

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



TDK dolgozat

Készítette: **Patalenszki János**

Kémia BSc, III. évfolyam

Témavezető: **Dr. Buglyó Péter**

egyetemi docens

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



Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni *Dr. Fábíán István* tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette számomra a Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszéken TDK dolgozatom megírását.

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, *Dr. Buglyó Péter* egyetemi docensnek munkám során nyújtott sokrétű, önzetlen segítségét.

Köszönöm *Bíró Linda* PhD hallgatónak a pH-potenciometriás titrálások és az ^1H NMR mérésekben nyújtott segítségét, valamint a munkám során adott hasznos tanácsait.

Köszönöm *Godó Attila József* ^1H NMR mérésekben nyújtott segítségét, valamint hasznos tanácsait.

Köszönet illeti *Dr. Nagy Lajos* egyetemi adjunktust és *Biri Bernadett* PhD hallgatót az ESI-MS mérésekben nyújtott segítségéért.

Egyúttal szeretném megköszönni a Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszéken dolgozó tanárok, PhD hallgatók és hallgatók önzetlen segítségét és hasznos tanácsaikat.

Szeretném köszönetemet kifejezni családomnak, hogy mindvégig támogattak, mellettem álltak.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi előzmények.....	2
3. Célkitűzés.....	11
4. Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek.....	12
4.1. Felhasznált vegyszerek.....	12
4.2. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{RuCl}_2]_2$ dimer előállítás.....	12
4.3. A DL-cisztein hidroklorid monohidrát tisztítása.....	13
4.4. Alkalmazott eszközök és módszerek.....	13
4.4.1. pH-potenciometria.....	13
4.4.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia.....	14
4.4.3. Tömegspektrometria.....	14
4.5. A mérések és az adatok értékelésének elvi alapjai.....	15
4.5.1. pH-potenciometria.....	15
4.5.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia.....	17
4.5.3. Tömegspektrometria.....	17
5. Eredmények és értelmezésük.....	18
5.1. A ligandumok protonálódási folyamatai.....	18
5.2. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kéndonor ligandum rendszerek.....	19
5.2.1. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -cisztein metilésztere rendszer.....	20
5.2.2. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -N-acetilcisztein rendszer.....	22
5.2.3. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -cisztein rendszer.....	25
5.2.4. NMR-eredmények.....	28
5.2.5. ESI-MS-eredmények.....	30
6. Összefoglalás.....	32
7. Summary.....	33
Irodalomjegyzék.....	34

1. Bevezetés

A mai világban sokan daganatos megbetegedésekben halnak meg. A rákos megbetegedések közös jellemzője a szabályozatlan sejtosztódás, és más egészséges szövetek megfertőzése. Ez történhet invázióval és áttétképzéssel is. A megbetegedést a sejtciklus szabályozásában résztvevő DNS-hibák és genetikai mutációk okozzák. Genetikus és környezeti tényezők (kemikáliák, fizikai hatások) egyaránt kiválthatnak rendellenes sejtszaporulatot. A diagnosztizált rákos betegeket leggyakrabban kemoterápiával, sugárkezeléssel vagy sebészeti eljárással kezelik. Mindhárom kezelés célja a daganatos sejtek teljes eltávolítása a szervezetből, lehetőleg a többi egészséges rész károsítása nélkül.

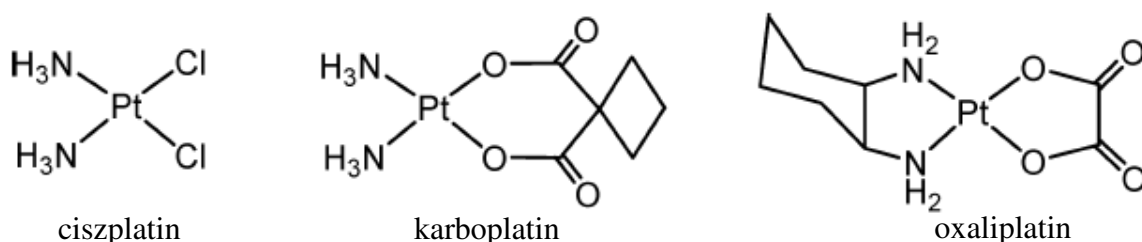
A kemoterápiás kezelések során a betegeknek olyan gyógyszerkészítményeket adnak, amelyek a rendellenes működésű sejtek szaporodását gátolják vagy teljesen elpusztítják azokat. Néhány ilyen gyógyszer valamilyen fémiontartalmú vegyületet tartalmaz, mint például a ciszplatín. A ciszplatint már több mint 30 éve használják egyes daganatos megbetegedések kezelésére, de súlyos mellékhatásai és a sok esetben fellépő sejtrezisztencia miatt más fémiontartalmú vegyületek kutatása kezdődött meg.

Ilyen vegyületek a ruténium(III)-iont tartalmazó NAMI-A és KP1019, melyek a klinikai kipróbálás fázisában járnak. A szervezetben nem a Ru(III) az aktív forma, hanem a Ru(II) , ezért előtérbe került a félszendvics fémorganikus Ru(II) -vegyületek vizsgálata. Ezen komplexek a szervezetben kölcsönhatásba kerülhetnek a vérszérum vagy más testfolyadékok különböző kis- illetve nagy molekulatömegű fémionmegkötésre alkalmas komponenseivel (pl. transzferin, albumin, immunoglobulin, valamint aminosavak, karbonsav-származékok, oligopeptidok stb). TDK dolgozatom keretében a félszendvics ruténium(II)komplexek disszociációjakor képződő $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation kölcsönhatását vizsgáltuk egy kéntartalmú aminosavval, a ciszteinnel és két modellvegyületével.

2. Irodalmi előzmények

A daganatos megbetegedés a második leggyakoribb halálok a gazdaságilag fejlett országokban és a harmadik a fejletlen országokban. Statisztikailag minden nyolcadik európai élete során rákos lesz. Habár a becsült valószínűség emelkedést mutat mindkét nemnél, az életkor standardizált halálozási arány folyamatosan csökken a nők között 1970 és a férfiak között 1985 óta. A túlélési esély növekedésének hátterében az egyre jobb rákellenes kezelések állnak, amihez nagyban hozzájárultak az egyre hatásosabb gyógyszerek bevezetése a gyógyászati ​​kezelésekbe, melyek hatóanyaga valamilyen fémiontartalmú komplex lehet.

Az 1970-es években felfedezett ciszplatina (cisz-diamin-dikloro-platina(II)) és néhány újabb platina(II)-komplex (karboplatin, oxaliplatin), melyeket az 1. ábrán mutatunk be, manapság a legnagyobb mennyiségben alkalmazott fémiontartalmú, citotoxikus hatású készítmények.

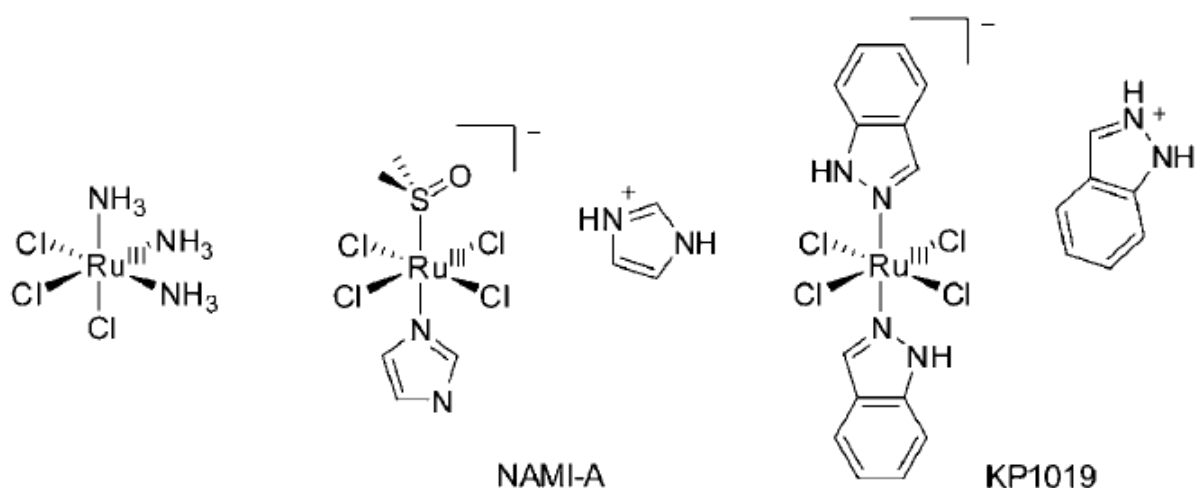


1. ábra: Platina(II) tartalmú rákellenes vegyületek

Ezek a platina-komplexek *in vivo* reagálnak. Az aktiválási lépésben a ciszplatina egyik klorid liganduma lassan vízre cserélődik, ahogy csökken a kloridion koncentráció a szervezetben. A keletkezett akva ligandum könnyen lecserélődhet, így a platina(II) közvetlenül kötődhet egy N-bázishoz a DNS-ben. Ez a bázis preferáltan a guanin és miután kialakult a fém-guanin-kloro-komplex $[\text{PtCl}(\text{guanin-DNS})(\text{NH}_3)_2]^+$ a másik klorid is lecserélődik, tipikusan egy másik guaninra, így keresztkötéseket létrehozva a kettős spirálban. Ezek az áthidalások megakadályozzák a sejtosztódást, sejthalálhoz vezetve. A ciszplatina káros mellékhatásai, jelentős toxicitása és a sok esetben fellépő sejtrezisztencia miatt más potenciálisan rákellenes hatású fémvegyületek kutatása kezdődött meg.

Így került a kutatások előterébe az átmenetifémek közül a **ruténium**. A ruténium viszonylag reakcióképes, a könnyű platinafémek közé tartozó elem. A ruténium mellett szólt a már felderített jó komplexképző képessége és vegyületeinek könnyű szintetizálhatósága. A meghatározó pont a vasutánzó tulajdonsága, így hasonló módon tud kötődni különböző biomolekulákhoz, mint például a vészérum kis molekulatömegű alkotóihoz és a vastranszport fehérje transzferinhez. Ez még hatásosabb szállítást biztosít a ruténium-komplexeknek a rákos sejtekhez, mivel azoknak fokozott a vasigénye és túlműködnek a transzferin receptoraik. A fő előny a ruténium alapú vegyületeknél a fémion-ligandum csere kinetikájának változatos módosítási lehetősége vizes oldatokban, amely összemérhető sebességgel játszódik le, mint a platina(II)-komplexek esetén tapasztalható (akár órákat is igénybe vehet a csere). Ez a kritikus pont a gyógyászati alkalmazásukban, mivel a fémion-ligandum cserének kellően lassúnak kell lennie, hogy a ruténium-vegyület eljuthasson a rákos sejthez, és csak ott fejtse ki citotoxikus hatását.

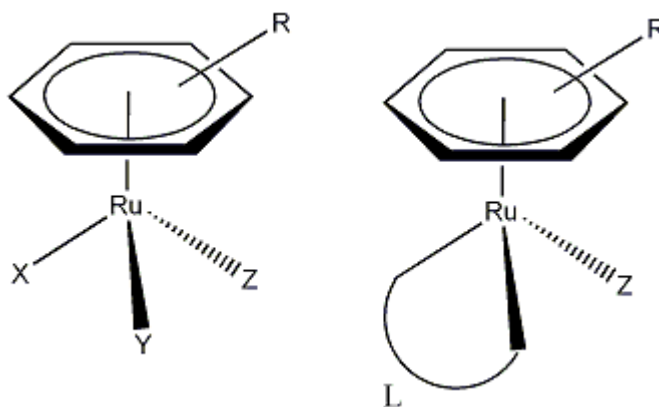
Az első rákellenes tulajdonságú ruténium(III)-vegyületet 1976-ban publikálták, ez a $\text{fac-}[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$ volt (lásd 2. ábra), ami fonalas növekedést idézett elő az *Escherichia coli*-nál (kólibaktérium). Fontos, hogy a hatás kifejtéséhez szükséges koncentráció összemérhető a ciszplatinból szükségessel. Ez a Ru(III)-komplex és más hasonló vegyületek, mint a $\text{cisz-}[\text{RuCl}_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$ potenciálisan rákellenes hatásúnak bizonyultak, de rossz vízdoldhatóságuk miatt nem lehet gyógyászati alkalmazásuk. Azóta más Ru(III)-vegyületeket is vizsgáltak, ezek közül a NAMI-A és a KP1019 (lásd 2. ábra) már a klinikai kipróbálás fázisában vannak.



2. ábra: A $\text{fac-}[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$, a NAMI-A és a KP1019 szerkezete

Ez a két vegyület *in vivo* hatásos (csak a szervezetben fejtik ki hatásukat), de *in vitro* hatástalanok. Ez azt sugallja, hogy a Ru(III)-vegyületek valójában prekursorok, redukcióval aktiválódnak a szervezetben a sokkal labilisabb és reaktívabb Ru(II) megfelelőjüké, ami felelős lehet a megfigyelt citotoxicitásért. A redukció lehetséges, mivel a sejtek tartalmaznak redukáló ágenseket (pl. a glutation) és a daganatos sejtek gyakran oxigénhiányosak és savasabbak is, mint a normális működésűek.

Így a ruténium +2 oxidációs állapotának stabilizálását és szervezetbe juttatásának megoldását kezdték kutatni. A felvetődött kérdést félszendvics fémorganikus Ru(II)-komplexekkel oldották meg. Ezekben a vegyületekben, a ruténium(II)ion egy hexahapto kötésmódú aromás vegyülettel stabilizált, így egy jellegzetes „zongoraszék” geometria jön létre. Mindamellet, hogy az aromás gyűrű stabilizálja a +2-es oxidációs állapotot, hidrofób tulajdonságot is kölcsönöz a komplexeknek, ami növeli a biológiai felismerést és megkönnyíti a ruténiumion szállítását a sejtmembránon keresztül.

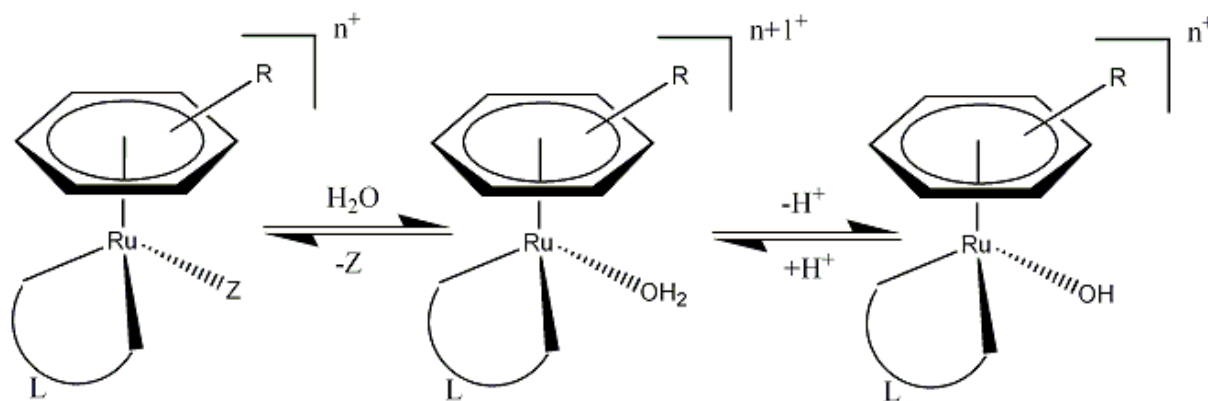


3. ábra: A félszendvics ruténium(II)vegyületek általános szerkezete

A η^6 -aromás gyűrű három koordinációs helyet foglal el a torzult oktaéderes geometriából, így a maradék három helyhez más atomok kapcsolódhatnak (X, Y, Z) (lásd 3. ábra). Az X és Y helyek betölthetők két egyfogú ligandummal is, de leggyakrabban egy kétfogú ligandum (L) foglalja el őket (lásd 3. ábra), például nitrogén- és/vagy oxigéndonor atomokkal (pl. [N,N]; [N,O] vagy [O,O] koordináció) és így kelátot képezve a fémionnal. Tipikus példa az etiléndiamin (en) vagy az acetilacetonát (acac). A kelátképző tulajdonságú kétfogú ligandumok alkalmazása előnyösebb hatásokat eredményez.

A hatodik és egyben utolsó koordinációs helyre (Z) általában egy halogenid kerül, ez alakítja ki a molekula reaktív részét. Ezek az aromás ruténium-vegyületek viszonylag inertek fiziológiás körülmények között és a fémion, amint eljutott a cél biomolekulához, közvetlen kötést tud kialakítani azzal a reaktív helynek köszönhetően.

A legfontosabb lépés az ilyen típusú vegyületek aktiválása, ami a **Z** távozó csoport (általában kloridion) cseréjét jelenti egy vízmolekulára, így a sokkal reaktívabb akvakomplex alakul ki (lásd 4. ábra).



4. ábra: Ruténium(II)vegyületek aktiválása

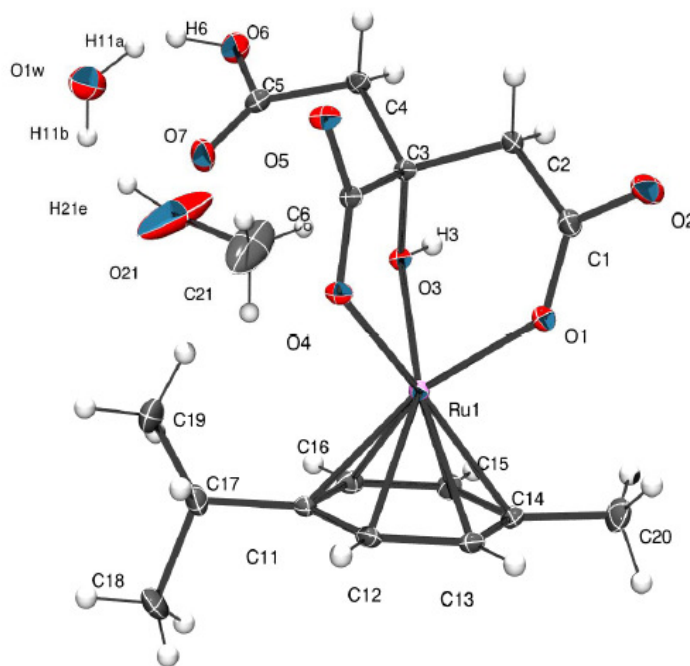
A keletkezett akvakomplex szubsztitúciós reakcióban vehet részt és lecserélődhet egy DNS-beli nukleobázisra. A csere sokkal gyorsabban játszódik le, mint ha az a klorid származék esetében történne, ez az oka a gyógyászati alkalmazhatóságuknak. Így a $[(\eta^6\text{-arén})\text{RuCl}(\text{L})]^{n+}$ komplexek csak prekursorok, belőlük képződnek a szervezetben a biológiailag hatásos, aktív $[(\eta^6\text{-arén})\text{RuH}_2\text{O}(\text{L})]^{(n+1)+}$ komplexek, amelyek már citotoxikus hatásúak. A hidrolízis mértéke nagyban függ a komplexképző anyagok tulajdonságaitól (aromás gyűrű, L kelátképző, halogenid). A csere oka a szervezetben a folyamatosan csökkenő klorid koncentráció ($[\text{Cl}^-]$) a vérplazmától a sejtmagig. A vérplazmában nagy a $[\text{Cl}^-]$ (kb. 104 mmol/dm^3), itt még a kloro-komplex van jelen ($>89\%$). Viszont a sejt citoplazmájában (kb. 23 mmol/dm^3) és a sejtmagban (kb. 4 mmol/dm^3) már sokkal kisebb a $[\text{Cl}^-]$, így itt már nagyobb arányban van a reaktív akvakomplex (30% a citoszolban és 70% a sejtmagban). Ez teszi lehetővé azt, hogy a Ru(II)-komplexek csak a sejtmagban aktiválódjanak, és ott fejtsék ki hatásukat.⁽¹⁾

A másik fontos szempont a keletkezett akvakomplexek stabilitása, mivel deprotonálódhatnak és így átalakulnak a kevésbé aktív hidroxokomplexekké: $[(\eta^6\text{-arén})\text{Ru}(\text{L})(\text{OH})]^{n+}$. Ez az átalakulás az akvakomplex pK_a értékével jellemezhető. Fontos, hogy ez az érték viszonylag nagy legyen, hogy fiziológiás körülmények között csak kis mennyiségben forduljon elő a hidroxokomplex (lehetőleg 10% alatt).

A Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékének Szervetlen Kémiai Kutatócsoportja megvizsgálta a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation hidrolitikus folyamatait KNO_3 -os közegben kloridion jelenléte nélkül és KCl -os közegben is pH-potenciometriás, ^1H NMR, UV/VIS, ESI-MS módszerek segítségével. Különböző kloro-, hidroxo- és összetett kloro-hidroxokomplexek jelenlétére utaltak a vizsgálatok. Kloridmentes közegben $\text{pH} = 3,5$ alatt a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation van jelen, mely a pH növekedésével fokozatosan átalakul a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ -ionná. $\text{pH} = 4,5$ felett már csak ez a hidroxokomplex van jelen. Kloridion jelenlétében $\text{pH} = 4,0$ alatt két kloro-komplex jelenlétét határozták meg: $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}]^+$ és $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-Cl})_3]^+$. 5,0-ös pH felett összetett kloro-hidroxokomplexek képződnek: $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_2(\mu^2\text{-Cl})^+$ és $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})(\mu^2\text{-Cl})_2]^+$. A komplexek stabilitási állandóit is meghatározták.

A szervezetbe kerülő rákellenes hatású fémkomplexek kölcsönhatásba léphetnek a testfolyadékok kis- és nagy molekulatömegű komponenseivel. Nem zárható ki annak a lehetősége, hogy ezek a bioligandumok leszorítják a ruténium(II)vegyületek ligandumait és a helyükre koordinálódnak. Ezért a kutatócsoportban vizsgálták a kis molekulatömegű vérszérumalkotók közül az $[\text{O},\text{O}]$ koordinációra képes oxalát, laktát és citrát kölcsönhatását a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kationnal azért, hogy az esetlegesen keletkező komplexek stabilitási állandóit meghatározhassák.⁽⁴⁾ A vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy az oxalát, mely két kis bázicitású oxigén donoratomot tartalmaz savas körülmények között kötődni képes a fémionhoz. Ez a komplex viszont nem kellően stabil, így nem képes visszaszorítani a ruténiumion hidrolízisét már fiziológias körülmények között sem ($\text{pH} = 7,4$). Az egy kis- és egy nagy bázicitású donoratomot tartalmazó laktát gyengébb kötést alakít ki a félszendvics ruténium(II)ionnal.⁽⁴⁾

A citrát három karboxilát- és egy alkoholos-OH csoportot tartalmaz, így akár háromfogú ligandumként is kötődhet a fémionhoz az összes koordinációs helyét elfoglalva, nagy stabilitású komplexet létrehozva. A szilárd fázisú vizsgálatok során a félszendvics ruténium(II)ion és a citrát 1:1 arányú komplexéből egykristályt sikerült előállítani, melynek szerkezetét röntgendiffrakcióval meghatározták (lásd 5. ábra).

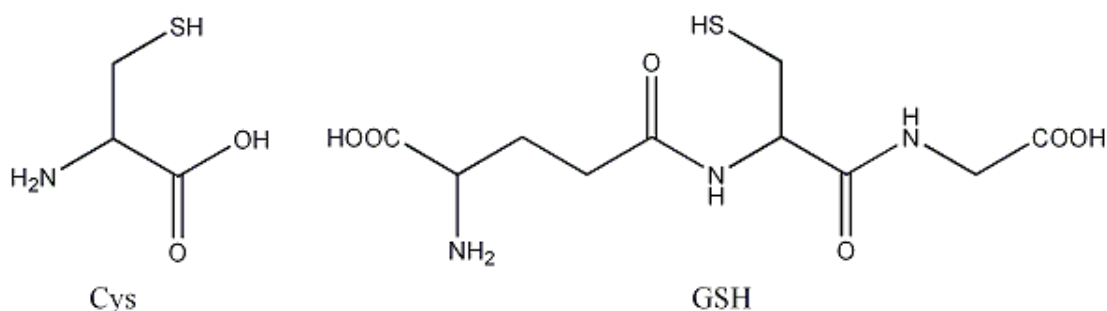


5. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_7)]\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{CH}_3\text{OH}$ röntgendiffrakciós képe

Ebben a komplexben (lásd 5. ábra) a citrát két karboxilát- és az alkoholos-OH csoportján keresztül kapcsolódott a ruténiumionhoz, így az összes lehetséges koordinációs helyet elfoglalta. A vizes oldatban végzett vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy ez a részecske illetve a belőle deprotonálódással képződő $[\text{COO}^-, \text{COO}^-, \text{O}^-]$ kötésmódú komplex nagy stabilitású és képes a fémion jelentős hidrolízisét is visszaszorítani ~pH 10,0-ig

Így merült fel a vérszérum alkotó kis molekulatömegű kéntartalmú komplexképző vegyületek közül a cisztein és a sejtekben redukálószerként jelenlévő glutation kölcsönhatásának vizsgálata a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kationnal.

A **cisztein** (Cys) (lásd 6. ábra) egy α -aminosav, a szervezet számára nem esszenciális, tehát magának elő tudja állítani. Tiol oldalláncot tartalmaz, ami poláros, így hidrofíl tulajdonságot kölcsönöz a molekulának. A tiol csoport igen reakcióképes, nukleofil és könnyű oxidálni, erős reakcióképessége miatt számos fehérje kulcsfontosságú tulajdonságát határozza meg. A szervezetben a cisztein tiolát formában fordul elő, mivel savassága közelít a szervezet semleges kémhatásához. A tiolcsoport redoxireakciókban könnyen részt vesz, ezért antioxidáns tulajdonságokkal rendelkezik. Ezen tulajdonsága főként a glutation tripeptidben mutatkozik be, melynek egyik prekursora.



6. ábra: A cisztein (Cys) és a glutation (GSH) szerkezete

A **glutation** (GSH) (lásd 6. ábra) egy tripeptid (γ -L-Glu-L-Cys-Gly), ami egy szokatlan peptid kötést tartalmaz a cisztein aminocsoportja és a glutamát oldalláncának karboxilátcsoportja között, míg a glicin aminocsoportja egy normál peptid kötéssel kapcsolódik a cisztein karboxilátcsoportjához. A GSH egy antioxidáns, amely megakadályozza a sejt elemek pusztulását, amit a reaktív oxigén részecskék okoznának (Reactive Oxygen Species = ROS, pl. (O_2^-) , (HO_2^-) , (H_2O_2) és $(^1\text{O}_2)$).⁽¹⁴⁾ A normál sejtek működésük során kis mennyiségben termelnek ROS-t, aminek számos biológiai funkciója van. A túl nagy koncentrációban képződő ROS viszont káros a sejtekben, mivel a biomolekulákat oxidálja (pl. lipidek, sejtmembránok, fehérjék, és a DNS), így az eredeti funkciójukat nem tudják ellátni. A glutation két formában fordul elő a szervezetben: redukált (GSH) és oxidált (GSSG). Redukált formában a cisztein tiolátcsoportja képes megkötni egy hidridiont ($\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) egy másik reaktív molekulától, például egy ROS-tól. Amint megkötötte a glutation az elektronokat reaktív lesz, de könnyen reakcióba léphet egy másik glutationnal és így glutation diszulfid képződik (ez lehetséges, mivel a sejtekben elég nagy koncentrációban fordul elő, pl. a májban 5 mmol/dm^3). A GSSG-ét vissza lehet redukálni GSH-vá, ezt a glutation reduktáz enzim végzi egy NADPH felhasználásával.

Egyre nagyobb figyelmet nyer az átmenetifém vegyületek kéntartalmú ligandumokkal alkotott komplexeinek vizsgálata ezen komplexek központi szerepe miatt a biológiai rendszerekben és a katalízisben.

$[\text{CpRuCl}(\text{PEt}_3)_2]$ és $[\text{CpRuCl}(\text{PMeiPr}_2)(\text{PPh}_3)]$ típusú ruténium-komplexeket H_2S -sel és elemi kénnel reagáltatva, kétmagvú perszulfid származékokat kaptak, ahol a két $\text{Ru}(\text{II})$ -komplex egy perszulfid hídon keresztül kapcsolódott össze. Más ruténium származékok kéndonor ligandumokkal, mint például a 2-merkaptó-piridinnel és a dietilditiokarbamáttal való reakciójában azt találták, hogy a 2-merkaptó-piridin egyfogú ligandumként viselkedett és csak a kén koordinálódott, ugyanakkor a dietilditiokarbamát kétfogú $[\text{S},\text{S}]$ koordinációval kapcsolódott és egy négytagú kelátot képezett a ruténiumionnal.⁽⁵⁾

Orto-karborán, n-butil-lítium, elemi kén és $[(p\text{-cimol})\text{RuCl}_2]_2$ dimer reakciójával hat különböző szerkezetű, változatos kén-ruténium kötési módokat tartalmazó komplexeket szintetizáltak. Ezek között voltak olyan többmagvú komplexek is, amelyben a ruténiumionhoz közvetlenül hét kén koordinálódott, RuS_7 magot létrehozva, amit korábban még nem publikáltak (RuS_6X már volt, $\text{X} = \text{Cl}$ vagy I).⁽⁶⁾

$[\text{CpRuCl}(\text{PPh}_3)_2]$ -ot különböző nitrogéntartalmú, öttagú aromás tiolátokkal reagáltatva azt találták, hogy a tiolátok egyfogú ligandumként viselkedtek és minden esetben a kénen keresztül koordinálódtak a ruténiumionhoz, nem pedig a nitrogén részvételével.⁽⁷⁾

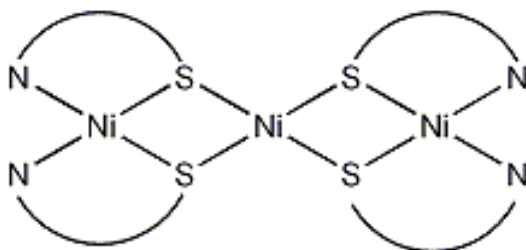
Jól ismert a félszendvics típusú ruténium vegyületek (pl. $[(\eta^6\text{-arén})\text{RuCl}_2\text{L}]$, $[(\eta^6\text{-arén})\text{RuClL}_2]^+$) katalitikus hatása számos szerves kémiai reakcióban, mint például karbonsavak addíciója alkinekre, ketonok hidrogénezése, olefinek polimerizációja, kettős kötések izomerizációja. Számos új ruténium komplexet szintetizáltak $[\text{S},\text{N}]$ donor Schiff-bázis ligandumokkal és különböző katalitikus reakcióban kipróbálták alkalmazhatóságukat. Az ilyen komplexekben a ruténiumionhoz a Schiff-bázis kétfogú $[\text{S},\text{N}]$ ligandumként koordinálódott és öttagú kelátot hozott létre.^(8,9,10)

$\text{fac}-[(\eta^6\text{-benzol})\text{Ru}(\text{L})][\text{PF}_6][\text{X}]$ ($\text{X} = \text{PF}_6$ vagy Cl) kiindulási anyagokat $2\text{-MeSC}_6\text{H}_4\text{CH}=\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{E}-\text{C}_6\text{H}_4\text{-4-R}$ és $2\text{-MeSC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{E}-\text{C}_6\text{H}_4\text{-4-R}$ vegyületekkel reagáltatva (ahol $\text{E} = \text{S}$ vagy Se , $\text{R} = \text{H}$; $\text{E} = \text{Te}$, $\text{R} = \text{OMe}$), olyan komplexeket nyertek, ahol a ligandumok háromfogú $[\text{S},\text{N},\text{E}]$ donorként koordinálódtak ($\text{E} = \text{S}$ vagy Te). Azt találták, hogy ezen vegyületek katalitikus hatásúak a primer és szekunder alkoholok oxidációjára.^(11,12)

Citotoxikus hatású ruténium-kén kötést tartalmazó vegyületeket is szintetizáltak már. Ilyen vegyületcsalád a $[(p\text{-cimol})\text{RuCl}_2]_2$ dimer 3-hidroxi- γ -tiopiron származékokkal alkotott komplexei. Ezek a módosított piron származékok $[\text{S},\text{O}]$ koordinációra képes kétfogú ligandumként viselkedtek és öttagú kelátokat képeztek a ruténiumionnal, miközben a hatodik koordinációs helyen megmaradt a kloridion, így biztosítva a reaktív helyet a biomolekulák számára. A piron gyűrű növelte a citotoxicitást és a komplexek antiproliferatív (sejtszaporodásgátló) hatásúnak bizonyultak az emberi SW480 és CH1 daganatos sejtekben.⁽¹³⁾

Nem csak a hidrolízissel aktiválódott félszendvics ruténium(II)komplexeknek lehet citotoxikus hatásuk. A $[(\eta^6\text{-bifenil})\text{Ru}(\text{azpy})\text{I}]^+$ (azpy = N,N-dimetilfenil vagy hidroxifenil-azopiridin) komplexben bár a Ru(II)-jodid kötés inert a hidrolízissel szemben, mégis citotoxikus hatású a vegyület. A komplex redoxireakciókat indukál a rákos sejtekben, ami a ROS növekvő felhalmozódásához vezet. Meglepő módon itt a vegyület katalizátorként hat a legfontosabb intracelluláris redukáló ágens, a glutation (GSH) oxidációjára. A katalitikus körfolyamat magában a ligandumban játszódik le. Első lépésként az azo kötés redukálódik és a glutationnal hidrazo intermediert képez, amit egy másik glutationt megbont és kialakul az oxidált, diszulfidhidas glutation (GSSG). Ezt az azo kötés regenerálódása követi, amely során ROS képződik és ez oxidatív stresszt okoz a sejtekben, mivel a daganatos sejtek sokkal érzékenyebbek a ROS-ra, mint a normál sejtek.⁽¹⁴⁾

A cisztein komplexképző tulajdonságait többek között a Tanszéken is vizsgálták nikkell(II)- és cink(II)-kationokkal pH-potenciometriás, UV/VIS spektrometriás és NMR spektrometriás módszerekkel. A kapott titrálási görbék többmagvú, különböző protonáltsági fokú komplexek feltételezésével voltak jellemezhetőek. A többmagvú komplexek képződését az egyéb spektroszkópiás módszerek is alátámasztották. A nikkell esetében $[\text{Ni}_3\text{A}_4]^{2-}$ összetételű komplex keletkezését is feltételezték (lásd 7. ábra), melyben a két [S,N] kelátos biszkomplexet a harmadik fémion köti össze a kéneken keresztül.⁽¹⁵⁾

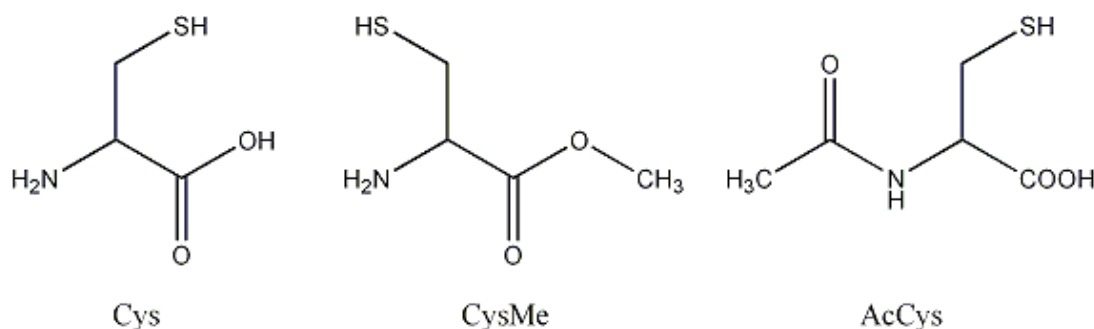


7. ábra: A $[\text{Ni}_3\text{A}_4]^{2-}$ -komplexfeltételezett szerkezete

Ugyanakkor tanulmányozták az L-cisztein és a $[(\eta^6\text{-bifenil})\text{RuCl}(\text{en})]^+$ (en = etiléndiamin) kölcsönhatását. A ruténium-vegyület nagyon lassan reagált az L-ciszteinnel, 48 óra után csak a kiindulási komplex 50%-a reagált el. Kezdetben S- vagy O-kötéssel egy-egy arányban alakultak ki a $[(\eta^6\text{-bifenil})\text{Ru}(\text{Cys})(\text{en})]^+$ komplex. Az egymagvú termékek ezután átalakultak szokatlan kétmagvú ruténium vegyületekké, amelyekben egy vagy két etiléndiamin lecserélődött egy- vagy kétatomos kénhidakra.⁽¹⁾

3. Célkitűzés

Az irodalmi előzményekben bemutatottak alapján célunk így a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation és a **cisztein** (lásd 8. ábra) kölcsönhatásának vizsgálta volt pH-potenciometriás, ^1H NMR, ESI-MS módszerekkel, azért, hogy meghatározhassuk az oldatfázisban keletkező komplexek sztöchiometriai összetételét, stabilitási állandóit és javaslatot tegyünk azok legvalószínűbb szerkezetére. A cisztein három donoratómmal rendelkezik (S,N,O) és így akár háromfogú ligandumként is koordinálódhat a fémionhoz. Ezért az oldatfázisban keletkező komplexek szerkezetének alaposabb tanulmányozása miatt megvizsgáljuk a cisztein oxigén- (**cisztein metilésztere**) és nitrogén donoratómján védett (**N-acetilcisztein**) két modellvegyületének (lásd 8. ábra) kölcsönhatását is a félszendvics ruténium(II)ionnal. További célunk a félszendvics ruténium(II)-ligandum komplexek szilárd formában történő előállítása és azok szerkezeti összetételének meghatározása egykristály röntgendiffrakció segítségével.



8. ábra: A cisztein (Cys), a cisztein metilésztere (CysMe) és az N-acetilcisztein (AcCys) szerkezete

4. Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek

4.1. Felhasznált vegyszerek

A mérésekhez az alábbi ligandumokat használtuk: DL-cisztein hidroklorid monohidrát (Reanal), N-acetilcisztein (Fluka), cisztein metilészter hidroklorid (Fluka).

A ciszteinből átkristályosítás után (20%-os sósavoldatból), a többi vegyületből tisztítás nélkül törzsoldatot készítettünk megfelelő tömeg szerinti beméréssel, mivel levegőn stabilis vegyületek.

A Ru(II)-törzsoldatot az előállított $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{RuCl}_2]_2$ dimerből készítettük háromszor ioncserélt vízben történő oldás és AgNO_3 -tal végzett kloridmentesítés után. A pH-potenciometriás titrálásokhoz karbonátmentes KOH oldatot használtunk ($\sim 0,2 \text{ mol/dm}^3$). A KOH-oldat pontos koncentrációjának meghatározását kálium-hidrogén-ftalát (Aldrich) közvetlen bemérésével készített, pontos koncentrációjú oldatával végeztük, és ezt az oldatot használtuk a mérőelektrod kalibrálására is. A HNO_3 mérőoldat tömény salétromsav hígításával készült, koncentrációja $0,1920 \text{ mol/dm}^3$ volt, amelyet szintén a KOH mérőoldattal határoztuk meg.

4.2. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{RuCl}_2]_2$ dimer előállítása

Irodalmi recept alapján⁽¹⁶⁾ 4,02 g (19,4 mmol) $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ -ot feloldottunk 200,0 ml, előzőleg fél órán át nitrogénezett absz. etanol és 25,0 ml α -terpinén elegyében, majd az oldatot négy órán át refluxoltattuk 105°C -on tartott olajfürdőben nitrogén atmoszféra alatt. Szobahőmérsékletre való lehűlés után fagyasztóba tettük és hagytuk állni a reakcióelegyet egy éjszakán át. Sötétvörös kristályos anyag vált ki, leszűrtük, többször kevés absz. etanollal mostuk, majd vákuum alatt szárítottuk. Tisztaságát az ^1H NMR spektrum felvételével ellenőriztük. (Kitermelés: 5,93 g (72%))

^1H NMR (360 MHz, DMSO): $\delta = 5,820 \text{ ppm}$ (d, 2H, aromás hidrogének, $J = 5,96 \text{ Hz}$), $\delta = 5,779 \text{ ppm}$ (d, 2H, aromás hidrogének, $J = 5,96 \text{ Hz}$), $\delta = 2,826 \text{ ppm}$ (h, 1H, iPr metin), $\delta = 2,082 \text{ ppm}$ (s, 3H, gyűrűmetil), $\delta = 1,185 \text{ ppm}$ (d, 6H, iPr metilek $J=7,02 \text{ Hz}$).

4.3. A DL-cisztein hidroklorid monohidrát tisztítása

17,24 g halvány rózsaszínes ligandumot $30,0\text{ cm}^3$ 20 %-os sósavoldatban feloldottunk, forrásig melegítettük és aktív szenes derítés után leszűrtük, szobahőmérsékletre hagytuk lehűlni és hűtőbe tettük. A hűtőben fehér kristályos anyag vált ki, leszűrtük, mostuk és vákuum alatt szárítottuk. 9,63 g anyagot kaptunk (56%), tisztaságát az ^1H NMR spektrum felvételével ellenőriztük.

^1H NMR (360 MHz, D_2O): $\delta=4,199\text{ ppm}$ (t, 1H, glicin metin), $\delta=3,085\text{ ppm}$ (dd dubletje, 2H, oldallánc metilén).

4.4 Alkalmazott eszközök és módszerek

4.4.1. pH-potenciometria

A méréseket Mettler Toledo T50 titrátorral és Metrohm AG 9101 double junction üvegelektóddal végeztük. A mérőműszert minden mérés előtt KH-ftalát oldatra kalibráltuk ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 4,008$) és a vízionszorzatra hitelesítettük sav-bázis titrálások segítségével ($I = 0,20\text{ mol/dm}^3$ KNO_3 -ra nézve, $t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pK}_w = 13,75$). A leolvasott pH értékekből az Irving-féle korrekciót figyelembe véve számoltuk ki a hidrogénion koncentrációt.⁽¹⁷⁾ A titrálásokat speciálisan kialakított, csiszolatos üvegedényekben végeztük, az oxigén kizárásához és a kevertetés biztosítására tisztított argon gázt használtunk. A ligandum törzsoldatokat $50,00\text{ cm}^3$ -es térfogatú csiszolatos mérőlombikokban készítettük el, a koncentrációk $\sim 3,9 \cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ -esek voltak. Ismert koncentrációjú salétromsav hozzáadásával a ligandumok teljesen protonált formáját alakítottuk ki, és a KOH mérőoldattal megtitrálva, a titrálási görbékből számoltuk a pontos koncentrációkat. A görbék kiértékeléséhez a Superguad nevű programot használtuk.⁽¹⁸⁾ Az ionerősséget $1,0\text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú KNO_3 -oldattal minden mérésnél $0,20\text{ mol/dm}^3$ -es értékre állítottuk be. A lúgoldat pontos koncentrációját a KH-ftalát törzsoldattal határoztuk meg Gran-féle linearizálással.⁽¹⁹⁾

A pH-potenciometriás méréseket $25,0 \pm 0,1$ °C hőmérsékleten végeztük. A mérések során a kívánt hőmérsékletet ultra termosztáttal értük el és tartottuk állandó értéken. A komplexképződés tanulmányozásához különböző fémion:ligandum arányú mintákat készítettünk, melyek össztérfogata $15,00 \text{ cm}^3$ volt. Az arányok cisztein és származékai esetén az alábbiak voltak: 1:1, 1:2 és 2:1.

4.4.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia

A ^1H NMR méréseket Bruker WP 360 SY típusú készülékkel végeztük, a kapott spektrumokat a WinNMR program segítségével értékeltük ki. A kémiai eltolódásokat belső standard (TSP = trimetilszilil-propionát) jeléhez viszonyítva ppm értékben adtuk meg. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -cisztein esetében különböző pH értékeken 1:1, és 2:1 fémion:ligandum aránynál, a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -cisztein származékok esetében pedig 1:1 arány mellett vettük fel az ^1H NMR spektrumokat. A fémiontartalmú törzsoldatok $7,0 \text{ cm}^3$ térfogatú deuterált oldószerben történő oldással készültek, melyek a következőket tartalmazták: ezüst-nitráttal kloridmentesített Ru-dimert, KNO_3 -ot, a megfelelő ligandumot, D_2O -t, DNO_3 -at, és TSP-t. Az egyedi minták térfogata minden esetben $600 \mu\text{l}$ volt, a pH*-ot DNO_3 és NaOD oldatokkal állítottuk be közvetlen pH-méréssel. A pH számítására az alábbi egyenletet alkalmaztuk:

$$pH = pH^* + 0,4$$

4.4.3. Tömegspektrometria

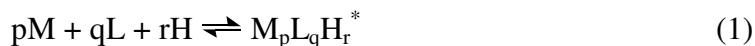
Méréseinket Bruker micrOTOF-Q ESI-TOF tömegspektrométerrel végeztük pozitív módban. A cisztein esetén 1:1 fémion:ligandum arányú mintákat készítettünk és különböző pH-értékeken vettük fel a tömegspektrumaikat. A törzsoldat kloridmentesített ruténium-dimert, ciszteint és vizet tartalmazott. A mintakoncentrációk $3,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ -esek voltak a ruténiumionra és a ligandumra nézve. A mintatérfogat $600 \mu\text{l}$ volt. A pH-t HNO_3 - és KOH -oldatokkal állítottuk be a kívánt értékekre.

4.5. A mérések és az adatok értékelésének elvi alapjai

4.5.1. pH-potenciometria

Kísérleti munkánk során, a ruténiumion-komplexek vizsgálatának legfontosabb módszere a pH-potenciometriás mérések voltak. A pH-potenciometria oldatfázisban lejátszódó egyensúlyi komplexképződési folyamatok tanulmányozására szolgál. Akkor lehet alkalmazni, ha a ligandum protonálódási folyamataira hatással van a koordinálódó fémion, vagyis a komplex létrejötte pH-effektussal jár. (A fémion koordinálódása során a ligandumról protonokat távolít el, ami mint extra lúgfogyasztó folyamat jelentkezik a titrálási görbén.) A vizsgálatok célja a képződő asszociátumok összetételének és stabilitási állandóinak meghatározása.

Egy fémiont (M), ligandumot (L) és protont (H) tartalmazó rendszer esetén az általános komplexképződési folyamat a 1. egyenlettel írható fel.



M: fémion

L: ligandum

H: proton

p, q, r : sztöchiometriai szám

(* Az egyszerűbb kezelhetőség miatt a részecskék töltését nem tüntettük fel.)

Az 1. egyenlet alapján, az alábbi összefüggést tudjuk definiálni a képződő részecskék stabilitási szorzatára.

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pL_qH_r]}{[M]^p[L]^q[H]^r} \quad (2)$$

Amennyiben az oldategyensúlyi rendszer csak fémiont, protont, és ligandumot tartalmaz, akkor a rendszer háromkomponensűnek tekinthető. A három komponensre felírt anyagmérlegek a következők:

$$C_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (3)$$

$$C_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (4)$$

$$C_L = [L] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (5)$$

Ha az adott rendszerben a ligandum proton- és fémionkomplexe között mérhető komppetíció lép fel, akkor a rendszer pH-metriás titrálási görbéjének elemzésével a komplexek stabilitási állandóinak számítására lehetőség nyílik. Ez a Tanszéken kifejlesztett PSEQUAD nevű programmal történt,⁽²⁰⁾ mely a kezdetileg beállított állandókat iterációs módszerrel közelíti a rendszerre beírt anyagmérlegek megoldásával. A kiértékelések során először bemenő adatként meg kell adnunk a fogyott lúgtérfogatok és a hozzájuk tartó pH-értékeken kívül a komponensek kiindulási teljes koncentrációját, a komponensek és asszociátumok számát, és az utóbbiak pontos sztöchiometriai összetételét, valamint az ismert és az ismeretlen stabilitási állandókat. Meg kell még adni az üvegelektrodra az adott ionerősség mellett jellemző víziionszorozatot, valamint az Irving-féle korrekciós értéket is melyeket a mérések előtt meghatároztunk. A fémiont is tartalmazó rendszereket megelőzően a ligandumok protonálódási állandóit minden esetben meghatároztuk a SUPERQUAD nevű programmal.⁽¹⁸⁾ A számolt stabilitási állandók mellett a zárójelben lévő értékek minden esetben a standard deviációt jelölik.

4.5.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia

Az egyik leghatékonyabb kvalitatív szerkezetvizsgáló analitikai módszer a mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia. Segítségével mindazon elemek azonosíthatók, melyeknek magspinje nullától eltérő értékű. Meghatározható a vizsgálandó molekulákban lévő mágneses magok viszonylagos száma és kémiai minősége. Az ilyen magok mágneses momentuma külső mágneses tér hatására az M_I mágneses kvantumszám szerint felhasadnak és a megfelelő irányba beállnak, melyet a külső tér és a saját mágneses momentumuk együttesen szabnak meg. Ezek után, ha rádiófrekvenciás sugárzás éri az anyagot két beállítás közötti energiakülönbségnek megfelelő $h\nu$ energiát a mag éles rezonanciaabszorpció formájában felveszi. A külső elektronhéjakon lévő elektronok változásai a molekulákban kialakuló kötésviszonyok miatt nem csak a belső héjon lévő elektronokra, hanem magára az atommagokra is hatással vannak. A magok kémiai környezetének hatására egy ideálisan nullának választott értéktől a vizsgált atom jele eltolódik, ezt kémiai eltolódásnak nevezzük. Ezáltal az NMR-spektrum a vizsgált mag vagy magcsoport közelében lévő atomokról is tájékoztatást nyújt, sőt az egyes magok térbeli elhelyezkedéséről is adatokat szolgáltat.

4.5.3. Tömegspektrometria

A tömegspektrometria olyan analitikai módszer, amely töltéssel rendelkező anyagi részecskék pontos tömegének meghatározását teszi lehetővé. A mérés lényege, hogy a vizsgálandó anyagokat valamilyen ionizációs technikával ionokká alakítjuk és a keletkező részecskék tömeg/töltés hányadosuk függvényében szétválaszthatók elektromágneses térben, így külön-külön detektálhatóak. A mérés során az analizátorban nagyvákuumot kell alkalmazni (10^{-3} Pa), biztosítva a részecskék számára, hogy ütközésmentesen repülhessenek. Méréseink során elektropray ionizációs (ESI) technikát alkalmaztunk, mely során a folyékony halmazállapotú mintát egy töltött kapillárison vezetik át, így töltéssel rendelkező oldatcseppek keletkeznek. Ezekből az oldatcseppekből az oldószert elpárologtatják, és az így keletkezett ionok jutnak be az analizátorba. Lágy ionizációs technika, többszörösen töltött molekulák is létrejöhetnek, fragmentációtól mentes. A mérés végen tömegspektrumot kapunk, amely az m/z hányados függvényében ábrázolja a relatív intenzitást.

5. Eredmények és értelmezésük

5.1. A ligandumok protonálódási folyamatai

Bár a felhasznált ligandumok protonálódási állandóit már korábban is meghatározták, ezt mi is elvégeztük azért, hogy a mi kísérleti körülményeinknek megfelelő paraméterek mellett ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,20\text{ mol/dm}^3$ KNO_3 -ra nézve) is rendelkezésünkre álljanak ezek az adatok. Ezért az összes ligandumból pontos tömegszerinti beméréssel törzsoldatokat készítettünk, melyeknek hatóanyagtartalmát és a ligandumok protonálódási állandóit pH-potenciometriás mérésekkel a Gran-féle linearizálást felhasználva meghatároztunk.⁽¹⁹⁾ A ligandumok protonálódási állandói, valamint a különböző rendszerekben keletkező komplexek stabilitási állandóit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat: A DL-cisztein (Cys), a cisztein metilésztere (CysMe), és az N-acetilcisztein (AcCys) protonálódási állandói, valamint a fémionos rendszerekben keletkező komplexek stabilitási állandói

	Cys		CysMe		AcCys
$\log K_{\text{HA}}$	10,26 (1)		8,93 (1)		9,51 (1)
$\log K_{\text{H}_2\text{A}}$	8,17 (1)		6,58 (2)		3,09 (1)
$\log K_{\text{H}_3\text{A}}$	1,87 (1)		-		-
pH_{max}	9,0		4,0		11,0
modell	A	B	A	B	A
$\log \beta_{[\text{RuAH}]^+}$	20,60 (4)	20,62 (5)	-		-
$\log \beta_{[\text{RuA}]}$	13,91 (4)	-	15,78 (4)	-	-
$\log \beta_{[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}]^+}$	-		-		29,48 (5)
$\log \beta_{[\text{Ru}_2\text{A}_2]}$	-	30,72 (8)	-	33,90 (8)	26,05 (7)
$\log \beta_{[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-}$	-		-		21,46 (8)
$\log \beta_{[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}}$	42,06 (7)	42,09 (9)	-		-
illesztés ($\times 10^{-3}$)	5,95	6,87	7,56	7,62	8,20
mérési pontok	168	168	117	117	143

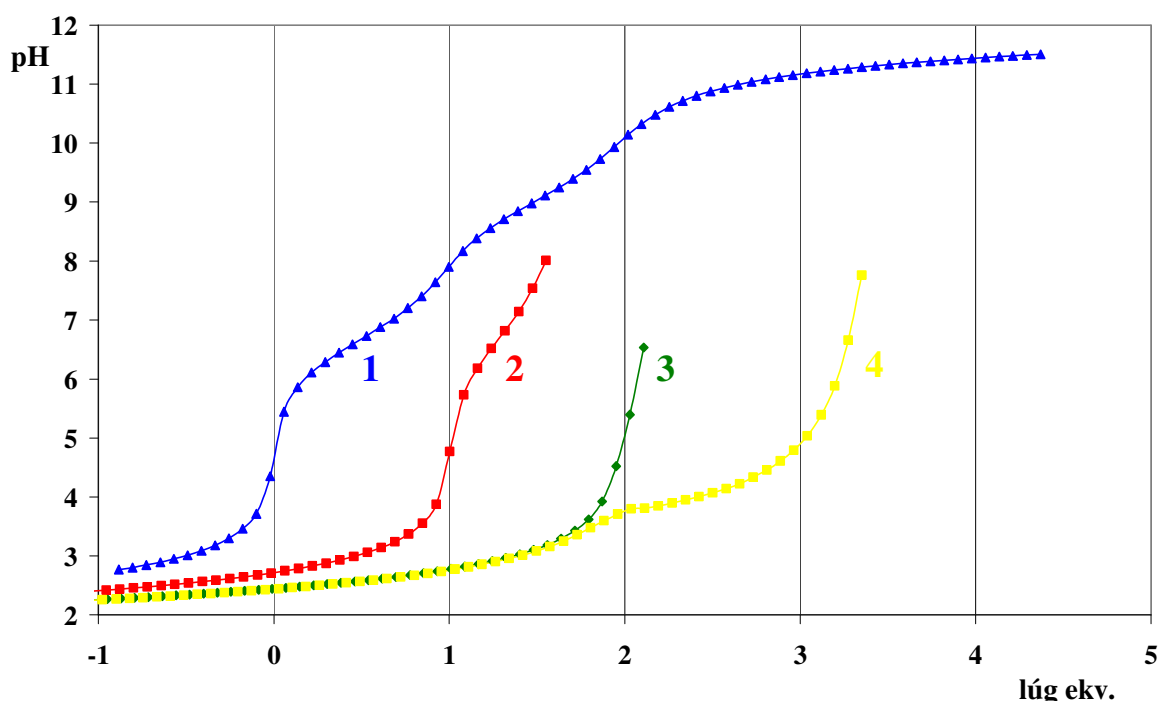
A Cys esetében három protonálódási állandó van. A legnagyobb a tiolátcsoporthoz, a második az aminocsoport, a harmadik pedig a karboxilátcsoporthoz tartozó érték. A CysMe esetében a szabad karboxilcsoport helyett metil észtere található a molekulában, így ennek nincs protonálódási állandója. Az AcCys esetén pedig az aminocsoport van blokkolva egy peptidkötéssel, így itt ehhez a védett csoporthoz nem rendelhető protonálódási folyamat. Az 1. táblázat adataiból látszik, hogy amíg a CysMe esetén az aminocsoport bázicitása kisebb addig az AcCys esetén a karboxilátcsoporthoz bázicitása nagyobb, mint a megfelelő donortomok értékei a cisztein esetén. Az AcCys esetén a karboxilátcsoporthoz nagyobb bázicitása azzal magyarázható, hogy itt nincs lehetőség az aminosavakra jellemző ikerionos szerkezet kialakulására, ezért a karbonsavakhoz közeli protonálódási állandó értékkel rendelkezik (pl. $\text{pK}_{\text{ecetsav}} = 4,73$). A cisztein tiolátcsoporthoz bázicitása mindkét származékánál nagyobb. A protonálódási állandók jó egyezést mutatnak a tanszéken korábban azonos kísérleti körülmények meghatározott értékekkel.

5.2. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kéndonor ligandum rendszerek

TDK dolgozati munkám során a cisztein és a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation kölcsönhatását vizsgáltuk oldatfázisban, hogy megállapíthassuk a keletkező komplexek stabilitási állandóit és javaslatot tegyünk lehetséges szerkezetükre. Az irodalmi előzményekben bemutatottak alapján feltételezhető többmagvú, különböző protonáltsági fokú komplexek keletkezése, melyekben a cisztein akár mindhárom donortomjával is koordinálódhat a ruténiumionhoz. Ezért a lehetséges szerkezetek felderítéséhez a cisztein oxigén- (cisztein metilésztere) és nitrogén donortomján (N-acetilcisztein) védett modellvegyületeinek kölcsönhatását is vizsgáltuk a félszendvics ruténium(II)ionnal.

5.2.1. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -cisztein metilésztere rendszer

A Ru-CysMe (Ru = $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$) rendszer titrálási görbéit felvettük és lúg ekvivalensre átszámolva a 9. ábrán mutatjuk be. Itt a lúgos tartományban feltehetően a fémion hatására bekövetkező ligandum hidrolízis miatt irreverzibilis, lassú folyamatok játszódtak le, a pH még 15 perc várakozási idő esetén sem állt be. Ezért ebben a rendszerben csak a savas szakaszok eredményeit tudtuk felhasználni a kiértékelés során ~4,0-es pH-ig.

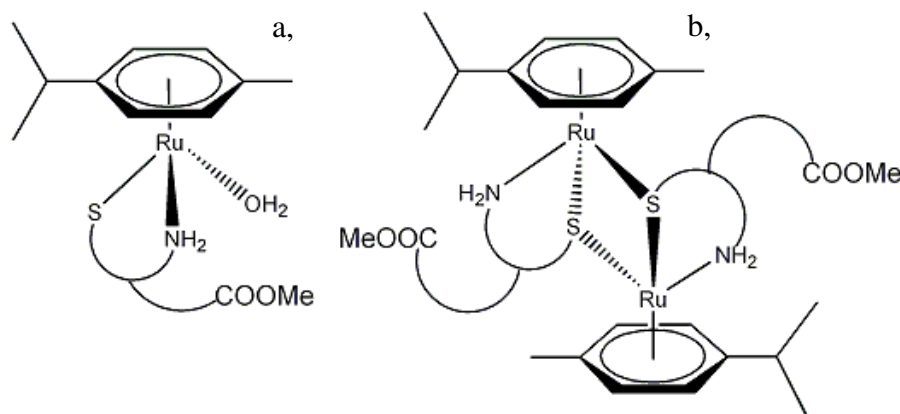


9. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -CysMe rendszer titrálási görbéi; (1) a ligandum, (2) az 1:2 arányú, (3) az 1:1 arányú és (4) az 1,68:1 arányú rendszer titrálási görbéje

A görbék vizsgálatával látható, hogy itt jelentős pH-effektus lép fel már kiinduláskor is. A szabad ligandum és a fémiont is tartalmazó rendszerek görbéje pH 2,3 felett válnak el egymástól, tehát ekkor már megindul a komplexek képződése. Az 1:1 fémion:ligandum arányú görbe esetén pH 5,0-ig két ekvivalens extra lúg fogyott, ez azt valószínűsíti, hogy a fémion a ligandum mindkét protonját leszorítva koordinálódott és $[\text{RuA}]$ összetételű komplex keletkezett. Ezt a feltételezést az 1:2 arányú görbe is megerősíti. Itt a ruténiumion az előzőhöz képest fele akkora mennyiségben van jelen, így 1:1 komplexet képezve fele annyi ligandumról tud protont eltávolítani, ezért egy ekvivalens többlet fogyást kell tapasztalnunk, amit a görbén is megfigyelhetünk. Ebből feltételezhető, hogy a CysMe a fémionnal stabil komplexet képez és valószínűleg $[\text{S},\text{N}]$ koordinációval kapcsolódik, kétfogú ligandumként,

egy öttagú kelátot létrehozva (lásd 10/a ábra). A harmadik koordinációs helyhez egy víz kötődhet, ami lúgos közegben átalakulhat hidroxiddá, de ezt a nagyobb pH-tartományban jelentkező irreverzibilis folyamatok miatt nem tudjuk megvizsgálni. Azonban látható, hogy az 1:1 arányú görbe nem ugrik fel élesen két lúg ekvivalensnél, hanem valamilyen extra lúgfogyasztó folyamat még lejátszódik. A fémiont feleslegben tartalmazó görbét vizsgálva látható, hogy pH 3,0 körül elválnak az 1:1 arányú görbétől majd egy újabb lúgfogyasztó folyamat játszódik le, amihez a feleslegben lévő ruténium(II)ion hidrolízise rendelhető.

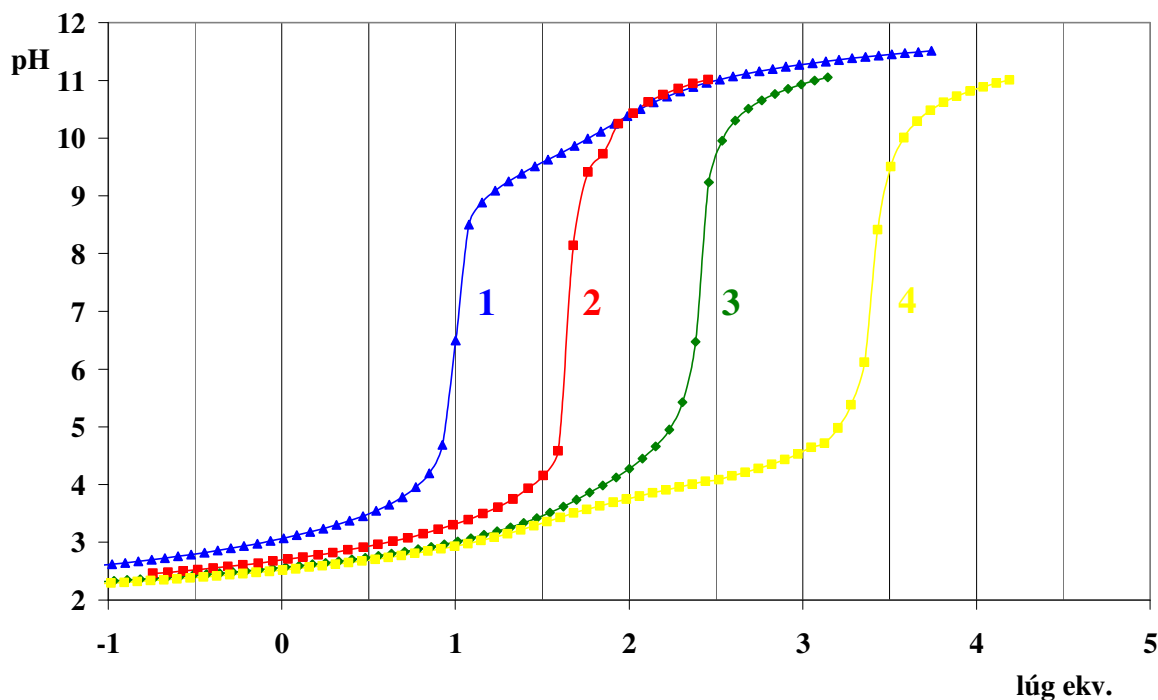
A kén többmagvú komplexeket is kialakíthat (lásd irodalmi előzmények), ezért feltételezhető $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ összetételű vegyület keletkezése is, melynek pH-effektusa ugyanakkora, mint a $[\text{RuA}]$ komplexnek. Ebben a komplexben is a ligandum [S,N] kelátot képezhet a ruténiumionnal, valamint a tiolátsoport két fémionhoz is kapcsolódhat egyszerre. Az így két kénhíddal összekötött dimer szerkezetet a 10/b ábrán mutatjuk be. A titrálási görbék értékelésére két modell feltételezésével is jó közelítést kaptunk, a számolt eredményeket az 1. táblázatban foglaltuk össze. Az egymavú ($[\text{RuA}]$) és a kétmagvú ($[\text{Ru}_2\text{A}_2]$) komplex stabilitási állandóját nem tudtuk egymás mellett kiszámolni. Mivel ebben a rendszerben a ligandum hidrolízise is lejátszódott így a savas pH-tartományból kapott stabilitási állandókat is csak közelítő értékeknek fogadhatjuk el.



10. ábra: A $[\text{RuA}]$ (a) valamint a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ (b) komplexek feltételezett szerkezetei

5.2.2. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -N-acetilcisztein rendszer

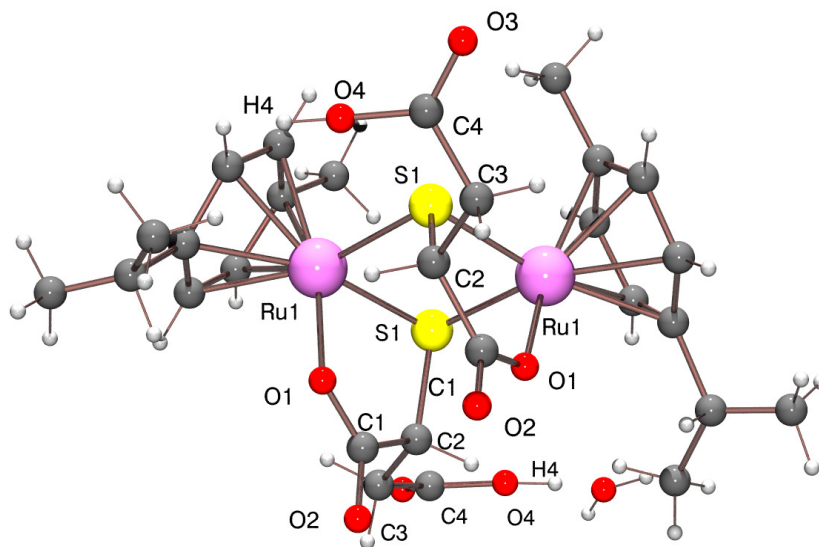
Az AcCys esetén is felvettük a rendszer titrálási görbéit, és lúg ekvivalensre átszámolva ábrázoltuk azokat (lásd 11. ábra).



11. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -AcCys rendszer titrálási görbéi; (1) a ligandum, (2) az 1:2 arányú, (3) az 1:1 arányú és (4) az 1,66:1 arányú rendszer titrálási görbéje

A görbék vizsgálva feltételezhető, hogy már pH ~2,4-nél megkezdődik a komplexképződés. Az 1:1 arányú görbén látható, hogy pH 4,0-ig közel egy ekvivalens extra lúg fogyott a szabad ligandumhoz képest. Ez azt jelenti, hogy a ligandum itt már teljesen deprotonálódott és komplexet képez, így $[\text{RuA}]$ összetételű részecske képződését valószínűsíthetjük. A görbén pH 7,0-ig még csaknem fél ekvivalens többlet lúgfogyást láthatunk. Ha a $[\text{RuA}]$ összetételű komplexhez még egy víz is koordinálna és az deprotonálna, akkor még egy ekvivalens lúgfogyást kellene tapasztalnunk. A közel fél ekvivalens fogyás inkább azzal magyarázható, hogy két fémiont tartalmazó részecske keletkezik a rendszerben. A feleslegben fémiont tartalmazó görbe itt is pH 3,0-nál válik el az 1:1 arányútól és újabb lúgfogyasztó folyamatban a fémionfelesleg hidrolízise játszódik le. Az eredmények leírására a legjobb közelítést az 1. táblázatban feltüntetett kétféleképp, különböző protonáltsági fokú komplexek feltételezésével kaptuk.

A dimer komplexek szerkezetét a kutatócsoportban előállított $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation merkaptoszukcináttal alkotott kétmagvú komplexének egykristály röntgendiffrakciós szerkezete alapján javasoltuk (lásd 12. ábra).⁽²¹⁾



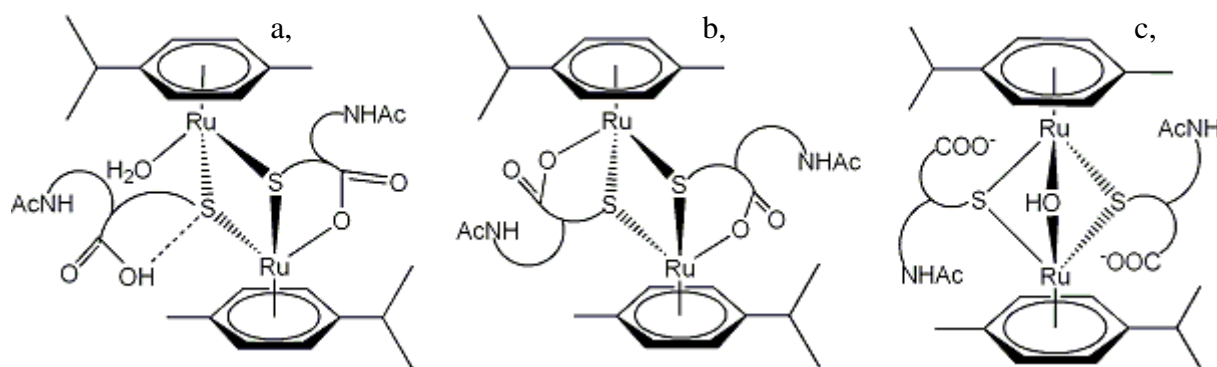
12. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ röntgendiffrakciós képe⁽²¹⁾

A 12. ábrán látható, hogy a merkaptoszukcinát [S,O] koordinációval kapcsolódik a ruténiumionhoz, öttagú kelátot létrehozva. A kén még egy fémionhoz is koordinálódik, így a két ligandum tiolátcsoportjai a két ruténiumion között kénhidakat hoznak létre, így összekapcsolva azokat.

A Ru-AcCys rendszerben keletkező komplexek esetén is hasonló szerkezetet feltételezhetünk. A $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ komplexben az [S,O] koordinációval hattagú kelát jöhet létre, valamint a két ruténiumiont a két ligandum tiolátcsoportjai kötik össze elfoglalva így a fémion összes koordinációs helyét (lásd 13/b ábra).

A $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}]^+$ komplex esetén feltehetően az egyik ligandum karboxilátcsoportja alakít ki a fémionnal [S,O] kelátot, míg a másik protonált formában van, és nem koordinálódik a ruténiumionhoz. Ez a karboxilcsoport hidrogén-kötést alakíthat ki a saját tiolátcsoportjával, így egy hattagú gyűrűt létrehozva (lásd 13/a ábra). Ezzel magyarázható a $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}]^+$ és a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ komplexek stabilitási állandója közötti különbség ($\text{p}K_{[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}]^+} = 3,43$). Ez nagyobb, mint a szabad ligandumban a karboxilátcsoport protonálódási állandója ($\log K_{\text{COO}^-} = 3,09$), de a hidrogén-kötés miatt kialakuló extra stabilitás miatt ez lehetséges.

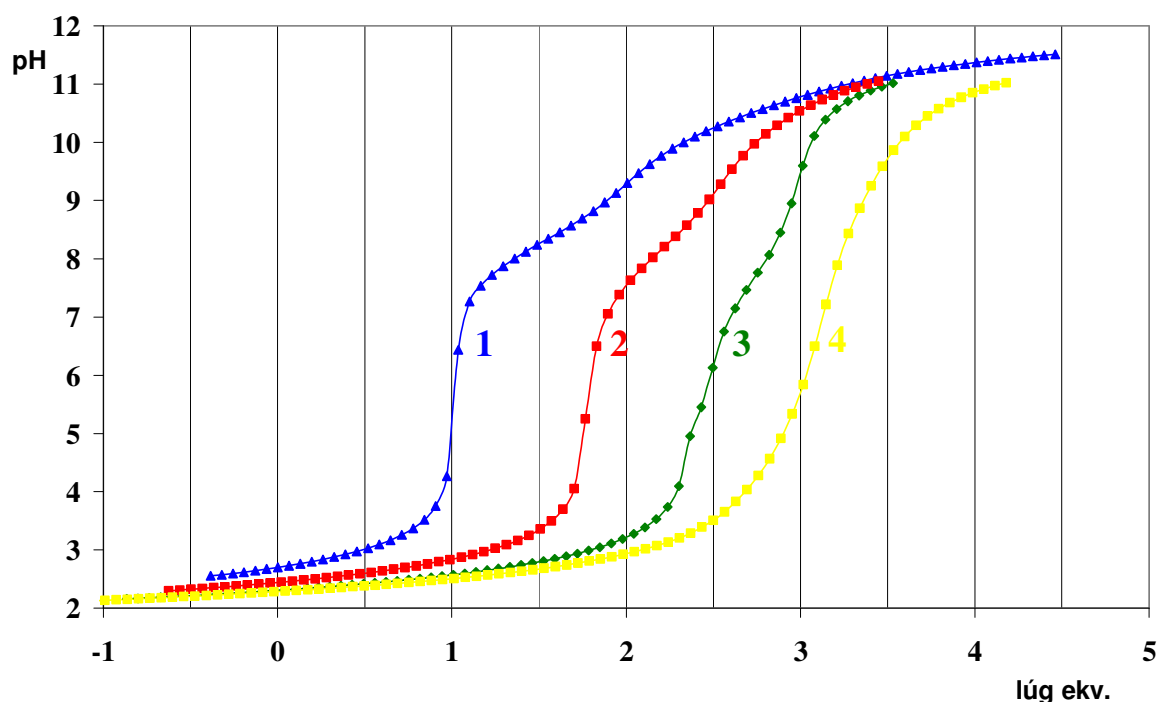
A lúgos tartományban a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ komplex átalakulásával $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-$ összetételű vegyület képződik. Itt feltehetően a hidroxidion kiszorítja a ruténiumionhoz kapcsolódó karboxilátcsoportok oxigén donoratomjait és a helyükre koordinálódik, hidat képezve a két fémion között a már meglévő két kénhíd mellett, így kialakítva a 13/c ábrán látható szerkezetet. A $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ és a $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexek stabilitás állandója közötti különbség ($\text{p}K_{[\text{Ru}_2\text{A}_2]} = 4,59$) megfelel annak a pH értéknek, ahol elkezdődik a $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplex keletkezése. A 13/c ábrán bemutatott szerkezetet az támasztja alá, hogy két fémion esetén történik közel másfél ekvivalens lúgfogyás, ami triplahidas dimer szerkezetet sugall, hasonló a jól dokumentált $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_3^+$ szerkezetéhez. Ezek alapján az a következtetés vonható le, hogy a karboxilátcsoport csak savas körülmények között képes koordinálódni a ruténiumionhoz, a lúgos tartományban a hidroxidion képes kiszorítani.



13. ábra: A $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}]^+$ (a), a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ (b) és a $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-$ (c) komplexek szerkezete

5.2.3. A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -cisztein rendszer

A két modellvegyület vizsgálata után tanulmányoztuk a cisztein kölcsönhatását is a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kationnal. Felvettük a rendszer titrálási görbéit csak ligandumot, valamint fémiont és ligandumot különböző arányokban tartalmazó minták esetében is. A kapott eredményeket lúg ekvivalensre átszámoltuk és így ábrázoltuk őket (lásd 14. ábra).



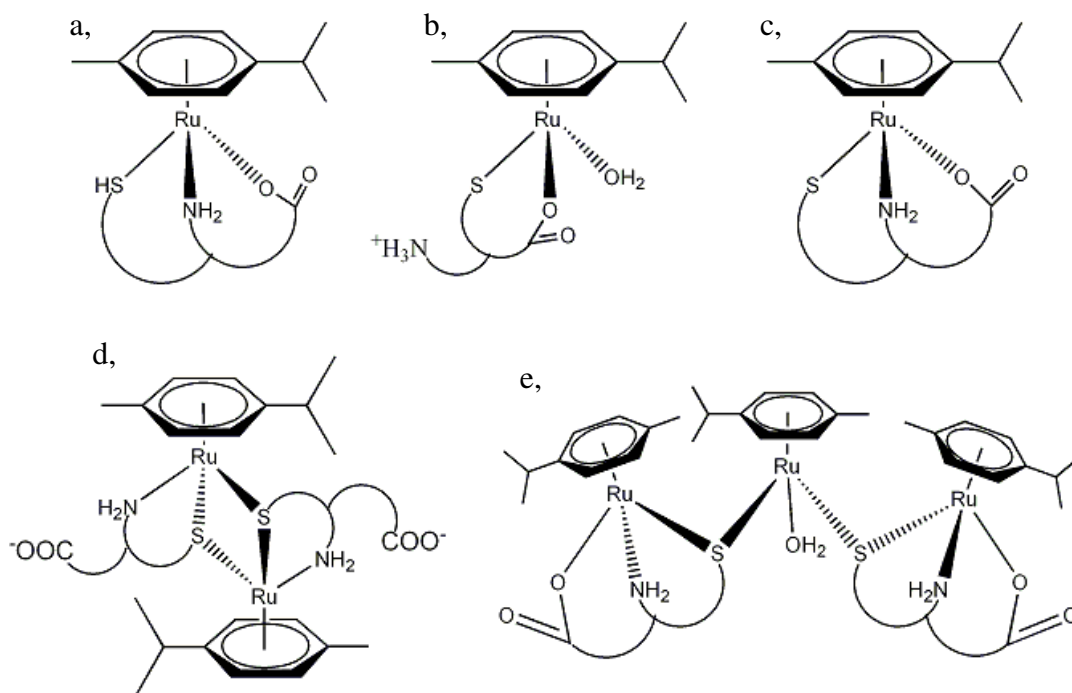
14. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -Cys rendszer titrálási görbéi; (1) a ligandum, (2) a 0,85:2 arányú, (3) a 0,85:1 arányú és (4) az 1,41:1 arányú rendszer titrálási görbéje

A titrálási görbék már pH ~2,0 felett elválnak egymástól, így már itt megkezdődik a komplexképződés. Az 1,41:1 arányú görbét vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy két ekvivalens extra lúg fogyott pH 6,0-ra. Ez a fogyás arra utal, hogy ~1,5 ekvivalensnyi fémion lezorította a cisztein összes protonját és komplexet képez vele. Ez alapján főtermékként 1,5:1 összetételű komplex alakulhatna ki, ami nem lehetséges, ezért a legkisebb közös többszörösüknek megfelelő $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ részecske keletkezését valószínűsíthetjük. A 0,85:1 arányú görbénél pH 6,0-ig 1,5 ekvivalens extra lúg fogyott, ami a $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ komplex nagy mennyiségben való képződésével és a feleslegben lévő ligandum deprotonálódásával magyarázható. A titrálási görbék értékelése során két modell feltételezésével is jó közelítést kaptunk a mérési eredményekre és 9,0-es pH-ig tudtunk stabilitási állandókat számolni a komplexekre (lásd 1. táblázat).

A kutatócsoportban már vizsgálták a félszendvics ruténium(II)kation kölcsönhatását DL- α -alaninnal, ahol a létrejövő [N,O] kelátot tartalmazó $[\text{RuA}]^+$ komplex stabilitási állandóját meghatározták ($\log\beta_{[\text{RuA}]^+} = 8,60$).⁽²²⁾ Ez alapján valószínűsíthető, hogy a cisztein nem csak [N,O] koordinációval kötődik a ruténiumionhoz, mivel mi sokkal nagyobb stabilitási állandó értéket kaptunk (lásd 1. táblázat), valamint a kénnek sokkal nagyobb a bázicitása, így preferált a kötődése.

A $[\text{RuAH}]^+$ és a $[\text{RuA}]$ stabilitási állandója közötti különbség ($\text{p}K_{[\text{RuAH}]^+} = 6,69$) alapján a $[\text{RuAH}]^+$ komplexre kétféle szerkezetet is feltételezhetünk, melyeket a 15/a és a 15/b ábrán mutatunk be. Az a, szerkezet esetén a cisztein tiolátcsoportja protonált, ekkor háromfogú ligandumként koordinálódik a ruténiumionhoz. A b, szerkezet esetén az aminocsoport protonált és így nem tud kötődni a fémionhoz, így egy hattagú [S,O] kelát valósul meg.

Mindkét feltételezett $[\text{RuAH}]^+$ komplex egy deprotonálódási lépésben átalakulhat a $[\text{RuA}]$ részecskévé, amelyben a cisztein feltételezhetően háromfogú ligandumként [S,N,O] koordinációval kötődik a ruténiumionhoz (lásd 15/c ábra).



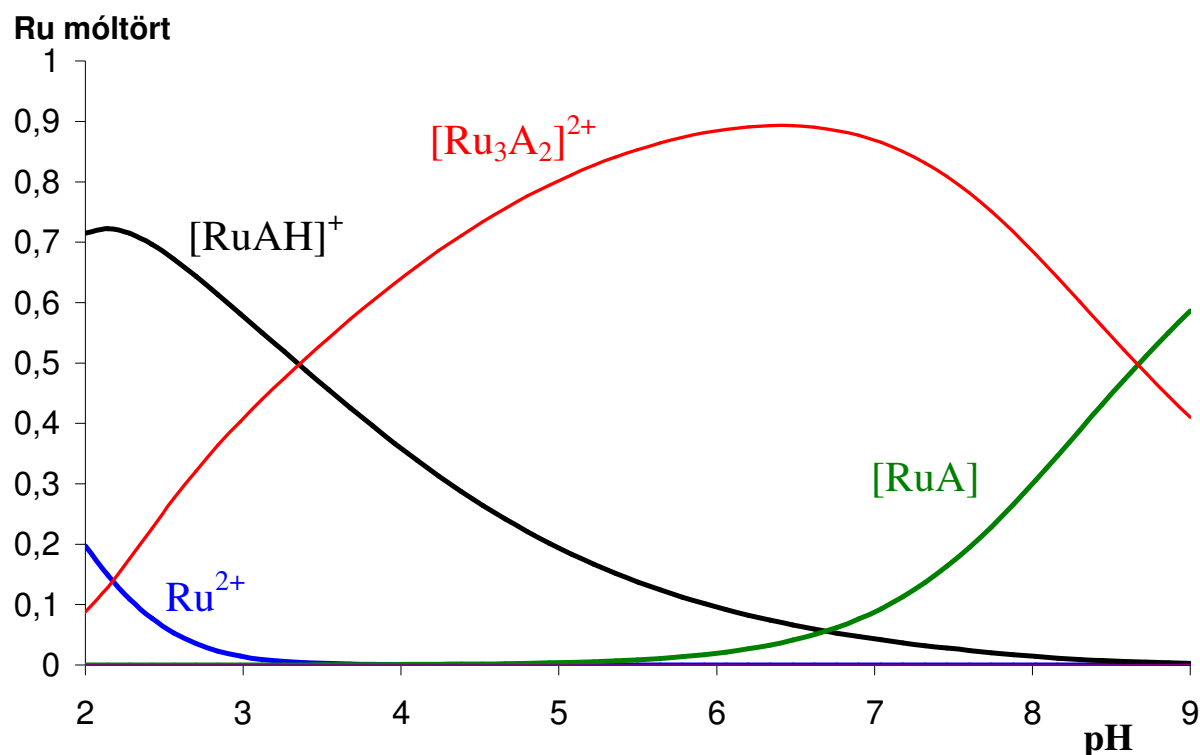
15. ábra: A $[\text{RuAH}]^+$ két lehetséges szerkezete (a és b), valamint a $[\text{RuA}]$ (c), a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ (d) és a $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ (e) komplexek feltételezett szerkezetei

Az eddigi eredmények alapján itt is feltételezhetjük kénhidas dimer kialakulását ($[\text{Ru}_2\text{A}_2]$, lásd 15/d ábra), melyhez hasonló szerkezetet rendelhetünk, mint a Ru-CysMe rendszer esetén keletkező nagy stabilitású komplexnél valószínűsítettünk. Itt a két kénhíd mellett a ligandumok öttagú [S,N] kelátokat alakíthatnak ki a fémionnal. A $[\text{RuA}]$ és $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$

komplexek hasonló pH-effektussal rendelkeznek, így egymás mellett nem tudtuk illeszteni őket a titrálási görbék kiértékelésekor.

A $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ komplex esetén a $[\text{Ni}_3\text{A}_4]^{2-}$ (lásd irodalmi előzmények) részecske szerkezete alapján feltételezzük, hogy a két cisztein, két félszendvics ruténiumion összes koordinációs helyét elfoglalva, 1:1 összetételű komplexeket hoz létre, melyek fémionfelesleget is képesek megkötni a tiolátcsoportjaikon keresztül, így a harmadik ruténiumion köti össze ezeket a $[\text{RuA}]$ komplexeket (lásd 15/e ábra).

A rendszerben meghatározott stabilitási állandók alapján (lásd 1. táblázat, Cys modell A) a 16. ábrán bemutatott koncentráció-eloszlási görbék szerkeszthetők 1:1 ruténiumion:cisztein arány mellett. Látható az ábrán, hogy pH 5,0-től pH 8,0-ig a $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ komplex van jelen a legnagyobb mennyiségben a rendszerben. Az is látható, hogy már kiinduláskor is nagy százalékban a fémion komplexben van, valamint a fémion hidroxokomplexének keletkezését a cisztein teljesen visszaszorította a vizsgált pH tartományban.



16. ábra: A ruténiumion:cisztein=1:1 arányú rendszer koncentráció-eloszlási görbéi
($c_{\text{Ru}}=c_{\text{Cys}}=0,002 \text{ mol/dm}^3$)

5.2.4. NMR-eredmények

Mindhárom rendszerben a keletkező részecskék összetételének, és szerkezetének tanulmányozására NMR-titrálásokat is végeztünk.

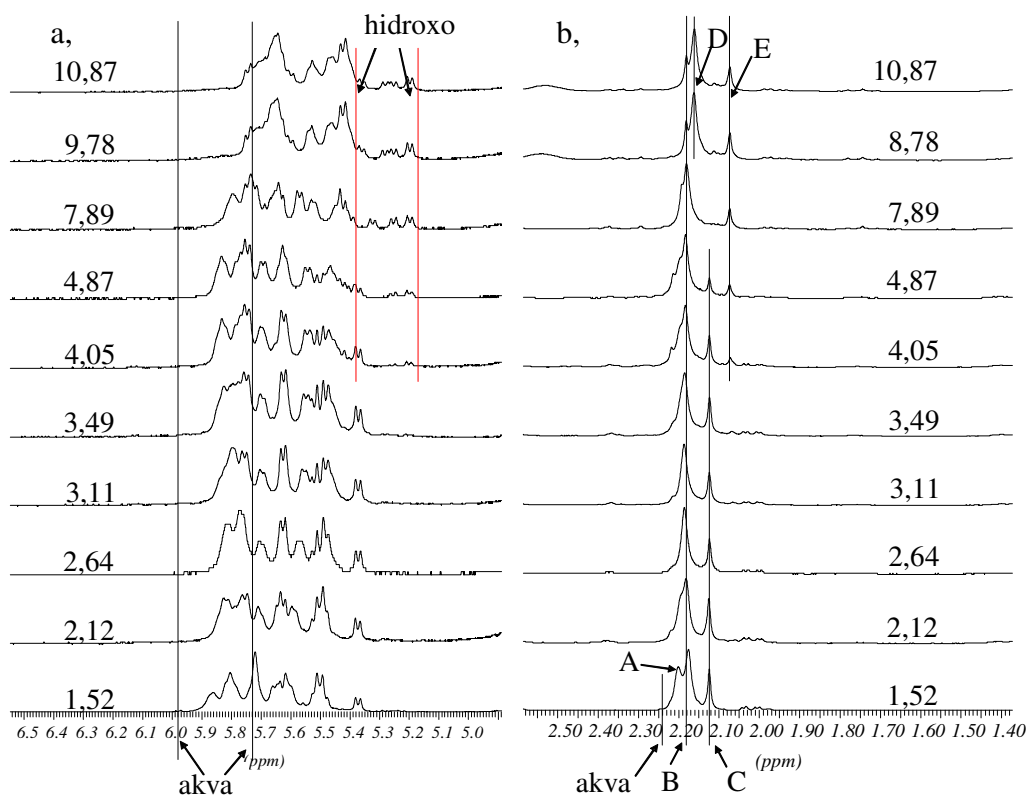
A Tanszéken korábban már tanulmányozták a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation hidrolitikus tulajdonságait kloridmentes közegben vizsgálva a η^6 -kötésmódú p -cimol hidrogén jeleinek kémiai eltolódását a pH-függvényében. Minden tartományban azt tapasztalták, hogy a kezdetben jelenlévő $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kation pH 3,5-nél elkezd átalakulni a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ -ionná, mely pH 4,5 felett teljesen felváltja az akvakomplexet.⁽⁴⁾ A különböző ligandumokat tartalmazó félszendvics ruténiumion rendszerek esetén vizsgálva a különböző tartományokat, az akva- és a hidroxokomplexek jeleitől eltérő kémiai eltolódás értékeknél megjelenő jelek komplexekre utalnak. Ez azzal magyarázható, hogy a fémionhoz koordinálódó ligandum megváltoztatja a η^6 -kötésmódú p -cimol „kalap” hidrogénjeinek kémiai környezetét is, így más kémiai eltolódásértékeket eredményez.

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**CysMe** rendszer NMR-titrálását elvégeztük 1:1 fémion:ligandum arány mellett. Kiszélesedett jeleket találtunk minden tartományban, valamint a ligandum hidrolízisére során keletkező metanol jele is megjelent ($\delta_{\text{MeOH}} = 3,34$ ppm) már a savas tartományban is. Ezek alapján feltételezhető, hogy a cisztein metilésztere mellett a hidrolízis során keletkező cisztein is jelen volt a rendszerben, így nem tudtuk a kapott eredményeket kiértékelni, ezért ezek bemutatását is kihagytuk.

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**AcCys** rendszer 1:1 arányú NMR-titrálását is elvégeztük. Itt miközben feloldottuk a ligandumot a kloridmentesített ruténiumion-törzsoldatban csapadékképződést tapasztaltunk. A keletkezett narancssárgás színű szilárd anyagot leszűrtük és így végeztük el a szűrleten a méréseket. Az eredményeket vizsgálva az aromás hidrogének tartományában jelentős mennyiségű szabad akvakomplex jelenlétét láttuk kiinduláskor, mely pH 4,5 felett átalakult a fémion hidroxokomplexévé. A szabad ruténiumion jelei mellett kevés komplexre utaló jel volt, ebből arra következtethetünk, hogy a kivált csapadék komplex volt. Ezért az NMR-titrálási eredmények bemutatását itt is kihagytuk. A pH-potenciometriás titrálások során nem vált ki szilárd anyag, valószínűleg azért mert itt kisebb koncentrációkat alkalmaztunk és így még oldatban maradt a részecske.

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -Cys rendszer vizsgálatát is elvégeztük NMR-titrálással két különböző fémion:ligandum arány mellett. Az 1:1 összetételű rendszer esetén a *p*-cimol gyűrűmetil jelének vizsgálata volt a legcélravezetőbb (szinglet), melyet a 17/b ábrán mutatunk be. Azt tapasztaltuk, hogy kevés szabad akvakomplex van jelen kiinduláskor ($\delta_{\text{akva}} = 2,24$ ppm), mellette viszont három nagy mennyiségben jelen lévő komplex jele látható ($\delta_A = 2,20$ ppm, $\delta_B = 2,18$ ppm, $\delta_C = 2,12$ ppm). A lúgos tartományban a kiindulási három részecskéből csak a B marad meg és mellette két másik részecske keletkezik ($\delta_D = 2,16$ ppm, $\delta_E = 2,07$ ppm). Fontos, hogy a fémion hidrolízisét ($\delta_{\text{hidroxo}} = 2,08$ ppm) teljesen visszaszorította a cisztein. A jelek egyértelmű azonosítása további vizsgálatok elvégzését igényli.

Az aromás hidrogének jeleit vizsgálva (lásd 17/b ábra) itt is hasonló következtetéseket vonhatunk le. Itt egy részecskéhez két dublet tartozik, mivel a *p*-cimol négy aromás hidrogénje közül kettő-kettő kémiaiailag ekvivalens. A gyűrűmetil tartományban jelentkező komplexekhez itt is megvannak a hozzátartozó dublet-párok, de ezek azonosítása az összeolvadt, bonyolult jelek miatt nem lehetséges. Látható viszont, hogy a piros vonallal jelölt hidroxokomplex itt sem jelenik meg a lúgos tartományban összhangban a gyűrűmetil jelekkel.



17. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -Cys rendszer 1:1 arányú minták aromás hidrogénjeinek (a) és gyűrűmetil hidrogénjeinek (b) jelei

A 2:1 arányú fémfelesleges eredményeket tanulmányozva az aromás protonok jelein (ezt nem mutatjuk be) azt tapasztaltuk, hogy nagyobb mennyiségben van szabad fémion akvakomplex kiinduláskor ($\delta_1 = 5,98$ ppm, $\delta_2 = 5,73$ ppm), mely a lúgos tartományban átalakul a hidroxokomplexé ($\delta_1 = 5,38$ ppm, $\delta_2 = 5,18$ ppm). Mellettük több komplexre utaló jel is megjelenik. A pH 2,5-7,2 tartományban a szabad fémion jelei eltűntek és itt nagyon kiszélesednek a jelek, ami arra utal, hogy a rendszerben itt olyan részecskék keletkezhetnek, melyek között az NMR időskálájával összemérhető sebességű cserefolyamatok játszódhatnak le. Ez a bonyolult állapot megfigyelhető az 1,41:1 arányú Ru-Cys rendszer titrálási görbéjén is, ahol nincs éles ugrás ebben a tartományban (lásd 14. ábra). A gyűrűmetil jelek is hasonló, bonyolult rendszerre utalnak.

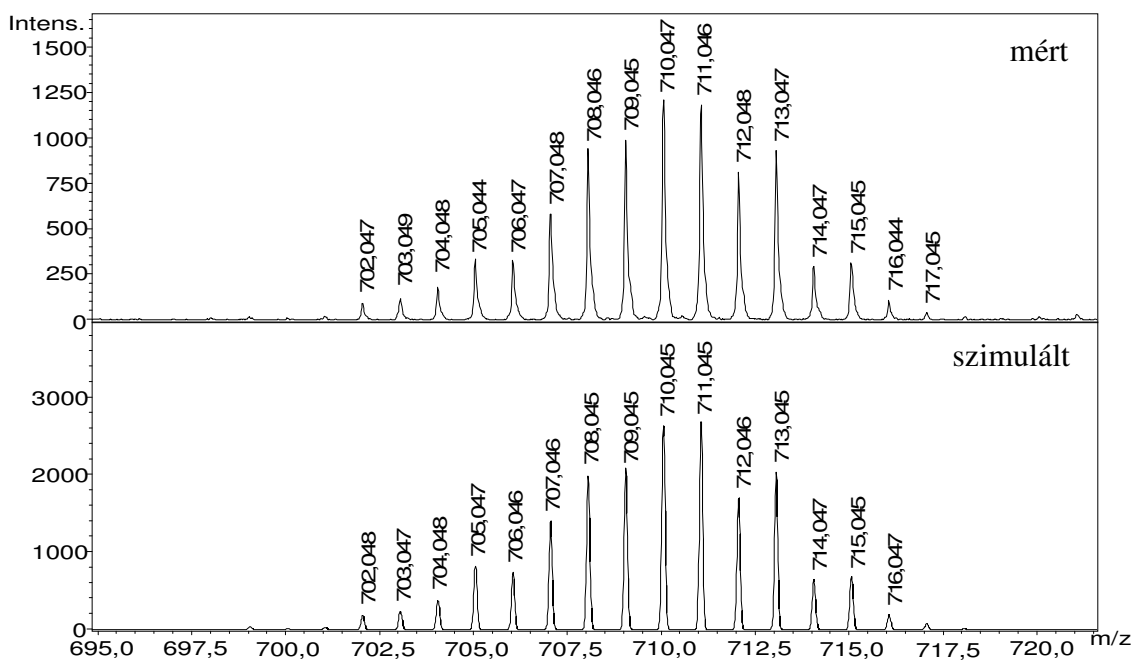
5.2.5. ESI-MS-eredmények

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -Cys rendszer esetén ESI-MS spektrometriás vizsgálatokat is végeztünk. A spektrumokat itt is különböző pH értékeken vettük fel. Két fő komplex jelenlétét mutatták az eredmények. Az egyik a $[\text{RuA}]$, a másik a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ komplex volt, melyek semlegesek, így egy protont vagy káliumiont felvéve repültek és így egyszeresen pozitív töltésűek lettek. A $[\text{RuA}]$ részecske egy protonnal repülve megfelel a $[\text{RuAH}]^+$ komplexnek is, mivel m/z hányadosuk és töltésük megegyezik. A mért m/z adatok és a természetes izotópeloszlás is jó egyezést mutattak mindkét fő vegyület esetén a szimulált eredményekkel, melyeket a 2. táblázatban foglaltunk össze. Bár a tömegspektrumokban nem találtunk $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ komplexre utaló jelet, a pH-potenciometria alátámasztja képződését. Elképzelhető, hogy a kén-hidas $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ ESI-MS körülmények között nem stabilis, $[\text{RuA}]$ egységekre esik szét, ezért nem sikerült detektálnunk.

2. táblázat: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -Cys rendszerben keletkező részecskék ESI-MS spektrumainak mért és szimulált eredményei

Ru-Cys rendszer ESI-MS	mért eredmények (m/z)	szimulált eredmények (m/z)
$[\text{RuA}]+\text{H}^+=[\text{RuAH}]^{+1}$	356,027	356,024
$[\text{RuA}]+\text{K}^+$	393,983	393,983
$[\text{Ru}_2\text{A}_2]+\text{H}^+$	711,047	711,044
$[\text{Ru}_2\text{A}_2]+\text{K}^+$	749,003	749,003

Példaként a $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ komplex mért és szimulált spektrumát mutatjuk be a 18. ábrán. Ez a spektrum is bizonyíték arra, hogy a vizsgált rendszerekben keletkezhetnek kétmagvú részecskék.



18. ábra: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -Cys rendszerben keletkező $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ komplex mért és szimulált spektrumai

6. Összefoglalás

A rákellenes hatású félszendvics fémorganikus ruténium(II)vegyületek a szervezetbe kerülve kölcsönhatásba léphetnek a vérérum kis- és nagy molekulatömegű alkotóival. Ezért a Tanszéken vizsgálták az [O,O] donor kelátképző részecskék közül az oxalát, a laktát és a citrát kölcsönhatását a félszendvics ruténium(II)ionnal. Az eredmények alapján olyan nagy stabilitású komplexek keletkezése is lehetséges, amelyek még fiziológiás körülmények között ($\text{pH} = 7,4$) is képesek megakadályozni a fémion hidrolízisét. Így merült fel a nagyobb bázicitású kén donoratomot tartalmazó **DL-cisztein** kölcsönhatásának vizsgálata a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -kationnal. A cisztein mellett két másik modellvegyületének (**CysMe**, **AcCys**) komplexképző sajátosságait is megvizsgáltuk.

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**CysMe** rendszer esetében, a lúgos tartományban feltehetően a fémion hatására bekövetkező ligandum hidrolízis miatt irreverzibilis, lassú folyamatok játszódtak le, így csak a savas pH-tartomány értékelése volt lehetséges. Ezen a szakaszon egyes/vagy kétmagvú, nagy stabilitású komplexek keletkeznek, melyekben a ligandum [S,N] koordinációval öttagú kelátot valósíthat meg.

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**AcCys** rendszerben képződő kénhidakkal összekötött kétmagvú $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ részecske szerkezetét a félszendvics ruténium(II)ion merkaptoszukcináttal képzett komplexének egykristály röntgendiffrakciós szerkezete alapján feltételeztük. A komplexben [S,O] koordinációval hattagú kelátok jöhetnek létre, viszont a lúgos tartományban a hidroxidion a koordinálódó karboxilátcsoportokat kiszoríthatja. Olyan komplex keletkezhet $([\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-)$, melyben a hidroxidion egyszerre két fémionhoz is kötődhet, így a meglévő két kénhíd mellett a $\{[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_3\}^+$ részecskéhez hasonló triplahidas dimer szerkezet alakulhat ki.

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**Cys** rendszerre kapott eredmények alapján feltételezhető, hogy a $[\text{RuA}]$ komplexben a cisztein háromfogú ligandumként, [S,N,O] koordinációval kötődik a ruténium(II)ionhoz. Feltehetően két ilyen egység kénhidakon keresztül fémionfelesleget is meg tud kötni, $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ összetételű, nagy stabilitású komplexet létrehozva.

A **Cys** és az **AcCys** fiziológiás körülmények között is képes megakadályozni a félszendvics ruténium(II)ion hidrolízisét.

7. Summary

When administered half-sandwich type organometallic ruthenium(II) compounds may interact with the low and high molecular weight components of the serum. This is the reason why the half-sandwich ruthenium(II) binding capabilities of [O,O] chelators like oxalate, lactate and citrate have been recently studied at the Department of Inorganic Chemistry. The results showed that with these ligands high stability complexes can be formed which can prevent the hydrolysis of the metal ion under physiological conditions ($\text{pH} = 7.4$). This is the background of our new research focussing on the interaction of $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ with **DL-cysteine** having high basicity S-donor atom to coordinate. Beside cysteine the complex forming properties of the model compounds (**CysMe**, **AcCys**) were also involved in the work.

For the $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**CysMe** system slow irreversible processes, most likely the metal ion induced hydrolysis of the ligand, were detected therefore the acidic part of the titration curves were only considered for calculations. It was found the either mononuclear or dinuclear complexes with high stability are formed in which five-membered [S,N] coordination of the ligand is assumed.

The sulphur bridged structure of the dinuclear complex $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ which is formed in the $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**AcCys** system was suggested by taking into account the X-ray structure of a novel complex prepared in our research group and having the same organometallic ion and 2-mercaptosuccinate. In $[\text{Ru}_2\text{A}_2]$ six-membered [S,O] chelates are assumed, however, in the basic pH-range the carboxylate arms may be replaced by a hydroxide ion. In $[\text{Ru}_2\text{A}_2\text{H}_{-1}]^-$, therefore, beside the S-donors an OH^- may put together the two metal centres resulting in a triple bridged structure similar to that of $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}]_2(\mu^2\text{-OH})_3^+$.

According to the results for the $[(\eta^6\text{-}p\text{-cym})\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ -**Cys** system in [RuA] tridentate [S,N,O] coordination of the ligand is assumed. Two such units may be bridged by a third metal ion via sulphur donors of the ligands resulting in the formation of $[\text{Ru}_3\text{A}_2]^{2+}$ with high stability.

Our results indicate that both **Cys** and **AcCys** are capable of hindering the hydrolysis of the metal ion under physiological conditions.

Irodalomjegyzék

1. P. C. A. Bruijninx, P. J. Sadler, *Adv. Inorg. Chem.*, (2009) 61, 1-51
2. Georg Süss-Fink, *Dalton Trans.*, (2010), 39, 1673-1688
3. L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó, *Dalton Trans.*, (2012), 41, 285
4. L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó, *Dalton Trans.*, (2010), 39, 10272
5. A. Coto, M. J. Tenorio, M. C. Puerta, P. Valerga, *Organometallics*, (1998), 17, 4392-4399
6. J. Hu, G. Liu, Q. Jiang, R. Zhang, W. Haung, H. Yan, *Inorg. Chem.*, (2010), 49, 11199-11204
7. D. Taher, M. Al-Noaimi, S. Mohammad, J. F. Corrigan, D. G. MacDonald, M. El-khateeb, *Inorg. Chim. Acta*, (2010) 363, 4134-4139
8. C. G. Hamaker, D. P. Halbach, *Inorg. Chim. Acta*, (2006), 359, 846-852
9. D. P. Halbach, C. G. Hamaker, *J. Org. Chem.*, (2006), 691, 3349-3361
10. C. G. Hamaker, D. P. Halbach, *Polyhedron*, (2009), 28, 2228-2232
11. Pradhumn Singh, A. K. Singh, *Organometallics*, (2010), 29, 6433-6442
12. P. R. Kumar, S. Upreti, A. K. Singh, *Inorg. Chim. Acta*, (2008), 361, 1426-1436
13. W. Kandioller, C. G. Hartinger, A. A. Nazarov, M. L. Kuznetsov, R. O. Jhon, C. Bartel, M. A. Jakupec, V. B. Arion, B. K. Keppler, *Organometallics*, (2009), 28, 4249-4251
14. S. J. Dougan, A. Habtemariam, S. E. McHale, S. Parsons, P. J. Sadler, *PNAS*, (2008), 105, 11628-11633
15. I. Sóvágó, A. Gergely, B. Harman, T. Kiss, *J. Inorg. nucl. Chem.*, (1979), 41, 1629-1633
16. M. A. Bennett, A. K. Smith, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1974) 233
17. H. M. Irving, M. G. Miles, L. D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, (1967), 38, 475
18. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1985), 1195
19. G. Gran, *Acta Chem. Scan.*, (1950), 4, 559
20. L. Zékány and I. Nagypál, in *Computational Methods for the Determination of Stability Constants*, ed.: D. Leggett, Plenum Press, New York, (1985)
21. D. Hüse, A. Bényei, P. Buglyó, *nem közölt eredmények*
22. Balogh Edina, *Szakdolgozat*, Debreceni Egyetem TEK, (2010)