2.3 A ruténium és komplexei

A rákellenes küzdelemben az elmúlt évtizedekben sikerrel alkalmaztak olyan átmenetifém-komplexeket, mint például a ciszplatin. A ciszplatin a sejtmagban lévő DNS molekulával lép kölcsönhatásba, és ebben a (részleteiben még nem teljesen tisztázott) folyamatban fejt ki a hatását. Azonban a vegyület és a hozzá hasonló fémkomplexek ismert hátrányai miatt (súlyos mellékhatások, toxicitás, olykor hatástalanság) folyamatos kutatómunka zajlik hasonló antitumor aktivitással, de kisebb toxicitással bíró komplexek előállítására. Így került a kutatások előterébe a platinafémek egy másik képviselője, a ruténium. Ennek az elemnek a platínával való rokonsága mellett még egy lehetséges kedvező tulajdonsága, hogy a vas alatt található a periódusos rendszerben (és így komplexkémiailag szempontból rokonságban állnak), így esetleg a szervezet vasszállító molekuláit is felhasználhatjuk a ruténium komplexek rákos sejtekhez való eljuttatására.

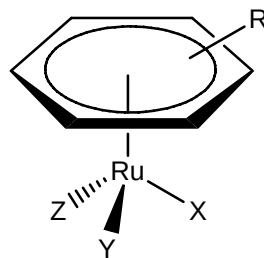
A ruténium komplexek közül először a Ru(III) komplexeket vizsgálták, melyekre az oktaéderes geometria a jellemző, így a fémionnak hat koordinációs helye van. Ezen vegyületek ígéretesnek bizonyultak a rákos sejtekkel végzett vizsgálatok során, és közülük kettő, a NAMI-A és a KP1019 már klinikai tesztelés alatt áll. Szerkezetük a 7. ábrán látható.



7. ábra: A NAMI-A (balra) és a KP1019 szerkezete

A kutatások során megállapították, hogy a Ru(III) a szervezetben Ru(II)-vé redukálódik, ezért kezdtek el foglalkozni a fém ezen kisebb oxidációs állapotával. A Ru(II) kevésbé stabilis, oxidációra érzékeny; de stabilizálható például aromás ligandumok használatával úgy, hogy egy úgynevezett félszendvics vegyületet hozunk létre. Ezekben a fémorganikus vegyületekben az aromás ligandum η^5 (pentahapto)-, vagy η^6 -koordinációval kötődik a fémionhoz. Ru(II) esetén általában szubsztituált benzolgyűrű az aromás ligandum, ezt néha a komplex „kalapjának” is nevezik. A kialakuló komplex jellegzetes „zongoraszék” geometriájú.

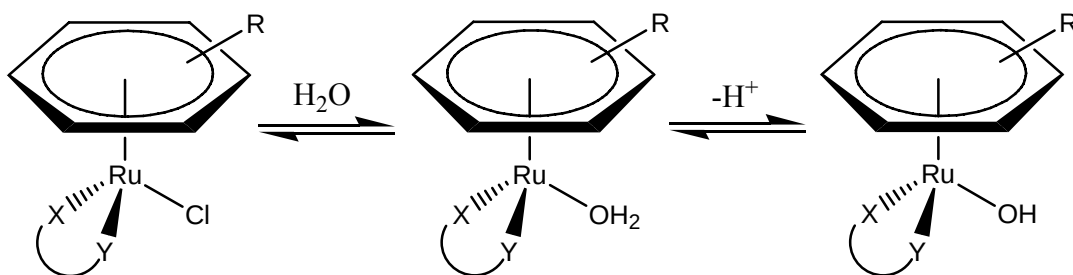
A félszendvics Ru(II)-komplexek esetén (melyek általános szerkezete a 8. ábrán látható), a fémionnak három szabad koordinációs helye van, melyek közül kettőt általában valamilyen (N,N), vagy (O,O) donor kelátképző ligandum foglal el, a harmadikat pedig valamilyen egyfogú ligandum, például halogenidion. A Ru(II) stabilizálása mellett az aréngyűrű további szerepe, hogy hidrofób jelleget ad a molekulának, amely így könnyebben át tud hatolni a sejtmembránon, hogy a sejt belsejében a hatását kifejtsse. Ezt arra alapozzák, hogy a molekula apoláris jellegét növelve (például policiklusos aromás szénhidrogének, mint aromás ligandumok használatával) nagyobb sejttoxicitás volt tapasztalható.²⁴ Ezeknek a vegyületeknek a tulajdonságait, biológiai aktivitását az aromás, az egyfogú és a kelátképző ligandum minősége egyaránt befolyásolja.



8. ábra: a félszendvics Ru(II)-komplexek „zongoraszék” geometriájú szerkezete

A félszendvics Ru(II)-komplexek kloridhidas dimer prekursorai előállíthatók a megfelelő ciklohexadiének ruténium(III)-kloriddal való reakciójában.^{8,17} A dimer oldatban szétesik monomerjeire, a koordinációs helyeken lévő oldószermolekulák pedig könnyen helyettesíthetők.

A klorokomplexek – $[\text{Ru}(\eta^6\text{-arén})(\text{L})\text{Cl}]$, L = kelátképző ligandum – kloridionja vizes közegben vízmolekulára cserélődhet, így akvakomplex alakul ki. A koordinált vízmolekula a pH növelésével deprotonálódhat, aminek eredményeképpen hidroxokomplex képződik. A folyamatot a 9. ábra szemlélteti. A hidroxokomplex kinetikailag sokkal inertebb az akvakomplexnél, ezért biológiai aktivitása jóval kisebb. A hidrolízis mértékét a koordinálódó vízmolekula savassága határozza meg, ennek ismerete, tehát ezen pK_s meghatározása fontos a biológiai alkalmazás szempontjából.

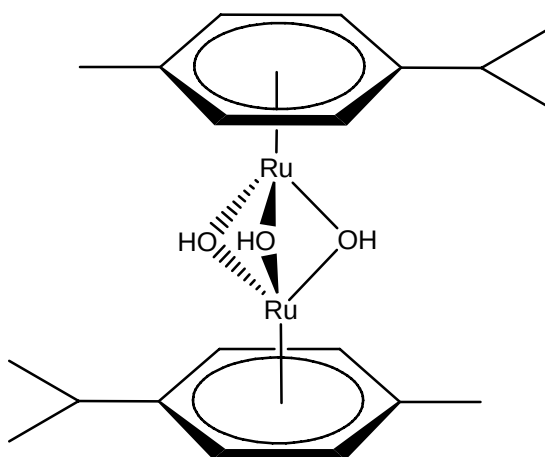


9. ábra: Az akvakomplex kialakulása és hidrolízise (X-Y = kelátképző ligandum)

A fenti folyamat mellett a körülményektől függően a kelátképző ligandum is lecserélődhet, vagyis a komplex a ligandumra, és a szabad fémionra disszociálhat. Vizes oldatban a képződő fémion a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation, melynek hidrolitikus viselkedését a Tanszéken részletesen vizsgálták.

A Tanszéken részletesen vizsgált félszendvics kation a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation ($p\text{-cimol}$ = 1-metil-4-izopropil benzol) volt. A fémion hidrolízisét pH-potenciometriás, UV-VIS

spektrofotometriás, ^1H -NMR és ESI-MS módszerek segítségével tanulmányozták.¹⁸ $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ oldatokat titráltak KOH oldattal, az ionerősséget 0,2 M-ra állították KCl-oldat használatával. A kapott titrálási görbék alapján a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation hidrolízise körülbelül $\text{pH} = 3,9$ -nél kezdődik. A folyamat során a fémion koordinációs helyeihez kapcsolódó vízmolekulák deprotonálódásával hidroxokomplexek jönnek létre. A hidrolízis $\text{pH} = 6$ -ra gyakorlatilag teljessé válik, az ekkor jelenlévő részecske a $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$, mely az irodalomból már jól ismert. Ezen trihidroxo hidas dimer szerkezetét a 10. ábrán láthatjuk.

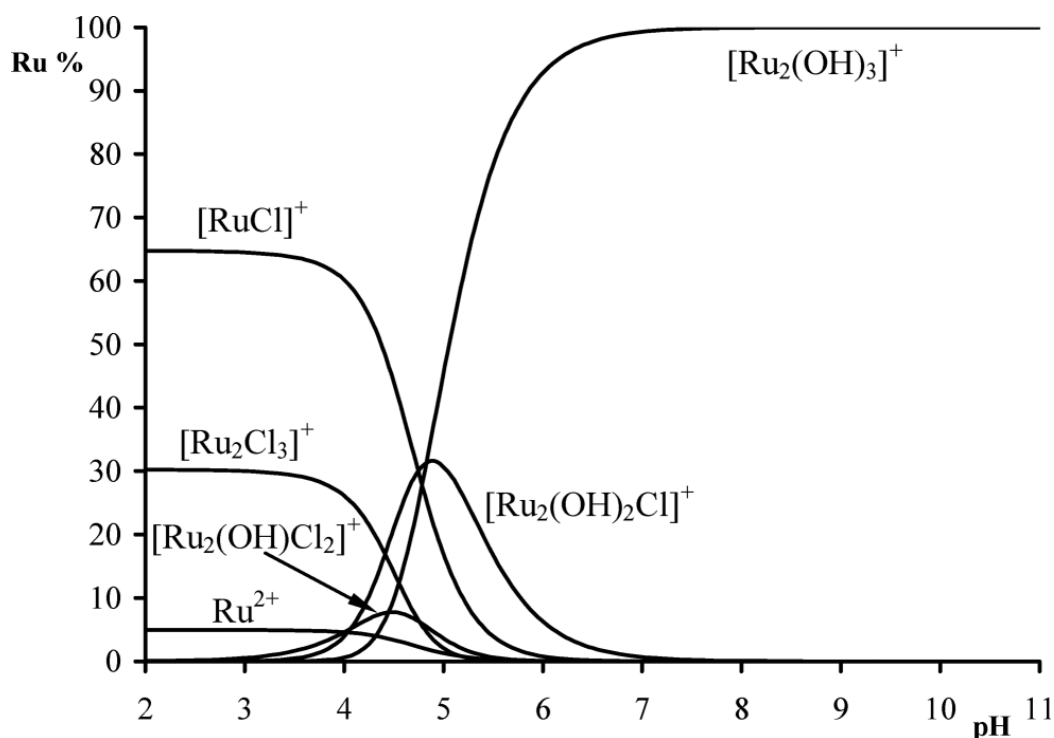


10. ábra: a $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ komplex szerkezete

Az adatok elemzése alapján a rendszerben egy harmadik részecske, a $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\mu^2\text{-OH})_2]^{2+}$ komplex jelenléte is valószínű (melynél a fémionok harmadik koordinációs helyét egy egyfogú ligandum foglalja el). Ez azonban csak átmeneti, $\text{pH} = 4\text{-}6$ között megjelenő részecske. $\text{pH} = 6$ felett csak a $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ van jelen a rendszerben. Az UV-VIS, ^1H -NMR és ESI-MS eredmények összhangban voltak a pH-potenciometriás modellel.

A vizsgált félszendvics kation és a kloridion közötti kölcsönhatás azonban nem elhanyagolható tényező, ezért a fentiekben bemutatott rendszert a közelmúltban részletesebben is megvizsgálták a kapott eredmények finomítása, és a kloridionnal való kölcsönhatás pontos felderítése végett.¹⁹ A pH-potenciometriás vizsgálatoknál az előbbi rendszert 0,2 M KNO_3 -ot tartalmazó rendszerrel hasonlították össze (mivel a nitrácion nem koordinálódik). A titrálási görbék összehasonlítása egyértelműen arra utalt, hogy a kloridos rendszerben van komplexképződés a félszendvics kationnal; azonban $\text{pH} = 6$ felett a görbék megegyeztek az előző tanulmányban kapottal, tehát a $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ komplex kizárólagos jelenlétét mutatták. A savas közegben (ahol a fémion még nem hidrolizál) végzett

$^1\text{H-NMR}$ mérések egyértelműen két új részecske megjelenését mutatták klorid hozzáadására és a klorid koncentráció növelésének hatására. Állandó klorid koncentráció mellett a pH növelésével végzett mérések, valamint a hidrolízis tartományában megválasztott pH-n a klorid koncentráció növelésével végzett mérések még két új klorokomplex jelenlétét mutatták, melyek kloro-hidroxo vegyes ligandumú komplexek. A klorokomplexek jelenlétét az ESI-TOF-MS vizsgálatok megerősítették. A rendszer számított koncentráció eloszlási görbáját a 11. ábra mutatja.



11. ábra: a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} - \text{Cl}^-$ rendszer számított koncentráció eloszlási görbéje 1:100 aránynál. $\text{Ru} = [\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})]^{2+}$

Ahogy az ábrán látható, a klorokomplexek $\text{pH} = 4$ alatt vannak jelen, míg a $\text{pH} = 3,5\text{-}6,5$ közötti tartományban vegyes ligandumú kloro-hidroxo komplexek képződnek, bár utóbbiak közül egyik sem ér el nagy koncentrációt. $\text{pH} = 6,5$ felett a trihidroxo hidas dimer kizárólagos jelenléte látható. Az előző tanulmányhoz képest tehát az újabb vizsgálat tisztázta a savas pH-n, és a hidrolízis tartományában jelenlévő részecskék szerkezetét.

A kloridionnal való kölcsönhatás felderítése azért is fontos, mert az élő szervezet egyik legalapvetőbb ionja. Az eredmények alapján a kloridionok különböző koncentrációban való jelenléte savas pH-n befolyásolja a jelenlévő részecskék minőségét, de fiziológias körülmények között ($\text{pH} = 7,4$, $c_{\text{Cl}^-} = 0,16 \text{ M}$) a ruténium a $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ hidroxokomplex formájában van jelen egyéb komplexképző ligandum hiányában.

2.4 A félszendvics Ru(II) kölcsönhatása hidroxámsavakkal

A félszendvics Ru(II) kationok hidroxámsavakkal való kölcsönhatását a legutóbbi időkig nem tanulmányozták, az elmúlt években a Tanszéken végzett kutatások segítettek felderíteni a területet.

A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ hidrolitikus viselkedését először vizsgáló tanulmányban vizsgálták a fémion hidroxámsavakkal való kölcsönhatását is.¹⁸ A vizsgált ligandumok a benzohidroxámsav és az N-metil-acetohidroxámsav voltak. A benzohidroxámsavval szilárd fázisú vizsgálatokat végeztek IR spektroszkópiai, ESI-MS, ^1H -NMR, valamint röntgendiffrakciós módszerrel. Megállapították, hogy a ligandum (O,O) kelátképzőként viselkedik, vagyis hidroxamát-kelát alakul ki a fémionnal. A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\mu\text{-bha})_2(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ (bha = benzohidroxamát) komplex pontos szerkezetét röntgendiffrakciós mérésekkel határozták meg. Az eredmények szerint a részecske egy kétmagvú komplex, melyben a benzohidroxamát molekulák oxocsoportja az egyik fémionhoz kötődik, a ligandumok deprotonálódott hidroxamát-oxigénjei pedig hídként kötik össze a fémionokat, így telítve azok koordinációs helyeit.

Az N-metil-acetohidroxámsavval az előbbieken felül pH-potenciometriás méréseket is végeztek. Az eredmények szerint a fémion igen stabil komplexet képez ezzel a ligandummal, a kialakuló komplexről pedig a többi technika segítségével megállapították, hogy a szilárd fázisú eredményekkel ellentétben monomer szerkezetű. A komplexben a ligandum hidroxamát-kelátot képezve koordinálódik a fémionhoz, melynek harmadik koordinációs helyét egy vízmolekula foglalja el. A pH növelésével ez a vízmolekula deprotonálódik, ezzel egyidőben pedig elkezdődik a trihidroxo hidas dimer képződése is, amely viszont csak pH = 10 felett válik meghatározó részecskévé. A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{meaha})(\text{H}_2\text{O})]^+$ (meaha = N-metil-acetohidroxamát) igen stabil, pH = 4,5-7,5 között gyakorlatilag egyedüli részecskéként van jelen, így fiziológias pH-n (pH = 7,4) a ruténium szinte teljes mennyiségét köti. A trihidroxo hidas dimer mennyisége ekkor kevesebb, mint 10%.

Egy újabb tanulmányban az N-metil-acetohidroxámsavhoz hasonló viselkedést mutatott a fémionnal szemben több, biológiai szereppel bíró (a szervezetben előforduló, vagy rákellenes komplex részét képező) (O,O) kelátképző ligandum is.²⁰

Az eddigieken felül más egyszerűbb hidroxámsavak félszendvics Ru(II)-vel alkotott komplexét is előállították már a Tanszéken.⁸

A félszendvics Ru(II) kationok aminohidroxámsavakkal való kölcsönhatásáról nem találtunk irodalmi előzményt.

3. Célkitűzés

Az irodalmi előzményekben ismertetettek alapján célunk a félszendvics $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation aminosavakkal való kölcsönhatásának felderítése. Mivel a téma nem tanulmányozott az irodalomban, vizsgálata érdekes és értékes új információkat szolgáltathat. A téma felderítésével a Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportban az elmúlt években végzett kutatásokba kapcsolódunk be. A Kutatócsoportban a fémion több hidroxamát-komplexét is előállították már, de ezek a vegyületek nem mutattak biológiai aktivitást a rákos sejtekkel folytatott vizsgálatok során.²² Így a hidroxámsavak származékainak vizsgálatával az ez irányú kutatásokat is folytathatjuk. Az aminosavak szintetikus vegyületek, azonban, főképpen az α -származékok, a természetes vegyületekhez (a fehérjealkotó α -aminosavakhoz) közel állnak, így biológiai szempontból mindenképpen érdekes a tulajdonságaik vizsgálata. A dolgozat keretében a félszendvics kation α -alaninhidroxámsavval, mint a ligandumcsalád egyik legegyszerűbb képviselőjével való kölcsönhatását vizsgáltuk. A vizsgálatokat oldatfázisban végeztük, pH-potenciometriás, ESI-TOF-MS és ^1H -NMR módszerekkel. A továbbiakban majd szilárdfázisú vizsgálatokat, és a fémion egyéb aminosavakkal (például egyszerűbb β - és γ -származékokkal) való kölcsönhatásának vizsgálatát is tervezzük.

4. A kísérleti körülmények és az alkalmazott módszerek

4.1 A felhasznált vegyszerek

A ligandum előállításához DL-alaninból indultunk ki, melyet a Roche gyártott. A szintézis során használt ammónium-klorid és hidroxilamin-hidroklorid Reanal gyártmányú volt. A hidroxilamin-hidrokloridot a felhasználás előtt átkristályosítással tisztítottuk. Az oldószerként és reakciópartnerként is használt, frissen bontott metanol Hipersolv Chromanorm gyártmányú volt.

A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ dimert irodalmi recept alapján állítottuk elő¹⁷, az ehhez használt α -terpinén Acros Organics termék volt.

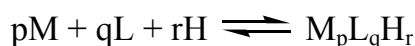
A NMR-mérésekhez szilárd $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ felhasználásával készítettünk fémion tartalmú mintákat, Reanal gyártmányú ezüst-nitráttal elvégezve a kloridmentesítést. Az oldószerként használt nehézvizet a Merck szállította.

A pH-potenciometriás és ESI-TOF-MS mérésekhez ruténium-törzsoldatokat készítettünk a megfelelő mennyiségű $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ háromszor ioncserélt vízben való feloldásával és azt követő kloridmentesítésével. A titrálásokat karbonátmentes KOH-oldattal végeztük, melynek koncentrációját Aldrich gyártmányú kálium-hidrogén-ftalátból készült oldattal határoztuk meg.

4.2 Az alkalmazott eszközök és módszerek

4.2.1 pH-potenciometria

Az oldatfázisban lejátszódó komplexképződési folyamatok egyensúlyi vizsgálatának egyik legáltalánosabb módszere a pH-potenciometria. Alkalmazhatóságának szükséges feltétele, hogy a fémion hatással legyen a ligandum protonálódási egyensúlyára, azaz a komplexképződés pH-effektussal járjon. A vizsgálatokkal a képződő részecskék összetételét és stabilitási állandóit határozhatjuk meg, a következőkben leírtak alapján. A komplexképződési folyamat a következő általános egyenlettel írható fel:



Az M a fémion, az L a ligandum, a p, q és r pedig a sztöchiometriai számok. Egy $M_pL_qH_r$ összetételű komplex β_{pqr} stabilitási állandója pedig a következő egyenlettel definiálható:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pL_qH_r]}{[M]^p[L]^q[H]^r}$$

Ha a rendszer csak fémiont, protont és ligandumot tartalmaz, akkor háromkomponensűnek tekinthető. E három komponensre a következő anyagmérlegek írhatók fel.

$$C_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r$$

$$C_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r$$

$$C_L = [L] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r$$

Ha a ligandum protonált formája és a fémkomplexe között mérhető kompetíció van, akkor a komplexek stabilitási állandóit meghatározhatjuk a titrálási görbe elemzésével. A számításokat a Tanszéken kifejlesztett PSEQUAD programmal végeztük, ez a program iterációs módszerrel finomítja a kezdetileg beállított állandókat.²¹ A komponensekre felírt anyagmérlegek megoldásával meghatározza a feltételezett komplexek stabilitási állandóit. Az értékelések során először bemenő adatként meg kell adnunk a komponensek és asszociátumok számát, és az utóbbiak pontos sztöchiometriai összetételét, a komponensek kiindulási teljes koncentrációját, ezenfelül az ismert; és az ismeretlen, közelítő stabilitási állandókat.

A méréseket Mettler Toledo DL50 titrátorral és DGI 114-SC kombinált üvegelektóddal végeztük. Az Irving-faktor és a vízionszorzat meghatározására HCl-oldatokat titráltunk ismert (előzőleg kálium-hidrogén-ftalátra meghatározott) koncentrációjú KOH-oldattal. A titrálandó mintákban az ionerősséget 0,2 M-ra állítottuk 1 M KCl-oldat felhasználásával. A műszert minden mérés előtt kálium-hidrogén-ftalát oldattal kalibráltuk az ismert módon ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 4,005$). A fémek rendszereinek mérése előtt a használt ligandum (az α -alaninhidroxámsav) protonálódási állandóit és a ligandum törzsoldat koncentrációját határoztuk meg. Ekkor HCl-oldat hozzáadásával a ligandum teljesen protonált formáját alakítottuk ki, majd a mintát KOH-oldattal titráltuk. A protonálódási állandókat a SUPERQUAD programmal határoztuk meg. A mérések során a titrálandó minták térfogata egységesen $15,00\text{ cm}^3$ volt. A titrálások

során a minta kevertetését és a levegő kizárását úgy oldottuk meg, hogy argont buborékoltattunk át a mintákon. A komplexképződés tanulmányozására 1:2, 1:1 és 2:1 fémion-ligandum arányú mintákat titráltunk, így kedvezve az adott összetételű komplex képződésének. A komplexek stabilitási állandóit a PSEQUAD programmal határoztuk meg.

4.2.2 Mágneses magrezonancia spektroszkópia

A mágneses magrezonancia (angol rövidítéssel NMR) spektroszkópia az információban egyik leggazdagabb szerkezetvizsgáló módszer, amely a minta molekuláit alkotó atomok fizikai tulajdonságait használja ki a szerkezetre vonatkozó információk kinyeréséhez. Az NMR-spektroszkópiával azok az atommagok vizsgálhatók, melyeknek protonszáma, neutronszáma, vagy mindkettőnek a száma páratlan, tehát zérustól eltérő eredő magspinnel rendelkeznek. Ezek az NMR-aktív magok. A mágneses magrezonancia jelenségének fizikai alapját a Zeemann-felhasadás jelenti. Homogén mágneses térben az NMR-aktív magok energiaállapota $2I+1$ energianívóra hasad fel, ahol I a magspin kvantumszám. A létrejött energiaszintek közötti átmenetek megfelelő, adott frekvenciájú (a rádiótartományba eső) elektromágneses sugárzással gerjeszthetők, tehát a jelenségnek rezonancia jellege van. A létrejött nívók közötti energiakülönbség a külső mágneses tér erősségének növekedésével nő.

A valós rendszerekben az atommagot elektronok veszik körül, melyek mozgásuk során saját mágneses teret hoznak létre, ami módosítja – erősíti, vagy gyengíti a külső teret a mag környezetében. Ezt nevezzük kémiai árnyékolásnak. A kémiai árnyékolás következtében az atommag abszorpciós frekvenciája eltolódik az árnyékolatlan maghoz képest. Ezt nevezzük kémiai eltolódásnak. A kémiai árnyékolás, és így a kémiai eltolódás mértéke függ az adott atommag körüli elektroneloszlástól, vagyis az adott mag kémiai környezetétől. Így a különböző kémiai környezetben lévő atommagok külön jelet adnak az NMR-spektrumban. A jelek spektrumbeli helyzetének megadására a kémiai eltolódást (δ , jelen esetben mint mennyiség) használják. Ezen mennyiség használata során egy, a mintához adott standard vegyület adott atommagjának abszorpciós frekvenciájához viszonyítunk. A molekulán belüli NMR-aktív atommagok mágneses momentumai kölcsönhatásba lépnek egymással, minek következtében kissé megváltozik a kölcsönhatásban lévő magok energiája. Ez a spin-spin csatolás, a következménye pedig a multiplett felhasadás, vagyis, hogy az egymással csatoló atommagok felhasadást okoznak egymás jelében. A kapott jel multiplicitása a csatoló partnerek számának és minőségének függvénye, és egyértelmű felvilágosítást ad az adott mag molekulán belül elfoglalt helyéről. A spin-spin csatolás általában három kötési távolságig

elég jelentős ahhoz, hogy jól látható felhasadást okozzon. A kapott multipllett jelei közti távolságot csatolási állandónak (J) nevezzük és Hz-ben adjuk meg.

A ^1H -NMR méréseket Bruker WP 360 SY típusú spektrométeren végeztük. A használt oldószer minden esetben nehézvíz volt, a mintatérfogat pedig 600 μl . A mintaelőkészítés során a cimol dimerből indultunk ki, melynek kloridtartalmát ezüst-nitráttal távolítottuk el. A pH-kat NaOD valamint DNO_3 -oldatok hozzáadásával állítottuk be. Az ionerősséget KNO_3 hozzáadásával állítottuk 0,2 M értékre. A kiértékeléshez a WinNMR programot használtuk. A kémiai eltolódásokat ppm-ben adtuk meg a használt oldószer, vagy a mintákhoz adott standard (TSP, a 3(trimetilszilil)-1-propánszulfonsav nátriumsója) jeléhez viszonyítva.

4.2.3 Tömegspektrometria

A tömegspektrometria egy általánosan alkalmazott szerkezetvizsgáló és analitikai módszer, melyet kis mintaigény és rendkívüli érzékenység jellemez. A módszer a minta molekuláinak ionizációján, majd a képződött ionok fajlagos tömeg szerinti elválasztásán és detektálásán alapul. A mintát a mintabevivő rendszeren át az ionforrásba juttatjuk, ahol annak molekulái ionizálódnak. A képződött ionok ezután az analizátorba jutnak, ahol vákuumban választjuk el őket egymástól fajlagos tömegük (tömeg/töltés, m/z) szerint, végül pedig a detektorral detektáljuk őket. A módszerrel elvileg bármilyen halmazállapotú, egy vagy többkomponensű minta is vizsgálható. Az ionizáció sokféle ionforrás használatával történhet – általában különböző részecskékkel (nagyenergiájú elektronok, gázmolekulák, atomok) bombázzák a mintamolekulákat, vagy elektromos feszültség- és kisülések segítségével megy végbe a folyamat.

Munkánk során ESI-TOF-MS készüléket használtunk a pH-potenciometriás mérések alapján feltételezett részecskék jelenlétének bizonyítására. Az ESI (elektrospray ionizáció) a lágy ionizációs technikák közé tartozik, vagyis a mérések során a minta molekulái nem fragmentálódnak, így lehetőség van az oldatban jelen lévő komplexeket molekulaionok formájában detektálni. Az ESI-MS előnye, hogy igen pontos tömegmérést tesz lehetővé, így ismerve a feltételezett részecskék összegképletét az azonosítás elvileg könnyen elvégezhető. A méréseinket Bruker micrOTOF-Q ESI-TOF készülékkel végeztük pozitív módban. Közelítőleg 1:1 és 2:1 fémion-ligandum arány mellett végeztük a méréseket, mindkét esetben különböző pH értékekre beállított, kloridmentesített mintákkal. A pH-k beállításához vizes KOH és HNO_3 oldatokat használtunk. A minták a beállító oldatok ionjai mellett csak a fémiont és a ligandumot tartalmazták.

4.3 A ligandum és a prekursor előállítása

4.3.1 A ligandum előállítása

A DL-alanin-metilészter előállítása

5,0 g DL-alanint (0,056 mol) szuszpendáltunk 60 ml frissen bontott száraz metanolban, majd intenzív kevertetés közben HCl-gázt vezettünk a lombik gázterébe. A HCl-ot csiszolatos gázfejlesztő készülékben fejlesztettük kb. 70 g NH_4Cl és 2x30 ml tömény kénsav reakciójában. A metanolos oldatot három órán át kevertettük, miközben jéggel 0 °C körüli hőmérsékleten tartottuk. Az alanin a HCl bevezetésére 5 perc után feloldódott és egy víztiszta oldatot kaptunk. A reakcióidő letelte után a reakcióelegyet rotációs vákuumbepárlóval szárazra pároltuk. A kivált fehér színű anyagot absz. dietil-éterben szuszpendáltuk, majd az étert vákuumban távolítottuk el, és így szárítottuk az anyagot több órán keresztül. A kapott termék egy fehér színű szilárd anyag, amely a metilészter hidrokloridja. Kitermelés: 7,48 g (95,4 %).

$^1\text{H-NMR}$ (360MHz, D_2O) az oldószer jeléhez viszonyítva ($\delta = 4,79$): $\delta = 1,56$; 1,54 (d, 3H, $-\text{CH}_3$) $\delta = 3,83$ (s, 3H, $-\text{CH}_3$) $\delta = 4,17$ -4,23 (q, 1H, $-\text{CH}$)

A DL- α -alaninhidroxámsav előállítása

5,0 g (0,036 mol) DL-alanin-metilészter-hidrokloridot oldottunk 25 ml száraz metanolban. Ezzel egy időben egy második lombikban 2,2 g szilárd KOH-ot oldottunk 25 ml metanolban. Egy harmadik lombikban 4,48 g (0,064 mol) frissen átkristályosított hidroxilamin-hidrokloridot oldottunk 25 ml metanolban. Egy negyedik lombikban pedig 4 g KOH-ot oldottunk fel 25 ml metanolban. Az első, a harmadik és a negyedik lombikot szobahőmérsékleten kevertettük a szilárd anyagok feloldódásáig. (A hidroxil-ammónium klorid esetén ehhez még 10 ml metanolra volt szükség). A kevertetett oldatokat jeges fürdőben hűtöttük, majd a metilészter-hidroklorid oldatához részletekben hozzáadtuk a szobahőmérsékletű lúgos metanolt, a hidroxil-ammónium klorid oldatához pedig a hűtött lúgos metanolt. Ezután az oldatokat 15 percen át kevertettük 0 °C-on, majd először az észter oldatát, majd a hidroxilamin-oldatot szűrtük ki üvegszűrőn ugyanabba a lombikba. A szűrőn maradt szilárd anyagot kevés hideg metanollal mostuk. A kapott színtelen szűrletet eltettük a hűtőbe. Másnapra fehér szilárd anyag vált ki az oldatból, melyet kiszűrtünk, az oldatot pedig rotációs vákuumbepárlóval fele térfogatúra pároltuk és ismét hűtőbe tettük. A felére párolt oldatból két nap alatt ismét szilárd anyag vált ki, melyet szintén üvegszűrőn szűrtünk le. Mindkét szilárd anyagot absz. dietil-éterrel mostuk és vákuumban szárítottuk több órán keresztül. Mindkét anyag fehér színű szilárd anyag, melyeket külön tettünk el fagyasztóba.

Mivel az anyagok megfelelően tisztának bizonyultak, ezért nem tettünk kísérletet további termék kinyerésére az anyalúgból. Kitermelés: első termék („sarzs”): 1,29 g; második sarzs: 1,48 g (összesen 74,4 %).

$^1\text{H-NMR}$ (360MHz, D_2O) TSP standard ($\delta = 0,00$): $\delta = 1,40$; $1,42$ (d, 3H, $-\text{CH}_3$) $\delta = 3,75$ - $3,80$ (q, 1H, $-\text{CH}$)

4.3.2 A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cimol})\text{Cl}_2]_2$ előállítása

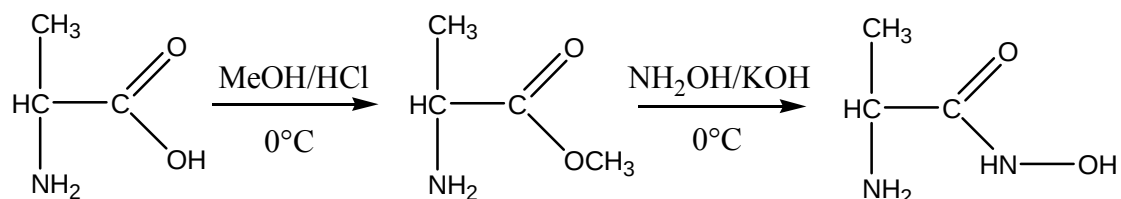
A kloridhidas cimol dimer előállítására 2,05 g (0,008 mol) $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ -ot feloldottunk 100 ml, előzőleg fél órán át nitrogénezett absz. etanol és 15 ml α -terpinén elegyében, majd az oldatot négy órán át refluxoltattuk 105°C -on tartott olajfürdőben N_2 atmoszférában. Szobahőmérsékletre való lehűlés után fagyasztoóban hagytuk állni a reakcióelegyet egy éjszakán át. Másnap leszűrtük a kivált anyagot, többször kevés absz. etanollal mostuk, majd szárítottuk. A termék egy sötétvörös színű szilárd anyag. (A $^1\text{H-NMR}$ -el történt jellemzését az 5. fejezetben mutatom be).

5. Az eredmények és értékelésük

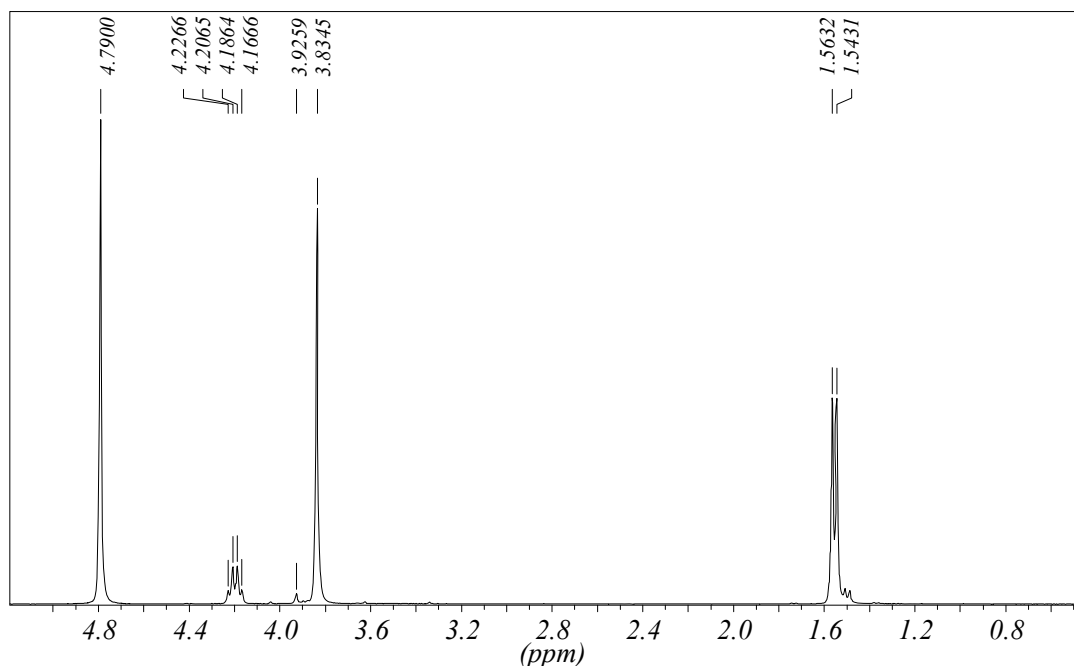
5.1 A ligandum előállítása és jellemzése

5.1.1 A DL-alanin metilészter előállítása

Az α -alaninhidroxámsav előállításához először az alanin metilészterét állítottuk elő az aminosav, és a megfelelő alkohol savkatalizált észterképződési reakciójában. A reakciót és az azt követő hidroxámsav szintézist a következő egyenlet mutatja be:



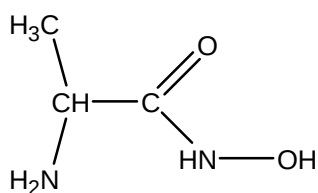
Az alkalmazott körülmények között a reakció gyakorlatilag kvantitatívan végbement, termékként pedig a 4.3.1 fejezetben leírt körülményeknek megfelelően a metilészter hidrokloridját nyertük. A terméket $^1\text{H-NMR}$ -el jellemeztük, spektruma a 12. ábrán látható. (A mérési körülmények és a jelek hozzárendelése a 4.3 fejezetben láthatók).



12. ábra: a DL-alanin-metilészter-hidroklorid ^1H -NMR spektruma D_2O -ban

5.1.2 A DL- α -alaninhidroxámsav előállítása

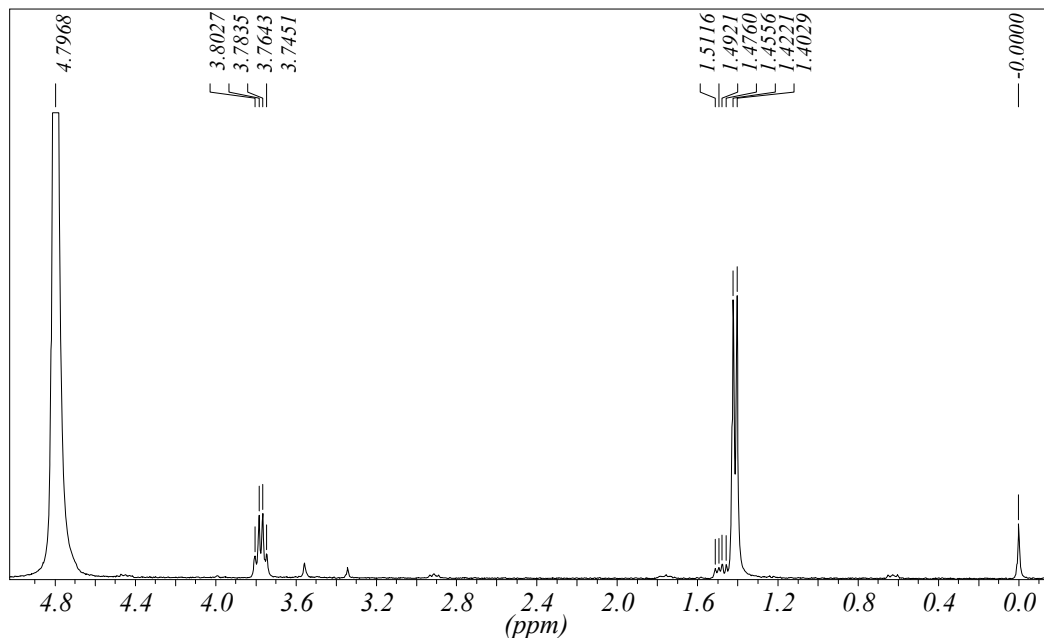
A vizsgált ligandumot DL-alanin-metilészter-hidrokloridból és hidroxilamin-hidrokloridból kiindulva állítottuk elő, a klasszikus hidroxámsav szintézissel.⁹ A reakcióhoz irodalmi recept szerint átkristályosított hidroxil-ammónium kloridot használtunk.²³ Reakcióközegként metanolt alkalmazva KOH-al szabadítottuk fel az észtert és a hidroxilamint a hidrokloridjaikból, majd a két reaktáns oldatát elegyítve játszottuk le a szubsztitúciós reakciót. A ligandum szerkezete a 13. ábrán látható:



13. ábra: az α -alaninhidroxámsav (α -alaha) szerkezete

A lúgos reakcióelegyből tiszta ligandumként két különböző sarzsot nyertünk (lásd: 4.3 fejezet), melyek hatóanyag tartalmát pH-metriás módszerrel határoztuk meg. Az első sarzsra 94%-os, a másodikra 86%-os hatóanyag tartalmat kaptunk, de a titrálási görbék elemzése arra utalt, hogy az 1. sarzs sav-bázis szennyezőként valószínűleg tartalmaz kis mennyiségű hidroxilamint. Erre utaló jelet a 2. sarzs esetében nem láttunk, így az oldatfázisú mérésekhez a

2. sarzsot használtuk, amely szennyezőként csak KCl-ot tartalmaz, mivel a ^1H -NMR mérések szerint az átalakulás gyakorlatilag kvantitatív volt, észtart egyik sarzs sem tartalmazott. Az előállított ligandum ^1H -NMR spektruma a 14. ábrán látható.

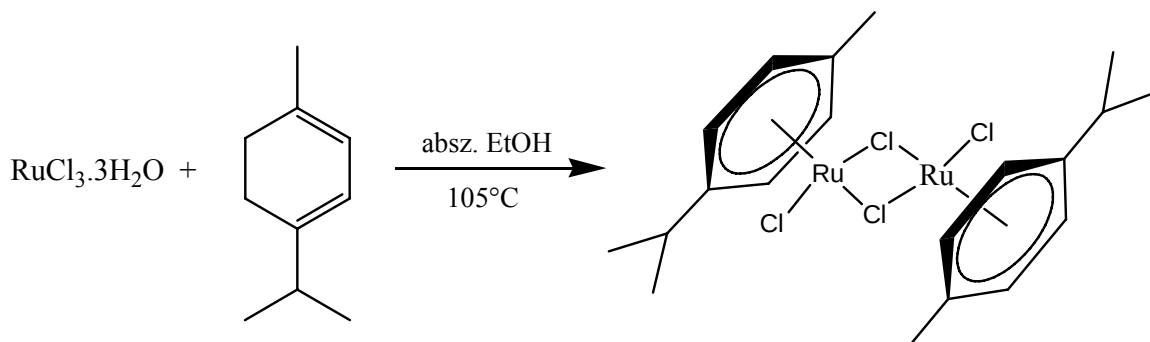


14. ábra: az előállított DL- α -alaninhidroxámsav ^1H -NMR spektruma D_2O -ban

Az integrálértékek alapján az előállított ligandum gyakorlatilag nem tartalmaz szerves szennyezőanyagokat. (A jelek hozzárendelése a 4.3.1 fejezetben olvashatók).

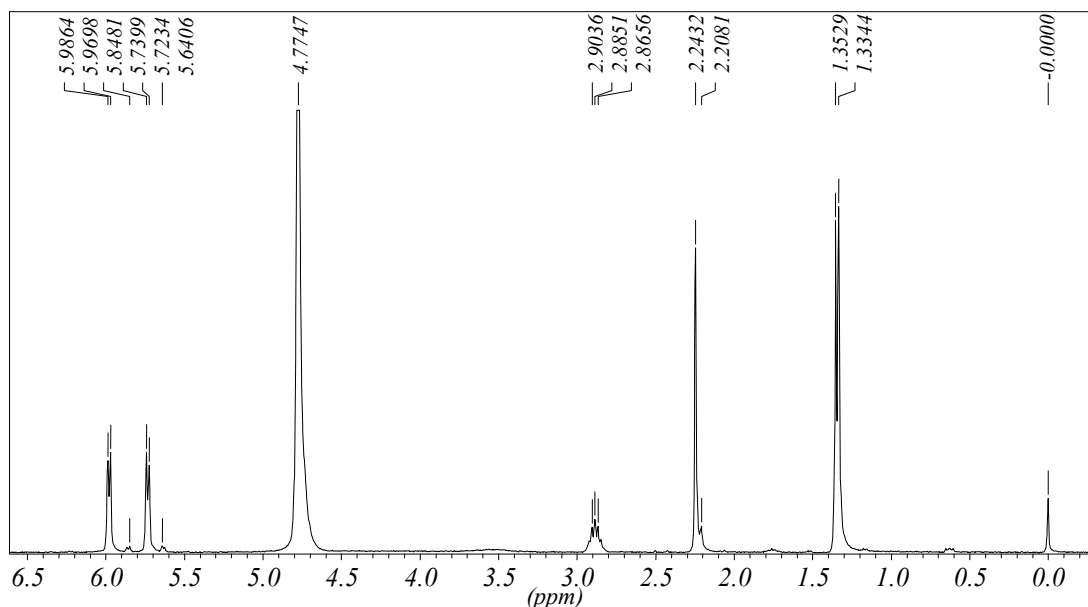
5.2 A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ előállítása és jellemzése

A prekuzorként használt $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ dimert RuCl_3 és α -terpinén (1-metil-4-izopropil ciklohexa-1,3-dién) közötti redoxireakcióban állítottuk elő irodalmi receptet követve.¹⁷ A reakciót a 15. ábra foglalja össze:



15. ábra: a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Cl}_2]_2$ előállítása

Az előállított dimert a ^1H -NMR spektruma alapján azonosítottuk, amelyet a 16. ábrán láthatunk. A mérendő mintát nehézvízben oldottuk, kloridmentesítettük, standardot adtunk hozzá, és az ionerősséget 0,2 M-ra állítottuk KNO_3 -al. Az ábrán tehát a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ félszendvics kation spektrumát láthatjuk.



16. ábra: a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation ^1H -NMR spektruma D_2O -ban

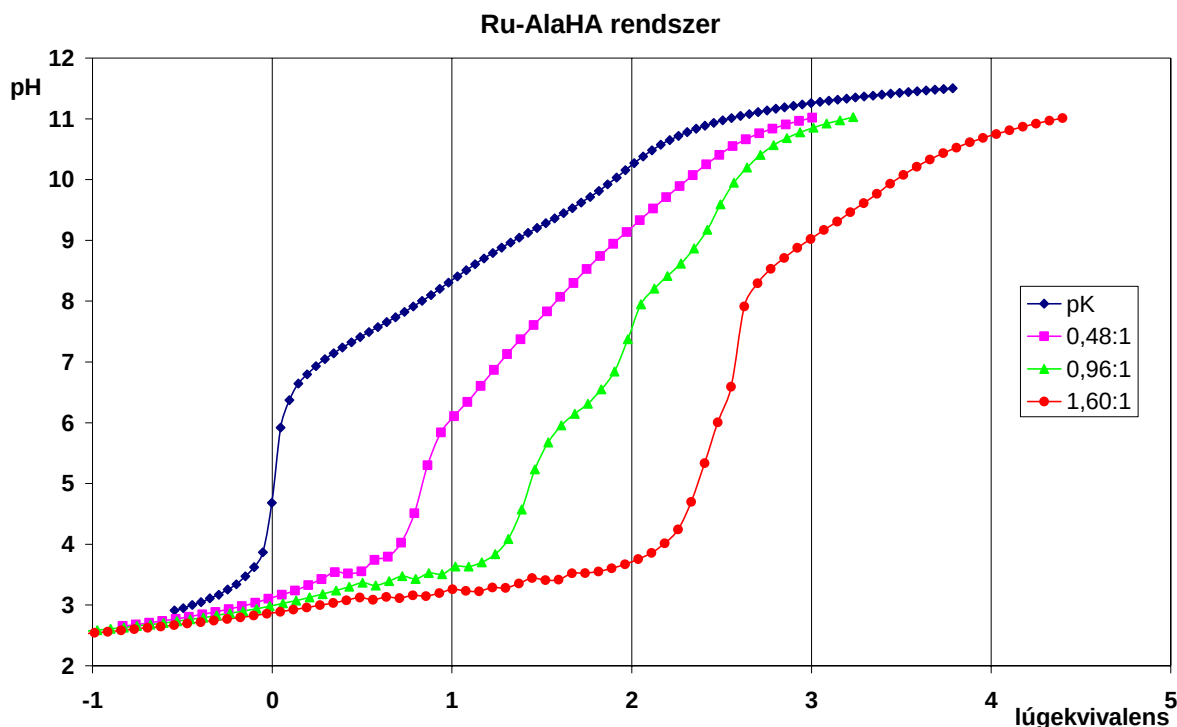
A spektrumon a fémionhoz kapcsolódó aromás ligandum jeleit láthatjuk, amelyeket felhasználhatunk a komplexképződés tanulmányozására. 1,3 ppm-nél az izopropil metilek hat hidrogénjéhez tartozó jelet láthatjuk, amelyek egy dublettet adnak. Az aromás gyűrűn lévő metilcsoport 2,2 ppm-nél ad egy szinglettet. Az izopropil metin hidrogénjéhez rendelhető multipliett pedig 2,9 ppm-nél jelenik meg. A gyűrűhidrogének jelei az 5,5 és 6 ppm közötti aromás tartományban láthatók, két dublett formájában.

5.3 Vizsgálatok oldatfázisban

5.3.1 A ligandum protonálódási folyamatai

A pH-potenciometriás vizsgálatok keretében először meghatároztuk az α -alaninhidroxámsav (a továbbiakban α -alaha) protonálódási állandóit. Ezen állandók már ismertek az irodalomból, de az előállított ligandum tisztaságának vizsgálatához (lásd: 5.1 fejezet) és a készített ligandum törzsoldat pontos koncentrációjának meghatározásához mi is meghatároztuk az értéküket. A pH-potenciometriás mérések során kapott titrálási görbéket a

17. ábrán láthatjuk. Az ábrán a „pK” jelzésű görbe jelöli a csak ligandumot tartalmazó minta titrálási görbáját, míg a többi görbe a fémes rendszerekhez tartozik. A diagram jobb oldalán látható jelmagyarázatban az egyes fémion-ligandum arányok vannak feltüntetve.



17. ábra: a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszer titrálási görbéi

Az α -alaha titrálási görbájén pH = 5-ig a hozzáadott erős sav fogy el. A görbe további szakaszán látható, hogy a vizsgált ligandum pH = 7 és 10 között átfedő folyamatokban deprotonálódik, amikor is a ligandum protonált formája (melyben az aminos csoport ammóniumcsoporthént van jelen) két protont veszít. Az irodalmi adatok szerint a két funkciós csoport közül az ammóniumcsoport valamelyest savasabb.¹ Az általunk meghatározott protonálódási állandókat az 1. táblázatban tüntettem fel, az értékek jó egyezést mutatnak az irodalmi értékekkel.

5.3.2 A fémes rendszerek jellemzése

A fémes rendszerek titrálása során azt tapasztaltuk, hogy a rendszerben hosszabb idő alatt sem áll be az egyensúly, a titrálás némely szakaszán (leginkább pH = 3 és 6 között) a pH nem állapodik meg. Ez a 17. ábrán a fémes rendszerek titrálási görbéin is megfigyelhető. A titrálásokat pH egyensúly eléréséig végeztük, és általában 15 percet adtunk meg maximális várakozási időként. Mivel ez nem volt elegendő az egyensúly beálltához, ezért végeztünk egy mérést 30 perces maximális várakozási idővel is, kétszeresére növelve a lépésenként

hozzáadott lóg térfogatát (tehát felére véve a pontok számát). Azonban azt tapasztaltuk, hogy ez az időtartam is kevés, így maradtunk az eredeti értéknél. A dolgozathoz használt mérések 15 perces maximális várakozási idővel készültek. Ezen okokból kifolyólag az általunk meghatározott stabilitási állandók csak közelítő értékűek.

Az 1:1 fémion-ligandum arány mellett mért titrálási görbét megfigyelve (17. ábra) pH = 5 körül látható az első ugrás, mely közelítőleg 1,5 ekvivalens lógfogyásnál következik be. Ez a tört szám egy többmagvú komplex képződését valószínűsíti. Ezután a görbén egy újabb lógfogyasztó folyamat látható, mely pH = 7,5 körül fejeződik be, és összesen két ekvivalens sav felszabadulásával jár. Ez egymagvú komplex jelenlétére enged következtetni.

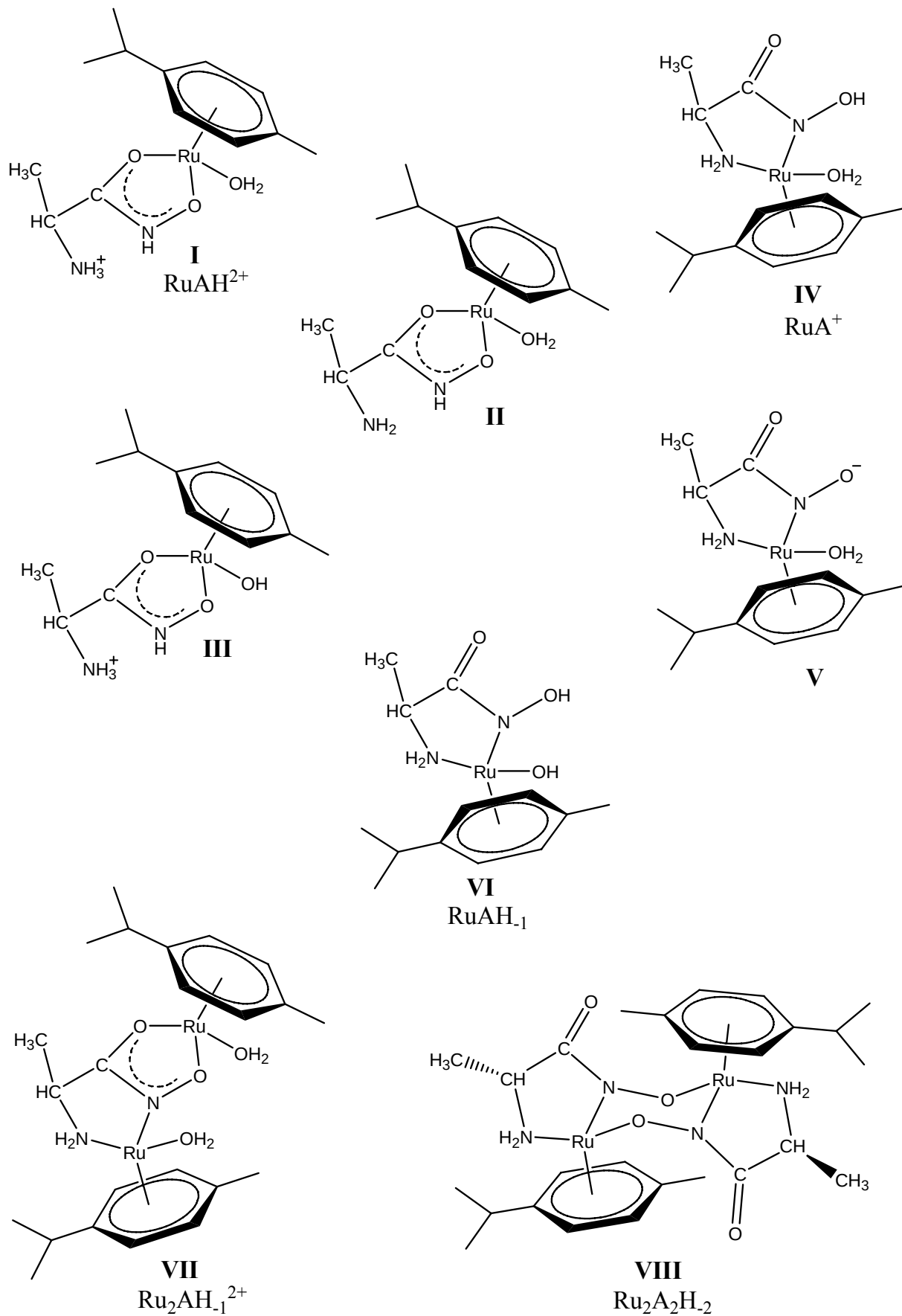
A fémfelesleges minta esetében (1,6:1) hasonló folyamatok láthatók. Az első ugrás 2,4 lóg ekvivalensnél következik be, ez pedig ugyanolyan arányt ad, mint az 1:1 görbénél a 1,5 lóg ekvivalenses ugrás.

Az oldatban jelenlévő részecskékre különböző szerkezeteket feltételeztünk, stabilitási állandóikat pedig a PSEQUAD programmal próbáltuk számítani. A számítások és az egyéb módszerekkel (leginkább az ESI-MS -el) végzett vizsgálatok alapján végül két modellt feltételeztünk a jelenlévő részecskék szerkezetét és előfordulásuk pH-függését illetően. A két modell gyakorlatilag ugyanolyan jó illeszkedést ad. A hozzájuk tartozó részecskék összetételét, számított stabilitási állandóit, hibáit, valamint az illesztési paraméter értékét az 1. táblázatban foglaltam össze. A 18. ábrán pedig a számítások alapján a rendszerben jelen lévő komplexek lehetséges szerkezeteit tüntettem fel, az általunk valószínűsített komplexeket az 1. táblázatban használt képletükkel jelölve és a töltésüket is megadva.

1. táblázat: $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -aloha rendszerben jelen lévő részecskék adatai

$\text{Ru} = [\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cimol})]^{2+}$, A = deprotonált ligandum

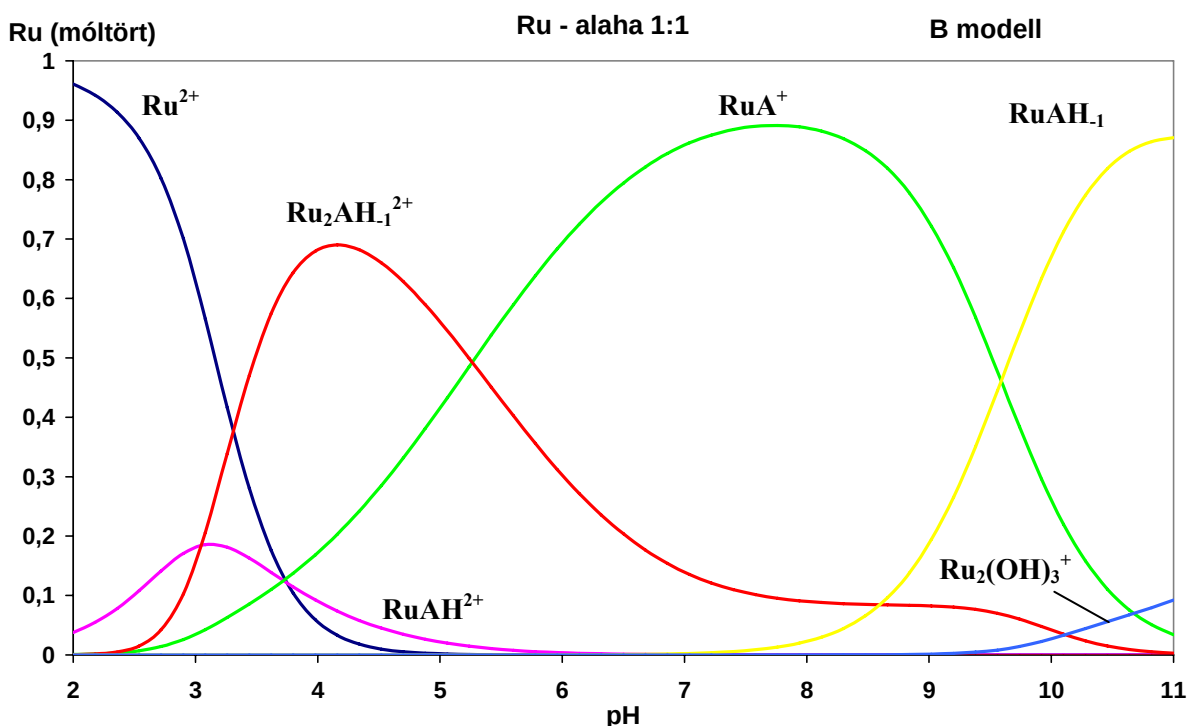
részecske	logK	
HA	9,19 (1)	
H ₂ A	7,36 (1)	
-	log β – A modell	log β – B modell
RuAH ²⁺	15,85 (9)	15,86 (7)
RuA ⁺	12,14 (11)	12,14 (10)
RuAH ₁	-	2,55 (9)
Ru ₂ AH ₁ ²⁺	12,38 (4)	12,39 (4)
Ru ₂ A ₂ H ₂	7,7 (2)	-
pK _{RuAH}	3,71	3,72
pK _{RuA}	-	9,59
illesztés	0,0269	0,0238
pontok száma	194	194



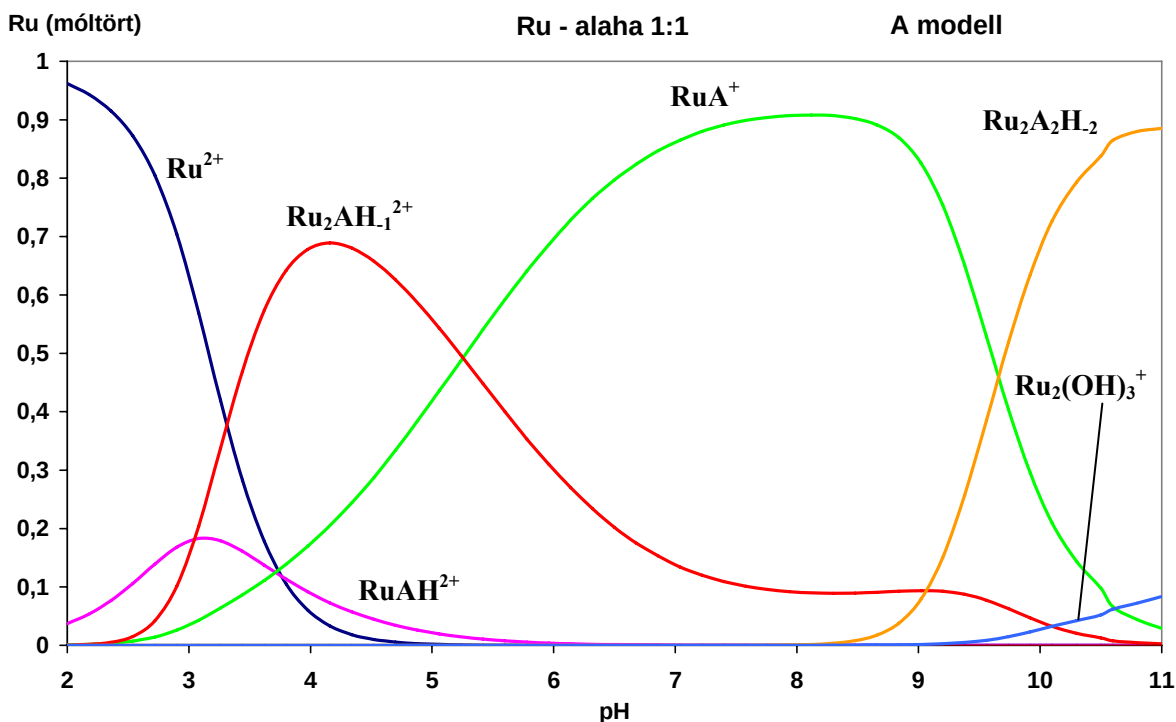
18. ábra: a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszerben jelen lévő részecskék lehetséges oldatszerkezetei

Az 1. táblázatban az első két sorban a ligandum protonálódási állandói láthatók. A komplexek stabilitási állandói mögötti zárójelben az állandók 3σ standard deviáció értékei szerepelnek. A vizsgálatok alapján lehetséges kétféle modellt „A” és „B” modell néven jelöltem.

A 19. ábrán a rendszer számított koncentráció eloszlási görbéi láthatóak 1:1 fémion-ligandum aránynál a „B” modell szerint, míg a 20. ábrán az „A” modell szerinti eloszlást láthatjuk. Látható, hogy a két eloszlás gyakorlatilag teljesen ugyanúgy néz ki, csak az „A” modell esetében a lúgos tartományban meghatározó részecske a $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2$ összetételű komplex. A két modellt összevetve a kétféle részecske között csak annyi különbség van, hogy a RuAH_{-1} egy pH-egységgel korábban kezd képződni és a mennyisége valamivel lassabban nő, mint a $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2$ részecskéé. pH = 9,5-re azonban már szinte azonos mennyiségben vannak jelen, és pH = 11-nél ugyanúgy a fémion szinte teljes mennyiségét kötik.



19. ábra: A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszer számított koncentráció eloszlási görbéi. 1:1 fémion-ligandum arány; „B” modell.



20. ábra: A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszer számított koncentráció eloszlási görbéi. 1:1 fémion-ligandum arány; „A” modell.

A titrálási és a koncentráció eloszlási görbéken látható, hogy a komplexképződés már $\text{pH} = 2$ felett elkezdődik a szabad fémion mennyiségének csökkenésével párhuzamosan. A rendszerben elsőként kialakuló részecske a RuAH összetételű komplex (18. ábra, **I** szerkezet). A RuAH részecske egyetlen lehetséges formája a feltüntetett szerkezet, melyben a fémion két koordinációs helyét a ligandum hidroxamátcsoportjának oxigénjei foglalják el öttagú (O,O) kelátot kialakítva. Az α -helyzetű aminocsoport ekkor még protonált formában van jelen és nem vesz részt a komplexképződésben. A ligandum hidroxamát nitrogénje mindenképpen deprotonálódik ha (N,N) kelát kialakításában vesz részt, mivel a nemkötő elektrópárja részt vesz a hidroxámsavcsoporton belüli töltésdelokalizációban. Ennek következtében a RuAH összetétel nem valósulhat meg (N,N) kelátot tartalmazó egymagvú komplex formájában. A RuAH gyors deprotonálódásával, már $\text{pH} = 4$ alatt képződő RuA összetételű részecske esetében már többféle lehetséges szerkezet is elképzelhető. Az első lehetőség a nem koordinálódó ammóniumcsoport deprotonálódása (18. ábra, **II** szerkezet). A folyamathoz tartozó pK_{RuAH} érték (3,7) azonban túl alacsony egy szabadon deprotonálódó ammóniumcsoportéhoz, hiszen a ligandum titrálása során erre $\text{pH} = 7$ körül kerül sor. Egy másik lehetőség, hogy a fémionhoz koordinált vízmolekula veszít protont (**III** szerkezet), de a mért pK érték ezt sem támasztja alá, ilyen kis pH -n deprotonálódó víz ligandum ugyanis nem ismert az irodalomból. Ezen okokból kifolyólag a közvetlen $\text{RuAH} \rightarrow \text{RuA}$ átalakulás egyetlen lehetséges módja az (N,N) kelátra való szerkezeti átrendeződés, melynek során az

ammóniumcsoport fémion által kikényszerített deprotonálódására és így öttagú (N,N) kelát kialakulására kerül sor. Az átrendeződés során a hidroxamát nitrogénről a proton a mellette lévő oxigénre kerül, így kialakul a RuA összetételű komplex (18. ábra, **IV** szerkezet). A koncentráció eloszlási görbéken látható, hogy a RuA pH = 7 felett alakul ki teljesen. Ezt az 1:1 arányú titrálási görbe is megerősíti, amelyen a második lúgfogyasztó folyamat pH = 7,5-nél ér véget, amikor két ekvivalens sav szabadult fel a ligandumról a komplexképződés hatására. A RuA képződésével párhuzamosan a Ru₂AH₁ kétmagvú komplex is megjelenik (**VII** szerkezet). pH = 3-ra még csak a RuAH képződik, de láthatóan csak mérsékelt mennyiségben, tehát még sok a szabad fémion a rendszerben. A pH növekedésével a ligandum molekulák elkezdnek deprotonálódni, kezd előtérbe kerülni a komplexképződés. Ekkor a sok fémion a még kisszámú rendelkezésre álló ligandum molekulával képez komplexet, így kialakul a kétmagvú Ru₂AH₁. A képződését alátámasztják az 1:1 és 2:1 titrálási görbéken látható első ugrások. Ezek az említett tört lúgekvivalens értékek megfelelnek két fém által leszorított három protonnak, így megerősítik a kétmagvú komplex jelenlétét. A pH további növelésével, és így a ligandum molekulák deprotonálódásával a Ru₂AH₁ átadja a helyét az egymagvú RuA-nak. A várakozásnak megfelelően a számítások azt mutatják, hogy a fémelesleges minta esetében a kétmagvú komplex jóval tovább van jelen, és kb. pH = 6-ig meghatározó részecskéje a rendszernek.

A RuAH → RuA átalakulás tehát a közvetlen szerkezeti átrendeződés mellett a kétmagvú Ru₂AH₁-en, mint köztiterméken keresztül is végbemehet. Ezt látszik alátámasztani az, hogy 1:1 aránynál a kétmagvú komplex láthatóan csak a köztes pH-kon van jelen. Képződése azonban egy időben kezdődik a RuA képződésével, így az átalakulás valószínűleg mindkét módon végbemegy. Továbbá a szerkezeti átrendeződés legalább részben magyarázatot adhat a pH = 3 és 6 között tapasztalt lassú kinetikára is.

A koncentráció eloszlási görbén jól látható, hogy 1:1 fémion-ligandum aránynál az egymagvú RuA a rendszer meghatározó részecskéje. A kialakulása már pH = 3 alatt elkezdődik, és pH = 6,5 és 9 között egymagában jelenti a fémion szinte teljes speciációját. Ebből arra következtethetünk, hogy a félszendvics Ru(II) ezen ligandum esetében stabilabban kötődik a nitrogén donoratomokat tartalmazó kelátban. A Ru(II) soft karakterét figyelembe véve ez nem számít meglepő eredménynek. A RuA a továbbiakban azért is jelentős lehet, mert a fiziológiás pH-n (pH = 7,4) meghatározó részecske.

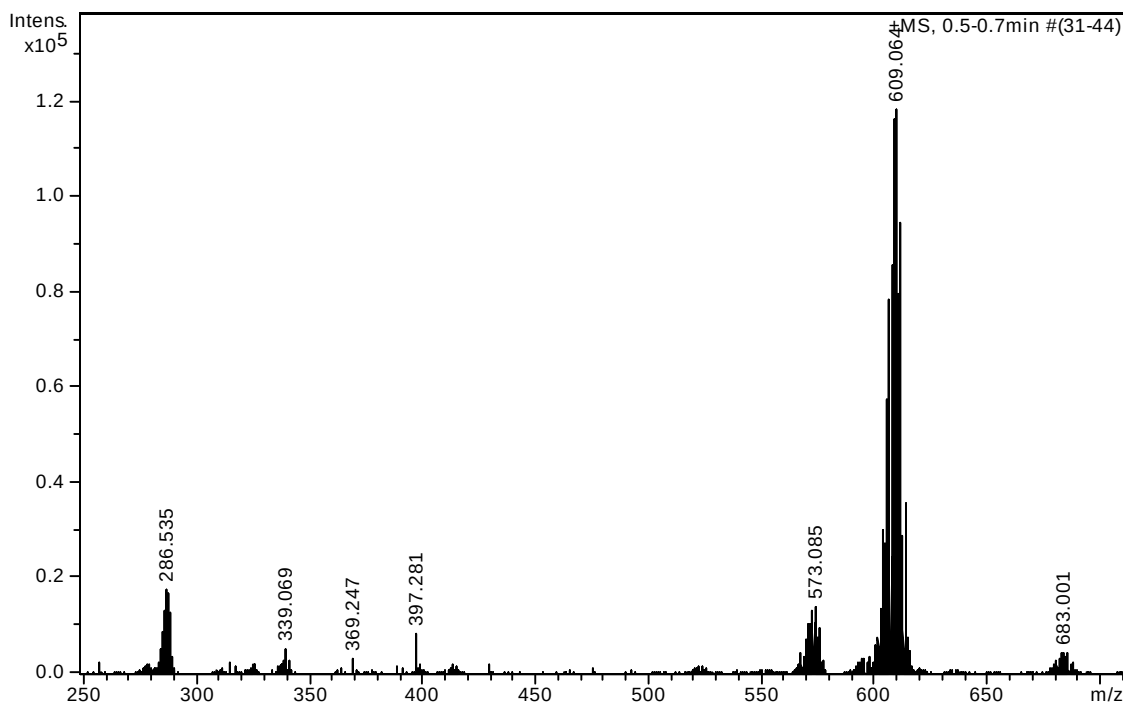
A pH értékét 9 fölé emelve azonban RuA is deprotonálódik, és innentől a rendszer kétféle modellel is leírható. A „B” modell szerint a RuA-ban koordinált vízmolekula deprotonálódásával kialakul a RuAH₁ (**VI** szerkezet). Egy másik lehetőség lehet erre az összetételre, hogy a RuA hidroxilcsoportja deprotonálódik (**V** szerkezet). A Ru(II) eddigi rendszerei esetén azonban a komplexekben a fémion fennmaradó koordinációs helyén lévő

vízmolekulák mindig deprotonálódtak a pH növelésével,²⁰ ez tehát most is feltételezhető. Ha pedig előbb a hidroxamát –OH deprotonálódása történne meg, akkor –mivel azt még a víz protonvesztése is követné– a rendszerben RuAH₂ összetételű részecske is jelen kellene, hogy legyen. Azonban a számítások ilyen részecske jelenlétét egyáltalán nem valószínűsítik.

Az „A” modell szerint a RuA a deprotonálódásával egy időben dimerizálódik is, melynek eredményeképpen kialakul a Ru₂A₂H₂ összetételű, dimer szerkezetű részecske (VIII szerkezet). Ebben a két, öttagú (N,N) kelátot tartalmazó komplexben a ligandumok szabad hidroxamát-oxigénje beköt egy másik komplex fémionjának harmadik koordinációs helyére. Az így kialakuló részecskében tehát a két alkotó komplex molekulát két oxigénhid köti össze. A szimmetrikus szerkezet egy két oxigénből, két nitrogénből és a két fémionból álló hattagú gyűrűt tartalmaz, melyhez két oldalról kapcsolódnak az öttagú (N,N) kelát gyűrűk. Ez az elrendeződés elegendő helyet hagy a fémionok aromás ligandumainak is a szerkezet átellenes oldalain. A szerkezetet molekulamodellező készlettel is ki tudtuk rakni. Ez a dimer szerkezetű komplex (akárcsak a RuAH₁) semleges töltésű.

Összességében elmondható, hogy a ligandum nagyon jól köti a fémiont szinte a teljes vizsgált pH-tartományban. A 19. és 20. ábrán látható, hogy a fémion hidrolízise során képződő trihidroxo hidas dimer ([{Ru(η⁶-*p*-cimol)}₂(OH)₃]⁺) mennyisége még pH = 11-nél is 10% alatt marad. A kétféle modellel kapcsolatban meg kell jegyezni azonban, hogy a pH-metria nem tud különbséget tenni azon részecskék között, melyeknek képlete felírható egymás többszöröseként (jelen esetben ez áll fent). A program nem tudott egyszerre mindkét részecskével számolni. Az is lehet, hogy a rendszerben az „A” és a „B” modell is megvalósul. A dimer jelenlétére leginkább az alább ismertetésre kerülő ESI-MS adatok utalnak.

Az ESI-TOF-MS mérések során sikerült a fent ismertetett pH-metriás modellben szereplő komplexeket beazonosítanunk. Az m/z értékek mellett a mért izotópeloszlások szimulálttal való összevetése bizonyította az egymagvú komplexek, a Ru₂AH₁, és a Ru₂A₂H₂ dimer jelenlétét. A 21. ábrán egy 1:1 aránynál felvett tömegspektrumot mutatok be, a 22. ábrán pedig egy mért izotópeloszlás szimulálttal való összehasonlítását láthatjuk. Az azonosított komplexek mért és szimulált m/z értékeit a 2. táblázat tartalmazza.



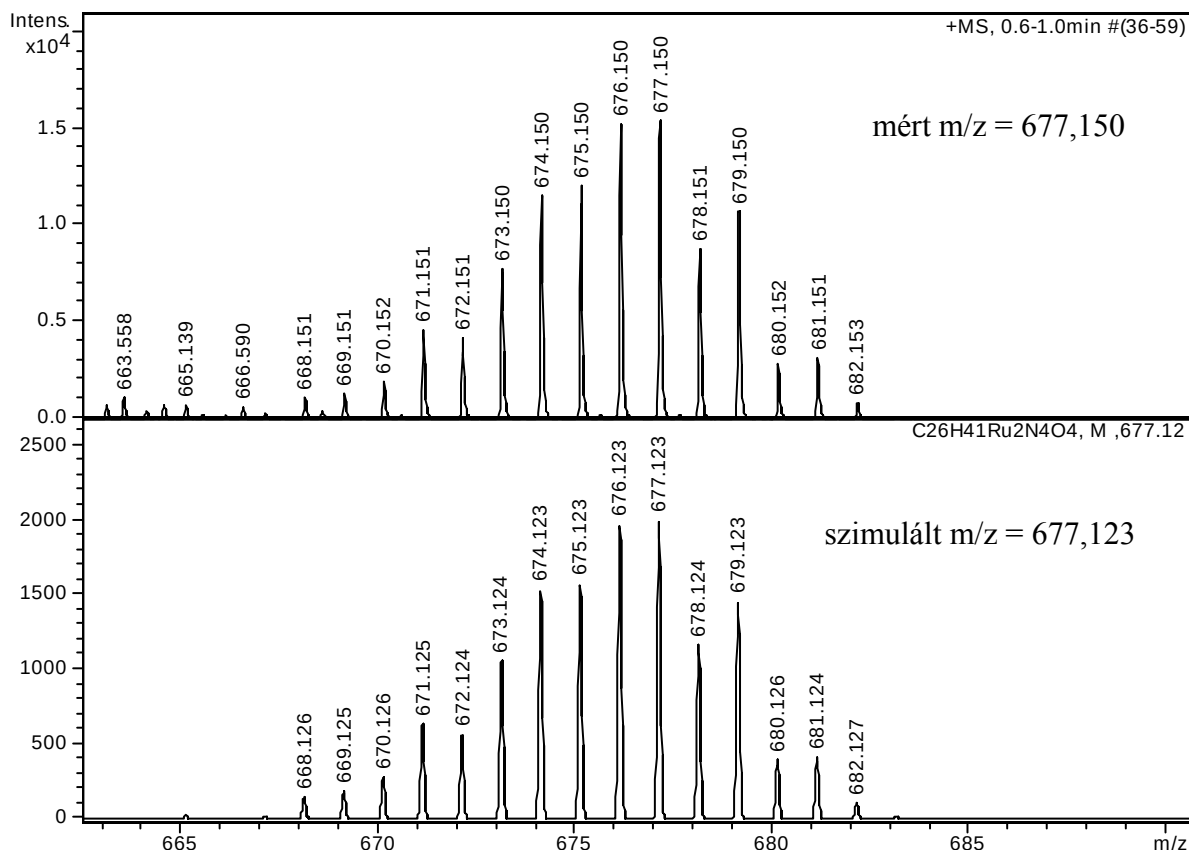
21. ábra: A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszer ESI-MS spektruma. 1:1 fémion-ligandum arány, pH = 4,60.

A spektrumon a 609-es, legintenzívebb jelet a $\text{Ru}_2\text{AH}_{-1}$ adja, mely egyszeresen pozitív töltésű ionként repül az MS körülmények között. A másik két, intenzívebb jel ($m/z = 573$ és $286,5$) is ettől a részecskétől származik: a kétmagvú komplexről mindkét vízmolekula leszakadásával létrejövő részecske egyszeres ($m/z = 573$), és kétszeres töltésű ionja.

2. táblázat: A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszerben azonosított komplexek mért és szimulált ESI-MS m/z értékei

részecske	mért m/z	szimulált m/z
$[\text{Ru}_2\text{AH}_{-1}\text{-H}]^+$	609,062	609,085
$[\text{RuA-H}_2\text{O}]^+$	339,069	339,064
$[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2\text{+H}]^+$	677,150	677,123

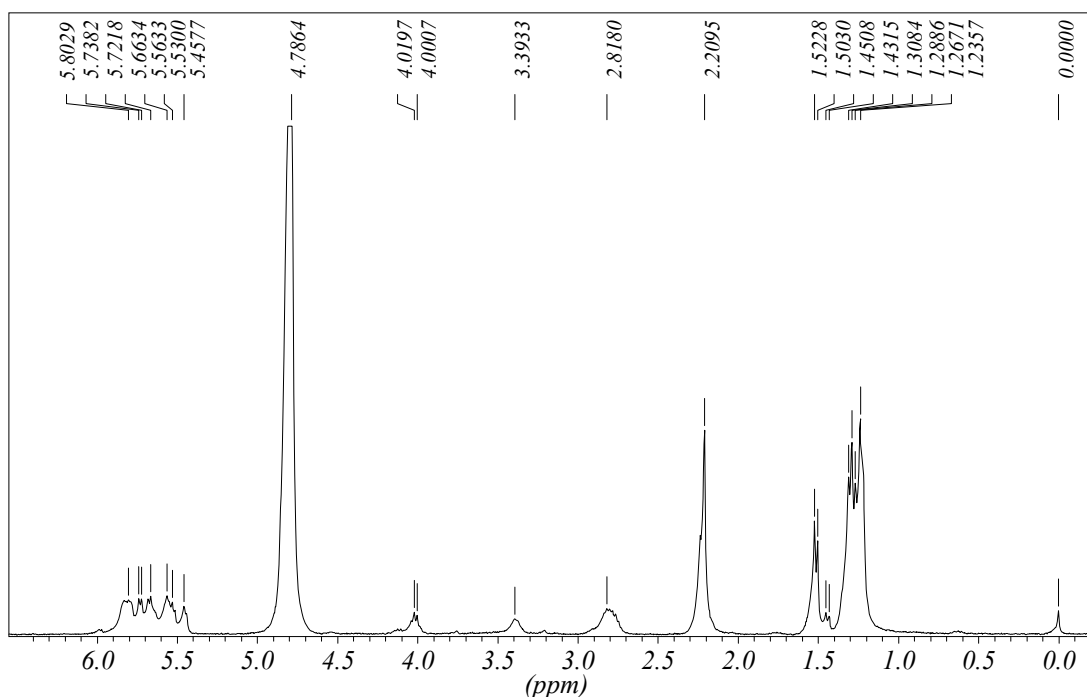
A tömegspektrumok alapján az egymagvú komplexek között nem lehetett különbséget tenni. Összetételükben csak egy protonban különböznek egymástól, és a nagyon hasonló veszteségek folytán mindegyik az $m/z = 339$ -es, egyszeres töltésű ionként jelentkezik a spektrumokban.



22. ábra: A $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2$ összetételű komplex mért és szimulált molekulaion-tartománya. 1:1 fémion-ligandum arány, pH = 9,50.

A 22. ábrán látható, hogy a $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2$ dimer szerkezetű komplex mért izotópeloszlása megegyezik a szimulálttal. Ez az egyezés a többi általunk feltételezett részecske esetében is fennáll, tehát biztosak lehetünk az asszignációkban.

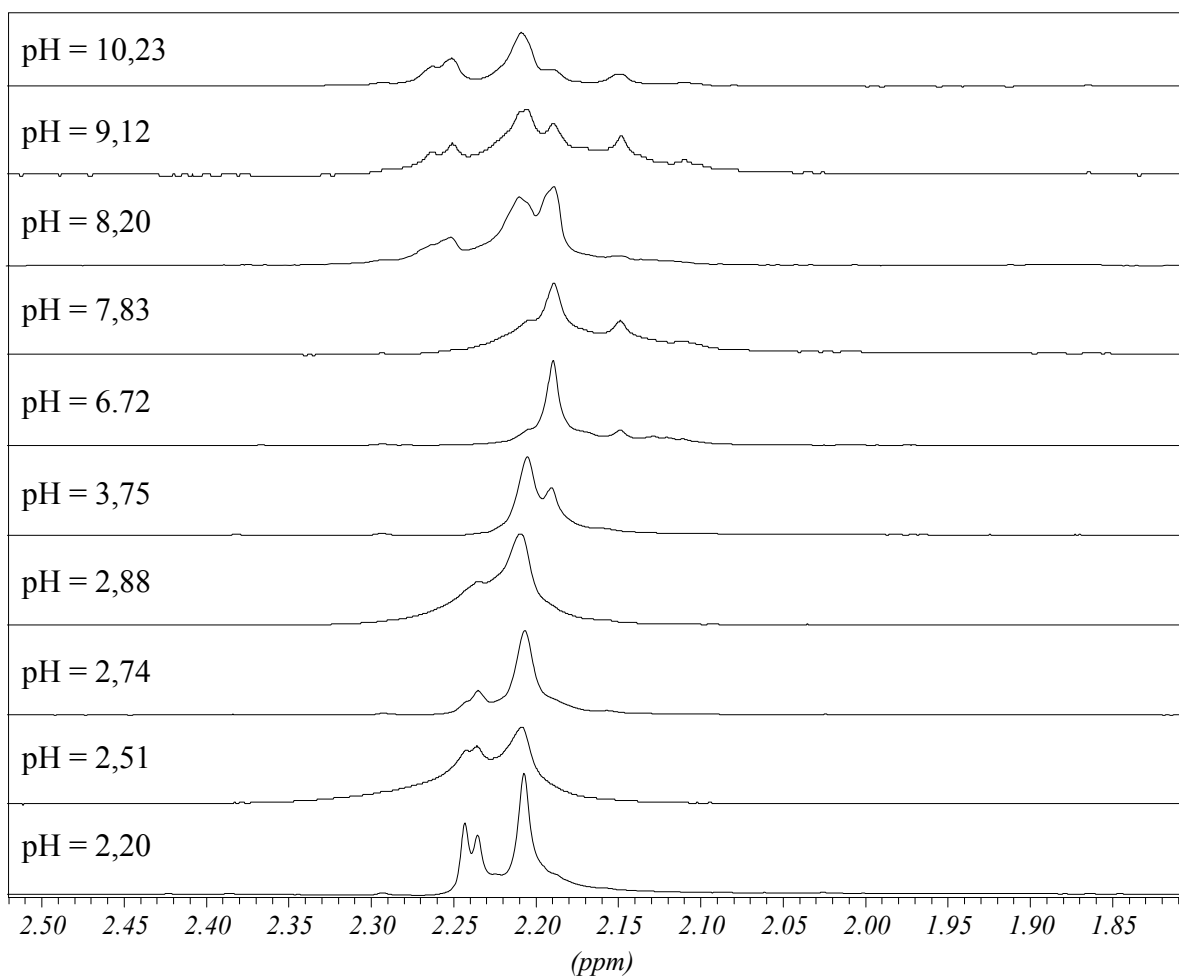
Az eddig ismertetett vizsgálatokon kívül ^1H -NMR módszerrel is tanulmányoztuk a komplexképződést. A félszendvics $\text{Ru}(\text{II})$ esetében az aromás ligandum jeleinek köszönhetően a komplexképződés részletesen tanulmányozható ezzel a módszerrel. A különböző komplexek kismértékben eltérő kémiai környezetet jelentenek az aromás *p*-cimol protonjaira nézve, így annak egy adott jeléből annyit láthatunk a spektrumban, ahány féle részecske jelen van az adott körülmények között. Mindez a ligandum molekula (α -alaha) jeleire is igaz. Az NMR mérések során először a szabad ligandum (α -alaha) protonálódási folyamatait tanulmányoztuk, melynek során azt tapasztaltuk, hogy a jelei a pH növelésével folyamatosan tolódnak a nagyobb térerő felé. Az egyes protonált és deprotonált formák között fennálló gyors cserefolyamatok miatt mindegyik pH-n csak a 4.3 fejezetben ismertetett két jelet láthattuk. A komplexképződés vizsgálatában azonban az aromás *p*-cimol jelei voltak informatívabbak. Ezen jelek spektrumbeli helye már jól ismert a kutatócsoportban folytatott előzetes vizsgálatok alapján (lásd: 16. ábra). A 23. ábrán egy 1:1 fémion-ligandum arányú minta ^1H -NMR spektrumát mutatom be.



23. ábra: A $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ - α -alaha rendszer ^1H -NMR spektruma. 1:1 fémion-ligandum arány; pH = 2,88.

A 23. ábrán látható spektrumot a 16. ábrán láthatóval összehasonlítva láthatjuk, hogy a fémiont és ligandumot is tartalmazó minták NMR spektruma meglehetősen összetett jeleket tartalmaz. Az egyes komplexekhez rendelhető cimol jelek közti kis eltolódás-különbség miatt a kapott jelek nehezen értelmezhetők.

A komplexképződést általában a gyűrűhidrogének aromás jelein és a gyűrűmetil szinglettjén keresztül a legegyszerűbb nyomon követni. A 24. ábrán az aromás gyűrűhöz kapcsolódó metilcsoport szinglettjét láthatjuk, különböző pH-kon, 1:1 fémion-ligandum arány mellett.



24. ábra: A fémion aromás gyűrűjéhez kapcsolódó metilcsoport ^1H -NMR-jele. 1:1 fémion-ligandum arány.

Ez a metilcsoport szinglettet ad, így egy adott pH-n a jelenlévő részecskék száma megegyezik a jelek számával. A fémion hidrolízisét és kloridionnal való kölcsönhatását vizsgáló legutóbbi tanszéki tanulmányban meghatározták az egyes akva-, kloro- és hidroxokomplexek pontos kémiai eltolódásait.¹⁹ Ezen értékeket alapul véve könnyebben elemezhetjük a rendszert a legsavasabb pH-ról indulva. Itt a $\delta = 2,24$ ppm-nél látható jel a szabad fémionhoz rendelhető, ez a spektrumban a három intenzív jel közül a bal szélső (24. ábra). A $\delta = 2,21$ ppm jel szintén jól ismert, ennél a fémionban az egyik vízmolekulát (a kloridmentesítés ellenére jelen lévő) kloridion helyettesíti. A koncentráció eloszlási görbéken az látszik, hogy ilyen savas közegben még csak a RuAH van jelen a szabad fémion mellett, így a harmadik intenzívebb jel valószínűleg ehhez a komplexhez rendelhető.

Az eddig említett részecskék pH = 3,7-re láthatóan elfogynak. Itt az eloszlási görbék alapján a $\text{Ru}_2\text{AH}_{-1}$ a meghatározó részecske, tehát a legintenzívebb jel várhatóan hozzá tartozik. pH = 6,7-re a stabil RuA válik uralkodóvá, az ezen a pH-n látható egyetlen intenzív jel minden bizonnyal ehhez a komplexhez rendelhető. A RuA jele a további spektrumok mindegyikében

látható, ez jó egyezést mutat a számított koncentráció eloszlással. Emellett látható, hogy a $\text{Ru}_2\text{AH}_{1.1}$ alárendelt szerepben ugyan, de jelen van a RuA mellett a pH = 7,8-es mintáig. Ez szintén alátámasztja a számításainkat. (Ugyanakkor ezen részecske jelenlétének nyomon követésére előnyös lenne további spektrumok felvétele a pH = 3,7 és 6,7 közötti tartományban.) A pH = 8 felett felvett spektrumok már nehezebben elemezhetők. Láthatóan több részecske jelenik meg az általunk feltételezetténél, ezt azonban a lassú kinetika is okozhatja. Ha ugyanis lassú a komplexek közti ligandumcsere reakció, akkor a kötési izomerek is külön jelet adnak. A lúgos tartományban felvett spektrumok értelmezése tehát még további vizsgálatokat igényel, az itt megjelenő jelek közül csak a RuA csökkenő intenzitású jele azonosítható egyértelműen. A fémion hidrolízise során képződő $[\{\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\}_2(\text{OH})_3]^+$ jele 2,08 ppm-nél jelenik meg, de a spektrumokban láthatóan nem látszik ilyen jel, vagyis a fémion hidrolízise nem játszódik le.

Összességében tehát elmondhatjuk, hogy a ^1H -NMR mérések a spektrumok legvalószínűbb értelmezése szerint alátámasztják a pH-metriás méréseken alapuló koncentráció eloszlást. A komplexek mért kémiai eltolódásait a 3. táblázatban foglaltam össze.

3. táblázat: A RuAH , $\text{Ru}_2\text{AH}_{1.1}$ és a RuA komplexek mért kémiai eltolódásai a p -cimol gyűrűmetil csoportjának jelében. Referencia: TSP ($\delta = 0,00$ ppm).

részecske	δ (ppm)
RuAH^{2+}	2,24
$\text{Ru}_2\text{AH}_{1.1}^{2+}$	2,21
RuA^+	2,19

6. Összefoglalás

A dolgozat keretében a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ félszendvics Ru(II) kation α -alaninhidroxámsavval való kölcsönhatását vizsgáltuk pH-potenciometriás, ESI-TOF-MS és ^1H -NMR módszerek segítségével. A félszendvics Ru(II) kationokat az utóbbi időben mint potenciális rákellenes szereket tartják számon, emellett ismert egyes hidroxámsavak daganatellenes hatása is. A Tanszéken eddig előállított ruténium-hidroxamát komplexek nem mutattak biológiai aktivitást, így most a hidroxámsavak származékaival, az aminohidroxámsavakkal kezdtünk vizsgálatokat. A vizsgálatokhoz használt ligandumot magunk állítottuk elő a megfelelő aminosavból kiindulva a klasszikus hidroxámsav szintézissel. A pH-potenciometriás eredmények szerint a komplexképződés már $\text{pH} = 2,0$ körül megindul, az ekkor jelenlévő részecske az (O,O) kelátot tartalmazó egymagvú RuAH , amely azonban maximális koncentrációját elérve is csak a fémion 20%-át köti. A pH-t 3,0 fölé emelve átveszi a helyét a kétmagvú $\text{Ru}_2\text{AH}_{-1}$, és a stabil egymagvú RuA . A $\text{Ru}_2\text{AH}_{-1}$ szintén egy stabil komplex, mely 1:1 fémion-ligandum aránynál $\text{pH} = 4$ körül (fémfelesleg esetén azonban jóval szélesebb pH-tartományban) a legnagyobb mennyiségben jelen lévő részecske. Az öttagú (N,N) kelátot tartalmazó RuA 1:1 fémion-ligandum aránynál a rendszer meghatározó részecskéje, mely $\text{pH} = 6,5$ és 9 között (így a fiziológiás pH-n is) szinte egyedüli részecskeként van jelen. $\text{pH} = 9$ felett a „B” modell szerint a RuAH_{-1} képződése közben deprotonálódik, az „A” modell szerint viszont a deprotonálódással egy időben dimerizálódik is a $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-2}$ dimer szerkezetű részecske képződése közben. Az ESI-MS mérések megerősítették a pH-metriás modellben szereplő részecskék jelenlétét, és jelenleg a legfőbb bizonyítékot jelentik a $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-2}$ dimer jelenlétére. Az NMR mérések során a különböző pH-n felvett spektrumok $\text{pH} = 8$ -ig alátámasztják pH-metriás mérések alapján kapott koncentráció eloszlást. Az ennél nagyobb pH-n felvett spektrumok értelmezése azonban további vizsgálatokat igényel.

Az eredményeket összefoglalva tehát elmondhatjuk, hogy az α -alaninhidroxámsav igen jó komplexképző liganduma ennek a fémionnak. A teljes vizsgált pH-tartományban komplexképződés jellemzi a rendszert, melynek meghatározó részecskéje, a RuA , a 7,4-es fiziológiás pH-n a fémion közel 90%-át köti 1:1 fémion-ligandum arány mellett. A ligandum emellett képes lúgos közegben is komplexben tartani a ruténiumionot. A fémion hidrolízise során képződő hidroxokomplex mennyisége $\text{pH} = 11$ -nél kevesebb, mint 10%. A modellszelekciót illetően a rendelkezésre álló adatok alapján nem tudunk egyértelműen dönteni az „A” és „B” modell között. A lúgos közegben végbemenő folyamatok pontos tisztázására további vizsgálatokat tervezünk.

7. Summary

In recent times half-sandwich ruthenium(II) cations are known to be potential anticancer drugs. Furthermore, it is known that some hydroxamic acids are antiproliferative agents. Lately in the University of Debrecen, at the Department of Inorganic and Analytical Chemistry half-sandwich ruthenium(II)-hydroxamate complexes have been prepared and studied. It turned out however that these compounds show no antiproliferative activity against model cancer cell lines in vitro. Therefore we now study the complex formation with the derivatives of the hydroxamic acids, the aminohydroxamic acids. In this study our scope was to explore the interaction between the half-sandwich ruthenium(II) cation $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ ($p\text{-cymene}$ = 1-methyl-4-isopropyl benzene) and α -alaninehydroxamic acid, by the means of pH-potentiometry, ESI-TOF-MS and ^1H -NMR. The ligand was prepared with the classic hydroxamic acid synthesis from the corresponding amino acid. According to the pH-metric results the complex formation already starts at $\text{pH} = 2,0$, with the formation of the mononuclear RuAH , which contains a five-membered (O,O) chelate. This complex is a minor structure, and with increasing pH it transforms to complexes containing five-membered (N,N) chelate. The first one is the dinuclear $\text{Ru}_2\text{AH}_{1,1}$ which contains (O,O) and (N,N) chelate simultaneously. The other complex is the stable RuA which becomes the major structure with the deprotonation of ligand molecules. At 1:1 metal/ligand ratio it is the major complex of the system which contains almost 90% of the total metal quantity at the physiological pH ($\text{pH} = 7,4$). This result indicates that in this system the metal ion prefers the (N,N) chelate. At alkaline conditions finally the RuA deprotonates too. For this process we could define two different way. The first is the model „B” in which the deprotonation lead to the $\text{RuAH}_{1,1}$, while according to the model „A”, deprotonation and dimerisation occurs simultaneously, which results in the dimeric $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2$ complex. But in both models it is clear that this ligand is able to prevent the hydrolysis of the metal ion at alkaline pH values. The quantity of the hydrolysis product is only 10% at $\text{pH} = 11$. We could detect these complexes with ESI-MS too. The measured m/z values and the isotope patterns fit well with the simulated spectra, and now these results are the main evidence for the formation of the dimeric $\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_2$ complex. We studied the system with ^1H -NMR at different pH values. In the spectra we detect the previously known aqua- and aqua-chloro species of the metal ion at acidic pH (at 1:1 metal/ligand ratio), and we could not detect the hydrolysis product hydroxo complex even at $\text{pH} = 10$. Furthermore, the measured spectra fit well with the calculated concentration distribution, suggesting that pH-metric results are correct. For a clearer picture about the processes occur at alkaline conditions we are planning further investigations.

Irodalomjegyzék

1. Bátka Dávid, PhD értekezés, Debreceni Egyetem 2007
2. Enyedy Éva Anna, PhD értekezés, Debreceni Egyetem 2002
3. A. L. Crumbliss, in CRC Handbook of Microbial Iron Chelates, Ed.: G. Winkellmann, CRC, Boca Raton, FL. (1991)
4. E. Farkas, E. Kozma, M. Pethő, K.M. Herlihy and G. Micera, *Polyhedron*, **17** (1998) 3331
5. G. Schwarzenbach and K. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, **154** (1963) 1390
6. G. Anderegg, F. L. 'Eplattenier and G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, **154** (1963) 1400
7. G. Anderegg, F. L. 'Eplattenier and G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, **154** (1963) 1409
8. Bíró Linda, Diplomamunka, Debreceni Egyetem 2009
9. A. H. Blatt in Organic Synthesis Collection, Wiley, New York (1943) vol. 2.
10. E. Farkas, E. Kozma, T. Kiss, I. Tóth and B. Kurzak, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1995) 477
11. B. Kurzak, H. Kozłowski and E. Farkas, *Coord. Chem. Rev.*, **114** (1992) 169
12. B. Kurzak and E. Farkas, *J. Coord. Chem.*, **28** (1993) 203
13. E. Farkas, J. Szőke, T. Kiss, H. Kozłowski and W. Bal, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1989) 2247
14. D. Bacco, V. Bertolasi, F. Dallavale, L. Galliera, N. Marchetti, L. Marchio, M. Remelli, and M. Tegoni, *Dalton Trans.* **40** (2011) 2491
15. B. Kurzak, E. Farkas, T. Glowiak and H. Kozłowski, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1991) 163-167
16. J.J. Bodwin, A.D. Cutland, R.G. Malkani and V.L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, 216 (2001) 489
17. M. A. Bennett and A. K. Smith, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1974) 233
18. P. Buglyó and E. Farkas, *Dalton Trans.*, (2009) 8063
19. L. Bíró, E. Farkas and P. Buglyó, *Dalton Trans.*, **41** (2012) 285-291
20. L. Bíró, E. Farkas and P. Buglyó, *Dalton Trans.*, **39** (2010) 10272
21. L. Zékány, I. Nagypál, in Computational Methods for the Determination of Stability Constants, ed.: D. Leggett, Plenum Press, New York, (1985).
22. Attila J. Godó, Attila Cs. Bényei, Brian Duff, Denise A. Egan and Péter Buglyó, *RSC Advances* **2** (2012) 1486-1495
23. W.L.F. Armarego and C.L.L. Chai; Purification of laboratory chemicals, sixth edition 2009 Elsevier
24. P.C.A. Bruijninx and P.J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.*, **61** (2009) 1-62