

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar

Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Kémia Doktori Iskola



**Félszendvics ródium- és ruténiumkomplexek összehasonlító
oldatkémiai- és szerkezetvizsgálata, kölcsönhatásuk
biomolekulákkal**

DOKTORI (PH.D.) ÉRTEKEZÉS

Mészáros János Péter

TÉMAVEZETŐ:

Dr. Enyedy Éva Anna

egyetemi docens, MTA doktora

Szeged

2021

TARTALOMJEGYZÉK

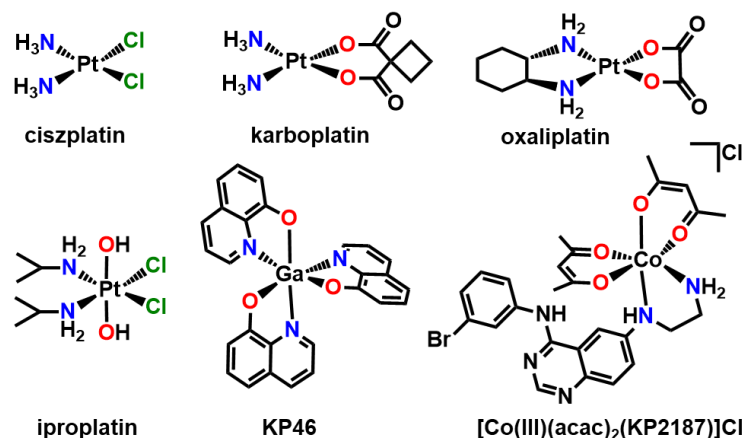
1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI HÁTTÉR	3
2.1. Rezisztencia és szelektivitás	3
2.2. Rákellenes fémkomplexek a (pre)klinikai vizsgálatokban	4
2.3. A vizsgált fémionok jellemzése	5
2.4. Az eddig vizsgált félszendvics komplexek jellemzése	7
2.4.1. RAPTA-komplexek	7
2.4.2. Az $[M(\text{arén})(O,O)(Z)]$ típusú komplexek	9
2.4.3. Az $[M(\text{arén})(N,O)(Z)]$ típusú komplexek	12
2.4.4. Az $[M(\text{arén})(N,N)(Z)]$ típusú komplexek	15
3. CÉLKITŰZÉS	21
4. KÍSÉRLETI RÉSZ	22
4.1. Felhasznált vegyszerek	22
4.2. Fémkomplexek és egykristályok előállítása és karakterizálása	23
4.2.1. (O,O) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek szintézise	23
4.2.2. (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek szintézise	24
4.2.3. (N,N) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek szintézise	25
4.2.4. $(N,N/O)(N)$ donoratomokat tartalmazó ligandumok vegyes ligandumú komplexek szintézise	25
4.3. Oldategyensúlyi vizsgálatok	26
4.3.1. pH-potenciometria	26
4.3.2. UV-látható spektrofotometria	28
4.3.3. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)	29
4.3.4. Ultraszűrés/UV-látható spektroszkópia	30
4.3.5. Spektrofluorimetria	31
4.4. Egyéb kiegészítő vizsgálatok	32
4.4.1. Egykristály röntgendiffrakciós szerkezet-meghatározás	32
4.4.2. <i>In vitro</i> citotoxicitás és antibakteriális hatás mérése, fémakkumuláció	33
4.4.3. HR-ESI-MS	34
5. EREDMÉNYEK	35
5.1. (O,O) donor ligandumok félszendvics komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata	35
5.2. Komplexképzés (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumokkal	45

5.2.1. A 2,4-dipikolinát félszendvics Rh- és Ru-komplexeinek oldatkémiai vizsgálata.....	45
5.2.2. Egy vízoldható 8-hidroxi-kinolin-aminosav hibrid oldategyensúlyi vizsgálata és komplexképző tulajdonsága	53
5.3. (N,N) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek összehasonlító vizsgálata ...	61
5.3.1. Kölcsönhatás etilén-diaminnal és származékaival.....	61
5.3.2. A fémorganikus kationok oldategyensúlyi reakciói piridin nitrogént tartalmazó ligandumokkal	67
5.4. Az meghatározott egyensúlyi állandók összehasonlítása.....	74
5.4.1. A komplexek stabilitása és a koordinált víz deprotonálódása.....	74
5.4.2. A víz-kloridion csereállandó, azaz a komplexek kloridion-affinitása	78
5.5. Egyfogú ligandumok és biomolekulák kötődése	82
5.5.1. N-donor ligandumok a harmadik koordinációs helyen	83
5.5.2. Választott félszendvics komplexek kölcsönhatása HSA-nal és DNS-sel	90
6. ÖSSZEFOGLALÁS	99
7. SUMMARY.....	102
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	105
9. KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA.....	112
10.KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	116
FÜGGELÉK	F1

1. BEVEZETÉS

A fémionok és fémkomplexek az élő szervezetekben fontos szerepet töltenek be, legyen szó akár a metalloproteinek aktív centrumairól, a fotoszintézisről vagy az ingerületek terjedéséről [1]. Sokrétű és központi szerepük nem tükröződik a gyógyszeres terápiában, mivel csekély arányban alkalmaznak fémvegyületet betegségek kezelésére [2]. Többek között Gd(III)- és Mn(II)-komplexeket használnak a mágnesesrezonancia képalkotás (MRI) kontrasztanyagaként [3], az Au(I)-tartalmú auranofint a reumatoid arthritisz kezelésére alkalmazzák [2], a különböző bizmuttartalmú vegyületek a *Helicobacter pylori* által okozott gyomorfekély ellen hatásosak [2], ill. számos radioaktív elem a sugárterápiában használatos [4]. A maláriaellenes, vastartalmú ferrokvinnel II. fázisú klinikai vizsgálatokat folytattak, mely ferrocén részt tartalmaz [5]. Kiemelt érdeklődés övezi a fémtartalmú antibiotikumokat, melyek a rezisztens baktériumokon is hathatnak és a kórházi fertőzések ellen lehetnek bevethetők a jövőben [6]. A 2019-ben kitört koronavírus-járvány felélénkítette a vírusellenes fémkomplexek iránti érdeklődést, pl. Bi(III)- és Re(I)-komplexek vírusellenes hatását is tanulmányozták [7].

Mindezek mellett, a legnagyobb előrelépés a rákellenes fémkomplexek tervezésében történt. A Pt(II)-tartalmú ciszplatin és származékainak sikertörténete [2,8] nyomán a rákellenes szerek között várható a legközelebbi fémvegyület gyógyszerként való engedélyezése. A jelenlegi platinatartalmú gyógyszerek hatását főként a DNS-hez való kötődéshez rendelik, a citotoxikus fémkomplexek azonban ettől eltérő módon is hathatnak, pl. enziminhibíció keresztül [9,10]. A klinikumban gyakran kialakul a kezelés alatt rezisztencia a gyógyszerrel szemben, és súlyos mellékhatások is megjelenhetnek. Ezekre válaszként számos kutatócsoport fejleszt rákellenes hatóanyagokat, köztük fémkomplexeket is, melyekben Pt(II/IV)- [8], Ga(III)- [11], Co(III)- [12] vagy éppen Ru(II/III)-ionok [13,14] találhatóak (1. ábra). A Pt(IV)-komplexek közül többel klinikai fázis vizsgálatokat végeztek [8], de az engedélyezés még várat magára. Ennek egyik fő oka, hogy szerkezetükből eredően farmakokinetikájuk sokkal bonyolultabb lehet, mint a nem fémtartalmú szerves vegyületeké. A fémion hidrolízise, komplexképző reakciói és redoxireakciói sokkal körültekintőbb vizsgálatokat igényelnek még az egyszerű összetételű komplexeknél is, összehasonlítva a szerves vegyületek lehetséges reakcióival [15].



1. ábra: A három világszerte használt platina(II)komplex és néhány rákellenes hatást mutató, (pre)klinikai fázisban levő fémkomplex szerkezete.

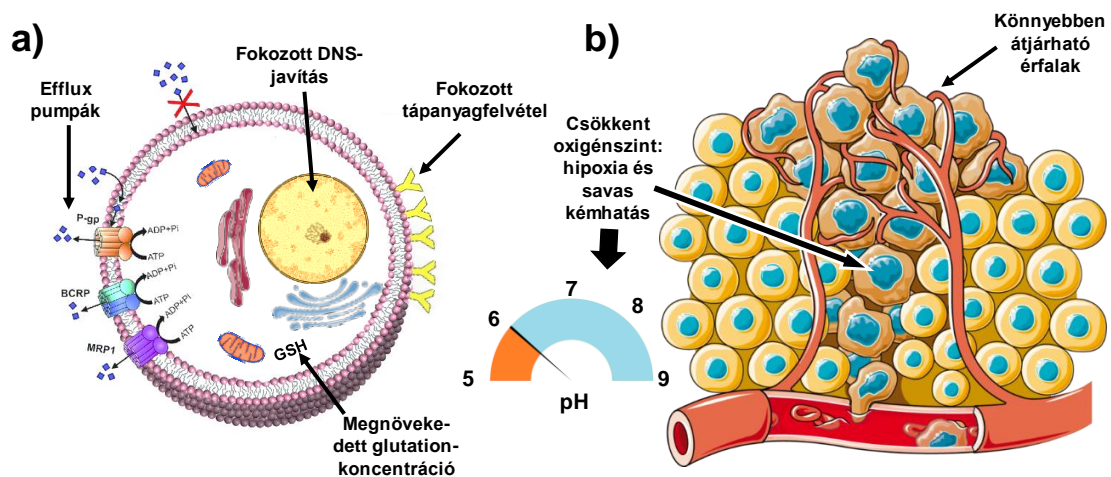
A Ru(III)-tartalmú fémkomplexek klinikai vizsgálatai jelenleg is folynak. A Ru(II)-komplexek közül egy jelentős csoport polipiridin ligandumokat tartalmaz, melyek képesek a +2-es oxidációs állapotot stabilizálni [16]. Az ilyen szerkezetű komplexek DNS-hez való kötődését és enziminhibíciós tulajdonságát mutatták ki [16]. A Ru(II) forma félszendvics elrendezésben is stabilizálható, egy arén ligandum η^6 -haptocitású ligandumként szintén megvédi a fémiont a nemkívánatos reakcióktól [13]. A Ru(arén) mellett az Os(arén) [17,18], Ir(C₅Me₅) [19] és Rh(C₅Me₅) [20] komplexeinek előállítását is közölték.

Részletes oldategyensúlyi mérésekkel meg lehet ismerni a speciációt, biomolekulák bevonásával a szervezetben lejátszódó folyamatok egy részét is modellezhetjük. Dolgozatom fő célja rákellenes hatású félszendvics Ru(II)- és Rh(III)-fémkomplexek előállítása és ezek oldategyensúlyi vizsgálata. A fémionok mellett az arén ligandum hatását is tanulmányoztuk, ezért a Ru(II) esetén *p*-cimol mellett toluol komplexeket is előállítottunk. A kétfogú ligandumok több típusával foglalkoztunk. A nagy stabilitású komplexekből kiindulva további, vegyes ligandumú félszendvics komplexeket állítottam elő, melyek célja a szelektivitás fokozása a rákos sejtek közelében történő aktiválódás révén. Mivel a daganatos betegek szervezete legyengül, egyéb fertőzésekre is érzékennyé válik. Ezért a vegyes ligandumú komplexek közül többre antibakteriális vizsgálatot is végeztünk, rezisztens és érzékeny baktériumtörzseket is felhasználva.

2. IRODALMI HÁTTÉR

2.1. Rezisztencia és szelektivitás

Új gyógyszerekre kifejlesztésére azért van szükség, mivel a citotoxikus kemoterápiás szerek (akár fémkomplex, akár szerves vegyület) használata súlyos mellékhatásokkal járhat rövid és hosszú távon is [21,22]. A kemoterápiás szerekkel szemben multidrog rezisztencia (MDR) is kialakulhat. Az ezt előidéző okok a 2.a ábrán láthatók.



2. ábra: a) A rákos sejtekben kialakuló rezisztencia jellemzői: efflux pumpák által elősegített hatóanyag-eltávolítás a sejtől [23], fokozott DNS-javítás, a DNS-hez kötődő vegyületek eltávolítása [23] és emelkedett glutation (GSH)-szint [23]. b) A rákos szövet egészségestől eltérő tulajdonságai: hipoxiás környezet és savas kémhatás (Warburg-hatás) [24], a gyakori osztódás miatti fokozott tápanyagfelvétel érdekében [25] az érfalak könnyebb átjárhatósága [26].

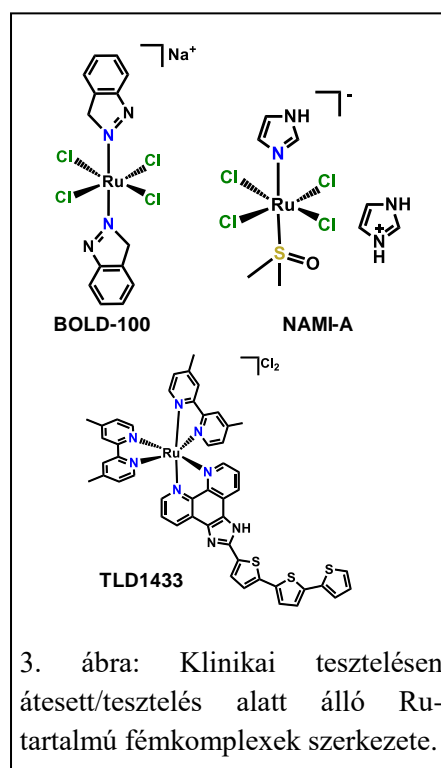
A rezisztencia kikerülése mellett ugyanolyan fontos a szelektivitás növelése és így a mellékhatások csökkentése. A rákos sejtek sajátos anyagcseréjük miatt számos tulajdonságukban eltérnek az egészséges sejtektől, melyeket felhasználhatunk a szelektivitás növelésére, ezeket mutatja be a 2.b ábra. Hipoxiás állapot alakulhat ki [24], emellett a megemelkedett GSH-koncentráció redukáló környezetet eredményez (utóbbi megvédheti a sejtet a citotoxikus fémkomplexektől az azokhoz történő koordinációjával is [23]). Ennek következtében a sejtek anyagcseréje megváltozik, sav termelődik nagyobb mennyiségben. Az érfalak könnyebb átjárhatósága miatt a fehérjék feldúsulnak a tumor környezetében, ezt „fokozott permeabilitás és visszatartás” néven szokták említeni, ez is növelheti kismértékben a szelektivitást, pl. fehérjéhez kötődött vegyületeknél [26].

2.2. Rákellenes fémkomplexek a (pre)klinikai vizsgálatokban

A platinafémek rákos daganatok elleni felhasználása nem újkeletű ötlet. Az 1970-es és 1980-as években felfedezték a *mer*-[Rh(III)(NH₃)₃Cl₃] [27] és *fac*-[Ru(III)(NH₃)₃Cl₃] [28] komplexek rákellenes hatását, azonban a ciszplatin mellett az ilyen típusú komplexek fejlesztésére kevesebb figyelem jutott. A ciszplatin 1978-ban engedélyezték, 2005-ben az összes kezelés ~50%-ában használtak platinakomplexet, monoterápiában vagy kombinálva másik citotoxikus szerrel [29]. Ebből látható a nagy piaci igény az új és hatásos rákellenes (fém)vegyületekre, melyért számtalan jelölt verseng. A platinakomplexek kiváltására azért van szükség, mivel használatuk során súlyos mellékhatások és rezisztancia is felléphet [21-23].

A ciszplatin és két származéka (oxaliplatin, karboplatin, 1. ábra) világszerte használt gyógyszerek, míg másik négy platinakomplex a távol-keleti országokban használatos a klinikumban [8,30]. A Pt(IV)-komplexek a rákos szövet hipoxiás, redukív környezetében képesek redukálódni és így aktiválódni [8]. Számos klinikai vizsgálatot végeztek velük, ezek közül az iproplatin (*cisz,transz,cisz*-[Pt(IV)Cl₂(OH)₂(izopropilamin)₂], 1. ábra) a legtöbbször vizsgált platinavegyület, mellyel már 38 fázis I-III vizsgálatot végeztek [8].

A „redukció általi aktiválódás” hipotézist a Ru(III)-komplexek esetén is feltételezték, azonban erről bizonyították, hogy nem feltétlenül igaz [14]. A Ru(III)-tartalmú NAMI-A (imidazólium-*transz*-[Ru(III)Cl₄(imidazol)(DMSO)]) klinikai vizsgálatai elakadtak [14], azonban a BOLD-100-zal (nátrium-*transz*-[Ru(III)Cl₄(indazol)₂], korábbi nevén KP1339 és IT-139) fázis I vizsgálatok jelenleg is folynak (3. ábra) [31]. Előbbi komplex áttétképződést gátló hatású, míg utóbbi citotoxikus hatást fejt ki [14]. DNS-hez való kötődésüket kimutatták, azonban valószínűsíthető, hogy fehérje a célmolekulájuk. A NAMI-A és a BOLD-100 prodrugnak tekinthetők, mivel gyors



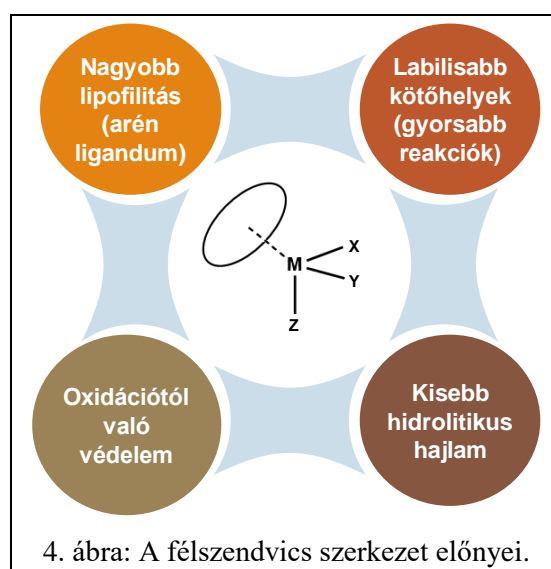
ligandumcsere-folyamatok során elveszítik eredeti ligandumaik egy részét [14]. A Ru(II)-komplexek iránti érdeklődés is fellendült. Ennek egyik eredménye a TLD1433

kóddal ellátott komplex $([\text{Ru}(\text{II})(4,4'\text{-dimetil-2,2'\text{-bipiridin)}_2(2\text{-}(2',2'':5'',2'''\text{-tertiofén)-imidazo[4,5-f]-[1,10]fenantrolin})\text{Cl}_2)$ (3. ábra), amely polipiridin típusú ligandumokat tartalmaz, várhatóan fotodinámiás terápiában lehet bevetni. A húgyhólyagrák kezelésében eddig sikeres kezeléseket folytattak vele a klinikai kísérletek során [16,32]. Egy $\eta^{5/6}$ -haptocitású arén ligandum szintén képes a kationt $\text{Ru}(\text{II})$ formában tartani fiziológias körülmények között [13]. A félszendvics szerkezet előnyös tulajdonságait a 4. ábra mutatja be.

2.3. A vizsgált fémionok jellemzése

A ruténium és a ródium két átmenetifém, a periódusos rendszer d-mezőjében, az 5. periódusban, a 8-9. csoportban helyezkednek el. A platinafémek csoportjába tartoznak, általánosan kis reaktivitás jellemzi őket elemi állapotban. A ruténium a +2 – +8, míg a ródium +1 – +6 oxidációs állapotot érhet el, ezek közül fiziológias körülmények között a $\text{Ru}(\text{II}/\text{III}/\text{IV})$ és a $\text{Rh}(\text{II}/\text{III})$ oxidációs állapotok fordulnak elő [33]. A különböző kationok akvakomplexeiben mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópiásan meghatározott vízcseré reakció sebesség alapján általános információt kapunk a kation komplexképződési reakcióinak sebességére. A $\text{Rh}(\text{III})$ az egyik leginertebb kation, és a $\text{Ru}(\text{III})$ -kation is inertebb a $\text{Pt}(\text{II})$ -ionnál [34]. A $\text{Ru}(\text{II})$ gyorsabb reakciókat mutat, a koordinált víz élettartama percekben mérhető. Ennek ismerete azért fontos, mert a platinavegyületek hatásosságát inert komplexeik lassú reakcióinak köszönhetik [8]. Természetesen a koordinált ligandumok hatással vannak erre, pl. a NAMI-A gyorsabb

ligandumcsere-folyamatokat mutat, mint a BOLD-100 [14]. Ez többszörösen igaz a dolgozatomban szereplő félszendvics $\text{Ru}(\text{II})$ - és $\text{Rh}(\text{III})$ -triakvakationok esetén is, mivel az η^5/η^6 -haptocitású arén ligandumok erős transz-hatást fejtenek ki a három másik koordinációs kötésre. Így az alapvetően inert fémionok sokkal gyorsabb reakciókra lesznek képesek (4. ábra). Ez a $[\text{Ru}(\text{II})(\eta^6\text{-p-cimol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ (röviden $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$), esetében kisebb



4. ábra: A félszendvics szerkezet előnyei.

változást okoz, azonban a $[\text{Rh}(\text{III})(\eta^5\text{-C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ (röviden $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$)

vízcsere sebességi állandója 14 nagyságrenddel megnő az $[\text{Rh}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ kationéhoz képest: $k = 10^{-9} \rightarrow 10^3 \text{ s}^{-1}$ [27].

A prekursor dimer ($[(\text{M}(\text{arén}))_2\text{Cl}_4]$) kloridohidas komplexe vízben disszociál, a kloridionok részben vízre cserélődnek. Vizes közegben a félszendvics akvakationok (általános képlet $[(\text{M}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$) hidrolizálnak. Kloridionok jelenlétében a hidrolízis (azaz hidroxidokomplex képződése) visszaszorul, mivel ezek koordinálódni képesek ezekhez a fémionokhoz [35]. A képződő kloridokomplexek összetételét a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ esetén Bíró és munkatársai részletesen vizsgálták [35]. Kiderült, hogy a különböző vegyes ligandumú akva-, hidroxido- és kloridokomplexek helyett a rendszer jól leírható a $[(\text{M}(\text{arén}))_2(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ és a $[(\text{M}(\text{arén}))_2(\text{OH})_3]^+$ részecskék ($[(\text{M}(\text{arén}))_2\text{H}_2]$ és $[(\text{M}(\text{arén}))_2\text{H}_3]$) alkalmazásával a pH-potenciometriás modellekben.

Korábbi tapasztalatok alapján az arén ligandum disszociációjára nem utaltak jelek széles pH-tartományban (pH = 0,7-11,5) [35-37]. Az arén ligandum és a fémion cseréjének hatását is megvizsgálták a hidrolízisre, melyet kutatócsoportunk egészített ki a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ hidrolízisállandóinak megadásával [35,36]. A hidrolízis mértéke az $\text{Os}(\text{Cym}) > \text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5) > \text{Ru}(\text{Cym}) > \text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ sorrendben csökken. Ennek a hidrolízisnek nagy hatása van a komplexek látszólagos stabilitási állandójára, mivel a komplexek disszociációját elősegíti semleges és lúgos közegben. A $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ hidrolízisét jellemző állandókat az 1. táblázat tartalmazza. Az arén gyűrű megválasztása nagy hatással van a komplex fizikai-kémiai tulajdonságaira, ahogy ezt Bíró és mtsai. is bemutatták a hidrolízis vizsgálatával [35]. Eredményeik alapján az akvakation hidrolízise annál nagyobb pH-n következik be, minél több elektronküldő csoport van az arén ligandumon. Ezek alapján a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kevésbé hidrolizál, mint a $[\text{Ru}(\text{II})(\eta^6\text{-toluol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ (röviden: $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$) kation.

1. táblázat: A félszendvics $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ akvakationok hidrolízisállandói.

	$\text{Ru}(\text{Tol})^a$		$\text{Ru}(\text{Cym})^a$		$\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)^b$	
$\lg\beta[(\text{M}(\text{arén}))_2\text{H}_2]$	-6,50 ^c	-	-7,12 ^c	-	-11,12 ^c	-8,53 ^d
$\lg\beta[(\text{M}(\text{arén}))_2\text{H}_3]$	-10,56 ^c	-7,97 ^d	-11,88 ^c	-9,16 ^d	-19,01 ^c	-14,26 ^d

a: ld. [35]; b: ld. [36]; c: $I = 0,20 \text{ M KCl}$; d: $I = 0,20 \text{ M KNO}_3$

A Ru(II) és Os(II) komplexei esetén semleges benzolszármarazékok töltik be ezt a szerepet, legtöbb esetben ez a *p*-cimol. A *p*-cimol választása azért is előnyös, mivel a

prekurzor előállítására egy könnyen elérhető monoterpénből indul ki, melyből egy egyszerű oxidációs lépésben alakul ki a *p*-cimol [38]. A Rh(III) és Ir(III) félszendvics komplexekben pentametil-ciklopentadienid anion ($C_5Me_5^-$) vagy annak származéka tölti be az arén szerepét. Felmerülhet a kérdés, miért nem a metilcsoport nélküli $C_5H_5^-$ ligandum használata terjedt el. Ennek prekurzora egy kis oldhatóságú polimer ($[Rh(C_5H_5)Cl_2]_n$), szemben a különböző oldószerekben jól oldódó $[Rh(C_5Me_5)Cl_2]_2$ prekurzorral, utóbbinál a központi fématom nagyobb szterikus árnyékolása megakadályozza a polimer képződését [39,40]. Emellett a Rh– C_5H_5 kötés sokkal reaktívabb [39], míg a Rh– C_5Me_5 egység vizes közegben széles pH-tartományban stabilis. Ezeknek az oka a C_5Me_5 erősebb π -donor és gyengébb π -akceptor hajlama, a ligandum–fém kötésnek nagyobb a kovalens karaktere [40].

2.4. Az eddig vizsgált félszendvics komplexek jellemzése

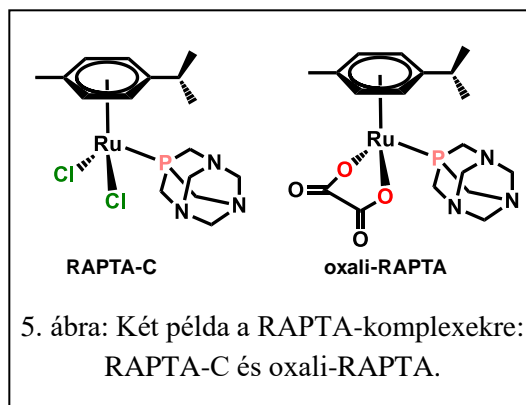
Igen elterjedt a félszendvics komplexek olyan kialakítása, mely során a koordinációs szférát az arén ligandum mellett egy egyfogú és egy kétfogú ligandum telíti. Ezt a szerkezetet úgynevezett „háromlábú zongoraszék-szerkezetnek” nevezik, melyben minden elemnek fontos szerepe van. Az arén szerepét az előző fejezetben tárgyaltuk. Az egyfogú ligandum a távozó csoport szerepét tölti be a legtöbb esetben (kivéve S- vagy P-donoratom esetén), mely vizes oldatban vízre cserélődve hozza létre az aktív akva formát. A vízmolekulát végül a célmolekula koordinálódó csoportja szubsztituálja. A ligandumok változtatásával hangolhatók a különböző fizikai-kémiai tulajdonságok, pl. a komplex stabilitása, lipofilitása vagy a víz lecserélődésének sebessége.

2.4.1. RAPTA-komplexek

A félszendvics vegyületek egyik jelentős csoportjában az egyfogú ligandum az, amelyik nem távozik, míg a két másik koordinációs helyen könnyebben disszociáló ligandum(ok) helyezkednek el. Ezek az ún. RAPTA-komplexek, melyek elnevezése a „ruténium arén 1,3,5-triaza-7-foszfaadamantán (PTA)” szavak angol megfelelőinek kezdőbetűiből áll össze [41]. A foszfin ligandum foszfor donatoromjával egy erős koordinációs kötést alakít ki, ami miatt gyakorlatilag nem disszociál a Ru(II) centrumról. A PTA ligandum előnye a többi foszfinnal szemben a jobb vízoldhatóság, emellett a levegő oxigénje által történő oxidációra sem érzékeny. Az egyfogú ligandum mellett a komplexek kialakításához a platinakomplexeknél is alkalmazott

távozcsoportokat használták fel (5. ábra), pl. két kloridiont (RAPTA-C), oxalátot (oxali-RAPTA) vagy ciklobután-1,1-dikarboxilátot (carbo-RAPTA) [41], emellett akár biológiailag aktív (O,O) donoratomokat tartalmazó kétfogú ligandum is lehet, mellyel akár kettős rákellenes hatás érhető el [42,43]. A RAPTA-C esetében a ciszplatinhoz hasonlóan a közeg kloridion koncentrációja befolyásolja a kloridokomplex és az aktív akvaforma arányát. Ioncserével

meghatározott egyensúlyi állandók alapján megállapították, hogy a két kloridion közel egyszerre távozik a komplexből [44]. Az első vizsgálatokban kimutatták a DNS-sel való kölcsönhatást *in vitro*, ahol enyhén savas pH-n nukleáz aktivitás volt tapasztalható, és így a rákos sejtekre szelektív hatást vártak

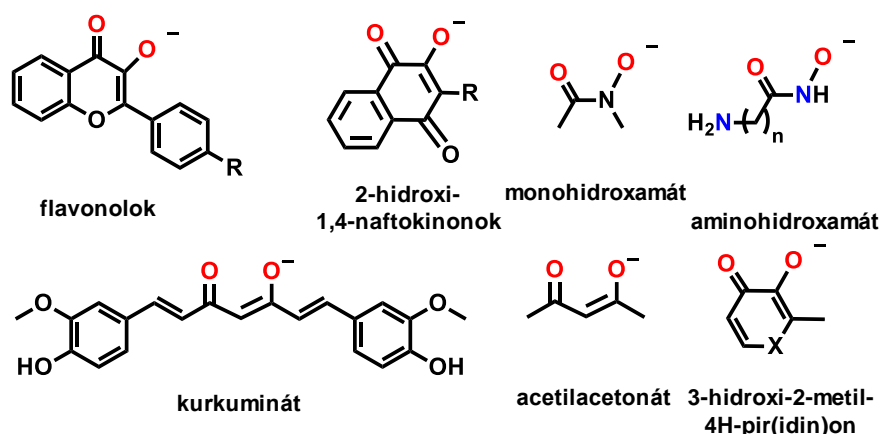


[45]. Az *in vitro* citotoxicitási adatok azonban nem ezt mutatták, gyakorlatilag a toxicitás hiánya jellemzi a RAPTA-komplexeket. Ezt kudarcnak is tekinthették volna, azonban folytatva a vizsgálatokat, *in vivo* modelleken áttétképződést gátló hatásukat mutatták ki, mely hasonló a NAMI-A komplexek hatásához [14]. Ez igazán biztató eredmény, mivel a citotoxicitás hiányában az egészséges sejtekre nem ártalmas rákellenes szer fejlesztése került látóterbe. Az egykristály röntgendiffrakciónan meghatározott nukleoszóma adduktumban a DNS-sel szemben fehérje preferenciát mutatott a RAPTA-C [46]. Összetett proteomikai vizsgálatok rálátást adnak a RAPTA-komplexek célpontjairól; a találatok között rákkal szorosan összefüggő extracelluláris, sejtciklust szabályozó, riboszomális és hisztonfehérjéket is találtak [47,48].

A Rh(C₅Me₅) és Os(Cym) RAPTA-analógok szintén nem mutattak jelentős citotoxicitást (IC₅₀ > 200 μM) [49], azonban áttétképződést gátló hatásukat nem vizsgálták. Az IC₅₀ (μM) érték az a koncentrációérték, aminél a vizsgált sejt kultúrában a sejtek 50%-a elpusztult a megadott inkubációs idő alatt. Emellett a vizes közegben felvett NMR spektrumokon megfigyelhető, hogy a Rh-PTA kötés közel sem annyira inert, mint a Ru-PTA kötés, mivel már 1:1 fémorganikus kation:ligandum arányú komplex feloldásakor is megjelennek a bisz- és triszkomplexekre utaló jelek [50].

2.4.2. Az $[M(\text{arén})(\text{O},\text{O})(\text{Z})]$ típusú komplexek

A félszendvics komplexek tervezésekor elterjedtebb az az elrendezés, melyben egy kétfogú kelátképző ligandum képez komplexeket. Ebben az esetben az egyfogú ligandum tölti be a távozó csoport szerepét. Leggyakrabban (O,O), (N,O) és (N,N) donoratomok vesznek részt a koordinációban, azonban találhatóak példák a szakirodalomban egyéb donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeire is. Az (O,O) donor ligandumok néhány típusát mutatja be a 6. ábra.



6. ábra: (O,O) donor kétfogú ligandumok alapvázai egyszeresen deprotonált, koordinált formáinak szerkezetei, színnel jelölve a koordinációban résztvevő donoratomokat.

Ezek között számos vegyület a természetben is megtalálható, önmagukban is mutatnak rákellenes hatást. Félszendvics kationokkal való kombinációjuk a citotoxicitást és a szelektivitást növelheti. A flavonoidok önmagukban és fémkomplexben kötve is kifejtenek enziminhibíciós hatást, különös tekintettel pl. a topoizomeráz II α enzimre [51]. Annak ellenére, hogy a Ru(Cym) fémorganikus komplexek növelték ennek az enzimnek az inhibícióját, a CH1 és SW480 rákos sejteken kisebb volt a citotoxicitásuk a szabad ligandumokhoz képest, mindössze az A549 sejteken jegyezték fel számos esetben látványos javulást [51]. Legtöbbször a ligandum citotoxikus aktivitása nem javult a komplexképzéssel [52], emellett előfordult, hogy a szilárd komplex vízben való feloldásával a komplex disszociációjára utaló jelek voltak láthatók Os(Cym)- és Ru(Cym)-komplexek esetén, míg a Rh(C₅Me₅)-komplexek nagyobb stabilitást mutattak semleges pH-n [53].

A 2-hidroxi-1,4-naftokinonok a K-vitamin származékai és kinoidális szerkezetükből adódóan redox aktív vegyületek, melyek reaktív oxigénvegyületeket (ROS) képeznek a

sejtekben, melyek végül sejthalálhoz vezethetnek. A naftokinonok, mint pl. a lapachol esetén a komplexek rákellenes aktivitása nagymértékben felülmúlta a ligandumét, míg ugyanez nem igaz az analóg oxim ligandumoknál [54]. A hipoxiás (azaz oxigénhiányos) közegben a rákellenes hatás jelentősen lecsökkent a normoxiáshoz képest [43], ami szintén a ROS-képződést erősíti meg.

Már régóta ismert a β -diketonát típusú ligandumok természetben megjelenő formáinak (gingerol, kurkumin, dibenzoil-metán) rákellenes hatása [55,56], melyet szintetikus származékaik sokszor felülmúlnak [56-58]. Fémionokhoz való koordinációjukat már korán felismerték, legegyszerűbb képviselőjüket, az acetyl-aceton (acacH) elválasztási műveletekben használták [59]. Félszendvics komplexeiket már a 2000-es években előállították Sadler és mtsai.; és rákellenes hatásuk mellett oldategyensúlyi vizsgálatokat is folytattak [60]. Az acetyl-aceton ruténium komplexeiben az arényűrű módosításának vizsgálatainál a *p*-cimol alkalmazása esetén érték el a legnagyobb citotoxicitást [61]. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{acac})\text{Cl}]$ vízben feloldva gyorsan elveszti kloridionját, az akvakomplex purinbázisokkal vegyes ligandumú komplexet képez [60]. A kötött vízmolekula deprotonálódását a $\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})] = 9,41$ -es érték jellemzi kloridion mentes közegben [60], míg stabilitási állandóját Bíró és mtsai. határozták meg ($\lg K[\text{M}(\text{arén})(\text{L})] = 8,77$, $I = 0,20 \text{ M KCl}$) [62]. Utóbbi mérésekből kiderült, hogy a komplex pH = 8–8,5-án, már mM-os koncentrációban is disszociál. A β -diketonátok Rh(III)-mal és Ir(III)-mal képzett félszendvics komplexei kivétel nélkül antibakteriális hatást mutattak [63]. A kurkumin és származékai esetében a komplex a ligandummal közel azonos vagy nagyobb IC_{50} értéket mutatott [64,65], azaz a hatást nem javította a komplexképzés. A PTA-val alkotott vegyes ligandumú komplexeikből felszabadul az (O,O) donor ligandum, mely folyamat reakciósebessége a kloridion koncentrációjának emelésével megnövekszik [56]. Ez a reakció az $\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexnél kisebb arányban játszódik le, azonban így is kérdéses, hogy a biológiailag releváns közegben melyik kémiai forma fejt ki a citotoxikus hatást.

Bíró és mtsai. az acacH mellett egyéb (O,O) donor ligandumok komplexképző sajátosságait is vizsgálták [62]. Dikarbonsavak, egy pirokatechin-származék és 3-hidroxi-4*H*-pir(idin)on alapvázal rendelkező ligandumok kerültek összehasonlításra. A legkisebb stabilitás a dikarbonsavak és a fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó ligandumok esetén volt tapasztalható, míg a 3-hidroxi-1,2-dimetil-4*H*-piridinont (deferipron, dhp) tartalmazó mintában volt a komplex a legszélesebb tartományban

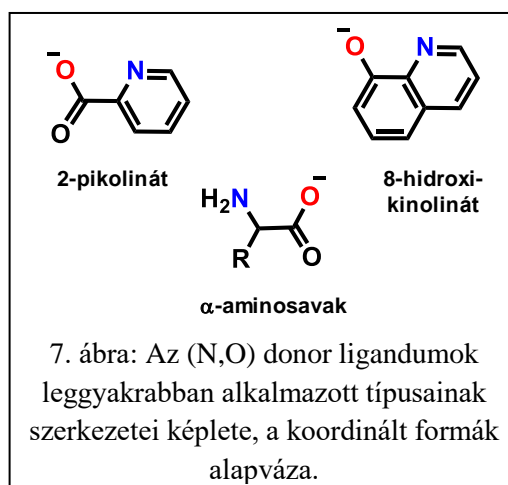
jelen. A dhp és a 3-hidroxi-2-metil-4*H*-piron (maltol) Os(Cym) komplexe jelentős mértékben disszociál fiziológias pH-n ($\text{pH} = 7.40$), ami a fémcentrum nagyobb hidrolitikus hajlamának is köszönhető [66]. A $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -kation nagy stabilitású komplexeket képez mind a két ligandummal, a maltol- és a dhp-komplexek közül az utóbbiak mutatták a nagyobb stabilitást [36,67]. A komplexek citotoxicitása változó mértékű, általánosan a maltol és dhp esetén kis/közepes citotoxicitás a jellemző, az (S,O) donor tiomaltol és származékai ehhez képest megnövekedett rákellenes hatást mutatnak [68]. A félszendvics $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ és $\text{Ru}(\text{Cym})$ maltol és dhp komplexeinek humán szérum albuminhoz (HSA) történő kötődését kutatócsoportunkban korábban vizsgálták [69], ez alapján legalább 3-5 kötőhely feltételezhető, melyek felszíni hisztidin oldalláncok lehetnek. Ez azért is fontos, mivel a vérben nagy valószínűséggel a szállítófehérjékkel hathat kölcsön egy fémkomplex: ezek legnagyobb mennyiségben a humán szérum albumin (HSA) és a humán szérum transferrin (koncentrációik: 630 és 37 μM) [70,71]. Kötősebeikben képesek másodlagos kötések kialakítására, emellett aminosav-oldalláncaikkal koordinatív módon is megköthetik a fémionokat és a fémkomplexeket. Így megnövekedhet azok eliminációs ideje és a „fokozott permeabilitás és visszatartás” révén a rákos sejtek iránti szelektivitásuk is fokozódhat (ld. 2.1. fejezet) [26,72]. Azon $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexek, melyek kisebb termodinamikai stabilitást mutatnak, disszociatív módon kötődtek a fehérjéhez (a kétfogú ligandum felszabadult), míg a nagyobb stabilitású komplexek asszociatíván, azaz a kétfogú ligandum elvesztése nélkül, vegyes ligandumú komplexet képezve kötődnek. Léteznek komplexek, melyek egy része asszociatíván, másik része disszociatíván kötődik, pl. a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{dhp})\text{Cl}]$. A kötés módjában valószínűleg döntő szerep jut a komplex stabilitásának és inertségének is, mely alapvető a későbbi hatásmechanizmus szempontjából.

A hidroxámsavak néhány képviselője szintén megtalálható a természetben (pl. sziderofórok), erős fémion-megkötő tulajdonságuknak köszönhetően metalloenzim-inhibítorok, mint azt a hiszton-deacetiláz esetében is kimutatták [73]. Feltételezett hatásmechanizmus alapján ezen ligandumoknál a fémkomplex mintegy ligandumszállító szerepet tölthet be, a rákos sejtbe jutva a komplex disszociál, majd a hidroxámsav meggátolja egyes enzimek működését. A legegyszerűbb monohidroxámsavak (O,O) donor ligandumokként viselkednek, mivel karbonilcsoportjuk és a hidroxamátcsoportjuk oxigén atomjai képesek öttagú

kelátgyűrűt kialakítani [74-76]. Míg a szilárd fázisú vizsgálatok kétmagvú komplexek képződését valószínűsítik, az oldategyensúlyi vizsgálatok ezt kevéssé támasztják alá. Az Os(Cym) komplex redoxi reakcióban részlegesen elveszíti arén ligandumát, így képződhetett vegyes Os(II)-Os(VI) komplex a kristályosodás során [75]. Az aminosavakban a hidroxámsavcsoport mellett egy aminocsoport is jelen van a molekula másik részén. Ezen komplexek változatos módon koordinálódnak, egymagvú komplexekben (O,O) és (N,N), míg kétmagvú komplexekben (N,N,O) donoratomok koordinálódnak a fémionokhoz, pH-tól függően [77,78]. Komplexeik nagy stabilitást mutatnak, az aminosavak nagyobb mértékben kötik még lúgos közegben is a félszendvics kationokat, mint a monohidroxamátok. Az előzetesen feltételezett hatásmechanizmus ellenére citotoxikus aktivitást nem mutattak rákos sejteken [77,78].

2.4.3. Az $[M(\text{arén})(N,O)(Z)]$ típusú komplexek

A (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumok közül két fő alapvázal bíró vegyületcsoport használata terjedt el: a 8-hidroxi-kinolinát típusúak és a 2-pikolinát alapvázal ligandumok (7. ábra). A jó vízoldhatóságú 2-pikolinát (pic) a triptofán metabolizmusában jelenik meg a szervezetben [79]. Önmagában nem citotoxikus vegyület, azonban antivirális hatását több esetben is kimutatták [80]. Származékainak is van biológiai szerepe, pl. a 2,6-dipikolinát a baktériumok védekezésében játszik szerepet [81]. A 2,4-dipikolinát és származékai hiszton-demetiláz és aszpartát- β -hidroxiláz enzimek inhibitorai [82,83]. A 2-pikolinát félszendvics kationokkal képzett

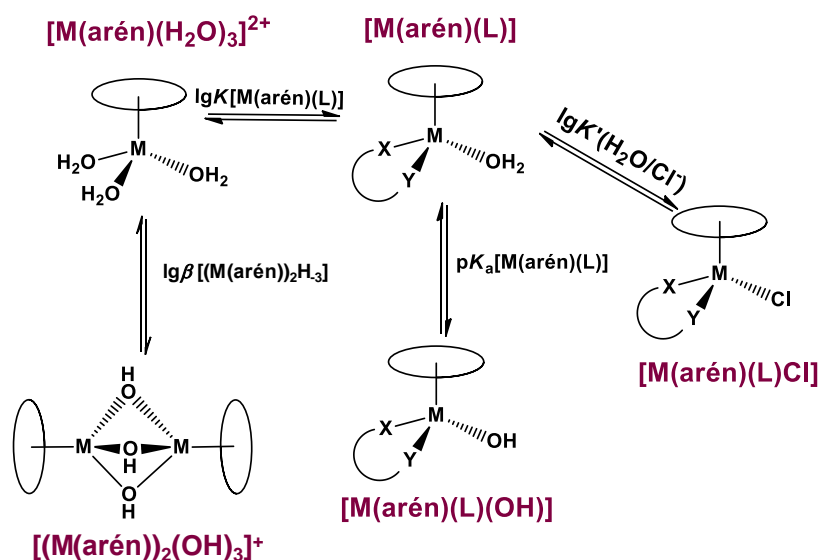


komplexei közül az Os(II) [84] > Ru(II) [85] > Rh(III) [67] ~ Ir(III) [86] sorrendben csökken a citotoxicitás rákos sejteken. Egyéb 2-pikolinátok Ru(Cym) komplexei is közepes vagy kis citotoxikus aktivitást mutattak [85,87], továbbá a Ru(Tol) és Rh(C₅Me₅) analógok sem voltak citotoxikusak [88,89]. Mindössze a [Ru(Cym)(izokinolin-3-karboxilát)Cl] komplexnél volt mérhető a citotoxicitás; a komplex a rákos sejtekre nézve szelektív, a normál sejteken kisebb toxicitást mutatott [85]. Ezen komplexek stabilitása mindig nagyobbak mutatkozott, mint az (O,O)

donorok esetén [67]. Az $[\text{Os}(\text{Cym})(\text{pic})(\text{L})]$ komplexek ($\text{L} = 9\text{-etil-adenin}$ vagy 9-etil-guanin) időbeli követéséből kiderült, hogy az adenin vegyes ligandumú komplexe kisebb stabilitású a guanin komplexéhez képest, $20\ \mu\text{M}$ koncentrációban feloldva vízben 1 nap után nagyarányú disszociáció következik be [84]. A $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{pic})(\text{H}_2\text{O})]^+$ DNS-bázisokkal és 1-metil-imidazollal (mim) való reakciója során a kétfogú ligandum nem disszociál, ehelyett vegyes ligandumú komplex képződik minden esetben [88]. Utóbbi a fehérje hisztidin aminosav-oldalláncának modellje. A HSA-val való kölcsönhatásról elmondható, hogy a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{pic})\text{Cl}]$ részben disszociatív, részben asszociatív módon kötődik, szemben a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{pic})\text{Cl}]$ komplexszel, mely kizárólag asszociatív módon kötődik [69].

A 8-hidroxi-kinolin (8HQ) alapváz merev aromás szerkezetével stabilis fémkomplexek kialakítására képes. A 8HQ és származékai szerteágazó farmakológiai aktivitást mutatnak, többek között rák- és vírusellenes, antibakteriális és gyulladáscsökkentő hatást [90], melyek több esetben felerősödnek pl. $\text{Cu}(\text{II})$ - és $\text{Zn}(\text{II})$ -ionok jelenlétében. A kliokinol (5-klór-7-jód-8-hidroxi-kinolin) gombás és protozoális eredetű fertőzések ellen alkalmazott gyógyszer volt, emellett a Parkinson- és Alzheimer-kórra való jótékony hatását is vizsgálták [91]. Az $[\text{}^{111}\text{In}(\text{III})(8\text{HQH}_{1.1})_3]$ komplex radiodiagnosztikában használatos szer [92], míg a KP46 ($[\text{Ga}(\text{III})(8\text{HQH}_{1.1})_3]$) klinikai vizsgálatokba bekerült rákellenes vegyület [11]. Szakács és mtsai. olyan 8-hidroxi-kinolin típusú vegyületeket találtak, melyek multidrog-rezisztens rákos sejteken nagyobb hatást mutatnak, mint a nem rezisztens sejteken [93]. Turel és mtsai. részletesen vizsgáltak különböző, az 5. és 7. pozícióban szubsztituált származékok félszendvics komplexeit, melyek rákellenes és antibakteriális hatást mutattak [94,95]. Valószínű célpontként a katepszin B-t tartják számon, melynek inhibícióját *in vitro* kimutatták [95,96]. Az $[\text{Os}(\text{Cym})(8\text{HQH}_{1.1})\text{Cl}]$ komplex a 2-pikolinát analógnál gyengébb rákellenes hatást mutatott [84], szemben a $\text{Ru}(\text{Cym})$ és $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ komplexekkel [97]. A legtöbb esetben a halogénatomokat is tartalmazó 8-hidroxi-kinolinok legnagyobb problémája a kis vízoldhatóság mind a ligandum, mind fémkomplexeik esetén, ahogy erre Hartinger és mtsai. is rámutattak [98]. Egy megoldást nyújt a *p*-cimol lecserélése egy vízoldhatóbb verzióra. Egy védett fenilalaninra cserélve az arén ligandumot akár ~12-szeres maximális koncentráció is elérhető [99]. Az így előállított komplexek citotoxicitása nem romlott minden esetben, a 8HQ komplexe esetén még javult is a *p*-cimol analóghoz képest. Egy másik lehetőség a

kétfogú ligandumon egy töltéssel rendelkező csoport elhelyezése. Kutatócsoportunkban korábban két ilyen ligandum és komplexeik vizsgálatát mutatták be [97]. A 8-hidroxi-kinolinok rossz vízben való oldhatósága a gyógyszerként való alkalmazásukat gátolja, emiatt próbálták az oldhatóságot növelni a rákellenes hatás megtartása/növelése mellett, pl. piperidin- és szulfonátcsoportok beépítésével [97]. Az előbbi nem növelte meg számottevően az oldhatóságot, míg utóbbi nagymértékben javította, azonban a rákellenes aktivitás lecsökkent. Oldategyensúlyi vizsgálatok alapján nagy stabilitású komplexek képződnek, melyek nem disszociálnak még lúgos pH-n sem [97]. A komplexek lipofilitása megnőtt a közeg kloridion koncentrációjának emelésével, mely a kloridokomplex képződésére utal. A vizsgálatok alapján a 8. ábrán látható egyensúlyi folyamatok játszódhatnak le általánosan egy ilyen típusú komplexnél: az akvakation hidrolízise, komplexképződés és a koordinált víz szubsztitúciós reakciói.



8. ábra: A félszendvics ródium- és ruténiumkomplexek vizes oldatban leggyakrabban lejátszódó reakciói.

Egyéb (N,O) donor ligandumok közé sorolhatók az aminosavak, melyek aminosav-típusú koordinációval képesek koordinálódni. A Ru(Cym) és az Os(Cym) α -aminosav-komplexeit előállították, melyeket kis oldatbeli stabilitás és kis citotoxikus aktivitás jellemez [61,84]. A komplexek disszociációját és a kétmagvú hidroxidokomplexek megjelenését azonban egy koordinálódó oldallánc (pl. a metionin-tioéter) jelentősen visszaszoríthatja [100,101], viszont ez a citotoxikus hatást nem javította.

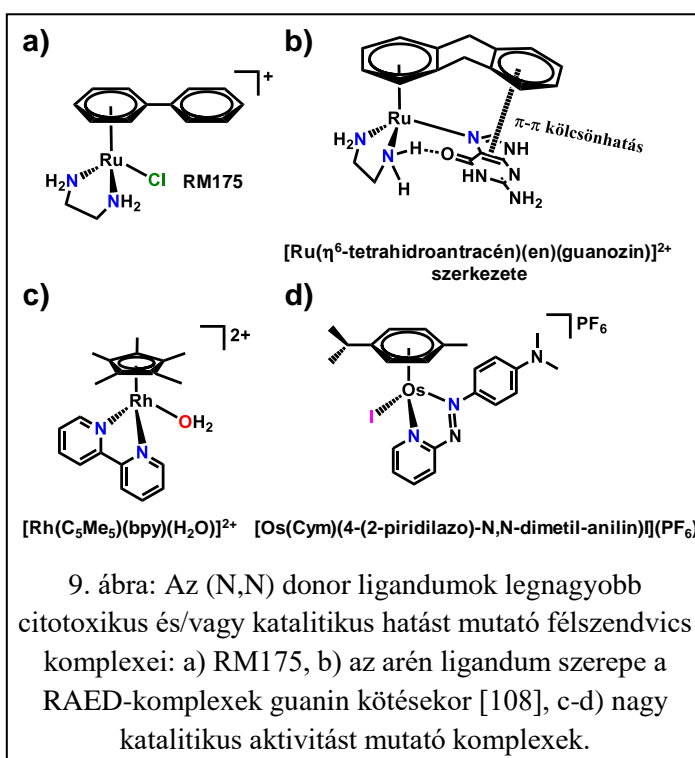
2.4.4. Az $[M(\text{arén})(N,N)(Z)]$ típusú komplexek

A (N,N) donor kétfogú ligandumok félszendvics komplexeinek kiterjedt szakirodalma van. A ligandumokat leggyakrabban amin és imin jellegű nitrogéneket tartalmazókra lehet csoportosítani, az imin jellegűek között lehet heterociklust alkotó vagy egy kettőskötésben lévő nitrogén (pl. Schiff-bázisok vagy azovegyületek). Számos vizsgálaton estek át az ilyen típusú komplexek első képviselői, a Sadler és mtsai. által előállított RAED-komplexek (a **r**uténium **a**rén **e**tilén-**d**iamin szavak első betűiből), melyek erős citotoxikus hatást mutattak rákos sejteken [102]. A komplexek között több is rendkívül jó sztereoselektivitással képes transzfer hidrogénezési reakciókra, melyet több szubsztrát esetén bizonyítottak [103].

A diamin jellegű ligandumok legegyszerűbb képviselője a RAED-komplexekben is megtalálható etilén-diamin (en), mely öttagú kelátgyűrűt képez. Számos RAED-komplex pK_a értékét és víz–kloridion csereállandóját határozták meg (utóbbit kinetikai módszerekkel) [104]. A pK_a értékek magasabbak voltak az Os-analógokhoz képest [105], azonban a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ deprotonálódása még a RAED-komplexeinél is nagyobb pH-n játszódik le [37]. Ezen értékek alapján a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ esetében nem, míg a másik két kation esetében számolni kell a vegyes ligandumú hidroxidokomplex nagyobb arányú képződésével fiziológias pH-n. Deprotonálódás során a komplex töltése eggyel csökken, mely alapvetően kedvező folyamatnak számít, mivel a lipofilitása nagyobb a kisebb töltésű részecskéknél. Azonban a hidroxido vegyeskomplex reakciókészsége elmarad az akvakomplexétől [106], mivel rossz távozó csoport a OH^- ion, így ennek a folyamatnak a fiziológias pH-n való visszaszorítása fontos. Mint ezt korábbi munkánkban is megmutattuk, a közeg kloridion-tartalma visszaszorítja ezen inert részecske képződését [37], ami azért is fontos, mert a szerkezet különböző vizekben is jelen van a kloridion különböző koncentrációkban (~100 mM a vérben, ~24 mM a citoplazmában és ~4 mM a sejtmagban) [107]. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex nagy stabilitásúnak mutatkozott, és fiziológias pH-n stabilitása meghaladja az (N,O) donor 2-pikolinát és az (O,O) donor deferipron ligandumokkal képzett komplexekét [37].

Önmagában sem az etilén-diamin, sem a prekursor dimerek nem toxikusak, azonban a RAED-komplexek többnyire erősen citotoxikus vegyületek [61]. Már a korai vizsgálatokban szerkezet-hatás összefüggéseket végeztek. Megvizsgálták az arényűrű cseréje mellett az etilén-diamin hosszabb szénláncú diaminokra vagy *o*-diamino-

benzolra történő cseréjének hatását [61]. Ezek alapján az RM175 kóddal ellátott $[\text{Ru}(\eta^6\text{-bifenil})(\text{en})\text{Cl}](\text{PF}_6)$ komplex (9.a ábra) lett a szubsztituált benzolgyűrűt tartalmazó komplexek közül a legaktívabb, míg a kondenzált gyűrűs aromás molekulák közül a tetrahidroantracént tartalmazó analóg lett a legnagyobb citotoxicitást mutató vegyület ($\text{IC}_{50}(\text{A2780}) = 3$ és $0,4 \mu\text{M}$). Az Os(arén)-analógok szintén



jelentős mértékben citotoxikusak [105], ezzel szemben a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -re történő cserével eltűnik ez a hatás [27]. A nukleozidokkal és mononukleotidokkal történő kölcsönhatásukat többféle módon tanulmányozták. NMR-mérések alapján a komplex a guanin 7-es pozícióban lévő nitrogénjével létesít kötést szelektíven [106]. A szelektivitás egyértelmű, az adeninhez való kötődés nem preferált szterikus okok miatt. Kristályszerkezetek alapján a tetrahidroantracént tartalmazó komplex arén liganduma stabilizálja a vegyes ligandumú komplex képződését, egy $\pi\text{-}\pi$ stacking kölcsönhatásnak köszönhetően (9.b ábra) [108]. Az arén = bifenil RAED-komplex esetben a DFT számítások szintén egy $\pi\text{-}\pi$ stacking kölcsönhatást jósoltak, melyben két komplex két külön guaninhoz kötődik, az arén ligandumokkal egymás felé fordulva stabilizálják a DNS megtört szerkezetét [109]. A DNS-hez való kötődést is részletesen vizsgálták. Gélelektroforézissel a guanin irányában kiemelkedő szelektivitást mutatták ki, emellett a DNS cirkuláris dikroizmus (CD) spektrumain is jelentős változást okoznak ezek a komplexek [110]. A kapilláris zóna elektroforézis (CZE)-elektrospray ionizációs tömegspektroszkópia (ESI-MS) vizsgálatok is bizonyítják a DNS preferenciát [111]. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{en})\text{Cl}]^+$ komplex nukleoszómával való reakciója esetén a DNS mellett a hiszton fehérjékkel is reagált [46]. Azonban felfedezték, hogy a RAED-komplexelek katalizálják a tiolátok oxidációját, így pl. a glutationt (GSH) vagy épp a HSA cisztein oldalláncát is oxidálhatják [112,113]. A Ru(II)-, Os(II)- és Rh(III)- tartalmú RAED-

analógok képesek a korábban említett transzfer hidrogénezési reakcióra, pl. a piruvátot laktáttá vagy a NAD^+ -t NADH -vá redukálják, felborítva így a sejt anyagcseréjét [114,115]. A reakciót katalizálja a $\text{Ru}(\text{Cym})$ -kitozán komplex is, melyben a kitozán két aminocsoporttal koordinálódik [116], és kitűnő sztereoselektivitást mutatott.

Az imin jellegű nitrogén donoratomok közül a 2,2'-bipiridin (bpy) és az 1,10-fenantrolin (phen) a két legfontosabb oligopiridin ligandum. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex (9.c ábra) transzfer hidrogénezési reakciója már 34 éve ismert [118,119], így erről számos publikáció született már. A keletkező hidridkomplex képes regioszelektíven a NAD^+ -t és FAD -ot is redukálni [119,120]. Az $\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -analógok az ellentétes irányú folyamatot katalizálják [114], itt a NADH oxidációjával képződik a hidridkomplex, amely aztán az O_2 redukciójára és így ROS-képzésre fordítódik. Ezek a katalizált reakciók azonban szabad kötőhelyet igényelnek, pl. a koordinálódni képes jodidon, hisztidin vagy cisztein jelenlétében a katalitikus aktivitás jelentősen lecsökken [120]. Akár vizes közegben alkalmazott homogén katalizátorként, akár citotoxikus rákellenes gyógyszerként szeretnék felhasználni ezen félszendvics komplexeket, oldategyensúlyi folyamataikat fontos megismerni. Korábbi munkánk során közöltük a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex stabilitási állandóját és jellemeztük koordinált vízmolekulájának deprotonálódását kloridionokat tartalmazó és attól mentes közegben is [37]. A komplex képződése lassabb az (O,O) és (N,O) donor ligandumok hasonló reakciójával összehasonlítva. A bipiridin az etilén-diaminnál is jobb fémionkötő tulajdonsággal bír, sem savas, sem bázikus pH-n nem jelenik meg a szabad ligandum és az akvakation. Az összehasonlítás pM^* értékek alapján történt. Ez a komplexben nem kötődött fémorganikus kation koncentrációjának negatív logaritmusára, mely magában foglalja az akvakomplex és a különböző kétmagvú hidroxidokomplexek mennyiségét (1. egyenlet):

$$\text{pM}^* = -\lg([\text{M}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} + 2 \times [(\text{M}(\text{arén}))_2(\text{OH})_2]^{2+} + 2 \times [(\text{M}(\text{arén}))_2(\text{OH})_3]^+) \quad (1)$$

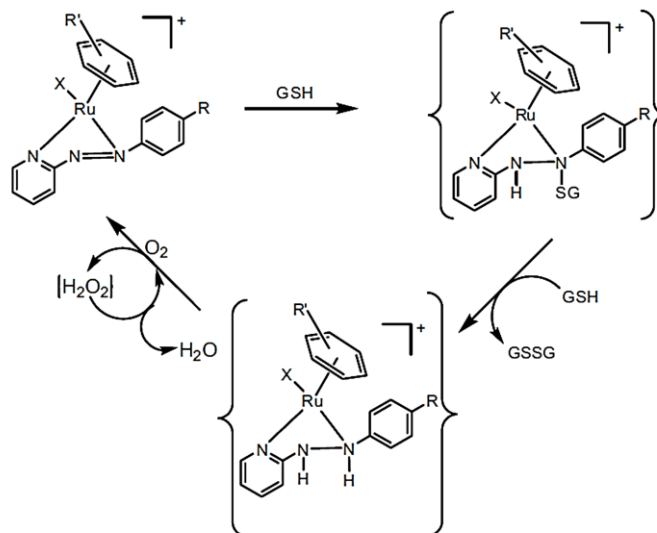
Minél nagyobb ennek értéke, annál stabilabb az adott körülmények között képződő komplex. Hasonlóan nagy stabilitás várható a többi fémorganikus kation ($\text{Os}(\text{arén})$, $\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ és $\text{Ru}(\text{arén})$) és a bpy és phen ligandum komplexeinél is, a vizsgálatok során nem tapasztalták a kétmagvú hidroxidokomplexek képződését lúgos közegben [86,105,121,122]. A $\text{Ru}(\text{arén})$ és $\text{Os}(\text{arén})$ komplexek esetében a vegyes ligandumú hidroxidokomplex képződése lassú folyamat (> 2 h) [105,122]. A pK_a értékek, melyek

ezt a folyamatot jellemzik, 5,8-8,7 között változnak kloridionokat nem tartalmazó közegben a négy eltérő fémiont tartalmazó félszendvics komplexekre nézve [37,86,105,121].

Ezen ligandumok félszendvics komplexeinek a rákellenes hatása igen változó: a Rh(C₅Me₅) és Ir(C₅Me₅) komplexek citotoxikusnak mutatkoztak [27], míg a Ru(arén) és Os(arén) komplexek többsége nem toxikus a vizsgált rákos sejteken [61,105,123]. Ez a trend ellentétes az etilén-diamin félszendvics komplexeinél tapasztaltakkal. Az [Ir(arén)(phen)Cl]⁺ komplexek esetén leírták, hogy az arén ligandum méretének növelésével a lipofilitás mellett a sejtekben történő akkumuláció és a citotoxicitás is megnövekedett [86]. A Ru- és Os-analógok is képesek lehetnek erős citotoxikus hatást kifejteni, ha a ligandum egy nagyobb méretű planáris vegyület, mely DNS-interkalációra képes [124,125].

Az aminosavakkal és DNS-bázisokkal való kölcsönhatásukat részletesen vizsgálták: a guanozin-adenozin párosból egyértelműen a guanin preferencia látható az [Ir(arén)(bpy)Cl]⁺ és [Ir(arén)(phen)Cl]⁺ komplexeknél [86]. A phen komplexeit a guanozinra való nagymértékű szelektivitás jellemezte a DNS-sel végrehajtott reakcióknál is, melyet RNS-szintézis és gélelektroforézis módszerekkel állapítottak meg [86,121]. A bpy fluorral szubsztituált származékaiban aminosavak közül a ciszteinnel, a metioninnal, a hisztidinnel és a glutaminsavval is vegyes ligandumú komplexek képződésére következtettek a ¹⁹F NMR spektrumokban látható jelek alapján [126]. Ennek megfelelően a fehérjékkel kölcsönhatnak, azonban borjú szérum albuminnal általában kicsi kötési állandókat tudtak meghatározni a Ru(arén) és az Os(arén) komplexei esetén [123,127].

Emellett jelentős vizsgálatok folynak a szintén (N,N) donor ligandumként viselkedő azo- és iminopiridinekkel, melyek Ru(arén) és Os(arén) komplexei (9.d ábra) a glutation oxidációját katalizálják, és így képesek erős citotoxikus hatást kifejteni (10. ábra) [128,129]. Ezekben a jodidion egy olyan segédligandum, mely inerten kötődik a fémionhoz, nem távozik el a koordinációs szférából. Ennek feladata a redox aktív kétfogú ligandum redoxpotenciáljának hangolása, mely változik a halogenidion cseréjével.



10. ábra: A glutation feltételezett katalitikus oxidációja azopiridinek félszendvics Ru(arén) és Os(arén) komplexeinek jelenlétében [128].

A nagy stabilitású komplex a ligandum hordozójaként is szolgálhat. A megfelelően funkcionális kétfogú ligandum extra tulajdonsággal ruházhatja fel a komplexet. Egy ilyen példa a hidroxámsav rész beépítése, mellyel hiszton deacetyláz enzimek inhibíciója érhető el [130]. Egy másik példában a megvilágítás hatására ROS-képző molekularész beépítésével elérték a citotoxicitás megnövekedését, mely komplex a lizoszómákat és a mitokondriumot képes megcélozni és szelektíven elpusztítani [131]. További lehetőség az arén ligandum funkcionálizálása, mely megvédheti a komplexet a vegyes ligandumú hidroxidokomplex képződésétől, emellett bizonyos körülmények között felszabadíthatja a harmadik koordinációs helyet, aktiválva így a komplexet. Ilyen lehet pl. a rákos szövet enyhén savasabb kémhatása, mely protonálhatja az arén ligandum koordinálódó szubsztituensét. Ilyen komplexeket terveztek Pizarro és mtsai, ahol a szubsztituens piridilcsoport vagy karboxilát [133,134], emellett látható példa aminocsoport használatára is [135]. Másik lehetőség pl. egy halogenidiontól eltérő távozó csoport beépítése a komplexbe. Egyfogú ligandumok vegyes ligandumú félszendvics komplexeire számos szakirodalmi példa található: a bioaktív O-donor ligandumok komplexei gyorsan disszociálnak feloldáskor [136], a RAPTA komplexek PTA liganduma viszont gyakorlatilag nem disszociál (ld. 2.1. fejezet, [41]), akárcsak a kén-donor ligandumok [124]. Középutnak számítanak a N-donor ligandumok, melyek protonálódásra képesek, így alkalmasak lehetnek a savas közegbeli disszociációra. A

szakirodalomban a legtöbb esetben piridin-jellegű ligandumok vegyes ligandumú komplexeit állították elő [137,138].

Látható, hogy számos különböző félszendvics fémkomplexet állítottak már elő, ezek rákellenes hatása változó. A fizikai-kémiai tulajdonságok és a citotoxicitás változtatható a részek cseréjével, emellett a biomolekulákkal való kölcsönhatás (DNS-kötődés, enzim-inhibíció) is hangolható, néhány képviselőjük jelentős szelektivitást mutat pl. guaninra. Ezeket szerkezet-hatás összefüggésekben próbálják összefoglalni, azonban ebből nem mindig lehet egyértelmű következtetéseket levonni [139].

3. CÉLKITŰZÉS

Új rákellenes fémkomplexek, köztük félszendvics Rh(III)- és Ru(II)-komplexek, kifejlesztése igen intenzíven kutatott terület. Ezek *in vitro* (néhányánál *in vivo*) vizsgálatai alapján számos vegyület kifejezetten aktív rákos sejteken, míg több komplex nem mutat rákellenes hatást. A fémkomplexek szilárd fázisú szerkezete és összetételük csak az oldószerbe (legtöbbször víz, gyógyszer esetén biofluidum) kerülésig állandó. Oldatban ligandumcsere, vegyes ligandumú komplex képződése, (de)protonálódás, a ligandum disszociációja, redoxireakció vagy irreverzibilis bomlás történhet. Ezek a folyamatok jelentős hatással vannak a fizikai-kémiai tulajdonságokra, reaktivításra (pl. katalitikus aktivitásra) vagy épp a farmakodinámiára és farmakokinetikára. Részletes oldategyensúlyi vizsgálatokkal meg lehet ismerni és további szerkezet optimalizálással kontrollálni lehet ezeket a folyamatokat. Ezen módszerek alapvetőek, meghatározó tulajdonságokat képesek magyarázni, pl. milyen forma van jelen fiziológiás pH-n. Az egyes oldatkémiai és biológiai tulajdonságok szerkezettől való függésének megértése is sokat segíthet a fémkomplexek célzott tervezésében, és így egy jövőbeni citotoxikus és szelektív rákellenes szer vagy éppen egy homogén katalizátor sikeres kifejlesztésénél fontos szerepe lehet. Doktori munkám céljai a következők voltak:

- Olyan félszendvics Ru(II)- és Rh(III)-komplexek előállítása, melyekben egy kétfogú ligandum és egy egyfogú segédligandum foglalja el a koordinációs helyeket. A kétfogú ligandumok a legegyszerűbb modelljei az adott (O,O), (N,O) és (N,N) donoratomokkal rendelkező ligandumok csoportjának. Szilárd fázisban az egyfogú ligandum kloridion vagy egyfogú N-donor ligandum. A komplexek szerkezetének röntgenkristallográfiás meghatározására alkalmas egykristályok előállítása.
- Részletes oldategyensúlyi vizsgálatok elvégzése különböző módszerek kombinált használatával, mellyel a ligandumok savi disszociációs állandóit, a fémkomplexek stabilitási állandóit, a koordinált vízmolekula deprotonálódási és egyéb szubsztitúciós folyamatainak egyensúlyi állandóit határozzuk meg. A kapott egyensúlyi állandók és az oldatszerkezet kapcsolatainak elemzését is célul tűztük ki.
- A választott félszendvics fémorganikus komplexek kölcsönhatásának vizsgálata biomolekulákkal (humán szérum albumin, DNS) és azok kismolekulás modellvegyületeivel, a farmakokinetikai viselkedés és a hatásmechanizmus jobb megértése érdekében.

4. KÍSÉRLETI RÉSZ

4.1. Felhasznált vegyszerek

A $[\text{Ru}(\text{Cym})\text{Cl}_2]_2$, $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)\text{Cl}_2]_2$, acetyl-aceton (acacH), kurkumin (curcH₃), 2-hidroxi-1,4-naftokinon (lawsone, lawH), 2-pikolinsav (picH), 2,4-dipikolinsav (2,4-dipicH₂), 8-hidroxi-kinolin (8HQ), etilén-diamin (en), N,N'-dimetil-etilén-diamin (dmen), N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin (tmeda), 2-pikolilamin (pin), 2,2'-bipiridin (bpy), 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridin (dmb), 1,10-fenantrolin (phen), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (neokuproin, neo), piridin (pyr), 1-metil-imidazol (mim), metil-amin (mea), benzil-amin (bza), benzimidazol (bim), zoledronsav (zol), ekonazol-nitrát (econ×HNO₃), guanozin (gua), adenozin-5'-monofoszfát (AMP), guanozin-5'-monofoszfát (GMP), 4,4-dimetil-4-szilapentán-1-szulfonsav (DSS), etídium-bromid (EB), borjú csecsemőmirigy DNS (ctDNS) és humán szérum albumin (HSA) a Sigma-Aldrich terméke. A metanol, etanol, aceton, diklórmétán, dietil-éter, *n*-hexán, KNO₃, KCl, KBr, AgNO₃, AgCF₃SO₃, Na(BPh₄), KOH, KH-ftalát, HCl, HNO₃, KH₂PO₄, NaH₂PO₄ és Na₂HPO₄ a Reanal Finomvegyeszergyár ZRt.-tól származnak. Ezeket további tisztítás nélkül használtuk fel. A $[\text{Ru}(\text{Tol})\text{Cl}_2]_2$ prekuzort csoportunkban állították elő korábban ([38] alapján), a 2-hidroxi-3-metil-1,4-naftokinon (ftiokol) és az (*S*)-5-kloro-7-((prolin-1-il)metil)8-hidroxi-kinolin (HQCl-Pro) előállítását a partnereink laboratóriumában történt (a vegyületek sorrendjében: Dr. Wolfgang Kandioller és Dr. Szatmári István). A ftiokol előállítása a szakirodalomban leírt módon történt [140,141], a HQCl-Pro az 5-klor-8-hidroxi-kinolin és az *L*-prolin formaldehiddel történő Mannich-kondenzációjával állították elő. Oldószernek Milli-Q vizet használtunk.

A törzsoldatok tömeg szerinti beméréssel készültek, ahol a fémorganikus kationok és a megfelelő oldhatóságú ligandumok pontos koncentrációját pH-potenciometriás titrálásokkal és a HYPERQUAD nevű programmal határoztuk meg [142]. A kurkumin törzsoldata abszolút etanol oldószerrel készült tömegbemérés alapján, melyet fénytől védett helyen tároltuk, elkerülve így a ligandum hidrolitikus és fotolitikus bomlását. A törzsoldatot minden nap frissen, a mérés előtt készítettük el. A kloridion mentes fémorganikus kation törzsoldatoknál sztöchiometrikus mennyiségű AgNO₃-oldat segítségével választottuk le a törzsoldatok kloridion-tartalmát AgCl csapadék formájában, melyet leszűrtünk, majd a fémorganikus kation koncentrációját szintén pH-

potenciometriás titrálásokkal és a HYPERQUAD nevű programmal határoztuk meg [142]. A törzsoldatokat 10 °C-on tároltuk.

A pufferelt mintákat 20 mM-os foszfát pufferrel vagy PBS*-oldattal állítottuk pH = 7,40 értékre. Utóbbi 1,5 mM KCl-ra, 100,5 mM NaCl-ra, 12 mM Na₂HPO₄-ra és 3 mM KH₂PO₄-ra nézve. A puffer összetétele a vérszérumban levő K⁺, Na⁺ és Cl⁻ koncentrációival egyezik meg, ami fontos pl. az albuminos minták esetén. (A klasszikus PBS („phosphate buffered saline”) pufferben 139,7 mM a kloridionok koncentrációja.) A ctDNS és nukleozidjainak mintáihoz 20 mM-os foszfát puffert használtunk, mely 4 mM KCl-ot is tartalmazott: ez megfelel a sejtmagban levő Cl⁻ koncentrációnak.

A guanozin és nukleotid oldatok pontos koncentrációját fotometriásan határoztuk meg [143], ezek törzsoldatának készítésekor KOH adagolásával segítettük az oldódást. A HSA-ból minden mérési sorozat előtt friss törzsoldatot készítettünk, tömeg szerinti beméréssel. A ctDNS törzsoldatát szintén tömeg szerinti beméréssel állítottuk elő, azonban itt legalább három napot vártunk az oldódással, majd leszűrtük, végül koncentrációját és tisztaságát spektrofotometriásan ellenőriztük. A 260 nm-nél mérhető abszorbanciából lehet a koncentrációt (azaz a bázisok számát) meghatározni [143], míg az A(260 nm)/A(280nm) hányados a tisztaságról (fehérjetartalmáról) ad információt, mely mindig megfelelőnek bizonyult (> 1,8).

4.2. Fémkomplexek és egykristályok előállítása és karakterizálása

4.2.1. (O,O) donorumokat tartalmazó ligandumok komplexeinek szintézise

Ezen (O,O) donor ligandumok koordinálódása esetén egy proton szabadul fel, így a szintézis során bázist használtam, mely metanolos közegben nátrium-metilát volt. A proton megkötésével az egyensúlyt a komplexképződés felé toljuk el. A lawsone és ftiokol félszendvics komplexek szilárd előállítását Heiko Geisler végezte a Bécsi Egyetemen. A [Ru(Tol)(acac)Cl] és [Rh(C₅Me₅)(curcH₂)Cl] komplexeket a korábban publikált [63] β-diketonátok félszendvics komplexeihez hasonlóan állítottam elő. Első lépésként a ligandumot (0,25 mmol) deprotonáltam 1 ekvivalens nátrium-metiláttal (0,25 mmol) diklórmetán/metanol (10 mL/3 ml) elegyében, majd ehhez adtam a fémorganikus kation dimer prekursorát (0,1 mmol). Az elegy 4 órás refluxáltatása után vákuumban eltávolítottam az oldószert, majd a maradékból diklórmetánnal visszaoldottam a komplexet. Tisztaságukat nagyfelbontású elektropray ionizációs

tömegspektroszkópiával (HR-ESI-MS) igazoltuk, melyet a **Függelék F1.** táblázatában tüntettem fel. Ezen komplexek metanos (L = acac) és metanol/diklórmetános (L = curcH₂) oldatából egykristály nőtt 4°C-on, mely alkalmas volt röntgenkristallográfiai szerkezetmeghatározásra.

4.2.2. (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek szintézise

A pikolinát típusú ligandumok koordinációja is egy proton leszorításával jár, azonban a komplexek savas közegben való nagy stabilitása miatt nem volt szükség a keletkező sav megkötésére. A 2,4-dipicH₂ komplexei ([Ru(arén)(2,4-dipicH)Cl] és [Rh(C₅Me₅)(2,4-dipicH)Cl]) a ligandum (0,035 mmol) és a fémorganikus kation dimerjének (0,015 mmol) vizes oldatainak elegyítésével (1 mL) történt. Ekkor az oldat színe szemmel láthatóan megváltozott, narancssárgából citromsárga lett. Ru esetén az aromás ligandum (toluol vagy *p*-cimol) irreverzibilis elvesztésének elkerülése érdekében a ligandum feleslegét kerültem, a ligandum oldatát cseppenként adagoltam az oldat keverésével párhuzamosan. Az oldatokból 4°C-on lassú bepárlás során egykristályok keletkeztek, melyek alkalmasak voltak szerkezetmeghatározásra. Kutatócsoportunk volt tagja, Dr. Jelena Poljarevic állította elő a [Ru(Tol)(2,4-dipic)]₃ komplexet hasonló eljárással, azonban metanol-víz elegyet használt oldószerként. A karakterizálás ¹H és ¹³C NMR spektroszkópián történt (ld. **Függelék**). Mivel DMSO-d₆ szerepelt oldószerként a korábban publikált hasonló komplexnél, ezért itt is ezt használtam. Azonban méréseinknél jól látható volt egy új jelcsoport, mely a DMSO-d₆ koordinációjának köszönhető (Rh: 30%, Ru: 50%). Így a korábban nem közölt Rh-komplex NMR spektrumait CD₃OD oldószerben is megmértem a tisztaság bizonyítása érdekében.

A 8-hidroxi-kinolin típusú HQCl-Pro ligandum fenolos hidroxilcsoportja deprotonálódik a koordináció hatására, míg a prolin rész ikerionos formában marad. A nagy stabilitás miatt itt sem volt szükség bázis alkalmazására. A HQCl-Pro félszendvics komplexeit is előállítottam szilárd formában, azonban itt egykristályt nem sikerült előállítanom. A ligandum (0,016 mmol) és a félszendvics fémorganikus dimerek (0,008 mmol) metanos oldatát (1 mL) elegyítettem, itt is ügyelve az (N,O) donor ligandum feleslegének elkerülésére. Megfigyeléseink alapján ennél a ligandumnál gyorsabb, azonnali elszíneződés (lila) történik akkor, ha a sorrendre nem ügyelünk, ami egyértelműen a félszendvics szerkezet megszűnését jelzi. A reakcióelegyet 1 órán át

kevertetem szobahőmérsékleten, majd az oldószer részleges elpárologtatása után a komplexet dietil-éter hozzáadásával választottam le az oldatból. Szűrés után és a csapadék éteres és hexános mosását követően tiszta szilárd komplexeket kaptam 84-90%-os kitermeléssel, melyek karakterizálása HR-ESI-MS (**Függelék F1. táblázat**), ill. ^1H és ^{13}C NMR spektroszkópiásan történt (ld. **Függelék**). A jelek duplázódnak bizonyos protonoknál és szénatomoknál, melyért a kiralitás és izomerek megjelenése a felelős (5.2.2. fejezet).

4.2.3. *(N,N) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek szintézise*

A polipiridin és etilén-diamin típusú (N,N) donor ligandumok komplexeit szintén egy egyszerű reakcióval állítottam elő, ahogy ezt korábban közölték hasonló komplexeknél [144,145]: a prekursor dimerek (1 ekvivalens) és a ligandum (2,2 ekvivalens) metanolos oldását követően elegyítettem az oldatokat és kevertetem őket 1 órán át szobahőmérsékleten. Bizonyos komplexeknél egy extra lépést alkalmaztam, mely során a ligandummal való reakció előtt eltávolítottam 1 ekvivalens kloridiont $\text{Ag}(\text{CF}_3\text{SO}_3)$ használatával. Utóbbi módszerrel romlott a kitermelés, azonban a CF_3SO_3^- (triflát) anion használata nagyban növelte az egykristályok képződésének valószínűségét. A kitermelés 45-95% között változott, a legrosszabb a neokuproin komplexeinél volt. Az ellenion cseréjére a komplexképződés után is lehetőség van, azonban nem ajánlott a feltételezhetően kisebb stabilitású komplexek esetén (pl. neokuproin), ahol az $\text{Ag}(\text{I})$ kiszorította komplexeiből a félszendvics kationokat. Lassú gőzdiffúziós módszerrel sikerült a legtöbb esetben egykristályokat előállítanom, melynek során a dietil-éter oldószerrel való elegyedése csökkentette komplexek oldhatóságát az oldatban. Többféle ellenion közül a kloridion és a triflátion használata volt sikeres. A már szakirodalomban közölt komplexek tisztaságát NMR spektroszkópiásan ellenőriztem (ld. **Függelék**), a korábban nem ismert komplexek karakterizálására HR-ESI-MS módszert is használtam (**Függelék F1. táblázat**).

4.2.4. *(N,N/O)(N) donoratomokat tartalmazó ligandumok vegyes ligandumú komplexek szintézise*

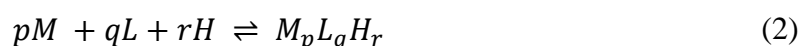
Első lépésként az előző pontban ismertetett módon előállítottam a kétfogú ligandumok félszendvics alábbi komplexeit: $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{etilén-diamin})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$,

[Rh(C₅Me₅)(phen)Cl](CF₃SO₃) és [Rh(C₅Me₅)(8HQH₁)Cl]. A következő lépés során metanolban a kloridionokat Ag(CF₃SO₃) sóval választottam le és az AgCl-ot szűrővel távolítottam el. Végül az egyfogú ligandum (pyr, mim) koordinációját 10 ekvivalens ligandum hozzáadásával és egész éjszakás szobahőmérsékleten való kevertetéssel értem el metanolos közegben, majd az oldat koncentráálásával és lehűtésével szilárd anyagot nyertem, melyet leszűrtem, dietil-éterrel és *n*-hexánnal mostam. A komplexekből egykristályokat sikerült előállítanom dietil-éter metanolos oldatba történő lassú diffúziójával. A [Rh(C₅Me₅)(phen)(mim)]²⁺ és [Rh(C₅Me₅)(8HQH₁)(mim)]⁺ kationok oldatába BPh₄⁻ aniont adva sikerült a komplexeket jól kristályosodó formába átalakítani. Az ESI-MS körülmények között a Rh–N(egyfogú) kötés felhasad, mindössze egy komplexnél sikerült kimutatni a vegyes ligandumú komplexre jellemző csúcsot. Tisztaságuk igazolása NMR spektroszkópiásan történt (ld. **Függelék**).

4.3. Oldategyensúlyi vizsgálatok

4.3.1. pH-potenciometria

A pH-potenciometria alapvető módszer azon fémkomplexek stabilitási állandóinak meghatározásánál, melyek képződésénél proton termelődik és ez pH-változást okoz. Emellett ligandumok savi disszociációs és fémionok hidrolízisállandóit és törzsoldataik pontos koncentrációját is ezzel a módszerrel határozzuk meg. A ligandum donoratomjaihoz a fémion és a hidrogénionok is képesek kötődni, ezért köztük versengés lép fel. A következő általános egyensúlyi egyenlettel írható fel a komplexképződés, ahol az egyszerűség kedvéért a töltéseket nem jelöljük:



2. egyenlet, melyre a stabilitási szorzat a 3. egyenlettel számítható:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pL_qH_r]}{[M]^p[L]^q[H]^r} \quad (3)$$

Ebből következik, ha a titrálás során mérjük az egyensúlyi pH-t, akkor abból nagy pontossággal meghatározhatjuk a létrejövő komplexek stabilitási szorzatait.

Az erős sav (HCl vagy HNO₃), ill. erős bázis (KOH) mérőoldatot koncentrációját a titrálási adatokból a Gran-módszer [146] segítségével számoltuk, a mérőrendszer kalibrálását az Irving-féle módszerrel végeztük [147].

Az ionerősséget 0,10 M vagy 0,20 M (KCl), kloridion mentes mintákban 0,20 M (KNO₃) biztosította. A pH méréséhez 1 M-os KNO₃-oldat töltetű kombinált üvegelektrodát használtunk (Orion 8103BNUWP ROSS Ultra Semi-Micro pH) a kloridion mentes mintákban, így meggátolható a kloridionok üvegelektrodból az oldatba történő szivárgása, ami kerülendő, mivel a vizsgált komplexeknél jellemző a kloridionok megkötése (ld. a 5.4.1. fejezetet). A 0,20 M KCl ionerősség mellett 3 M-os KCl-oldattal feltöltött Metrohm (6.0234.100 típusú) kombinált üvegelektrodát használtunk. Az elektrodákat Omega 710A pH-mérőhöz csatlakoztattuk. Az ismert koncentrációjú (~0,20 vagy 0,10 M) KOH-mérőoldatot Metrohm 665 Dosimat automata bürettával adagoltuk, nagy pontossággal (0,001 cm³), számítógépes program vezérlésével ún. egyensúlyra való titrálást végeztünk. A titrálásokat argonatmoszféra alatt végeztük, termosztáttal 25,0 ± 0,1 °C-on tartva a hőmérsékletet. Minden nap kalibrálást végeztünk erős sav-erős bázis titrálással, ellenőrizve a rendszer stabilitását.

A minták minimum 1 mM koncentrációban tartalmazták az adott ligandumot és/vagy a fémorganikus kationt. A titrálás során a pH az 1,8-11,5 tartományban volt, kivárva minden pontban az elektrokémiai egyensúlyt. Értelemszerűen, ahol lassú a komplexképződési folyamat, azoknál a fémion-ligandum rendszereknél nem végeztünk pH-potenciometriás méréseket. Ugyanez igaz azokra a rendszerekre, ahol már savas közegben is túl nagy volt a képződött komplex aránya, így a protonleszorítás nagy része már bekövetkezett. A rossz oldhatóságú ligandumok és fémkomplexek szintén nem mérhetők, mivel a módszerhez mM-os koncentráció szükséges az egész pH-tartományban. Mindezeket figyelembe véve a pH-potenciometriás méréseket főként csak a ligandumok p*K*_a és a fémorganikus ionok hidrolízisére vonatkozó lgβ értékeinek és törzsoldataik koncentrációjának meghatározására használtuk fel, mivel a curcH₃ és a naftokinonok oldhatósága nem elégséges, míg a többi ligandum esetén a túl nagy stabilitás volt akadály.

Az egyensúlyi állandókat a HYPERQUAD nevű program segítségével számítottuk [142]. A 2. egyenletre alapozva az asszociátumok stabilitási szorzatai – megfelelő közelítő értékeket megadva – a 4., 5. és 6. egyenletek által leírt általános anyagmérlegek alapján iterálhatók a megfelelő értékre. Az „M” a fémorganikus kationokat jelöli ezekben az egyenletekben. A koordinált vízmolekulákat nem tüntetjük fel külön, i pedig az i-edik részecskét/komplexet jelöli:

$$c_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{p_i q_i r_i} [M]^{p_i} [L]^{q_i} [H]^{r_i} \quad (4)$$

$$c_L = [L] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{p_i q_i r_i} [M]^{p_i} [L]^{q_i} [H]^{r_i} \quad (5)$$

$$c_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{p_i q_i r_i} [M]^{p_i} [L]^{q_i} [H]^{r_i} \quad (6)$$

4.3.2. UV-látható spektrofotometria

Ultraibolya-látható (UV-vis) spektrofotometriával azok az anyagok vizsgálhatók, melyek 200-800 nm-es hullámhossz-tartományban fotont elnyelő kromofór csoportot tartalmaznak. Fémkomplexek esetében elnyelést okozhatnak a fémionok d-d átmenetei, a fémion és a ligandum közötti töltésátviteli sáv (CT-sáv), ill. a ligandum molekulán belüli elektronátmenetei (ligandumsáv). A dolgozatban szereplő fémkomplexek spektrumán a CT-sáv változása a leginformatívabb. Ezek az UV és a látható hullámhosszak tartományának határán vannak, emiatt az oldatok narancssárga-citromsárga színűek. A ligandumsávok általában az UV-tartományban vannak, és nagyobb moláris abszorbancia jellemzi őket. A komplexképződésre mindkét sáv típus, míg a koordinált vízmolekula reakcióira a CT-sávok érzékenyebbek.

A mérések során μM - mM -os koncentrációjú oldatokat vizsgáltunk, ekkor 2, 5, 10 és 20 mm-es úthosszúságú kvarcküvetákat is használtunk, ill. a kinetikai méréseknél 10 mm-es úthosszúságú tandemküvetát, mindig ügyelve arra, hogy az abszorbancia a megbízhatóan mérhető 0,1-1,5 tartományba essen. A spektrumokat Agilent Cary 8454 diódasoros spektrofotométerrel vettük fel, $I = 0,10 \text{ M}$ (KCl) vagy $0,20 \text{ M}$ (KNO_3/KCl) mellett, 190 nm-től 1100 nm-ig. A titrálások pH-tartománya 2-11,5 volt. A nagy stabilitású komplexeknél egészen $\text{pH} = 0,7$ -ig tudtuk csökkenteni a pH-t, ami a $0,20 \text{ M}$ ionerősség mellett a legsavasabb pH, ami a KCl fokozatos sósavra történő cseréjével érhető el, elősegítve így a fémkomplex disszociációját. A mérések során a hőmérséklet itt is $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ volt. A spektrumokat a PSEQUAD nevű programmal értékeltük ki [148], a pH-t a pH-potenciometriánál (4.3.1. fejezet) ismertetett eszközökkel mértük, a számolás is az ott leírt egyenleteken alapult, kiegészítve, hogy itt a vizsgált hullámhossz

tartományban fényelnyelő részecskék moláris abszorbanciáit is közelíti a program, az ezekből számolt abszorbanciát a mért abszorbanciához illeszti.

4.3.3. *Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)*

Az NMR módszerrel a diamágneses anyagok mérhetők jól. Mivel a Ru(II) és a Rh(III) d^6 -os elektronszerkezetűek, kis spinűek, azaz diamágnesesek. Ennél a mérési módszernél azt a jelenséget használjuk ki, hogy mágneses térben a magspinnel rendelkező ^1H -atommagok energiája eltér egymástól. A ^1H magspinje $I = 1/2$, így $2I + 1 = 2$ energiaszint alakul ki, melyek energiakülönbsége függ attól, hogy mekkora mágneses térben van a minta. A két szint közti átmenethez olyan foton szükséges, melynek frekvenciája 10^7 – 10^8 Hz körül van. Egy NMR-készüléknél a mágneses térerősség állandó, melynek értékét a Larmor-frekvenciával fejezik ki. Méréseink során ez 500 MHz, a készülék egy Bruker Avance III HD Ascend 500 Plus típus volt.

A különböző protonok – kémiai környezetüktől függően – más és más erősségű mágneses teret érzékelnek az eltérő kémiai környezet miatt. Így Hz-ben mérhető eltérések jelentkeznek a spektrumban, létrehozva a finomszerkezetet, amit felhasználhatunk kvalitatív vizsgálatokra. A jelek multiplicitása információt ad a szomszédos magok számáról. A jelek intenzitása arányos a jelet adó magok számával azonos relaxációs tulajdonságok esetében, így a jeleket integrálva is tájékoztatást kapunk a szerkezetről.

Ezek alapján a rendszerben levő részecskék szerkezetéről is fontos információt nyerhetünk. Ha a titrálások során a kémiai eltolódás (NMR-időskálán gyors csere esetén) szigmoid görbe szerint változik a pH-függvényében, a pK_a (ligandumok és komplexben kötött vízmolekula proton disszociációs állandója) számolható. Emellett a fémkomplex stabilitási állandója ($\lg K$) is meghatározható a jelek integráljaiból számolt jelarányok felhasználásával a lassú ligandumcsere folyamatok esetében, ekkor ugyanis a komplexekben kötött és szabadon lévő formákhoz tartozó jelek elkülönülnek. A pH-t a pH-potenciometriánál (4.3.1. fejezet) ismertetett eszközökkel mértük. Az egyensúlyi állandókat a PSEQUAD nevű programmal számoltuk [148].

NMR spektroszkópiásan a 0,1–5 mM-os koncentrációtartományban mértünk, ezek 10% (v/v) D_2O -t tartalmaztak. Referenciaként DSS-t alkalmaztunk, melynek legnagyobb jele 0,0 ppm-nél van. A vizet tartalmazó mintákban vízelnyomást alkalmaztunk a WATERGATE nevű pulzusszekvencia alkalmazásával. Azoknak a

jeleknek az integráljai, melyek a víz jelének közelében vannak, nem használhatók számoláshoz, mert ez a jelelnyomás részlegesen hatással van a közeli kémiai eltolódás tartományra is. A fémorganikus félszendvics komplexekben a fémion környezetének változása jól követhető az arén ligandum alifás és aromás hidrogénjein keresztül. Különösen vonzó a módszer azokban az esetekben, amikor az UV-látható spektrofotometria által nem mérhető folyamatokról van szó. A kémiailag kismértékben eltérő ligandumok szerkezeti eltérései is jól detektálhatóak, jó példa erre több ligandum kizsorításos folyamat, melyeket pl. az 5.3.2. fejezetben is használtunk.

4.3.4. *Ultraszűrés/UV-látható spektroszkópia*

Az ultraszűrés egy elválasztási módszer, melynek segítségével a DNS-hez/fehérjéhez kötött (HMM, „**h**igh **m**olecular **m**ass”) és a nem kötött (LMM, „**l**ow **m**olecular **m**ass”) frakciót választjuk el az egyensúly beállását követően. Az összeállított mintát, mely HSA-t és fémkomplexet vagy ctDNS-t, etídium-bromidot és fémkomplexet tartalmazott, adott idejű és körülményű inkubálás után egy speciális szűrőre visszük fel, mely csak a 10 kDa-nál kisebb tömegű molekulákat engedi át ($M(\text{HSA}) \sim 67 \text{ kDa}$, $M(\text{ctDNS}) > 100 \text{ kDa}$). A centrifugálást követően két frakciót nyerünk: a szűrőn marad a ctDNS vagy a fehérje és a hozzájuk kötött fémorganikus kation/ligandum/fémkomplex, míg a nem kötődött anyagok átjutnak. Mindkét frakció összetétele vizsgálható arra alkalmas analitikai módszerrel, mi UV-látható (UV-vis) spektrofotometriát használtunk a szűrletben levő mennyiség meghatározására.

A méréseket $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ -on végeztük HSA esetén, míg ctDNS-nél $37,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ -on inkubáltuk a mintákat. A HSA koncentrációja állandó ($50 \text{ } \mu\text{M}$), a hozzáadott $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplekek koncentrációja pedig mintánként $50, 100, 150, 250$ és $450 \text{ } \mu\text{M}$ volt. A ctDNS-koncentráció alatt a bázisok számát értjük, ez eltért a két esetben: a komplexek kötődésének vizsgálatakor $100 \text{ } \mu\text{M}$ volt ($100 \text{ } \mu\text{M}$ komplex-koncentráció mellett), míg az EB-kizsorítás vizsgálatánál $400 \text{ } \mu\text{M}$ volt a ctDNS, $100 \text{ } \mu\text{M}$ az EB és 3 mM a fémkomplex koncentrációja, mivel az EB-ot tartalmazó minták fotometriás detektálásához ez a koncentrációtartomány ideális.

A HSA-t tartalmazó minták összeállítását követően egy-egy mintánál rövidebb (1-5 óra közti) inkubációs idő után centrifugálást végeztünk, míg a másik mintát 1 nap inkubáció után szűrtük le. A szűréshez Eppendorf Minispin Plus centrifugát

használtunk, ahol 15-20 percig 10000 rpm fordulatszámon centrifugálódott a minta. A szűrő Millipore Amicon Ultra-0.5 membránszűrő volt. Az így szétválasztott mintáknak a fehérje- vagy DNS-mentes LMM frakcióját Agilent Cary 8454 spektrofotométerrel vizsgáltuk.

4.3.5. Spektrofluorimetria

A spektrofluorimetria alkalmazásához kis koncentrációjú (μM -os) oldatok szükségesek, és alkalmas a DNS, a fehérjék és az ezekkel kölcsönható vegyületek vizsgálatára. Az ilyen típusú vizsgálatok a kioltás jelenségén alapulnak. Fehérjék esetében három fluoreszcens aminosav van: a fenilalanin, a tirozin és a triptofán (Trp). A HSA aminosav szekvenciájában több fenilalanin és tirozin is jelen van, azonban egyetlen Trp található (Trp214) [70]. A gerjesztés hullámhosszát $\lambda_{\text{EX}} = 295 \text{ nm}$ -nek választva szelektíven gerjeszthető ez az egy aminosav. A Trp214 a IIA domén hidrofób zsebének (másik nevén az I-es kötőhely) közelében helyezkedik el. Így, ha az I-es kötőhelyhez vagy annak közelébe kötődik a vegyület, akkor ott megváltoznak a hidrofób-hidrofil viszonyok. Ez hatással lehet a Trp214 emissziójának intenzitására, ami akár teljesen meg is szűnhet. A HSA kezdeti emissziós intenzitása valamely vegyület hozzáadásával folyamatosan csökken, a csökkenés mértékéből pedig a fehérje-ligandum kölcsönhatásról, a kötés erősségéről nyerhetünk információt [37,69].

A DNS nukleotidbázisai közé planáris molekulák képesek interkalálódni, mint pl. az etídium-bromid (EB). Ez egy fluoreszcens molekula, interkalálódás hatására fluoreszcencia intenzitása jelentősen nő. A DNS kompetíciós mérésének esetén a 4:1 arányú ctDNS:EB tartalmú mintát titráltuk valamely fémkomplexszel. Ha az emissziós intenzitás csökken, az általában azt jelenti, hogy a kötött EB koncentrációja folyamatosan csökken. Ennek eltérő okai lehetnek: i) a fémkomplex interkalálódása és EB felszabadulása; ii) a DNS szerkezetének olyan változása a fémkomplex bekötődése során (megcsavarodás, megtörés, feszülés), hogy az EB kötődésére kevésbé alkalmas térszerkezet alakul ki; de az is előfordulhat, hogy iii) a szerkezeti átrendeződés miatt a kötött EB fluoreszcenciája kioltódik, ekkor azonban nem szabadul fel EB. Akármelyik is a valós folyamat, a fémkomplex megkötődésről van szó, amire a kezdeti fluoreszcens intenzitás csökkenésének méréséből következtethetünk. A spektrumokat a Microsoft Excelben található SOLVER nevű bővítményével bontottuk fel, ezekből kaptuk a

valószínűleg szabad és kötött EB móltörtjeit. A feladatot egyszerűsítette, hogy sem a ctDNS sem a fémkomplexek nem fluoreszkálnak az alkalmazott hullámhossz esetén.

A fluorimetriás méréseket igen híg oldatban végeztük: HSA-ra nézve 1 μM , ctDNS-re 20 μM (nukleotidra vonatkozóan), EB-ra 5 μM , míg a fémkomplexre nézve 10 μM (HSA), ill. az EB kiszorításához 50-250 μM fémionra/fémkomplexre nézve. A kis koncentráció használata rendkívül fontos a jelentős önabszorpció és belső filter hatás elkerülése miatt, de még így is szükséges volt korrekcióra a fémkomplexeket tartalmazó oldatok esetén. Ezt a korrekciót a 7. egyenlet alapján végeztük el, ahol az I_{korrr} és az $I_{\text{mért}}$ a korrigált és a mért intenzitás, $A_{\lambda(\text{EX})}$ és $A_{\lambda(\text{EM})}$ az abszorbancia a besugárzás és a detektálás hullámhosszán [149]:

$$I_{\text{korrr}} = I_{\text{mért}} \times 10^{\frac{A_{\lambda(\text{EX})} + A_{\lambda(\text{EM})}}{2}} \quad (7)$$

Az oldatok pH-ja 7,40-re volt beállítva: HSA esetén PBS* puffert, míg ctDNS esetén 20 mM-os foszfát puffert alkalmaztunk, 4 mM-os KCl-tartalommal; a mérést Hitachi F-4500 típusú spektrofluoriméterrel végeztük 1 cm úthossz mellett. A mintáktól függően eltért a gerjesztés hullámhossza és a kibocsátott fény detektálási tartománya, amit a 2. táblázat mutat.

2. táblázat: A különböző fluorimetriás mérésekhez használt gerjesztő és emissziós hullámhosszak.

Mérés típusa	Gerjesztő hullámhossz	Emissziós tartomány
Trp kioltás	295 nm	305-450 nm
EB kiszorítás	510 nm	530-680 nm

4.4. Egyéb kiegészítő vizsgálatok

4.4.1. Egykristály röntgendiffrakciós szerkezet-meghatározás

Hazai és nemzetközi együttműködés keretében az általunk szintetizált fémkomplexek egykristályaiból röntgenkristallográfia segítségével pontos szerkezetmeghatározást tudtak végezni számos fémkomplexen. A megfelelő méretű egykristályokat két kutatóhelyen is mérték: a Bécsi Egyetem Szervetlen Kémiai Intézetében Alexander Roller végezte el bizonyos (N,N) donoratomekat tartalmazó ligandumok komplexeinek és a vegyes ligandumú komplexek szerkezetének meghatározását, míg a többi (N,N) ligandum, a dipikolinát és az (O,O) donor ligandumok komplexeit Dr. May Nóra V.

(TTK, Budapest) vizsgálta. A szerkezetek megjelenítése és a geometriai paraméterek kigyűjtése a Mercury [150] és Olex2 [151] szoftverekkel történt, utóbbinál a térszögek számolását egy beépített modul tartalmazza.

4.4.2. *In vitro* citotoxicitás és antibakteriális hatás mérése, fémakkumuláció

Együttműködő partnereinknek köszönhetően többféle rákos sejtvonalon is történtek *in vitro* citotoxicitás mérések, melyeket a 3. táblázatban tüntettem fel. A Colo320/MDR-LRP és a MES-SA/Dx5 sejtek fokozott P-glikoprotein (ABCB1) kifejeződésének hatására a rezisztencia efflux pumpákon keresztül valósul meg leginkább. Ezzel szemben az A2780cis sejtvonalban a glutation emelkedett szintjének következtében kialakuló redukáló környezet, továbbá a fokozott DNS-hibajavítás is nagymértékben hozzájárul a ciszplatin és egyéb DNS-en ható vegyületekkel szembeni rezisztenciához. Emellett a glutation koordinációja is csökkenti a citotoxikus vegyületek hatását.

3. táblázat. A felhasznált rákos sejtvonalak a rákellenes vizsgálatokban.

Együttműködő partner	Sejtvonal neve	Rák típusa
Dr. Michael A. Jakupc (Institute of Inorganic Chemistry, University of Vienna)	A549	nem kissejtes tüdőrák
	CH1/PA-1	petefészek teratokarcinóma
	SW480	vastagbél adenokarcinóma
Dr. Spengler Gabriella (SZTE ÁOK, Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet)	Colo205	vastagbél adenokarcinóma
	Colo320/MDR-LRP	vastagbél adenokarcinóma (multidrog rezisztens)
	MES-SA	méh szarkóma
Dr. Szakács Gergely (TTK, Budapest)	MES-SA/Dx5	méh szarkóma (doxorubicin rezisztens)
	A2780	petefészek adenokarcinóma
	A2780cis	petefészek adenokarcinóma (ciszplatin rezisztens)

Antibakteriális vizsgálatok Gram-pozitív és Gram-negatív törzseken (4. táblázat) történtek, pH = 5, 6, 7 és 8-on, melynek során a minimális inhibíciós koncentrációt (MIC) határozták meg Dr. Spengler Gabriella laboratóriumában.

A fémakkumulációs mérésekhez előzetesen Colo205 sejteket 4 és 24 óráig inkubáltuk a fémkomplexekkel. Ezt követte egy salétromsavas feltárás, majd Dr. Szoboszlai Norbert totálreflexiós röntgen fluoreszcencia spektrometriásan (TXRF) meghatározta a sejtek Rh és Ru mennyiségét. Ehhez egy TXRF 8030C spektrométert alkalmazott.

4. táblázat Az antibakteriális vizsgálatokhoz használt törzsek.

<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Gram-pozitív	érzékeny
<i>Staphylococcus aureus</i> 272123 (MRSA)	Gram-pozitív	rezisztens
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	Gram-negatív	érzékeny
<i>Escherichia coli</i> 32313	Gram-negatív	rezisztens

4.4.3. HR-ESI-MS

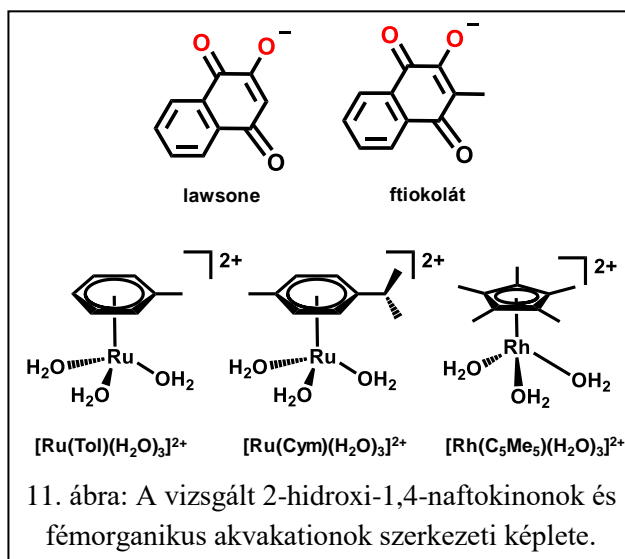
HR-ESI-MS méréseinket Dr. Kele Zoltán végezte egy Waters Q-TOF Premier készüléken, metanol-acetonitril elegyet használva eluensként.

5. EREDMÉNYEK

5.1. (O,O) donor ligandumok félszendvics komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata

A vizsgált természetben előforduló (O,O) donor ligandumok a 2-hidroxi-1,4-naftokinonok családjába tartoznak, név szerint lawsone (lawH) és ftiokol (phthH) (11. ábra). Különleges rákellenes profillal rendelkeznek, mivel önmagunkban nem aktívak, viszont félszendvics fémorganikus kationokkal kombinálva egy nagyságrenddel megnő a citotoxikus aktivitásuk [54], így érdekes a komplexek fiziológiás körülmények között megjelenő domináns formáinak meghatározása. A bécsi együttműködő partnerünk korábban publikált $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{phth})\text{Cl}]$ komplexét különböző szerkezeti részeinek lecserélésével

szerettük volna úgy módosítani, hogy a rákellenes aktivitásán javítsunk. Az **Függelék F2.** táblázatában bemutatott IC_{50} értékek mutatják, hogy sajnos sem a $\text{phth} \rightarrow \text{law}$, sem a $p\text{-cimol} \rightarrow \text{toluol}$, sem a $\text{Cl} \rightarrow \text{Br/I}$ és még a $\text{Ru} \rightarrow \text{Rh/Os}$ csere sem javított a hatásosságon, sőt, a ródium jelenlétében a citotoxikus hatás teljesen eltűnt, három különböző



11. ábra: A vizsgált 2-hidroxi-1,4-naftokinonok és fémorganikus akvakationok szerkezeti képlete.

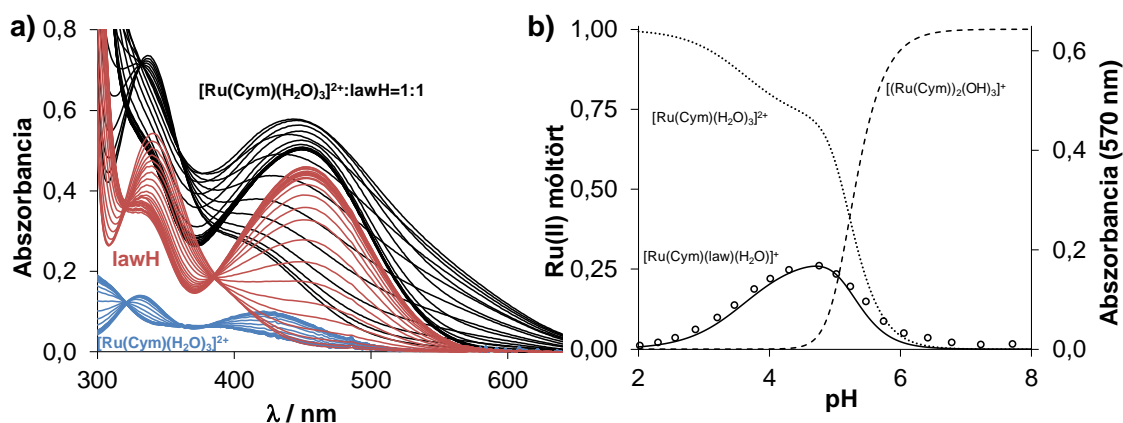
rákos sejtvonalon (A549, CH1/PA-1, SW480) is mérve. A bromidiont és a jodidiont tartalmazó analógok oldhatósága oly mértékben lecsökkent, hogy az a citotoxicitási méréseket megakadályozta.

A szilárd komplexeket együttműködő partnereink állították elő és röntgenkristallográfiásan igazolták a szerkezetüket, melyekben a félszendvics kationhoz egy oxocsoporton és a deprotonált hidroxilcsoporton keresztül koordinálódik a ligandum. Monokomplexek képződését feltételezzük oldatfázisban is, öttagú kelátgyűrű képződésével. Hat rendszer részletes oldategyensúlyi vizsgálatát végeztük el: a két ligandum és a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ fémorganikus kationok komplexképződési egyensúlyi folyamatait vizsgáltuk. Ezek

között megtalálható a biológiai mérések alapján legaktívabbnak mutatkozó $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{phth})\text{Cl}]$ és a legkevésbé aktív $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phth})\text{Cl}]$ komplex is.

A korábbi munkák során 0,20 M (KCl) ionerősség mellett meghatározott hidrolízis állandókat használtuk fel (1. táblázat). A félszendvics ruténium- és ródiumkomplexek viselkedése a közeg kloridion-tartalmától függ, oldategyensúlyi folyamataik megváltoznak a kloridionok koordinációja miatt, így az ilyen közegben meghatározott állandók látszólagos állandóknak tekintendők. Erre jó példa a fémorganikus kationok KNO_3 és KCl mellett mért hidrolízise [35,36], ill. a komplexképződésre és a koordinált víz deprotonálódására való hatás (pl. deferipron, maltol, allomaltol, 2-pikolinát, etiléndiamin, 2,2'-bipiridin, [36,37,67]). A meghatározott állandókból megállapítható, hogy a kloridionok csökkentik a komplex stabilitását és növelik a $\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ értéket, mivel a kloridion verseng mind a kétfogú ligandummal, mind a hidroxidionnal. Az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+$ képlet valójában részben $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})\text{Cl}]$ ilyen közegben, azonban az egyszerűség kedvéért ezt a továbbiakban külön nem tüntetem fel. Ezen naftokinonok savas közegben nem oldódnak nagy koncentrációban, így spektrofotometriás méréseket végeztünk. A ligandumoknak egy-egy savi disszociációs állandója van, melyek alapján savas pH-n veszítik el a protont. A hidroxilcsoport melletti elektronküldő metilcsoport látványosan növeli a $\text{p}K_a$ értékét 3,90-ről 5,08-ra. A meghatározott értékek a korábban közölt állandókkal jó egyezést mutatnak [152,153].

Korábbi tapasztalatok alapján az (O,O) donorokat tartalmazó ligandumokkal gyorsan beáll a komplexképződési egyensúly, előméréseink is ezt igazolták a lawsone és ftiokol ligandumokkal is. A ligandumokban a koordinálódó csoportok közvetlenül kapcsolódnak a delokalizált elektronrendszerhez, így fotometriásan jól követhető a koordinációjuk. A 12.a ábrán a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} - \text{lawH}$ (1:1) rendszer UV-vis pH-függő spektrumain a 600 nm körüli régió emelhető ki, ahol csak a képződő fémkomplexhez köthető abszorbancia, a ligandum és a fémorganikus kation ebben a tartományban nem nyel el. Az abszorbanciát ezen a hullámhosszon követve egy maximumgörbét figyelhetünk meg, melyet a 12.b ábrán feltüntettünk. Egyértelműen látható a fémkomplex képződése és disszociációja is, ami meglehetősen kis stabilitásra utal az alkalmazott körülmények között. A számolt koncentrációeloszlási görbéken látható, hogy 200 μM esetén 26% a maximális fémkomplex arány (pH = 4,72).



12. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation, a lawH ligandum és a kettőt 1:1 arányban tartalmazó minta különböző pH-kon felvett spektrumai. b) $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – lawH rendszer koncentrációeloszlási görbéi, melyek számolásához az 5. táblázatban levő egyensúlyi állandókat használtuk fel. A fémkomplex 570 nm-en mért elnyelése \circ jellel van jelölve. $\{c(\text{lawH}) = c([\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = 200 \mu\text{M}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}; T = 25,0^\circ\text{C}; \ell = 2 \text{ cm}\}$

A komplex kis stabilitása és a Ru(arén) kationok fokozott hidrolízisének köszönhetően fiziológiás pH-n gyakorlatilag fémkomplex nincs is jelen az oldatban. A Rh esetén kisebb stabilitási állandót határoztunk meg, a lawH esetén csak egy maximum értéket tudtunk megadni, kölcsönhatás nem volt kimutatható fotometriás mérésekkel. A stabilitási állandók számértéke a következő trend alapján változik: $\text{Ru}(\text{Cym}) > \text{Ru}(\text{ToI}) > \text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$. A ftiokol komplexei esetén mindhárom kation esetén lehetett számolni stabilitási állandót. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{ftiokolát})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplexhez tartozik a legkisebb egyensúlyi állandó, azonban a kation kisebb hidrolitikus hajlama miatt fiziológiás pH-n még jelen van a komplex (14,5%).

A komplexek ligandumokhoz képest nagyobb rákellenes hatását a kapott egyensúlyi állandók birtokában nem tudjuk megmagyarázni. Az eredményeink azt mutatták, hogy a legnagyobb rákellenes aktivitású $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{phth})(\text{H}_2\text{O})]^+$ gyakorlatilag teljesen disszociál vizes közegben, míg a nem citotoxikus $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phth})(\text{H}_2\text{O})]^+$ volt a legnagyobb arányban (14,5%) jelen fiziológiás pH-n. Az ellentmondó eredmények feloldásaként egyfajta szinergista hatás feltételezhető, mely a deprotonált ligandum és a $[(\text{Ru}(\text{Cym}))_2(\mu\text{-OH})_3]^+$ részecske együttesének köszönhető.

5. táblázat: Az (O,O) donor ligandumok savi disszociációs állandója (K_a), és félszendvics kationokkal képzett komplexeiknek stabilitási állandói ($K[M(\text{arén})(L)]$) és a komplexekben kötött víz deprotonálódását ($K_a[M(\text{arén})(L)]$) és kloridionokra történő cseréjét jellemző ($K'(H_2O/Cl^-)$) egyensúlyi állandók. $\{I = 0,20 \text{ M KCl}; T = 25,0^\circ\text{C}\}$

HL	$pK_a(\text{HL})$		Ru(Cym)	Ru(Tol)	Rh(C ₅ Me ₅)
lawH	3,90(1) ^a	$\lg K[M(\text{arén})(L)]^a$	3,45(1)	3,31(2)	<3,1
phthH	5,08(1) ^a	$\lg K[M(\text{arén})(L)]^a$	4,04(3)	3,78(4)	3,52(3)
acacH	8,76(1) ^b	$\lg K[M(\text{arén})(L)]$	8,56 ^c	7,93(9) ^b	6,44(1) ^b
		$pK_a[M(\text{arén})(L)]$	-	8,09(4) ^d	6,48(1) ^d
		$\lg K'(H_2O/Cl^-)$	-	9,32(3) ^d	-
curcH ₃	H ₃ L: 7,72(6)	$\lg K[M(\text{arén})(L)]$	-	-	25,76(4) ^f
	H ₂ L: 9,54(1)				
	HL: 10,32(1) ^a				
a: UV-vis titrálás, pH = 2–11,5			d: ¹ H NMR titrálás, pH = 2–11,5		
b: pH-potenciometriás titrálás, pH = 2–11,5			e: UV-vis, $c(Cl^-) = 0-0,3 \text{ M}$, pH = 7,3		
c: szakirodalmi érték, ref. [62]			f: UV-vis, $c(M(\text{arén}))/c(L) = 0-8,6$, pH = 6,8		

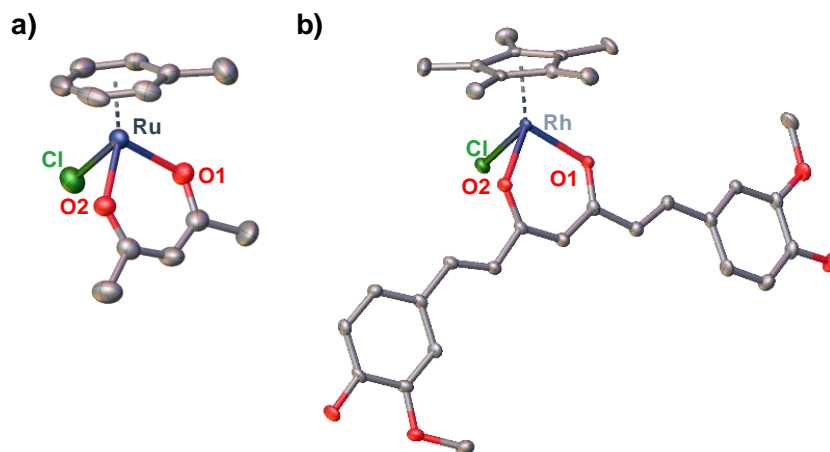
A kurkumint (6. ábra) és komplexeit az irodalmi áttekintésben már bemutattam, rákellenes hatása jól ismert. Együttműködő partnerünk mérései is ezt igazolják, ahol Colo320 rákos sejteken vizsgáltuk meg a kurkumin rákellenes hatását önmagában és félszendvics kationok jelenlétében. Háromnapos inkubációt követően a kurkumin és Rh(C₅Me₅)-komplexe 15 (± 1) μM és 12 (± 1) μM IC₅₀-értékeket mutattak, ami gyakorlatilag ugyanolyan hatásosságra utal. A Ru(arén)-komplexeknek kissé csökkent a citotoxicitása a ligandumhoz képest (Ru(Cym): 26 ± 2 μM és Ru(Tol): 20 ± 4 μM).

Számos félszendvics komplex alkotóeleme a kurkumin vagy annak származéka, melyekben (O,O) donoratomokat tartalmazó ligandumként hattagú kelátgyűrűt képez, azonban részletes oldategyensúlyi vizsgálatokat nem folytattak eddig félszendvics kurkumin komplexekre tiszta vizes közegben. A hasonló jellegű mérésnél segédoldószerre volt szükség a kurkumin rossz oldhatósága miatt, mint pl. a Fe(III)-ionokkal való kölcsönhatás vizsgálata esetén, ahol 50 (v/v)% metanolt használtak [154]. Etanolban való kitűnő oldhatósága miatt munkánk során tiszta etanolos törzsoldatot készítettünk, emellett 5% (v/v) etanol-víz elegyet használtunk a mintákban. Ily módon kis (μM-os) koncentrációkat lehetett elérni, és spektrofotometriásan is követni tudtuk az egyes folyamatokat. A kurkumin savas közegben rosszul oldódik, lúgos közegben oldhatósága megnő, azonban ekkor hidrolitikusan és fotolitikusan is bomlik. Ezért a fotometriás titrálások során fénytől védtük a mintákat, a pH mérése és a küvetába való

kivétel után a mintarészleteket megmértük, de újra már nem használtuk fel őket. Így határoztuk meg a ligandum három átfedő deprotonálódását jellemző pK_a értékeket (5. táblázat). A legkisebb valószínűleg a β -diketon részhez tartozik, míg a fenolos hidroxilcsoportok bázikusabb pH-n deprotonálódnak. Az 1:1 fémorganikus triakva kation:ligandum összetételű minták komplexképződésre utaló változást nem mutattak a pH változtatásakor, így nem lehetett stabilitási állandókat számolni ezekből a mérési adatokból. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationokat tartalmazó mintákban csapadékkiválásra utalt az alapvonal emelkedése, ami feltételezhetően ezek kurkumináto komplexeinek kiválásának köszönhető. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationnal oldhatósági probléma nem volt tapasztalható. A kurkumint a kationnal titráltuk, a spektrális változás felbontásából a komplex stabilitási állandóját meg lehetett határozni (5. táblázat). Mivel a cél az oldatbeli stabilitás részletesebb összehasonlítása volt, a kurkuminnak egy olyan modelljét kerestük, amelynek a Ru(arén) komplexei is vízoldhatók. Mivel az oldhatóság (és fényérzékenység) korlátozta a kurkuminnal végrehajtott vizsgálatok többségét, ezért a legegyszerűbb vízoldható modelljének viselkedése a kurkumin komplexképző tulajdonságáról is árulkodhat.

A kurkumin központi, koordinálódó része egy β -diketon, mely csoportot a legkisebb ilyen molekula, az acetyl-aceton (acacH) modellezi, melyet az 6. ábrán is láthatunk. Ennek és származékainak félszendvics komplexeiről található adatok a szakirodalomban, a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{acac})\text{Cl}]$ komplex egykristály röntgendiffrakciós szerkezete [60] és egyensúlyi állandója is ismert [62]. Szerkezetét a szakirodalomban talált $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{curcH}_2)\text{Cl}]$ [155] komplexszel összevetve megfigyelhető a kötésszögek és -hosszak nagymértékű hasonlósága, azaz jó szerkezeti modell.

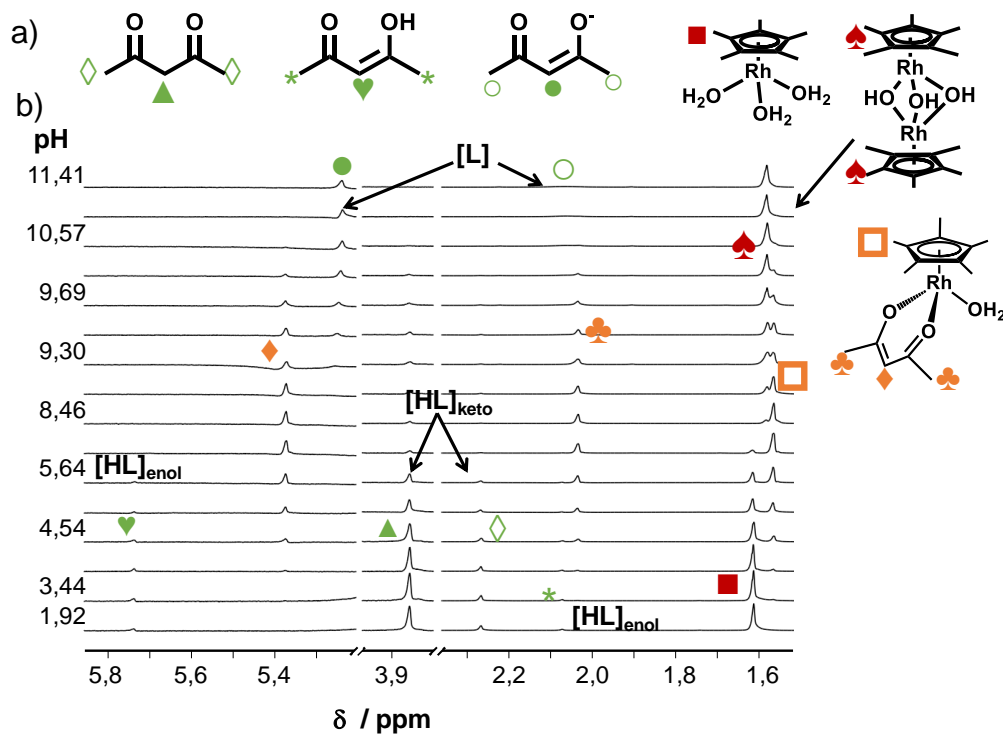
A $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{acac})\text{Cl}]$ és a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{curcH}_2)\text{Cl}]$ komplexek esetén nekünk is sikerült röntgenkristallográfiai mérésre alkalmas egykristályokat előállítanunk (13. ábra). Megállapítottuk, hogy a fém-oxigén kötéshossz és kötésszög a haptoligandum cseréjével (*p*-cimol→toluol) kismértékben változik. A szilárd fázisú adatokból is lehet következtetni a stabilitásbeli különbségre a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ - és $\text{Ru}(\text{arén})$ -komplexek összehasonlításakor. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{curcH}_2)\text{Cl}]$ szerkezete [155] összehasonlítva az általunk előállított $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{curcH}_2)\text{Cl}]$ szerkezetével (13.b ábra) rövidebb M–O kötések mutat (2,071 Å vs. 2,078 Å), ami erősebb kölcsönhatást és nagyobb stabilitást feltételez az előbbiben.



13. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{acac})\text{Cl}]$ és a b) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{curcH}_2)\text{Cl}] \times 2 \text{ MeOH}$ egykristály röntgendiffrakciós szerkezete. A termális ellipszoidok 50%-os valószínűséggel jelölik az atomok pozícióit. Az oldószermolekulákat és a hidrogénatomokat a jobb átláthatóság érdekében nem mutatjuk.

Az acacH vízben való jó oldhatósága miatt NMR és pH-potenciometriás méréseket is tudtunk végezni. Az acacH keto-enol tautóméria révén két formában van jelen vizes közegben, melyek között lassú csere van a ^1H NMR spektroszkópiás mérések alapján. Az általunk meghatározott ezen folyamatra vonatkozó egyensúlyi állandó közel van a szakirodalmi értékhez: $K(\text{enol}/\text{keto}) = 0,23(1)$, (szakirodalmi adat: 0,21 [156]), azaz savas/semleges közegben a keto forma dominál. Azonban bázikus közegben az enol forma deprotonálódik enoláttá, mely jól követhető a csúcsok kiszélesedésével ^1H NMR spektrumokon. Fémorganikus kationok jelenlétében, mM-os koncentrációban a spektrumokon számos jel látható: a fémkomplex mellett az acacH két tautomere és a fémorganikus kation akva és hidroxidohidas kétmagvú komplexe is külön-külön megjelenik, melyet a 14. ábra szemléltet, az előforduló részecskék és azok NMR spektrumnak való jeleinek megjelölésével. A különböző pH-n felvett NMR spektrumokból stabilitási állandókat tudtunk számolni a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationokat tartalmazó közegben (a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ komplexére már korábban történtek mérések Bíró és munkatársai által [62]). Az értékek jól egyeztek a pH-potenciometriás mérések eredményeivel (5. táblázat), és a Ru(arén)-komplexek nagyobb stabilitását mutatják. Az $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ és a Ru(arén)-kationok korábban említett eltérő hidrolitikus hajlama miatt nagy különbség látható az egyes fémkomplexek között. $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]$ esetében a komplexben nem kötött akva- és hidroxidokomplexek a teljes pH-tartományban jelen vannak 1:1 fémorganikus

kation-ligandum arányánál, míg $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ esetén van olyan pH-tartomány, ahol csak a komplex van jelen (pH = 7–8, 14. ábra).

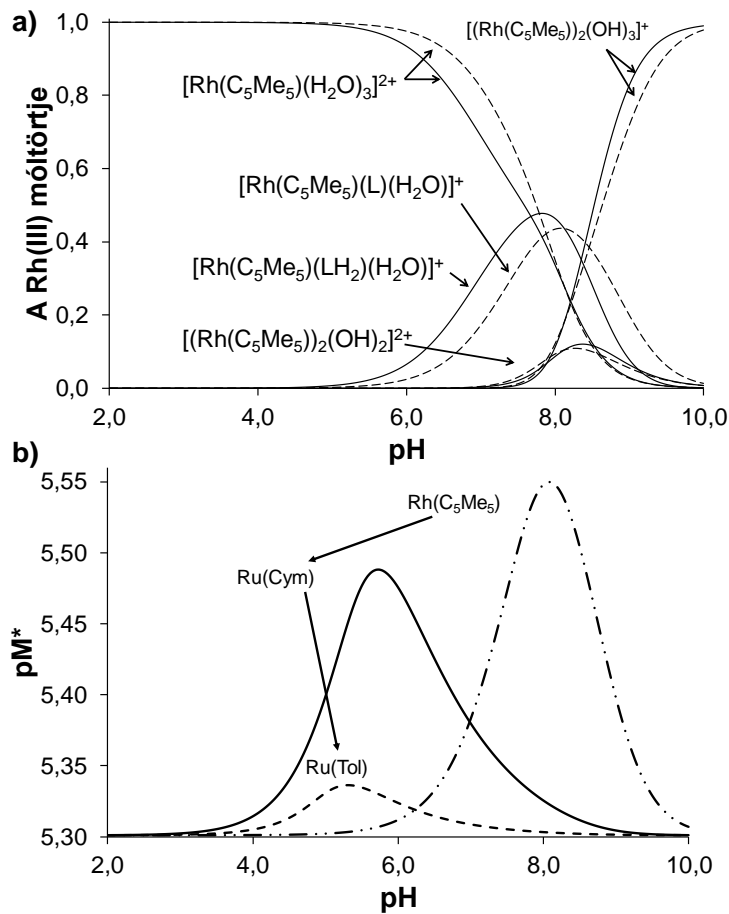


14. ábra: a) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – acacH (1:1) rendszerben előforduló részecskék szerkezeti képletei. b) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – acacH (1:1) rendszer ^1H NMR spektrumai pH=1,9–11,4 között felvéve. Az a)-ban feltüntetett részecskék protonjaihoz tartozó csúcsok különböző szimbólumokkal jelölve. $\{c(\text{acacH}) = 2,0 \text{ mM}; c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = 2,1 \text{ mM}; 10\% \text{ D}_2\text{O}; T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}\}$.

Továbbá megfigyelhető, hogy bázikus közegben a komplexben kötött C_5Me_5 jelei lecsökkennek, majd eltűnnek, helyette egy új jel jelenik meg, amely a kétmagvú hidroxidokomplexhez tartozik. Vegyes hidroxidokomplex $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{acac})(\text{OH})]$ képződése nem volt megfigyelhető ilyen körülmények között. Ezzel szemben a $\text{Ru}(\text{Tol})$ esetében a kétmagvú hidroxido forma megjelenésével párhuzamosan eltolódnak az acac-komplex jelei, mely a koordinált víz deprotonálódására utal. Ez szigmoid görbét ír le a pH függvényében, melyből a meghatározott $\text{p}K_a$ értéket az 5. táblázatban tüntettük fel. Ugyanitt szerepelnek a meghatározott $\lg K[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ értékek is, melyek ugyanazt a trendet mutatják, mint a naftokinonok esetén.

Mivel mind az acacH, mind a curcH₃ komplexének stabilitási állandója ismert a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ esetén, ezeket össze lehet hasonlítani. Az egyensúlyi állandók számértéke a ligandumok eltérő protonálódási tulajdonsága miatt nem mérhető. Közvetlen

összehasonlításához koncentrációeloszlási görbéket lehet alkalmazni, melyeket azonos körülmények között számoltunk (ld. 15. ábra).

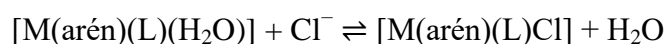


15. ábra: a) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – acacH (szaggatott vonalak) és a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – curcH₃ rendszerek koncentrációeloszlási görbéi. b) pM^* görbék a fémorganikus kationok összehasonlítására az M(arén) – acacH rendszerekben. Az a) és b) ábrákhoz az 5. táblázat állandóit használtuk fel. $\{c(\text{acacH}) = c(\text{curcH}_3) = c(\text{kation}) = 5 \mu\text{M}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}\}$

A 15.a ábrán közel futnak egymáshoz az egymásnak megfelelő részecskékhez tartozó görbék, az eltérés mértéke kicsi. Ez alapján elmondható, hogy oldategyensúlyi szempontból elégséges, de nem tökéletes modellje az acetyl-aceton a kurkuminnak. A különböző fémorganikus részt tartalmazó komplexek stabilitását a pM^* értékek összevetésével hasonlítottuk össze. A pH függvényében ábrázolt pM^* görbék (15.b ábra) alapján elmondható, hogy a komplexképződés profilja nagymértékben eltér a Ru és Rh tartalmú kationok között. Míg a Ru(arén) komplexek esetén inkább a savas pH-tartományban van a görbe maximuma (toluol: pH = 5,32, *p*-cimol: pH = 5,72), addig a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ jelenlétében ez pH = 8,08-on található. A komplexképződéssel versengő

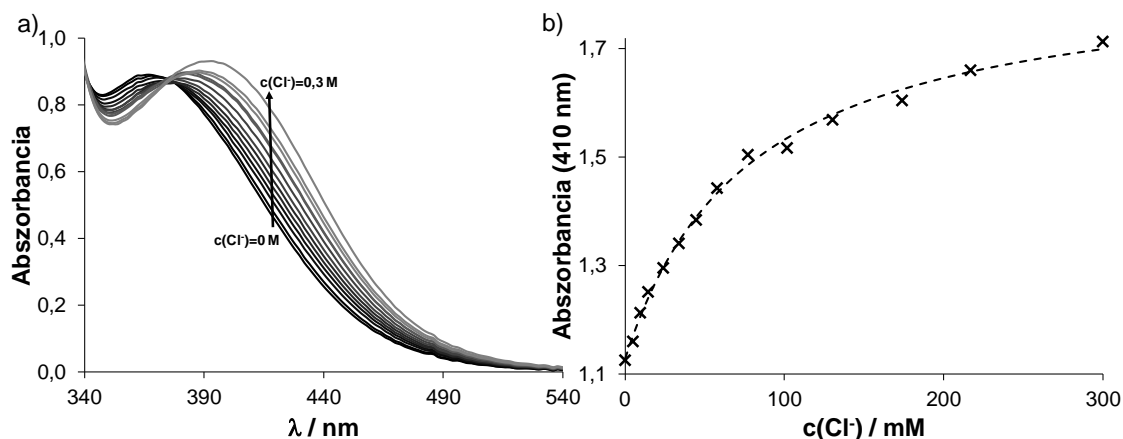
folyamatok savas oldalról a ligandum protonálódása, míg másik oldalról az $[(M(\text{arén}))_2(\text{OH})_3]^+$ részecske képződése, melyek a komplex disszociációt elősegítik. Fiziológias pH-n a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]$ komplexből van a legnagyobb mennyiség azonos körülmények között.

A kloridiont tartalmazó közeg esetén számolnunk kell azzal, hogy a kloridion koordinálódása nagy hatással lehet az egyensúlyi állandókra, emellett a komplex töltése is változik -1-gyel, ami a lipofilitást befolyásolja, ahogy ezt már a kutatócsoportunk több publikációjában is bemutattuk [88,97]. A különböző komplexek kloridion-affinitását gyakran nem határozzák meg, és nincs egy általánosan elfogadott módszer. A szakirodalomban ioncserés és kinetikai módszerekből számolt stabilitási állandókra látható példa [44,104]. Az NMR spektrumokon az egyensúlyi állapotban látható az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})\text{Cl}]$ és az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]$ jele, melyből szintén számoltak állandót vagy egy egyensúlyi hidrolizált arányt [121,157]. Az általunk használt módszer alapján a kloridiontól mentes oldatot KCl-oldattal titráljuk, a spektrális változást követjük UV-vis fotometriás módszerrel. A lejátszódó egyensúlyi reakció:



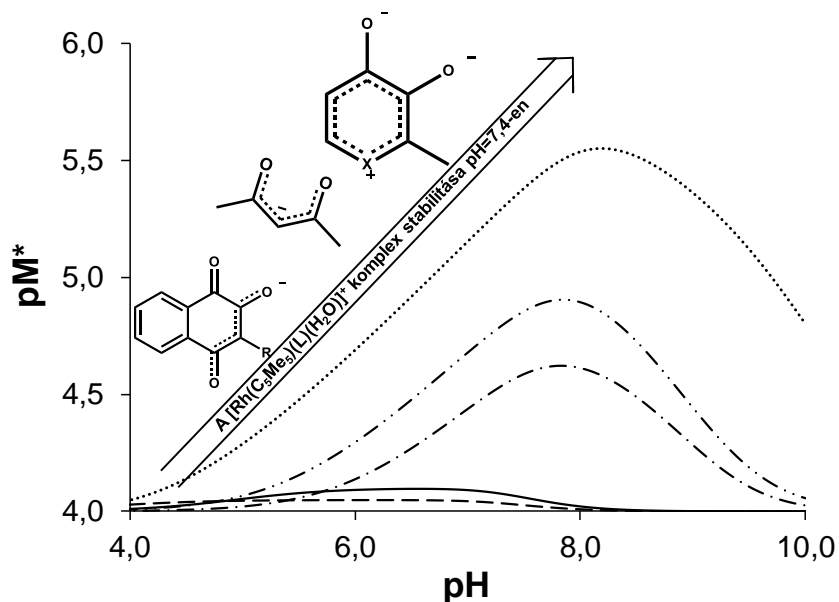
A spektrumok és koncentrációk megadása után a PSEQUAD programmal [148] végeztük a spektrumok felbontását és számítottuk a moláris abszorbancia spektrumokat és a $\lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)$ víz–kloridion csereállandókat. Ezen egyensúlyi állandó segítségével megadhatjuk, hogy adott kloridion koncentráció mellett a komplex hány százaléka van klorido-, ill. akvaformában jelen.

A 16.a ábrán megfigyelhető a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]^+$ példáján keresztül a változás jellege: a CT-sáv a nagyobb hullámhosszak felé tolódik, a λ_{max} értéke nő. Az egy hullámhosszon történő változást a 16.b ábra mutatja be, mely telítési görbe jelleget mutat. Általánosan a fiziológias pH a legfontosabb a rákellenes komplexek vizsgálatakor, a mérés pH-ja sokszor kissé savasabb közegben történt (pH~6), hogy elkerüljük a kiindulási, kloridiontól mentes közegben az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{OH})]$ komplex képződését.



16. ábra: a) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]^+$ UV-vis spektrumai különböző kloridion koncentrációk mellett. b) Az abszorbancia változása 410 nm-en a kloridion koncentrációjának függvényében. $\{c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = c(\text{acacH}) = 1 \text{ mM}; c(\text{Cl}^-) = 0\text{--}300 \text{ mM}; \text{pH} = 7,30$ (20 mM foszfát puffer); $T = 25,0^\circ\text{C}$; $\ell = 1 \text{ cm}\}$.

Az összefoglaló 17. ábrán összehasonlítottuk a korábban vizsgált (O,O) donor deferipron [67], maltol és allomaltol ligandumokkal [36] a naftokinon és acetil-aceton $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexek oldatbeli stabilitását. A következő trend állapítható meg a pM^* értékeket vizsgálva: deferipron > maltol, allomaltol > acetil-aceton \gg ftiokol, lawsone.



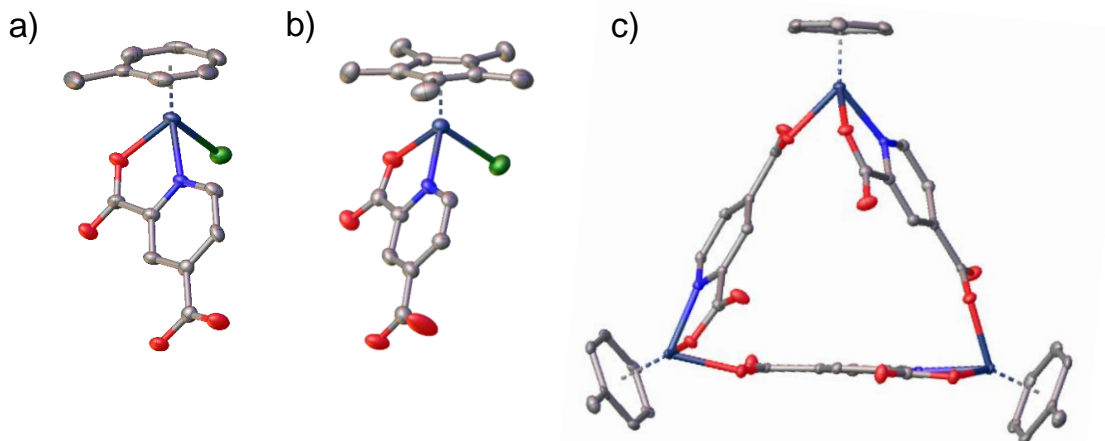
17. ábra: Számolt pM^* -görbék a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – (O,O) (1:1) kétfogú ligandum rendszerekre, felhasználva az 5. táblázat egyensúlyi állandóit és szakirodalmi adatokat. L = lawH (- - -); phthH (—); acacH (- · - · -); maltol (- · - · - · -) [36]; deferipron (·····) [67] $\{c(\text{L}) = c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = 100 \mu\text{M}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}; T = 25,0^\circ\text{C}\}$.

A kelátgyűrű tagszámának nincs nagy hatása, sokkal inkább a ligandum koordinálódott anionos formája a döntő. A delokalizált rendszer jellege és mértéke eltér az egyes típusoknál, melyeket az ábrán is feltüntettem. A deferipron és maltol esetén egy gyűrűs, aromás rendszerhez hasonló állapot alakul ki, ez valószínűleg egy extra stabilitást okoz. A β -diketonátok és a naftokinonok esetén a delokalizáció két oxigénre és a köztük levő három szénatomra terjed ki, azonban az előbbieknél mindkét oxigén koordinálódik a fémionhoz (azaz a kelátgyűrűben található a delokalizáció), míg utóbbiak esetén a 4. pozícióban levő oxigén vesz részt ebben korábbi vizsgálatok és röntgenkristallográfiás szerkezetek alapján [141]. A delokalizáció a 17. ábrán van feltüntetve.

5.2. Komplexképzés (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumokkal

5.2.1. A 2,4-dipikolinát félszendvics Rh- és Ru-komplexeinek oldatkémiai vizsgálata

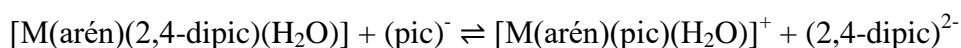
A dolgozatban tárgyalt (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumok első tagja a 2,4-dipikolinsav, mely egy piridin nitrogéne és egy karboxilát oxigéne keresztül képes öttagú kelátgyűrű kialakítására a félszendvics kationok fémcentrumával monokomplexet képezve. Ezt bizonyítja a már korábban előállított $[\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipicH})\text{Cl}]$ [87] és két analógjának, a $[\text{Ru}(\text{Tol})(2,4\text{-dipicH})\text{Cl}]$ és a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(2,4\text{-dipicH})\text{Cl}]$ általunk meghatározott egykristály szerkezete (18.a,b ábra). Ezekben a fémion–N távolság és a fémion–O távolság a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ esetén a legnagyobb, a két Ru-komplexnél közel azonos, míg a fémion–Cl távolság ezzel ellentétesen alakul. A ligandum képes két fémion közötti hídligandumként is viselkedni, mint azt a $[\text{Ru}(\text{Tol})(2,4\text{-dipic})]_3$ komplex szerkezete is bizonyítja (18.c ábra). Egy korábban közölt példa is tartalmaz Ru(II) fémcentrumot és 2,4-dipic ligandumot, a $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(2,4\text{-dipic})]_4$ egy négyszögletű komplex [158]. Azonban vizes oldatban semmilyen kísérleti adat sem utal a háromszögletű komplex jelenlétére.

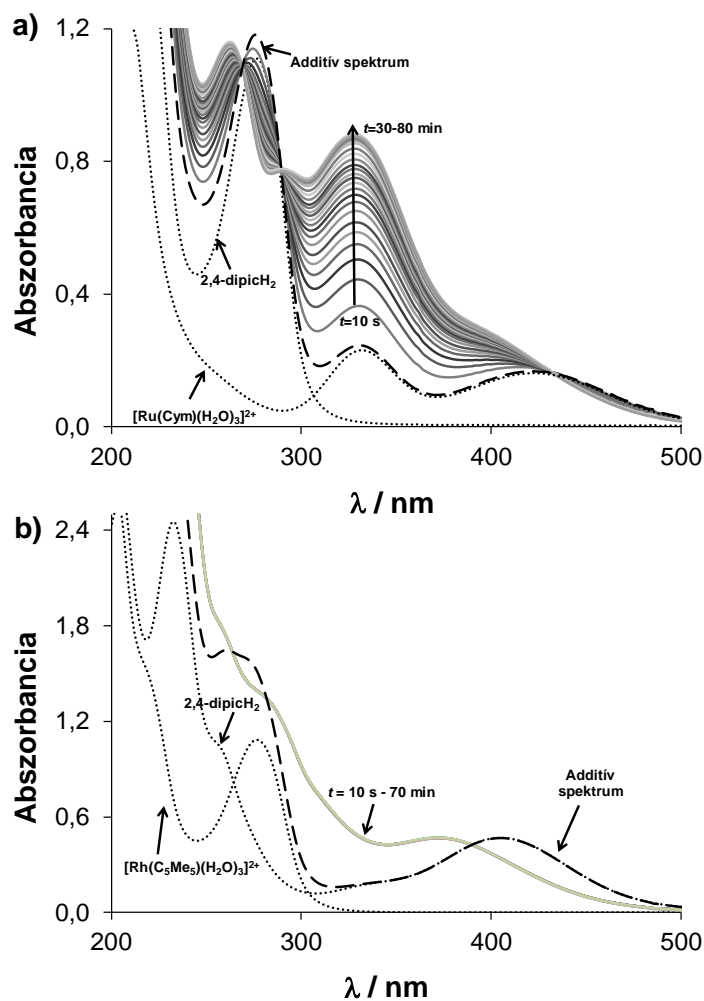


18. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Tol})(2,4\text{-dipicH})\text{Cl}] \times 3 \text{H}_2\text{O}$, b) a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(2,4\text{-dipicH})\text{Cl}] \times 3 \text{H}_2\text{O}$ és c) a $[\text{Ru}(\text{Tol})(2,4\text{-dipic})]_3 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ komplexek egykristály röntgendiffrakciós módszerrel meghatározott szerkezete. A termális ellipszoidok 50%-os valószínűséggel jelölik az atomok pozícióit. A hidrogének és a vízmolekulák a jobb láthatóság kedvéért nincsenek ábrázolva.

Dolgozatomban a 2,4-dipicH₂ ligandum $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationokkal való komplexképződési oldategyensúlyait vizsgáltuk. Kutatócsoportunkban korábban már részletesen vizsgálták a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kölcsönhatását különböző pikolinátokkal, köztük a 2,4-dipikolináttal is, ahol nagy vizes oldatbeli stabilitást tapasztaltak [88]. Oldategyensúlyi méréseinket 0,20 M-os KCl jelenlétében végeztük, a korábbi mérésekkel (2-pikolinsav, 2,6-dipikolinsav, egyéb pikolinátok) való összehasonlítás végett. A 2,4-dipikolinsavnak három disszociálós protonja van, melyek savas pH-n deprotonálódnak (pK_a értékek: < 1; 1,84 és 4,70) [88].

A komplexképződési reakció jól követhető az UV-látható hullámhossz tartományban (19.a,b ábra). Míg a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplex egy percen belül kialakult pH = 0,7-en, addig a $\text{Ru}(\text{Cym})$ esetén ez körülbelül 80 perc volt (19.a ábra). A nagy abszorbancia-változás jelentős arányú komplex jelenlétére utal már pH = 0,7-en. Ezen a pH-n a ¹H NMR spektrumokon csak a komplex jelei voltak láthatók (szabad ligandum és fémion nem volt jelen), ami nagy stabilitásra utal. Így a kationt és a ligandumot 1:1 arányban tartalmazó minták titrálásából a komplex képződésére vonatkozó stabilitási állandót nem tudunk meghatározni. A stabilitási állandó meghatározásához ligandum kiszorítást végeztünk, az alábbi reakció szerint:





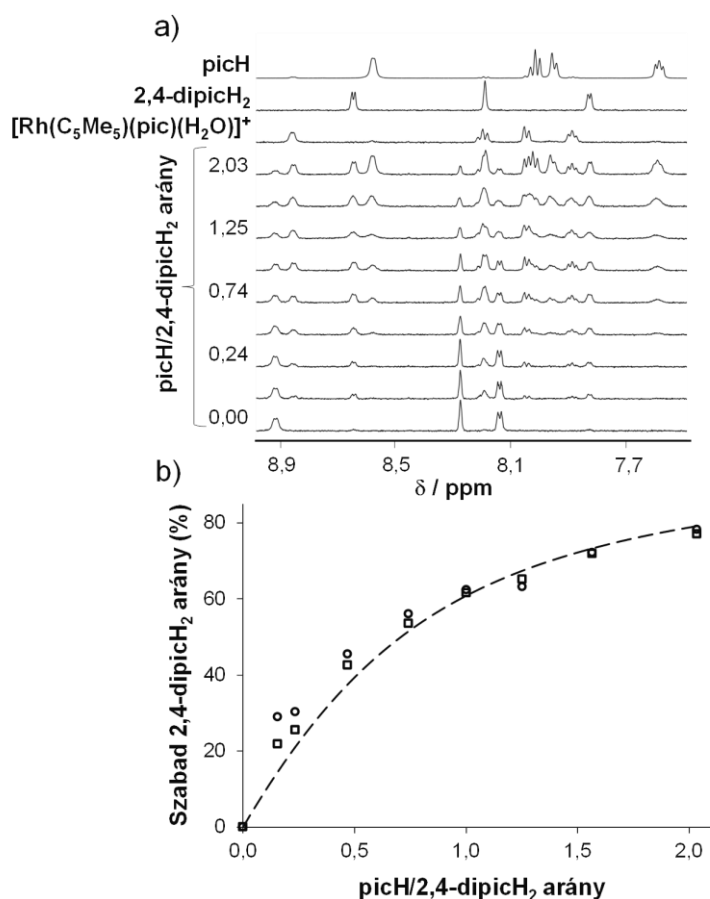
19. ábra: A komplexképződés időfüggő UV-vis spektrumai pH = 2,0-n. a) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} + 2,4\text{-dipicH}_2$ és b) a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} + 2,4\text{-dipicH}_2$ 1:1 arányú reakcióelegyeinek spektrumai. Pontozott vonallal a reaktánsok abszorbanciái, szaggatott vonallal azok additív spektruma látható. $\{c([\text{M}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = c(2,4\text{-dipicH}_2) = 202 \mu\text{M}; T = 25 \text{ }^\circ\text{C}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}; \ell = 1,0 \text{ cm}\}$

Ehhez olyan ligandumra volt szükség, mely közel hasonló stabilitású komplexet képez ezekkel a fémorganikus kationokkal és stabilitási állandója ismert [36,88,159]. Ezek alapján a 2-pikolinsavat választottuk (picH). Mivel a picH és a 2,4-dipicH₂, ill. komplexeik abszorpciós sávjai egymással átfedő hullámhossz-tartományban vannak és egymáshoz hasonlóak, spektrofotometriás mérésekkel bizonytalan lenne a meghatározás. ¹H NMR spektroszkópiás módszert alkalmaztunk, mert jól elválnak egymástól a szabad és a komplexben kötött ligandum jelei a spektrumokon, ahogy ez a 20. ábrán is látható. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]$ komplex esetén a mintasorozat spektrumaiból számolt arányok alapján határoztuk meg stabilitási állandót (6. táblázat).

6. táblázat: A picH és 2,4-dipicH₂ ligandumok félszendvics kationokkal képzett komplexek stabilizációs állandói ($K[M(\text{arén})(L)]$) és a komplexekben kötött víz deprotonálódását ($K_a[M(\text{arén})(L)]$) és kloridionokra történő cseréjét jellemző. ($K'(H_2O/Cl^-)$ állandók. $\{I = 0,20 \text{ M (KCl)}; T = 25,0^\circ\text{C}\}$

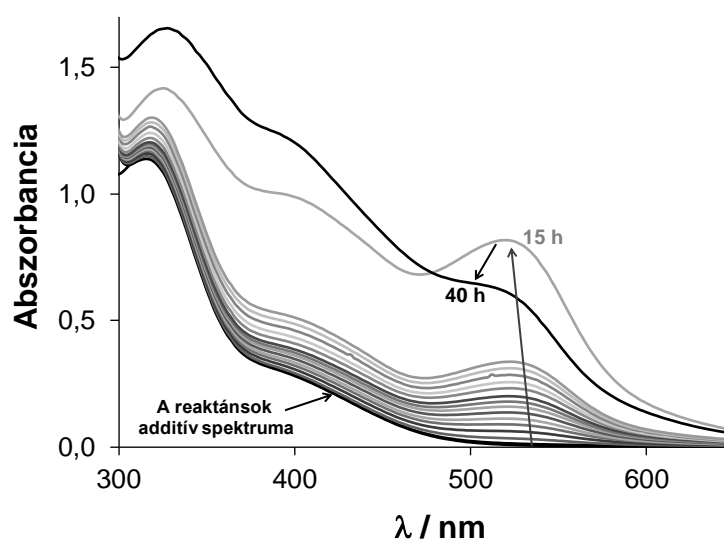
HL	Rh(C ₅ Me ₅)	Ru(Cym)	Ru(Tol) ^a
2,4-dipicH ₂	$\lg K[M(\text{arén})(L)]$	8,47(5) ^b	$\geq 12,2$
	$\text{p}K_a[M(\text{arén})(L)]$	10,39(3) ^c	8,91(1) ^c
	$\lg K'(H_2O/Cl^-)$	1,92(1) ^d	1,23(1) ^d
picH ^e	$\lg K[M(\text{arén})(L)]$	8,90	$\geq 10,7$
	$\text{p}K_a[M(\text{arén})(L)]$	10,44	8,90
	$\lg K'(H_2O/Cl^-)$	2,20	1,4

a: szakirodalmi érték, ref. [88] d: UV-vis, $c(Cl^-) = 0-0,2 \text{ M}$, $\text{pH} = 7,4$
b: ¹H NMR kiszorítás, $c(\text{picH})/c(2,4\text{-dipicH}_2) = 0-2$, e: szakirodalmi értékek, ref. [36,88,159]
c: UV-vis titrálás, $\text{pH} = 2-11,5$



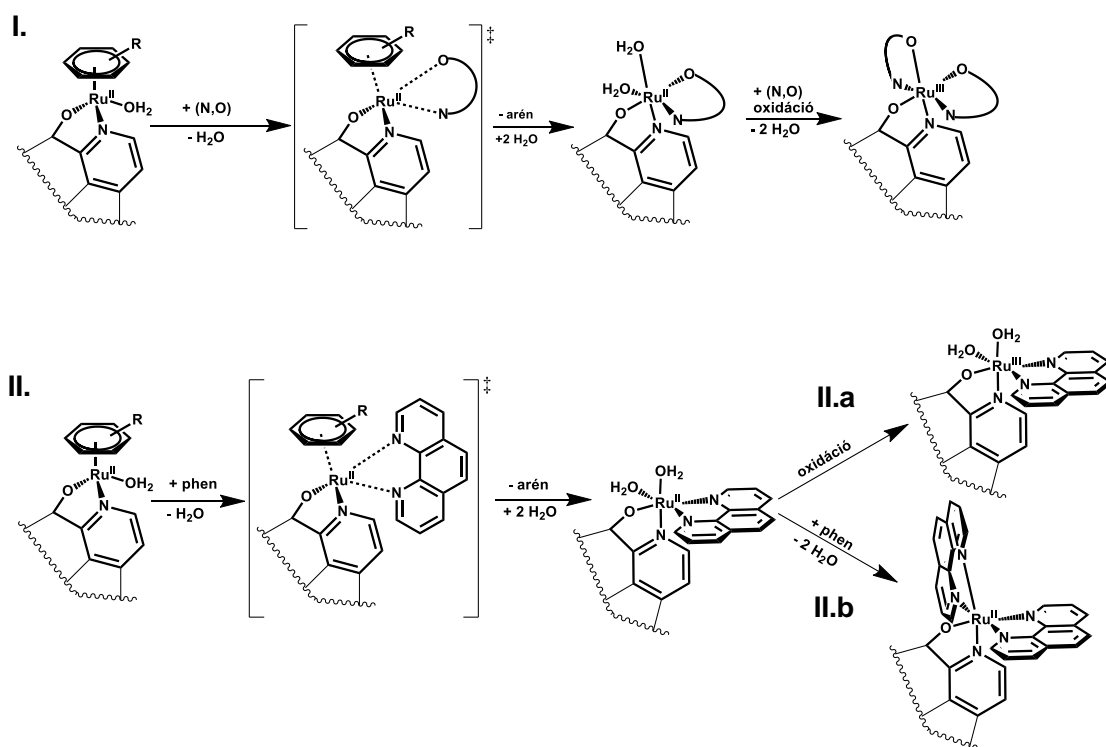
20. ábra: a) A $[Rh(C_5Me_5)(2,4\text{-dipic})(H_2O)] - \text{picH}$ rendszer különböző picH koncentrációknál felvett ¹H NMR spektrumai, ill. a két ligandum és a $[Rh(C_5Me_5)(\text{pic})(H_2O)]^+$ ¹H NMR spektrumai az aromás protonok régiójában. b) A jelek integráljaiból meghatározott (○: kötött és nem kötött dipikolinát jeleiből; □: C₅Me₅ jelekből számolt), ill. a stabilitási állandó alapján illesztett szabad 2,4-dipicH₂ ligandum aránya. $\{c([Rh(C_5Me_5)(2,4\text{-dipic})(H_2O)]) = 260 \mu\text{M}; c(\text{picH}) = 0-532 \mu\text{M}; \text{pH} = 6,5$ (20 mM foszfát puffer); $T = 25,0^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M (KCl)}$; 10% (v/v) D₂O}

Ez az eljárás nem volt sikeres a $[\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]$ komplexnél, mert az aromás haptoligandum elvesztése játszódott le, és egy oktaédes komplex képződött a Ru(II) oxidációjával párhuzamosan. Ennek első jele a minták színének jelentős változása volt (21. ábra), melyet az NMR spektrumokon levő jelek kiszélesedése (és eltűnése) erősített meg, ugyanis a képződő Ru(III)-komplex paramágneses. A reakció részletesebb kinetikai vizsgálatát tűztük ki célul, mivel korábbi mérések során a pic esetén nem írtak le ehhez hasonló reakciót 1:2 fémorganikus kation:ligandum arányánál [88,159].



21. ábra: A $[\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]$ – 2,4-dipicH₂ (1:2) rendszer időfüggő UV-vis spektrumai. $\{c([\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})]^+) = 200 \mu\text{M}; c(2,4\text{-dipicH}_2) = 400 \mu\text{M}; \text{pH} = 7,25; T = 25^\circ\text{C}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}; \ell = 1,0 \text{ cm}\}$

A reakciót három eltérő pH-n (0,7, 2,0 és 7,4) és kétféle ligandum feleslege (2,4-dipicH₂, 1,10-fenantrolin (phen)) mellett vizsgáltuk. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]$ komplexhez aerob körülmény mellett, két ekvivalens ligandum hozzáadásakor az abszorpciós spektrumokon jelentős változás figyelhető meg. Elmondható, hogy a pH növelésével a spektrális változások gyorsabbá váltak. A 2,4-dipicH₂ feleslege esetén gyorsabb reakciók voltak láthatók, mint phen-nél. Mindkét ligandumnál két lépésben történik a reakció, amint azt a 22. ábrán a feltételezett reakcióséma mutatja.



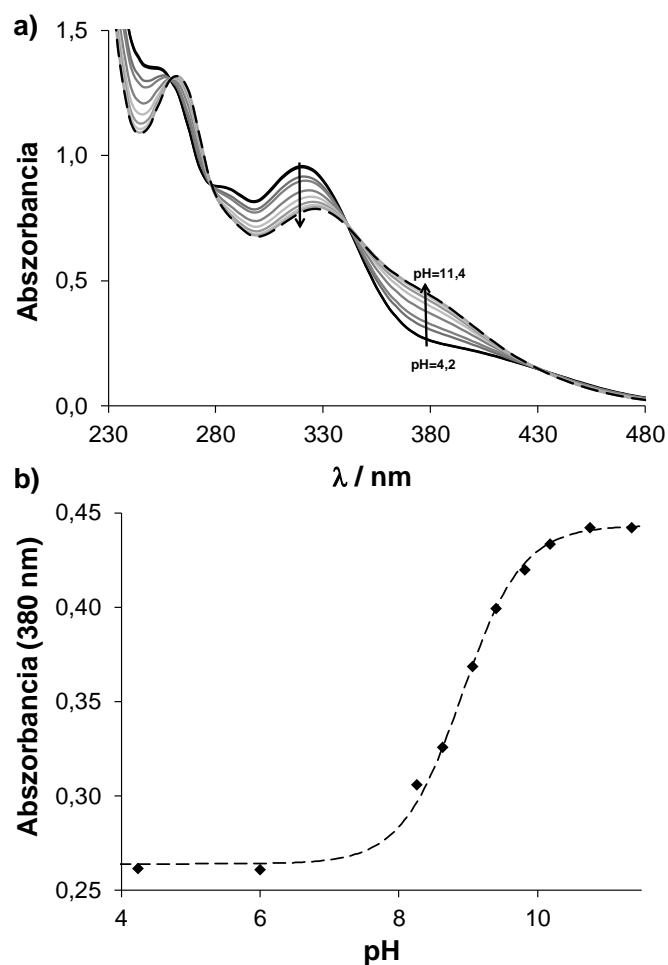
22. ábra: A ligandumfelesleg mellett lejátszódó arénvesztési reakciók [Ru(arén)(N,O)(H₂O)] komplexek esetén. I.: reakció (N,O) ligandum feleslegénél; II.a: reakció 1 eq. phen-nel; II.b: reakció 2 eq. phen-nel.

Az első lépés a második kétfogú ligandum belépése a koordinációs szférába, mely egyben a *p*-cimol leszorítását is eredményezi. Ezt a folyamatot a nagyobb hullámhosszokon megnövekedett elnyelés kíséri. A második lépés a harmadik kétfogú ligandum koordinálódása, mely már egy lassabb folyamat. A második folyamatra utal, hogy izobesztikus pont figyelhető meg a 21. ábrán (15 h→40 h). A minták kiindulási citromsárga színe a 2,4-dipicH₂ felesleg hatására végül zöld lesz, míg a phen esetén vörös. A szakirodalomban már több példa is látható az arénvesztés mellékreakciójára, ezekben közös, hogy a kétfogú ligandumok tartalmaznak legalább egy piridin jellegű nitrogén donoratómot [121,160]. Az ott közölt komplexeknél azonban nem volt szükség ligandumfeleslegre, a monokomplex már önmagában sem volt stabilis. A Ru(II)-arén kötés erőssége egyrészt az arén erős π -donor jellegéből adódik, másrészt a fémion elektronjai az arén lazítópályáira kerülnek, azaz viszontkoordináció valósul meg. Valószínűleg a kétfogú ligandum ezeket gyengíti meg, mivel versengés lép fel a fémion elektronjaiért, meggyengítve a fémion-arén kölcsönhatást [160]. Ez a vizsgálat azért jelentős, mert a szervezetben is található hasonló típusú, koordinálódni képes ligandumok, melyek megszüntethetik a félszendvics szerkezetet. Mivel elsősorban

rákellenes vegyületek előállítására a cél, ezért fontos ilyen molekulák reakcióival foglalkozni. Ilyen vegyületek például a triptofán metabolizmusában keletkező kinolinsav, a xanturénsav és a cinnabarinsav [79], melyek a pikolinátokhoz hasonlóan (N,O) donoratomokat tartalmaznak. Ezek igen kis mennyiségben vannak jelen, de a rákos sejtekbe bejutó fémkomplexek mennyisége is kicsi (nM- μ M). A Rh(III)-C₅Me₅ kötés stabilabb, mindössze egy ilyen reakciót közöltek eddig vizes oldatban, pH = 10-en, metil-timinnel lejátszódó reakció esetén [161].

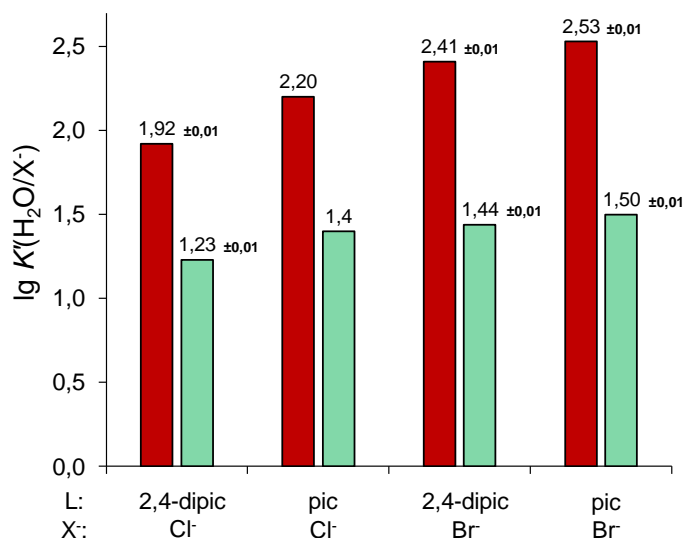
Az arénvesztés miatt a [Ru(Cym)(2,4-dipic)(H₂O)] komplex stabilitási állandóját nem tudtuk meghatározni, a 6. táblázatban megadott minimum értéket csak becsültük azt feltételezve, hogy >5%-os disszociációt már tudnánk megbízhatóan detektálni ¹H NMR spektroszkópiai módszerrel. (Mivel szabad fémiont, ill. ligandumot gyakorlatilag nem detektáltunk pH = 0,7–11,5 között 1:1 fémorganikus kation–ligandum arányú minták spektrumaiban, ld. feljebb, ami alapján a stabilitási állandó egy bizonyos érték feletti).

Emelve a pH-t az 1:1 fémorganikus kation–ligandum arányú mintákban, az UV-vis spektrum alakja megváltozik, a nagyobb hullámhosszak irányába tolódik el a CT-sáv. Ez a koordinált víz deprotonálódásának a jele, melynek során vegyes ligandumú hidroxidokomplex képződik, és ezt a folyamatot a pK_a[M(arén)(L)] állandó jellemzi (8. ábrán feltüntetett folyamat). A 23. ábrán egy példa látható erre, melynek során az egy hullámhosszon kigyűjtött abszorbancia-változás egy szigmoid görbét ír le. A spektrumok felbontásával, a PSEQUAD program [148] segítségével meg tudtuk határozni a pK_a[M(arén)(L)] értékeket, melyek a 6. táblázatban vannak feltüntetve. A korábban is tapasztalt általános trend itt is igaz [97], a Ru(arén)-komplexben kötött vízmolekula kisebb pH-n deprotonálódik, mint a Rh(C₅Me₅)-komplexnél. Az egy karboxilátcsoporttal kevesebbet tartalmazó 2-pikolinát komplexekhez viszonyítva gyakorlatilag ugyanazt az egyensúlyi állandót kaptuk vissza (8,90 vs. 8,91 és 10,44 vs. 10,39 [36,159]), a 2,4-dipikolinát-komplex eggyel negatívabb töltésének nincs számottevő hatása a deprotonálódásra.



23. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]$ komplex különböző pH értékeknél felvett UV-vis spektrumai. b) A mért abszorbanációk 380 nm-en (\blacklozenge) és a 6. táblázatban felhasznált állandó felhasználásával számolt értékek (---). $\{c([\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = c(2,4\text{-dipicH}_2) = 200 \mu\text{M}; T = 25^\circ\text{C}; I = 0,20 \text{ M (KCl)}; \ell = 1,0 \text{ cm}\}$

A jelen fejezet 2,4-dipic-komplexeire meghatároztuk a víz–kloridion csereállandókat az 5.1. fejezetben leírt módszerrel, melyet kiegészítettünk a víz-bromidion csere vizsgálatával. A koordinált víz deprotonálódása és a halogenidionokra történő cseréje során is a vízmolekula egy egyszerűen negatív töltésű részecskére cserélődik. Mind a OH⁻, mind a Cl⁻ esetén a nagyobb hullámhosszak felé tolódik el az abszorpciós spektrum, mivel ezek a ligandumok erősebb π -donorok a vízmolekulánál. A víz–halogenidion csereállandókat a 24. ábra oszlopdiagramjáról lehet leolvasni a négy komplex esetén.

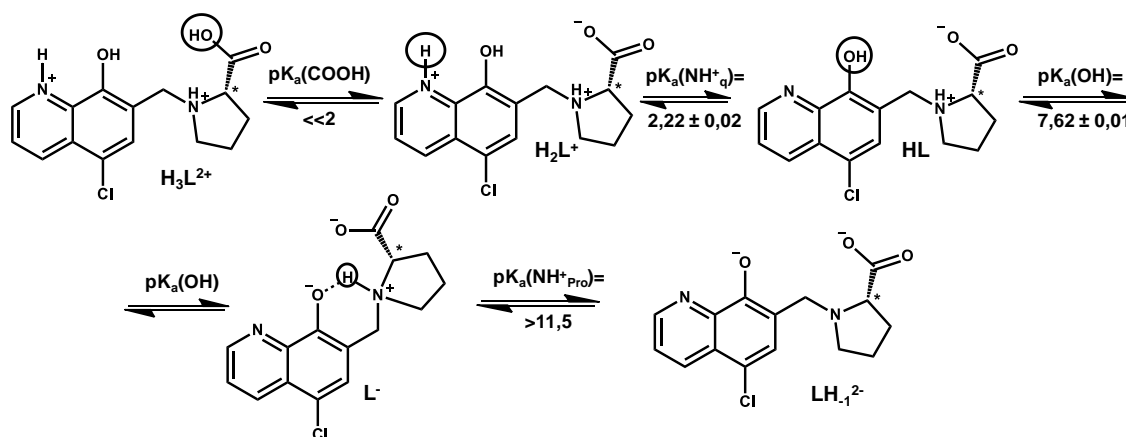


24. ábra: A víz–halogenidion csereállandók ($\lg K'(H_2O/X^-)$) a $[Ru/Rh(\text{arén})(\text{pic}/2,4\text{-dipic})(H_2O)]$ komplexekre. A piros oszlopok a $Rh(C_5Me_5)$ komplexeihez tartozó állandókat jelölik, míg a zöld oszlopok a $Ru(Cym)$ komplexeinek állandóit mutatják.

Az adatokból látható, hogy a Rh-komplexek nagyobb affinitást mutatnak a halogenidionok iránt, mint a Ru-komplexek. A bromidokomplexek egyensúlyi állandója minden esetben nagyobb, mint a kloridokomplexeké. A pikolinát és a dipikolinát komplexek összevetéséből azt is megfigyelhetjük, hogy a komplex töltésének is van hatása, a 2,4-dipikolinát extra negatív töltés hatására kisebb az állandó az analóg pikolinát-komplexekhez képest.

5.2.2. Egy vízoldható 8-hidroxi-kinolin-aminosav hibrid oldategyensúlyi vizsgálata és komplexképző tulajdonsága

Dr. Szakács Gergely és kutatócsoportja leírta, hogy a 8-hidroxi-kinolinok 7-es pozícióban $-CH_2-NR_2$ szubsztituált származékaihoz egy különleges biológiai hatás társítható, nevezetesen a multidrogr rezisztens rákos sejteken való megnövekedett citotoxikus hatás [93]. Dr. Szatmári Istvánnal együttműködve (SZTE, GYTK, Gyógyszerkémiai Intézet) az 5-kloro-8-hidroxi-kinolin *L*-prolinnal alkotott hibridjét (HQCl-Pro) terveztük meg, ahol az ikerionos szerkezet (széles pH-tartományban protonált aminocsoport és deprotonált karboxilcsoport) az oldhatóság javítását hivatott szolgálni (25. ábra). A ligandum előállítása és karakterizálása a Gyógyszerkémiai Intézetben történt.

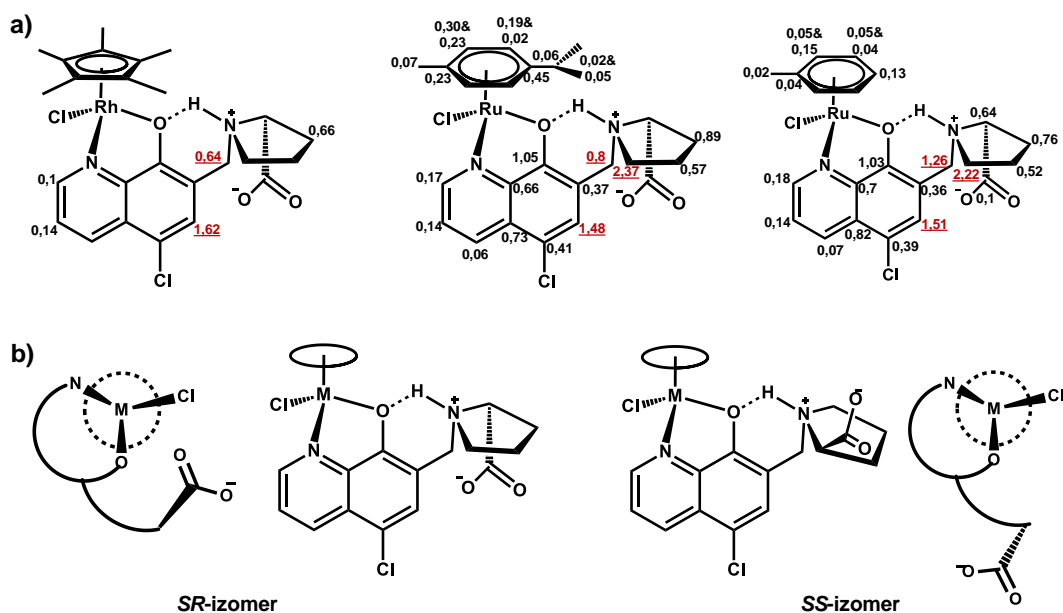


25. ábra: A HQCl-Pro ligandum deprotonálódási lépései, feltüntetve a feltételezett intramolekuláris hidrogénkötést. Az egyes folyamatokhoz tartozó pK_a értékek a ^1H NMR spektroszkópiás mérésekből származnak. $\{c(\text{HQCl-Pro}) = 480 \mu\text{M}; 10\% \text{D}_2\text{O}; I = 0,20 \text{ M KNO}_3; T = 25^\circ\text{C}\}$

A HQCl-Pro ligandum négy disszociálható proton tartalmaz (25. ábra): a prolin rész karboxil- és aminos csoportján, ill. a kinolinium nitrogénen és a hidroxil csoporton levő protonok. Ezek pK_a értékeit ^1H NMR spektroszkópiás, pH-potenciometriás és UV-vis spektrofotometriás titrálásokkal határoztuk meg. Spektrofotometriásan a hidroxil csoporthoz tartozó értéket, míg a kinolinium nitrogénhez (N_qH^+) tartozó pK_a értéket ^1H NMR spektroszkópia és pH-potenciometria segítségével sikerült meghatározni (25. ábra). A prolin részhez tartozó karboxil csoport már erősen savas közegben elveszti protonját, míg a protonált aminos csoportnál ($\text{N}_{\text{Pro}}\text{H}^+$) $\text{pH} > 11$ tartományban indul el a deprotonálódási folyamat, így ezekben az esetekben csak határértékeket tudunk megadni. Ha összehasonlítjuk a 8-hidroxi-kinolin savi disszociációs állandóival, megállapítható, hogy ezen származék azonos funkció csoportjainak kisebbek a pK_a értékei. Ebben alapvetően szerepe van az 5. pozícióban található elektronszívó klór-szubsztituensnek is, azonban a 8-hidroxi-5-klór-kinolin pK_a értékei (4,01 (N_qH^+) és 8,37 (OH), Marvin szoftverrel [162] becsült értékek) nem magyarázzák teljes mértékben ezt a nagymértékű csökkenést. A kis pK_a értékhez valószínűleg a protonált, és így pozitív töltésű protonált aminos csoport ($\text{N}_{\text{Pro}}\text{H}^+$) negatív induktív effektusa is hozzájárul. Megfigyelhető, hogy a metilén csoporton keresztül kapcsolt prolin protonált aminos csoportjának is magasabb a pK_a értéke az *N*-metil-prolinhoz képest ($pK_a = 10,36$ [163]). Ennek oka, a 25. ábrán is feltüntetett stabilis hidrogénkötés kialakulása az $\text{N}_{\text{Pro}}\text{H}^+$ és a deprotonálódott fenolát között. Hasonló 8-hidroxi-kinolin származékok egykristály röntgendiffrakcióval meghatározott

szerkezetében mind a szabad ligandumban [164], mind a Zn(II)-komplexben látható hasonló hidrogénkötésre példa [165].

A HQCl-Pro ligandum Ru(Cym), Ru(Tol) és Rh(C₅Me₅) komplexeit előállítottuk és karakterizáltuk. A szilárdan előállított komplexek (általános képlet: [M(arén)(HQCl-ProH₁)Cl]) szintézise a 4.2.2. fejezetben található. A monokomplexben a fenolát-oxigén és kinolin-nitrogén donoratomok koordinálnak a fémionokhoz (26.a ábra). A prolin-rész donoratomjai nincsenek megfelelő pozícióban ugyanazon fémion utolsó kötőhelyének betöltéséhez, így szilárd fázisban kloridion koordinációjával telítődik a koordinációs szféra. A kloridion vizes oldatban vízre vagy OH⁻ ionra tud cserélődni. Az izolált komplexek ¹H és ¹³C NMR spektrumai CD₃OD oldószerben is az 1:1 fémion-ligandum arányra utalnak, azonban a csúcsok többszörösen jelennek meg. Az azonos szénatomokhoz tartozó ¹³C NMR jelek között mért kémiai eltolódás különbsége a szerkezetekre lett vetítve a 26.a ábrán.



26. ábra: a) A HQCl-Pro [M(arén)(L)Cl] félszendvics komplexeinek feltételezett szerkezete, *transz*-izomereként ábrázolva. L: a HQCl-Pro koordinált formája. A számok a ¹³C NMR-ben tapasztalt duplázódott jelek közti távolságot jelentik ppm-ben, melyek az adott szénatomhoz tartoznak. Kiemelve a legnagyobb eltérések, a valószínű izoméria miatt. b) Az *SR*- és *SS*-izomerek általános szerkezete, oldal- és alulnézetben.

Ez alapján látható, hogy a legnagyobb távolság a kiemelt 6., 9. és 14. szénatomoknál van, mely közel van a korábban említett hidrogénkötéshez. Ez a koordinálódott fenolát-oxigén és az N_{Pro}H⁺ közötti hidrogénkötésnek köszönhető, mellyel a 26.b ábrán ábrázolt

két izomer alakul ki (és egy kiralitáscentrum a nitrogéneken). Deuterált metanolos közegben a ^1H NMR méréseink alapján valószínűleg lassú csere áll fenn a két izomer között. Az izomerarány 1:2, mivel az egyik izomer sztérikusan kevésbé kedvezményezett (valószínűleg a 26.b ábrán bemutatott *SS*-izomer), mint a másik. A HQCl-Pro ligandum komplexképző sajátosságát mindhárom félszendvics triakva kationnal ($[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$) vizsgáltuk, a korábbi 8-hidroxi-kinolinokkal végzett mérésekkel [97] való összehasonlítás végett kloridionmentes közegben ($I = 0,20 \text{ M}$ (KNO_3)). A komplexképződési reakció sebességét spektrofotometriásan követve a másik (N,O) ligandumhoz, a 2,4-dipikolinsavhoz hasonlóan viselkedett, mivel a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kation esetén itt is 1-2 perc alatt beállt az egyensúly, míg a $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationokkal ehhez nagyjából egy óra volt szükség $\text{pH} = 3,6$ -on. A fémkomplexek nagy stabilitását itt is bizonyítja, hogy erősen savas közegben ($\text{pH} \sim 1$ -n is közel 100%-ban vannak jelen. Ebben az esetben is kizorítással szeretnénk volna meghatározni a stabilitási állandókat. Ehhez a már korábban vizsgált etilén-diamin megfelelő ligandumnak tűnt, mivel nincs elnyelése az UV-vis tartományban, emellett jó vízoldhatósága miatt nagyobb koncentrációk is elérhetők, ami a kizorításhoz szükséges. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{etilén-diamin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex stabilitási állandóját már korábbi munkánk során meghatároztuk [37]. Azonban a spektrális változások a kizorítástól eltérő folyamat jeleit mutatták, így ^1H NMR módszerrel is megvizsgáltuk ezt a rendszert. Nagy etilén-diamin feleslegnél ($\sim 70\times$) a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{HQCl-ProH}_1)(\text{H}_2\text{O})]^{+}$ komplex mellett egy másik jelcsoport jelent meg 50%-ban, mely egyik szabad ligandumhoz sem tartozik. Ez egy vegyes ligandumú komplex lehet, melyben valószínűleg az etilén-diamin egyfogú ligandumként kötődik a Ru-centrumhoz. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^{+}$ komplex ettől eltérően viselkedik, mivel ott kétféle vegyeskomplex látható, ezek képződése párhuzamos a ligandum kizorításával már 23-szoros feleslegnél. A méréseink alapján azt találtuk, hogy a kloridionok hatására visszaszorul a vegyes ligandumú komplexek képződése, azaz ténylegesen versengés lép fel a Cl^- és az etilén-diamin között.

Mivel ez a módszer nem volt sikeres, másik ligandumot kerestünk. A 2-pikolil-amin (pin) is képes lehet erre a vegyeskomplex képzésre, azonban az etilén-diaminnál merevebb szerkezete és nagyobb térkitöltése miatt erre kisebb az esély. Mivel abszorpciós sávjai jelentősen átfednek a HQCl-Pro-val és komplexeivel, így ^1H NMR spektrumokat vettünk fel a mintasorozatra. A Rh-komplex esetében kizorításra utaló

változásokat láttunk. A $\lg K[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{pin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ ismeretében (ld. 5.2.3-as fejezet) a stabilitási állandó meghatározható volt (7. táblázat).

7. táblázat: A HQCl-Pro félszendvics kationokkal képzett komplexeinek stabilitási állandói ($K[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$) és a komplexekben kötött víz deprotonálódását ($K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$) és kloridionokra történő cseréjét jellemző ($K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)$) állandók. $\{I = 0,20 \text{ M KNO}_3; T = 25,0^\circ\text{C}\}$
A komplexek citotoxikus hatása (IC_{50}) két vastagbélrák sejtvonalon (24 h inkubációs idő).

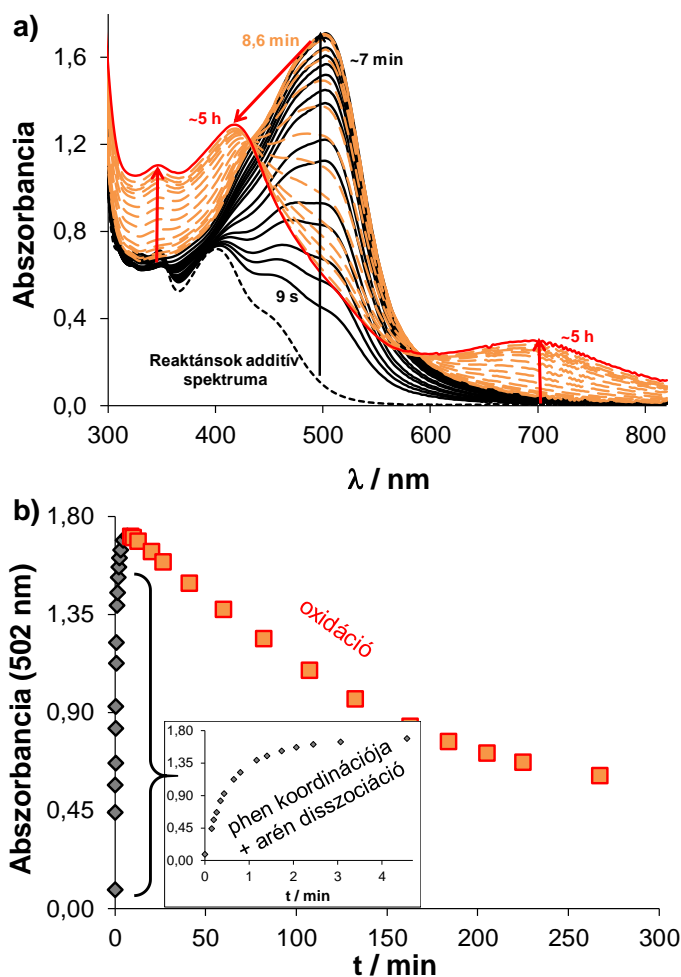
	Ru(Cym)	Ru(Tol)	Rh(C₅Me₅)
$\lg K[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$	-	-	13,41(2) ^a
$\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]^\text{b}$	8,62(4)	8,45(3)	9,62(4)
$\lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)^\text{c}$	1,21(1)	1,09(1)	1,57(1)
$\text{IC}_{50}(\text{Colo205}) (\mu\text{M})^\text{d}$	> 100	73 ± 5	82 ± 3
$\text{IC}_{50}(\text{Colo320}) (\mu\text{M})^\text{d}$	> 100	61 ± 8	24 ± 4

a: ¹H NMR kiszorítás, $c(\text{pin})/c(\text{HQCl-Pro}) = 0-11$, pH = 5,9
b: UV-vis titrálás, pH = 2-11,5
c: UV-vis, $c(\text{Cl}^-) = 0-0,20 \text{ M}$, pH = 5,5
d: HQCl-Pro ligandum: $\text{IC}_{50}(\text{Colo205}) = 43 \pm 7 \mu\text{M}$; $\text{IC}_{50}(\text{Colo320}) = 17 \pm 3 \mu\text{M}$

A Ru-komplexek esetén teljesen más tapasztalunk volt, itt a minták citromsárga színe rózsaszínre váltott, emellett a ¹H NMR spektrumaikon is eltűntek a jelek 2-pikolilamin hozzáadásának hatására. Valószínűsíthető a félszendvics szerkezet elvesztése, akárcsak az 5.2.1-es fejezetben jellemzett komplexek esetében. Emellett a szintézisnél (4.2.2. fejezet) is említettük, hogy a félszendvics prekursor koncentrált HQCl-Pro oldatba cseppentésekor először lila színűvé válik, mely valószínűleg még a Ru(II) bisz- és triszkomplexek színe. Ez az arénvesztés a 22. ábrán látható I. reakció alapján játszódik le feltételezéseink szerint. Szükséges megemlíteni, hogy egy korábbi publikációban a $[\text{Ru}(\text{8HQH}_{-1})_3]$ komplexet előállították egy mellékreakcióban, mely szintén félszendvics kationból indult ki (benzol arén ligandummal) [166]. Emellett kutatócsoportunkban a 8-hidroxi-kinolin és a 8-hidroxi-kinolin-5-szulfonát feleslegénél is hasonló volt tapasztalható argon és oxigén buborékoltatása esetén is, melyet fotometriásan és elektron spin rezonancia (ESR) spektroszkópiás módszerrel is alátámasztottak [97]. A dolgozatomban a ligandumnál a támadó kétfogú ligandum különböző típusaira fordítottunk figyelmet, így megvizsgáltuk, történik-e arén leszorítás merev (O,O), (N,O) és (N,N) donoratomokat tartalmazó ligandumok esetében, fiziológias pH-n, tandem küvetében végrehajtott kísérletekkel. Mint azt már korábban is tapasztaltuk, a flexibilis etilén-diamin esetében ilyen nem volt tapasztalható, ezért is tértünk át a merevebb

ligandumokra. (O,O) donorként a deferipront használtuk, (N,O) donorként a HQCl-Pro-t, míg (N,N) donorként az 1,10-fenantrolint. A fémkomplex:ligandum arány 1:2 volt; a vizsgálatokat aerob körülmények között végeztük. Megállapítottuk, hogy az (O,O) donor deferipron nem szorította ki a *p*-cimolt komplexéből. HQCl-Pro feleslegének hozzáadásával a spektrum alakja megváltozott, 420 nm-nél egy erős elnyelési sáv fejlődött ki, azonban az 500-780 nm-t lefedő sáv növekedése is jelentős. Utóbbi a félszendvics komplexek abszorpciós spektrumára nem jellemző hullámhossz-tartomány. Az oldat kezdeti citromsárga színe erős sötétzölddé alakul, ez Ru(III)-komplex jelenlétére utal. Az 1,10-fenantrolin használata esetén megvizsgáltuk anaerob (argon gáz melletti) és aerob körülmények között is a változást. Mindkét esetben hasonló eredményeket kaptunk. 1:2 aránynál egy gyors reakció következtében jelentős elnyelési sáv alakult ki 502 nm-en, melyet egy lassabb spektrális változás során $\lambda_{\max} = 440$ nm-re tolódott el. A minta színe sárgából már az összekeverés után azonnal vörössé alakul át, mely egyre intenzívebbé válik az idő előrehaladásával.

A reakciót megismételtük egy ekvivalens phen feleslegével aerob körülmények között. Az első lépés ekkor is 502 nm-es maximumot mutat, mint az a 27.a ábrán is látható. Azonos módon megy végbe a reakció, akár csak 2 ekvivalens phen esetén. Mikor ez gyakorlatilag befejeződött, elindult egy második változás (27.b ábra). Ebben az esetben az 500 nm alatti tartományban két λ_{\max} látható, emellett 694 nm-en is erősen megnövekszik az abszorbancia. A tapasztalt jelenséget a 22. ábrán bemutatott II.a reakcióséma mutatja. Első lépésként a kétfogú ligandum koordinációja révén megszűnik a Ru–arén kötés, így két szabad koordinációs hely marad a Ru(II) körül. Ha jelen van egy másik kétfogú ligandum, akkor egy lassú reakcióban koordinálódik, ahogy ezt a II.b folyamat is mutatja a 22. ábrán. Ha csak egy ekvivalens volt a kiszorító phen molekulából, akkor oxidálódik a fémcentrum és valószínűleg biszkomplex marad (II.a folyamat). Az arénvesztés, mely endogén ligandumok által is elképzelhető, szerepet játszhat ezen Ru(arén)-komplexek csökkent citotoxicitásában (ld. lejjebb). Annak ellenére, hogy stabilitási állandót nem tudtunk meghatározni a HQCl-Pro félszendvics Ru(II)-komplexeire, nagy oldatbeli stabilitásuk megkérdőjelezhetetlen, azonban a félszendvics szerkezet megszűnése (N,O) és (N,N) kétfogú ligandumok feleslegénél megtörténik.



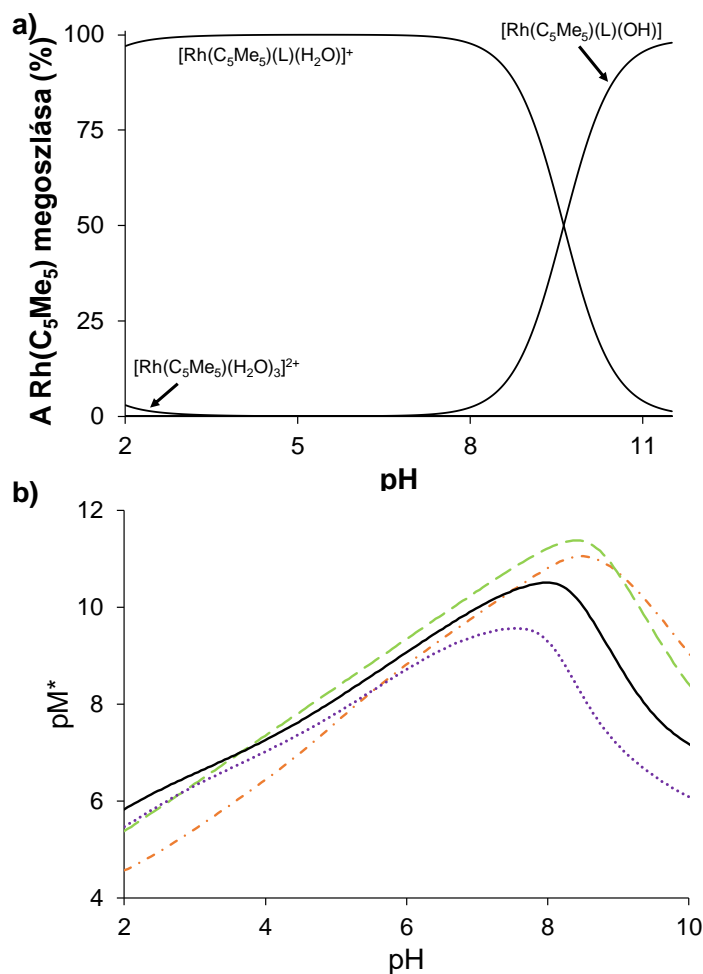
27. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+$ – phen 1:1 arányú rendszereinek időfüggő UV-vis spektrumai aerob körülmények között mérve. L: a HQCl-Pro koordinált formája. b) Az a) spektrumokhoz tartozó abszorbancia értékek 502 nm-en. A beszúrt ábra az első 5 perc változását emeli ki. A reakció két eltérő lépése (ld. 22. ábra II.a) eltérő színekkel és jelölőkkel ábrázolva. $\{c([\text{Ru}(\text{Cym})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+) = 200 \mu\text{M}; c(\text{phen}) = 200 \mu\text{M}; \text{pH} = 7,40$ (20 mM foszfátpuffer); $c(\text{KCl}) = 0,10 \text{ M}; T = 25,0^\circ\text{C}; \ell = 1 \text{ cm}\}$

Ha a monokomplexek oldatában növeljük a pH-t, akkor a ^1H NMR spektrumokon a jelek pozíciói változnak, ami a koordinált vízmolekula deprotonálódására utal, mely folyamat során egy semleges komplex jön létre. A jelek kémiai eltolódásának változása szigmoid görbét ír le a pH függvényében, melyből számolható a megfelelő savi disszociációs állandó (7. táblázat). Itt is igaz az $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5) \gg \text{Ru}(\text{Cym}) > \text{Ru}(\text{Tol})$ trend. Megfigyelhető, hogy a bázikus pH-tartományban a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{L})(\text{H}_2\text{O}/\text{OH})]^{+/0}$ komplexnél a ^1H NMR spektrumban több jel megduplázódik a deprotonálódás következtében, pl. a *p*-cimol jelei. Ez arra utalhat, hogy megszűnt a *p*-cimol szimmetriája, esetleg már nem képes szabad elfordulásra a hidroxidokomplexben.

A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}:\text{HQCl-Pro}$ 1:1 arányú rendszerének egyensúlyi állandók segítségével szerkesztett koncentrációeloszlási görbéi azt mutatják a 28.a ábrán, hogy az akvakomplex széles tartományban a domináns részecske, beleértve a fiziológias pH-t is. Az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{OH})]$ komplex mennyisége csak 6% a Ru(Cym), 8% a Ru(Tol) és <1% a Rh(C₅Me₅) esetében. Azonban nem szabad eltekinteni attól, hogy a közeg kloridion-tartalma olyan mértékben visszaszorítja a deprotonálódást, hogy eltolhatja 1-2 egységgel is a pH-skálán az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{OH})]$ részecske megjelenését. Így valószínű, hogy ezeknél a komplexeknél nem kell számolni hidroxidokomplex képződésével a szervezet biofluidumaiban, ahol kloridionok találhatók nagyobb koncentrációban. Valószínűleg annál nagyobb a deprotonálódás visszaszorításának mértéke, minél nagyobb a komplex kloridion-affinitása. Az ezt meghatározó víz–kloridion csereállandókat az 5.1. és 5.2.1 fejezetekben említettek szerint határoztuk meg ezekre a komplexekre is (7. táblázat).

A HQCl-Pro félszendvics Rh-komplexének oldatbeli stabilitását a korábban vizsgált 8-hidroxi-kinolin származékok komplexeivel [97] vetettük össze, ezért azonos körülményekre vonatkozóan pH-függő pM^* -értékeket számoltunk (28.b ábra). A HQCl-Pro savas pH-tartományban valamivel stabilisabb komplexet képez a többi ligandumhoz képest, azonban fiziológias pH-n mindegyik ligandum közel azonos mértékben kötődik a fémorganikus kationhoz, nincs nagy stabilitásbeli különbség köztük.

A HQCl-Pro és komplexeinek Colo205 vastagbélrák sejteken és ennek multidrog-rezisztens változatán, Colo320 rákos sejtvonalakon meghatározott IC_{50} értékeket a 7. táblázatban adtam meg. A kapott adatok igazolták a feltevést, hogy a 7. pozícióban lévő $-\text{CH}_2-\text{N}-$ kötést tartalmazó szubsztituens következtében maga a ligandum nagyobb rákellenes aktivitást mutat a rezisztens sejteken, mint az doxorubicinre érzékeny sejtvonalon. Emellett a Rh-hoz való koordináció során is megmaradt ez a tulajdonság, azonban a citotoxikus aktivitást jellemző IC_{50} érték elmarad a ligandumétól. A Ru(arén)-komplexek teljesen elvesztik aktivitásukat. TXRF módszerrel mérve a sejtbe bekerült Ru és Rh mennyiségét, a Rh-ból kétszer akkora mennyiség található egy nap inkubáció után a sejtekben, mint Ru-ból. Azonban a rákellenes hatások közötti nagy különbség magyarázatához az akkumulációbeli eltérés nem elégséges, valószínűleg a Ru(arén)-komplexeknél az arén disszociációjának hatása is jelentős, ahogyan azt korábban említettük.



28. ábra: a) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – HQCl-Pro 1:1 arányú rendszerének koncentrációeloszlási görbéi. b) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – 8-hidroxi-kinolin-származékok 1:1 arányú rendszerének pM^* görbéi a pH-függvényében. Jelölés: HQCl-Pro (folytonos vonal), 7-(1-piperidinilmetil)-8-hidroxi-kinolin (••••), 8-hidroxi-kinolin (-•-•), 8-hidroxi-kinolin-5-szulfonát (---). Mindkét számoláshoz a 7. táblázat adatait használtuk fel, ill. a [97] hivatkozást. $\{c[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} = c(\text{HQCl-Pro}) = 50 \mu\text{M}; I = 0,20 \text{ M} (\text{KNO}_3); T = 25,0^\circ\text{C}\}$

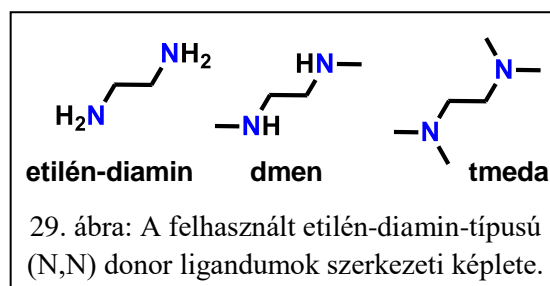
5.3. (N,N) donoratomokat tartalmazó ligandumok komplexeinek összehasonlító vizsgálata

5.3.1. Kölcsönhatás etilén-diaminnal és származékaival

Az etilén-diamin félszendvics ródiummal képzett komplexét már korábbi munkám során előállítottam [37], mely a RAED-komplexek analógja, azonban biológiai aktivitást nem mutatott rákos sejteken [27]. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ egyensúlyi folyamatait részletesen jellemeztük $I = 0,20 \text{ M} (\text{KCl})$ és $I = 0,20 \text{ M} (\text{KNO}_3)$ ionerősség mellett már korábban [37]. Doktori munkám során megvizsgáltuk, hogy a

$[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexek stabilitására milyen hatással van a primer aminocsoportok cseréje szekunder és tercier aminocsoportokra (29. ábra).

Az etilén-diaminnak és származékainak két savi disszociációs állandója van, melyeket pH-potenciometriás titrálásokkal határoztunk meg. A $\text{p}K_a$ értékek jó egyezést mutattak szakirodalmi adatokkal (8. táblázat) [167,168].



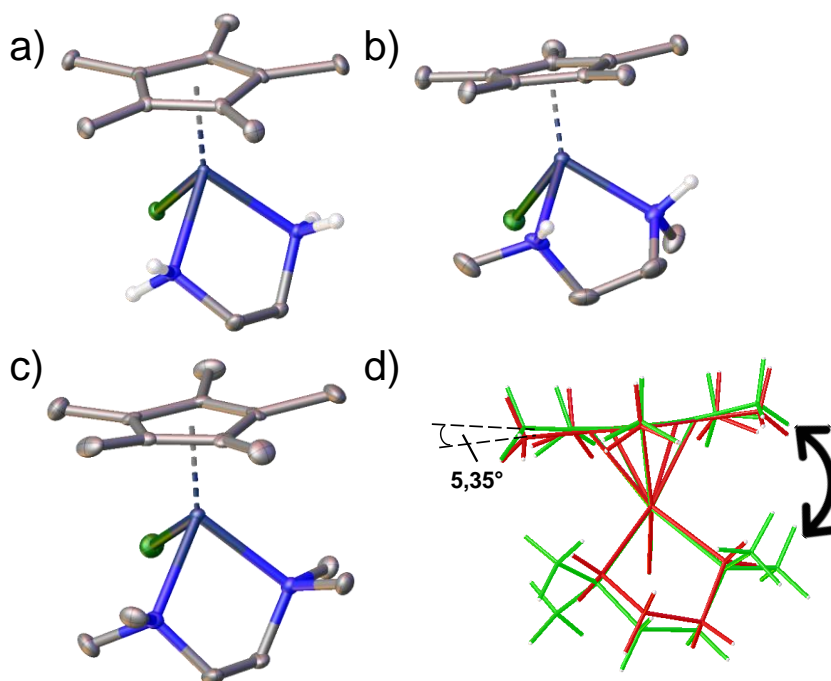
8. táblázat: Az etilén-diamin típusú (N,N) kétfogú ligandumok savi disszociációs állandói (K_a), A félszendvics kationokkal képzett komplexek stabilitási állandója ($K[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$), a koordinált víz deprotonálódását és kloridionokra történő cseréjét jellemző állandók ($K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ és $K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)$). $\{I = 0,20 \text{ M KNO}_3; T = 25,0^\circ\text{C}\}$

	Ru(Cym)	Ru(Tol)	Rh(C₅Me₅)		
	etilén-diamin		dmen	tmeda	
$\text{p}K_a(\text{H}_2\text{L}^{2+})^a$		7,25 ^b	7,16(1)	5,95(2)	
$\text{p}K_a(\text{HL}^+)^a$		10,01 ^b	10,04(1)	9,25(1)	
$\lg K[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$	14,85(5) ^c	14,90(6) ^c	15,04 ^b	14,80(2) ^d	7,4(1) ^e
$\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]^c$	8,14(2)	8,04(2)	9,58 ^b	8,61(9)	8,42(3)
				8,40(6) ^f	
$\lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)^g$	1,51(5)	1,69(5)	2,14 ^b	2,60(1)	-

a: pH-potenciometriás titrálás, pH = 2-11,5
b: irodalmi érték, ref. [167]
c: ¹H NMR, $c(\text{L})/c(\text{M}(\text{arén})) = 0-14$, pH = 3
d: UV-vis titrálás, pH = 2-11,5
e: ¹H NMR titrálás, pH = 2-11,5
f: Két izomer, (N_S,N_R) és (N_R,N_S) sorrendben
g: UV-vis, $c(\text{Cl}^-) = 0-0,2 \text{ M}$

A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexek (L = en, dmen, tmeda) mellett a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ és a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexeket is vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy az etilén-diamin típusú ligandumok komplexképződési reakciója jelentősen lassabb az eddig tárgyalt ligandumokéhoz képest. A $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplex kialakulásához fiziológias körülmények között másodpercek elegendőek, míg ~1 óra szükséges 1:1 fémorganikus kation–ligandum aránynál, pH = 2,0-n [37]. Ennek magyarázata lehet, hogy a kétszeresen pozitív fémorganikus kation és ezen a pH-n kétszeresen protonált ligandum reakciójakor a reaktánsok között jelentős elektrosztatikus taszítás lép fel. A dmen és tmeda esetén így csak egyedi mintákat vizsgáltunk, melyek egy napot álltak a vizsgálat előtt, és ez valóban elégséges idő volt

az egyensúly beállítására. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és az etilén-diamin reakciója során kerülendő a semleges és lúgos pH, mivel $\text{pH} = 4$ felett megjelennek a hidroxidohidas kétmagvú komplexek [35], melyek jóval inertebbek, mint a triakva ionok. Így itt a reakciót savas közegben ($\text{pH} = 3$), az etilén-diamin feleslegében követtük ^1H NMR mérések segítségével. Azt találtuk, hogy a komplexképződés nagyon lassú, 68 nap után lehetett kijelenti az egyensúly beállítását az NMR spektrumok alapján. A fémkomplexben kötött és a szabad fémorganikus kation jelei élesen elválnak egymástól, ugyanez igaz a kétfogú ligandumokra is, mivel az NMR-időskálán lassú cserereakcióról van szó. Érdekesség, hogy az aminocsoportok hidrogénjeinek jelei is megjelennek ^1H NMR spektrumokban a fémkomplexben kötött ligandum esetén, emellett a metilén-csoportok szinglett jelei a koordináció során multiplettekké alakulnak. Ez annak a következménye, hogy a két metilén-csoport nem ekvivalens a komplexekben, mint az a szerkezetükben is látszik (30. ábra), így felhasítják egymás jeleit, ill. a koordinált nitrogénatomokon lévő hidrogének is felhasítják ezeket.

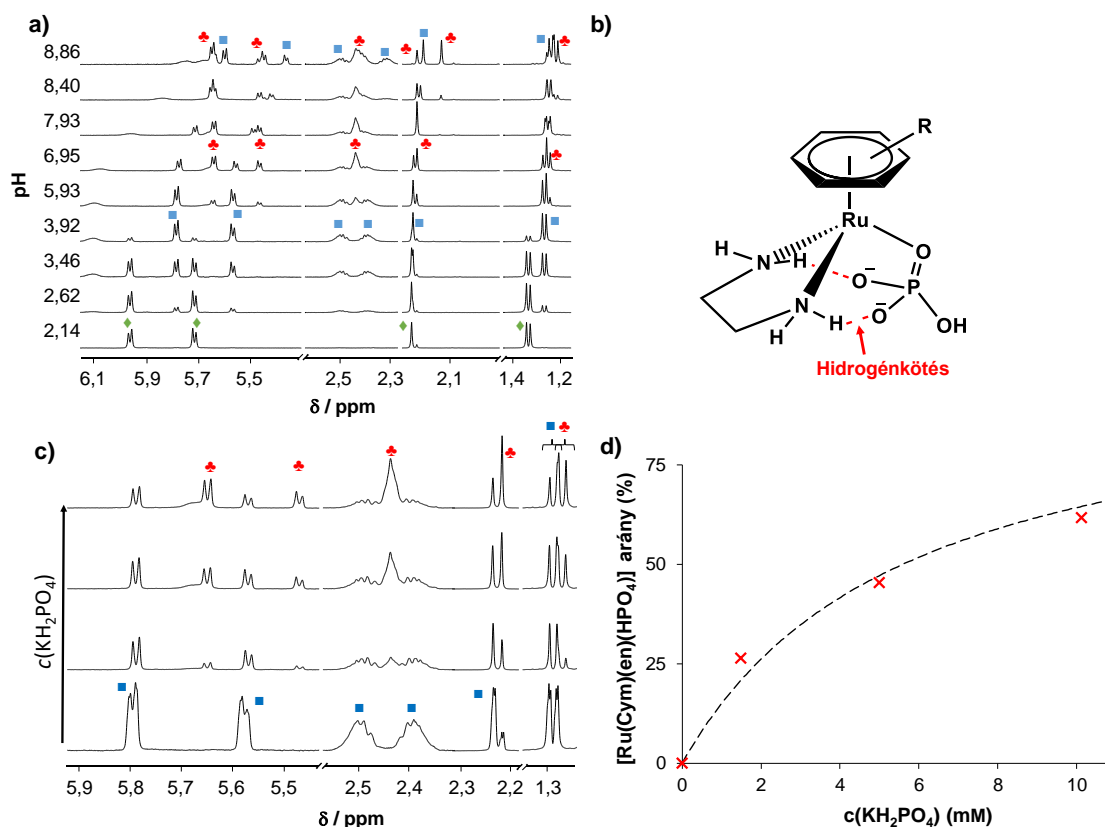


30. ábra: Az általunk előállított a) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{etilén-diamin})\text{Cl}](\text{ClO}_4) \times 2 \text{H}_2\text{O}$ [37], b) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{dmen})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ és c) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{tmeda})\text{Cl}]_3(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ egykristály röntgendiffrakciós szerkezete. A termális ellipszoidok 50%-os valószínűséggel jelölik az atomok pozícióit. Az oldószermolekulákat és a hidrogénatomokat a jobb átláthatóság érdekében nem mutatjuk, a c)-ben csak egy komplexet ábrázoltunk az elemi cellából. d) Az $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{etilén-diamin})\text{Cl}]^+$ (piros) és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{tmeda})\text{Cl}]^+$ (zöld) komplexek egymásra vetített szerkezete.

Így kevésbé megbízhatóak a széles csúcsok integráljai ^1H NMR spektrumokban a ligandum jeleit tekintve, azonban az arének és a ligandumok alifás (főként metil-) csoportjainak éles csúcsai jól használhatók a stabilitási állandó számolásához. A dmen ligandumot tartalmazó fémkomplexek spektrumain egy érdekes jelenség látható, ami a többi rendszerénél nem fordult elő. A koordináció során a nitrogének királis centrumokká válnak. Így elméletileg négy komplex keletkezhet: (N_R, N_R) , (N_S, N_S) , (N_S, N_R) és (N_R, N_S) . Azonban a spektrumokon két jelcsoport látszik, azaz két izomer lehet jelen. Feltételezve, hogy az oldatban a kikristályosított (N_R, N_S) izomer (30. ábra) is jelen van, a másik izomer csakis az (N_S, N_R) izomer lehet, mivel a két izomer nagyjából 1:1 arányban van jelen az NMR spektrumokon. Ez azt jelenti, hogy azok az izomerek keletkeznek oldatban, ahol a nitrogéneken lévő metilcsoportok azonos pozícióban vannak egymáshoz képest, azaz vagy a 3. kötőhely felőli oldalon van mindkettő (N_R, N_S) , vagy mindketten az arén irányába néznek (N_S, N_R) . A komplex képződésére vonatkozóan egy látszólagos stabilitási állandót számoltunk, melyet a 8. táblázatban is feltüntettünk. Ennél a rendszerénél spektrofotometriás titrálást is végeztünk, és az ott számolt állandó jó egyezést mutatott az NMR módszerrel meghatározott értékkel. A többi rendszer esetében is meghatároztuk az állandókat spektrofotometriás és NMR spektroszkópiás módszerekkel (8. táblázat).

A koordinált víz deprotonálódására vonatkozó savi disszociációs állandó meghatározásához $\text{pH} = 2-11,5$ között egyedi mintákból álló sorozatot készítettünk, minden pontban NMR spektroszkópiásan követtük a reakciót. Számolnunk kellett azzal, hogy a minták pH -ja változhat (savasodhat) a beoldódó szén-dioxid hatására az állás során, emellett a lúgos közegben megjelenő inert komplex $[(\text{M}(\text{arén}))_2(\text{OH})_3]^+$ miatt csak egy kvázi-egyensúly érhető el (ezekben a pontokban nem vártuk ki a teljes egyensúly beálltát). Itt a deprotonálódás gyors cserének számít, a jelek vándorlása szigmoid görbét ad, melyből a $\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ állandók meghatározhatók (8. táblázat). A $\text{p}K_a[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{etilén-diamin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex magas $\text{p}K_a$ értékéhez képest a metilcsoportok hatására lecsökkent ennek értéke. Emellett a dmen komplex izomerjeinek eltér a $\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ értéke egymástól: 8,61(9) és 8,40(6). Utóbbi a tmeda komplex 8,42(3)-es értékével jó egyezést mutat, mely tovább erősíti a feltételezést, hogy ez az (N_R, N_S) izomer, melynél a metilcsoportok a 3. koordinációs hely irányába mutatnak.

A Ru-komplexek pK_a értéke a legkisebb (8. táblázat). Azonban a mérések során a ^1H NMR spektrumokon $\text{pH} = 5,93$ -tól egy jelcsoport jelenik meg, mely nem tartozik sem a reaktánsokhoz, sem az akva- és hidroxidokomplexekhez (31.a ábra).

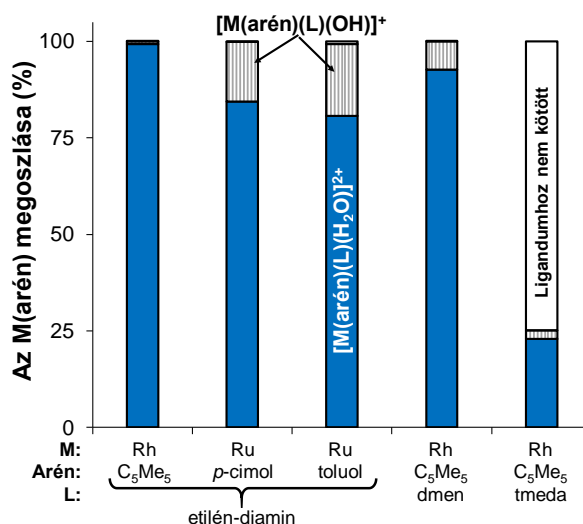


31. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{etilén-diamin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex ^1H NMR spektrumai $\text{pH} = 2,1-8,9$ -en felvéve. ■: $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{etilén-diamin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$; ▲: $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{etilén-diamin})(\text{HPO}_4)]$. b) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{etilén-diamin})(\text{HPO}_4)]$ feltételezett szerkezete. c) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{etilén-diamin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex vizes oldatának ^1H NMR spektrumai különböző KH_2PO_4 koncentrációk mellett. d) A c) spektrumokból számolt vegyeskomplex százalékos aránya (x) és az illesztett görbe (---). $\{c(\text{Ru}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = c(\text{etilén-diamin}) = 500 \mu\text{M}; 10\% \text{D}_2\text{O}; T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}; I = 0,20 \text{ M (KNO}_3); \text{pH}(c) = 7,40 \text{ (foszfát puffer)}\}$

Mivel jeleket láttunk a *p*-cimolhoz és az etilén-diaminhoz tartozó kémiai eltolódás tartományokban is, ez egy új komplex, mely dominánssá válik a fiziológias pH-n, majd lúgos környezetben jelei kissé eltolódnak. Az kötött etilén-diamin jeleinél is megjelenik az új komplex egyik csúcsa, mely egy sokkal élesebb csúcs. A szakirodalom szerint mindez a puffernek használt foszfátnak köszönhető, az azzal alkotott vegyes ligandumú komplex képződéséről van szó [106]. Ennek feltételezett szerkezete a 31.b ábrán látható, melyet alátámaszt egy hasonló komplex röntgenkristallográfiás szerkezete [169]. Valószínűleg az a geometria, melyet a Ru–N kötések hossza kialakít, fontos tényező, emellett az etilén-diamin aminocsoportjai a foszfátnak között fellépő

hidrogénkötéssel stabilizálhatja a vegyes ligandumú komplexet. Tapasztalataink alapján ez a reakció nem jelenik meg a Rh-komplexeknél, csak a $[\text{Ru}(\eta^6\text{-arén})(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexekre jellemző, ill. néhány félszendvics Ru-polipiridin komplexénél mutatták ki [126]. A komplex képződésének látszólagos stabilitási állandóját meghatároztuk fiziológiás pH-n a rendszer ^1H NMR jeleinek integráljai alapján (31.c ábra). Ez az érték mind a *p*-cimol, mind a toluol komplexben $\lg K' = 2,26(4)$ -nak adódott. Ez jóval nagyobb, mint amit korábban ^{31}P NMR spektroszkópiás módszer segítségével határoztak meg pH = 8,3-on ($\lg K' = 0,51$) [106].

A komplexek oldatbeli stabilitásának összehasonlításához a 32. ábrán feltüntettem a fémorganikus M(arén) rész százalékos megoszlását a különböző részecskék között, fiziológiás pH-n.



32. ábra: Az etilén-diamin típusú ligandumokat tartalmazó fémkomplexek és a kétmagvú hidroxidokomplex százalékos aránya, a 8. táblázatban feltüntetett értékeket felhasználva. $\{c[\text{M}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+} = c(\text{L}) = 100 \mu\text{M}; \text{pH} = 7,40; I = 0,20 \text{ M} (\text{KNO}_3); T = 25,0^\circ\text{C}\}$

Ez alapján az etilén-diamin komplexek hasonló stabilitásúak fémiontól függetlenül, és még a két extra metilcsoportot tartalmazó $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{dmen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex is hasonlóan nagy stabilitást mutat, gyakorlatilag a ligandumok 100%-ban komplexben kötöttek az adott körülmények között ($c = 100 \mu\text{M}$). A tmeda esetén más a helyzet, a fémorganikus rész háromnegyede nem kötődik ligandumhoz, a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{tmeda})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex egyértelműen kisebb stabilitású. Erre szterikus okok adhatnak magyarázatot. Ha egymásra vetítjük a 30.d ábrán a tmeda és az etilén-diamin komplexének szerkezeteit, látható, hogy a C₅Me₅ ligandum metilcsoportjai a

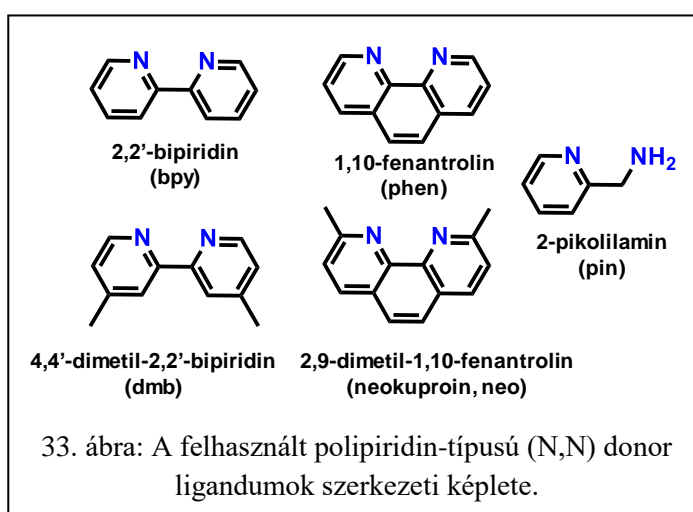
gyűrű síkjából sokkal nagyobb mértékben lépnek ki a tmeda komplexben (7,50°), mint az etilén-diamin esetében (2,15°). A hosszabb Rh–N kötések is a kisebb stabilitásra utalnak. Ezek alapján a tmeda és a C₅Me₅ metilcsoportjainak sztérikus taszítása miatt a komplex szerkezete feszültté válik, ezért tapasztalható kisebb komplex stabilitás.

Az etilén-diamin típusú ligandumok komplexeire is meghatároztuk a víz–kloridion csereállandókat (8. táblázat). A [Rh(C₅Me₅)(dmen)(H₂O)]²⁺ két izomerére egy közös makroállandót számoltunk, mivel az oldatban mindkettő jelen van azonos koncentrációban. A [Rh(C₅Me₅)(tmeda)(H₂O)]²⁺ komplexre nem végeztünk ilyen jellegű mérést, mivel kis stabilitása miatt nincs olyan pH, ahol kizárólag a komplex lenne jelen. A Ru(arén)-komplexek állandói jóval nagyobb hibával terheltek, aminek oka a pufferben lévő foszfátion részleges koordinációja. Emiatt ezekben az esetekben a koordinált víz részben lecserélődik foszfátionra, és ezt szorítja ki komplexéből a kloridion.

5.3.2. A fémorganikus kationok oldategyensúlyi reakciói piridin nitrogént tartalmazó ligandumokkal

A legegyszerűbb aromás diimin kétfogú ligandum, a 2,2'-bipiridin (bpy) komplexképződési folyamatait a [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺ ionnal korábban már vizsgáltuk 0,20 M KCl és 0,20 M KNO₃ ionerősségek mellett [37]. Doktori munkámban további ligandumok fémorganikus kationokkal való kölcsönhatását tanulmányoztam, azzal a céllal, hogy összefüggést keressünk a szerkezet és az oldatkémiai tulajdonságok,

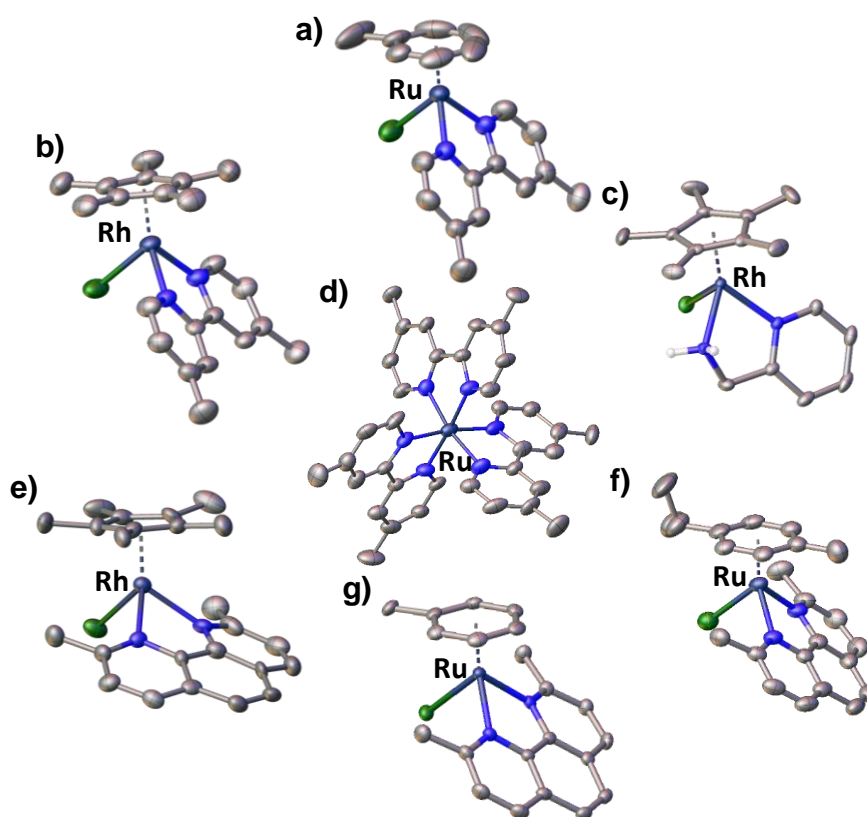
valamint a rákellenes hatás között. A vizsgált ligandumok szerkezeti képlete a 33. ábrán látható. A 2-pikolilaminban egy amin és egy piridin nitrogén képes koordinálódni, a két aromás nitrogént tartalmazó 1,10-fenantrolin szerkezete merevebb, mivel a két piridingyűrű aromás



rendszerét egy harmadik gyűrű köti össze. A bpy és a phen egy-egy dimetilezett származékát, a 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridint (dmb) és a 2,9-dimetil-1,10-fenantrolint

(neokuproin, neo) is vizsgáltuk. Ezen dimetilezett származékok kiválasztását az indokolta, hogy együttműködő partnerünk (Dr. Szakács Gergely) a phen és dmb ligandumok nagyobb rákellenes hatását fedezte fel doxorubicinre rezisztens MES-SA/Dx5 rákos sejteken, mint az érzékeny sejteken (**Függelék**, F3. táblázat). A neokuproin és a 2,2'-bipiridin ezt a szelektivitást nem mutatja.

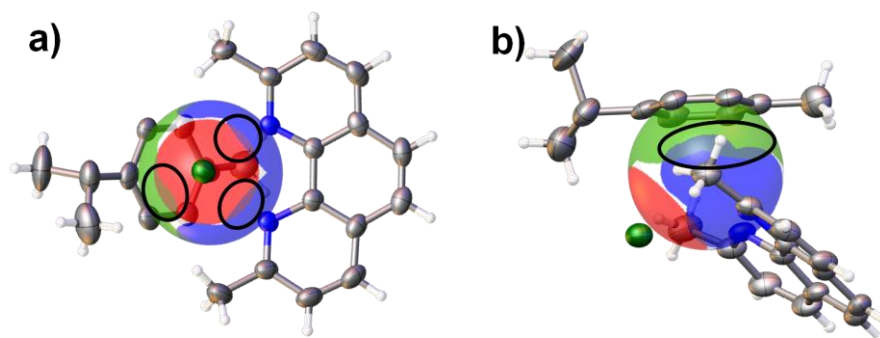
Ezen komplexeket szilárd formában előállítottuk és karakterizáltuk, ami a 4.2-es fejezetben megtalálható. Az ott leírtaknak megfelelően sikeresen előállítottunk egykristályokat, így hat félszendvics szerkezetű komplex szerkezetét meg lehetett határozni, melyeket a 34. ábra mutat be.



34. ábra: Az előállított egykristályokból röntgenkristallográfiásan meghatározott szerkezetek.
a) $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{dmb})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ b) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{dmb})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ c) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{pin})\text{Cl}]_2\text{Cl}_2 \times \text{MeOH}$
d) $[\text{Ru}(\text{dmb})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ e) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{neo})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ f) $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{neo})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ g) $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{neo})\text{Cl}]\text{Cl} \times 2 \text{MeOH}$.
A termális ellipszoidok 50%-os valószínűséggel jelölik az atomok pozícióit. Az oldószermolekulákat és a hidrogénatomokat a jobb átláthatóság érdekében nem mutatjuk.

A félszendvics komplexekre jellemző „zongoraszék-szerkezet” látható minden esetben. Mindössze a neokuproin komplexeiben van egy jelentős elhajlás, mivel a

fémion és a két nitrogén által alkotott sík nem egyezik meg a ligandum síkjával (szemben a phen, dmb vagy bpy komplexekkel). A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ komplexben a neokuproin síkja az arén ligandum síkjával 19° -kal kisebb szöget zár be, mint ami a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{phen})\text{Cl}]^+$ komplexben mérhető. Ezért a nitrogének közelében elhelyezkedő metilcsoportok a felelősek, mivel szterikus taszítás lép fel a metilcsoportok és az arényűrű között, ahogy ezt a 30.d ábrán is feltüntettük a tmeda esetében. A központi fémion környezetében levő szterikus hatások számbéli megadására több lehetőség is van, pl. a ligandum kúpszögek számítása [170], a ligandumok térszögeinek feltüntetése [171] vagy a fémion körül egy adott sugarú gömbben a ligandum által elfoglalt térfogat mérése [172]. Dolgozatomban a térszögeket használtam, az Olex2 program segítségével [151, 173]. A 35. ábrán két szemszögből vannak ábrázolva a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ komplex ligandumainak térszögei. Ezen térszögeket úgy lehet a legegyszerűbben elképzelni, mintha a központi fémion egy fényforrás lenne, és a ligandumok egy adott gömbfelületre vetített árnyéka a térszög, aminek szteradián a mértékegysége.



35. ábra: A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ komplexen bemutatott ligandum térszögek alul- és oldalnézetben. A szterikus taszítást jelző átfedések bekarikázva.

Azonban mértékegység helyett az árnyék területe százalékosan is kifejezhető, ha az egész gömbfelszín 100%-nak vesszük. A 35. ábrán a ligandumok térszöge és azok egymással való átfedése van feltüntetve, utóbbi a ligandumok közti szterikus taszítást jelzi. Ezeket fekete ellipszisekkel jelöltem. Az átfedések %-ban, a neo–arén, neo–Cl⁻ és arén–Cl⁻ párokra: 4,02, 0,99 és 1,01 a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ komplexben; 4,61, 1,04 és 0,56 a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ komplexben; 0,88, 0,56 és 0,42 a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{neo})\text{Cl}]^+$ komplexben. Ezek alapján a legkisebb taszítás a Rh-komplexében van, míg a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ szerkezete a legfeszültebb. A feszült szerkezetből eredő kisebb

stabilitás metanolban megmutatkozott, mivel az ellenion cseréjére szánt $\text{Ag}(\text{CF}_3\text{SO}_3)$ -ból származó $\text{Ag}(\text{I})$ kiszorította részlegesen a fémorganikus $\text{Ru}(\text{arén})$ kationokat komplexükből, melyet bizonyított a kiindulási dimer és az $[\text{Ag}(\text{neo})_2](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ kristályainak megjelenése a $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{neo})\text{Cl}](\text{CF}_3\text{SO}_3)$ mellett. Egy másik lehetséges mellékreakcióra világított rá a klasszikus oktaéderes szerkezetű $[\text{Ru}(\text{dmb})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ megjelenése a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{dmb})\text{Cl}]^+$ metanolos oldatában (34.d ábra).

Az arényűrű leszorítása azonban nem csak metanolos oldatban játszódik le; a komplex pufferezt vízes oldatában ($\text{pH} = 7,4$, 20 mM foszfát) az idő előrehaladtával ligandumfelesleg nélkül is megfigyeltük ezt. Több komplex esetében is párhuzamos mintákat készítettünk, az egyiket fénytől védett helyen tároltuk, míg a párja szobai fénynek volt kitéve. A $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexek stabilisnak mutatkoztak egy héten keresztül, nem változott a színük, és a $^1\text{H NMR}$ spektrumukon sem volt eltérés a kiindulási spektrumokhoz képest. Ezzel szemben a $\text{Ru}(\text{arén})$ -komplexek ($[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$, a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ és a $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$) egyértelmű változást mutattak. Megfigyelhető volt a kiindulási oldat sárga színének megváltozása kékké. A $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ abszorbancia spektruma megvilágítás nélkül is változott, azonban csak kisebb mértékben, mint a fény jelenlétében. Két új sáv jelent meg a spektrumban ($\lambda_{\text{max}} = 588$ és 644 nm , $\epsilon \sim 2000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A komplex *p*-cimol-analógja lassabb bomlást mutatott, ennél a mintánál kisebb abszorbancia volt mérhető ($\epsilon \sim 500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) a másik mintához képest, azonban a sáv maximumának hullámhossza megegyezett. A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ oldatában volt mérhető a legkisebb változás ($\epsilon \sim 300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), a sáv maximuma ennek UV-vis spektrumán 658 nm volt. Ezek alapján azt a következtetést vontuk le, hogy a $\text{Rh}-\text{C}_5\text{Me}_5$ kötés bizonyult a legstabilabbnak, ezt követi a $\text{Ru}-p$ -cimol kötés, és a leggyengébb a Ru -toluol kölcsönhatás, mely így a legérzékenyebb. Hasonló volt tapasztalható egyéb $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{N,N})\text{Cl}/\text{Br}]^+$ komplexeknél is, melyek piridin jellegű nitrogént tartalmaztak [121,160]. Fontos megjegyezni, ez a reakció eltér az (N,O) donoratomokat tartalmazó ligandumok félszendvics komplexeitől (5.2 fejezet), ahol az arén elvesztése egy extra ligandum hatására történt. Itt a két piridingyűrű π -akceptor hatása még érzékenyebbé teszi a Ru -arén kötést, mely így már a vízes oldatban sem elég nagy stabilitású.

A komplexek előállítását és karakterizálását követően megvizsgáltuk rákellenes hatásukat négy rákos sejtvonalon: MES-SA, A2780 és ezek rezisztens változatai (ld. 4.4.2 fejezet). Az IC_{50} értékek a **Függelék F3.** táblázatában láthatók. A MES-SA/Dx5

sejtvonalon nagyobb aktivitást mutató phen és dmb ligandumok Rh(C₅Me₅)-komplexei hasonlóképpen viselkednek, azonban ugyanez már nem mondható el a Ru(Cym/Tol)-analógokról, melyeknél nemcsak a szelektivitás marad el a várttól, hanem a citotoxicitásuk is lecsökkent. A ciszplatin rezisztens A2780cis sejteken minden vizsgált ligandum és fémkomplex csökkent hatásosságot mutat az A2780 sejtekhez képest.

Ezen ligandumok és fémkomplexeik összehasonlító oldategyensúlyi vizsgálatát tűztük ki célul 0,20 M KNO₃ ionerősség mellett, magyarázatot keresve a komplexek eltérő biológiai viselkedésére. Részletesen vizsgáltuk a [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺, [Ru(Cym)(H₂O)₃]²⁺ és a [Ru(Tol)(H₂O)₃]²⁺ fémorganikus kationok phen, neo, bpy és dmb ligandumokkal képzett komplexeit, ill. a [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺ – 2-pikolilamin rendszert.

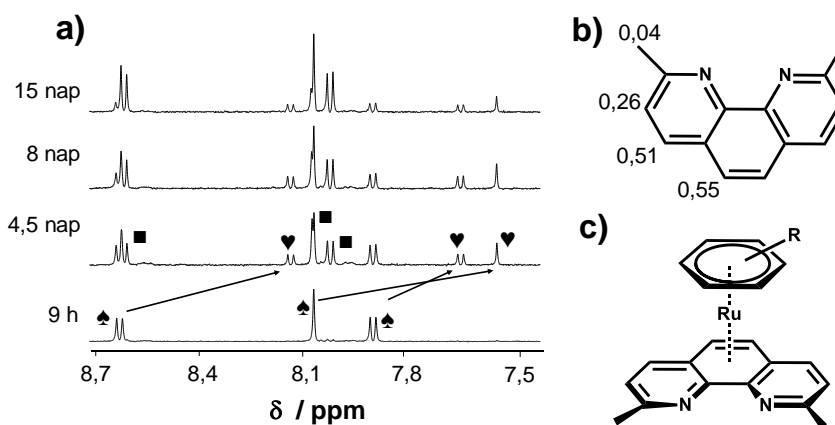
A ligandumok pK_a értékei pH-potenciometriásan és spektrofotometriásan meghatároztuk, az értékük jól egyezett a szakirodalomban közölt adatokkal (9. táblázat) [167,174-177]. Az értékeken a metilcsoportok hatása figyelhető meg, mivel a neo a phen-hez képest, míg a dmb-nek a bpy-hez képest majdnem egy egész nagyságrenddel eltérő disszociációs állandója van.

9. táblázat: A piridin nitrogént tartalmazó (N,N) donor ligandumok savi disszociációs állandói (K_a), a félszendvics kationokkal képzett komplexek stabilitási állandója (K[M(arén)(L)]), a koordinált víz deprotonálódását és kloridionokra történő cseréjét jellemző állandók (K_a[M(arén)(L)] és K'(H₂O/Cl')). {I = 0,20 M KNO₃; T = 25,0°C}

M(arén)	Állandó	phen	neo	bpy	dmb	pin
	pK _a (HL)	4,92(1) ^a	5,77(1) ^b	4,41 ^c	5,31(1) ^b	2,29(2) ^d 8,69(1) ^a
Rh(C ₅ Me ₅)	lgK[M(arén)(L)] ^e	14,70(3)	9,70(3) ^f	13,30(2)	14,32(2)	13,59(8)
	pK _a [M(arén)(L)] ^b	8,58(2)	8,88(1) ^g	8,61 ^c	8,40(1)	8,48(3)
	lgK'(H ₂ O/Cl') ^h	2,92(1)	2,76(1)	2,58 ^b	2,36(1)	2,43(1)
Ru(Cym)	lgK[M(arén)(L)]	>12,8	8,21(4) ^g	>12,5	>12,8	
	pK _a [M(arén)(L)] ^b	7,59(1)	7,62(1) ^g	7,48(1)	7,55(1)	
	lgK'(H ₂ O/Cl') ^h	1,79(1)	0,93(1)	1,83(1)	2,02(1)	
Ru(Tol)	lgK[M(arén)(L)]	>13,0	8,19(8) ^g	>13,0	>13,2	
	pK _a [M(arén)(L)] ^b	7,39(1)	7,55(1) ^g	7,39(1)	7,47(1)	
	lgK'(H ₂ O/Cl') ^h	1,68(1)	0,87(1)	1,62(1)	1,88(1)	

a: pH-potenciometriás titrálás, pH = 2-11,5
b: UV-vis titrálás, pH = 2-11,5
c: ref. [37,167]
d: pK_a(H₂L²⁺)
e: ligandum kiszorítás: ¹H NMR vagy UV-vis
f: ¹H NMR, pH = 0,7-2,1
g: ¹H NMR titrálás, pH = 2,0-11,5
h: UV-vis, c(Cl') = 0,0-0,2 M

A komplexképződés sebességét vizes közegben vizsgáltuk, savas körülmények között. Míg a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és a dmb között ~5 perc volt szükséges a reakció teljes lejátszódásához (pH = 0,7 és 2,1), addig ez a $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationnal ~1,5 nap (pH = 2,1), ill. több mint 3 nap (pH = 0,7) volt. Az egyensúly elérése után a spektrumok elemzése azt mutatta, hogy a ligandum közel 100%-ban van fémkomplexben kötött formában, melyet ^1H NMR spektroszkópián is megerősítettünk. A neokuproin viselkedése a többi ligandumtól eltérő, mert szabad ligandum ill. fémion is van jelen a komplex mellett ilyen savas pH-kon, ami vagy a lassú reakció következménye, vagy a komplex kisebb stabilitása miatt van. A neokuproin komplexképződési reakcióját a fémorganikus kationokkal pH = 6,0-n is követtük ^1H NMR módszerrel.



36. ábra a) A $[\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ – neo (1:1,2 arányú) rendszerének időfüggő ^1H NMR spektrumai (a neokuproin aromás protonjainak régiójában). Kétfogúan koordinálódott neo: ■, szabad neo: ▲, η^6 -haptocitású ligandumként koordinálódó neo (szendvics komplex): ♥. A nyilak a szabad és a hexahapto neo közti eltéréseket mutatják, melyeket b) a szerkezeten is ábrázoltuk ppm-ben. c) A ♥ részecske javasolt szerkezete ^1H NMR mérések alapján. $\{c([\text{Ru}(\text{Tol})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}) = 200 \mu\text{M}; c(\text{neo}) = 245 \mu\text{M}; \text{pH} = 6,0$ (20 mM foszfát); $I = 0,20 \text{ M}$ (KNO_3); $T = 25,0^\circ\text{C}$ }

Azt tapasztaltuk, hogy a komplexképződési reakció 15 nap után sem játszódtott le teljes mértékben $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationokkal, ráadásul egy, a komplex jeleitől eltérő jelcsoport jelent meg, amit egy intermedierhez rendeltünk (ld. 36.a ábrán: ♥ jel). Ami érdekes ennél a jelcsoportnál, hogy a nitrogénektől távolabbi pozíciókban lévő hidrogénatomok sokkal nagyobb eltolódást mutatnak, mint az azokhoz közelebbiek. A 36.b ábrán a szabad és az intermedier komplexben kötött neokuproin ^1H NMR jeleinek különbségei láthatók. Ez alapján egy olyan fémkomplexről lehet szó, mely szendvics

szerkezetű, és a neokuproin a középső gyűrűjén keresztül koordinálódik a Ru-centrumhoz, a javasolt szerkezetet a 36.c ábra mutatja. Kétfogú ligandumok hexahapto koordinációját már leírták egyéb Ru-komplexek esetében is a szakirodalomban [178], azonban azok a vizsgálatok nemvizes közegben történtek.

A neokuproin komplexeinek egyensúlyi stabilitási állandójának meghatározásához savas közegben (pH = 0,7-2,1) készítettünk egy mintasorozatot, ahol hosszabb várakozási idő után mértünk ^1H NMR spektrumokat. A spektrumokon megjelent a kötött és szabad ligandum, ill. a fémorganikus kationok arén ligandumának jelcsoportjai is. Az integrálokból a korábbiakban leírtak alapján lehetett számolni stabilitási állandót. Ezek értékét összehasonlítva a 9. táblázatban látható, hogy a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexnek a legnagyobb a stabilitási állandója, míg a $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{neo})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexeknek kisebb. A Ru-tartalmú kationok nagyobb hidrolitikus hajlamát is figyelembe véve kijelenthető, hogy a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{neo})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex a legnagyobb stabilitású komplex, ez megegyezik a komplexek ligandum térszögeinek átfedéséből (35. ábra) számolt sztérikus taszítások trendjével.

Mivel a többi aromás (N,N) ligandum félszendvics Ru- és Rh-komplexénél nem láttunk disszociációra utaló jelet az NMR spektrumokon pH = 0,7-en, ezért azokra ligandum kiszorításos vizsgálatokat végeztünk olyan pH-n, melyen az $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplex van jelen 100%-ban. Ez széles pH-tartományra igaz, gyakorlati szempontok (pufferelés) miatt a pH = 5,9-7,4 tartományban történtek az ilyen jellegű méréseink, spektrofotometria vagy ^1H NMR spektroszkópia felhasználásával. Az etilén-diaminnal való kiszorítás sikeresen működött a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{pin})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ esetén, ahol spektrofotometriásan követtük a folyamatot. Ezzel szemben a bpy és phen komplexek vegyes ligandumú komplexeket képeztek az etilén-diaminnal, és a spektrumokon detektálható az etilén-diamin egyfogú koordinációja. A 2-pikolilamin használata a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexeknél vegyes ligandumú komplex képződésével járt, valamint a bpy-komplexnél részleges kiszorítást is detektáltunk. Valószínűleg a 2-pikolilamin kellő flexibilitású ahhoz, hogy egyfogú ligandumként csak a piridin nitrogénje koordinálódjon. Ezután a HQCl-Pro vegyületet használtuk versengő ligandumként, bár a $\text{Ru}(\text{arén})$ komplexeknél nem alkalmazható az arényűrű kiszorítása miatt. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexnél nem volt elégséges a ligandum kiszorításának mértéke, mivel $c(\text{HQCl-Pro}):c(\text{komplex}) = 10:1$ aránynál is $< 10\%$ volt a szabad phen aránya az NMR spektrum alapján (pH =

5,9). A HQCl-Pro ligandummal azonban a bpy kiszorítható a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexből (22,5-szeres feleslegnél 70%-ban), és a kiszorítási sorozatból már tudunk stabilitási állandót számolni a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexre (9. táblázat). A továbbiakban a bpy-t használtuk kiszorításra, mert komplexének nagy stabilitása elegendő volt a további $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{dmb})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexekkel való kompetíciós reakciókhoz. A Ru(arén)-komplexek is meglehetősen stabilisnak bizonyultak, amit jól bizonyít, hogy egy hígítási sort készítve 20 μM –2 mM koncentrációtartományban a számolt moláris abszorbancia spektrumok megegyeznek egymással, disszociáció még kis koncentrációban sincs. A stabilitási állandók a 9. táblázatban láthatók, ahol a Ru(arén)-komplexek esetén egy minimum értéket adtunk meg (azt feltételezve, hogy 20 μM esetén maximum 10-12% disszociáció lehetséges anélkül, hogy detektálnánk a szabad ligandum és fémorganikus kationt pH = 0,7-n és 11,5-n).

A koordinált víz deprotonálódását a korábbi fejezetekben bemutatott módszerekkel, spektrofotometriásan és NMR spektroszkópiásan is követtük. A meghatározott $\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ állandók a 9. táblázatban találhatóak. Ami megfigyelhető, hogy az értékek akkor közel esnek egymáshoz, amikor egy adott kation különböző komplexeit hasonlítjuk össze. Általánosan elmondható, hogy a metilezés hatására kissé emelkedik a komplex $\text{p}K_a$ értéke (kivéve a Rh esetén a bpy \rightarrow dmb csere), azonban ez nem jelentős: a legnagyobb eltérés a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ – $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{neo})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ párosnál van, ahol ez 0,3 logaritmus egységet jelent.

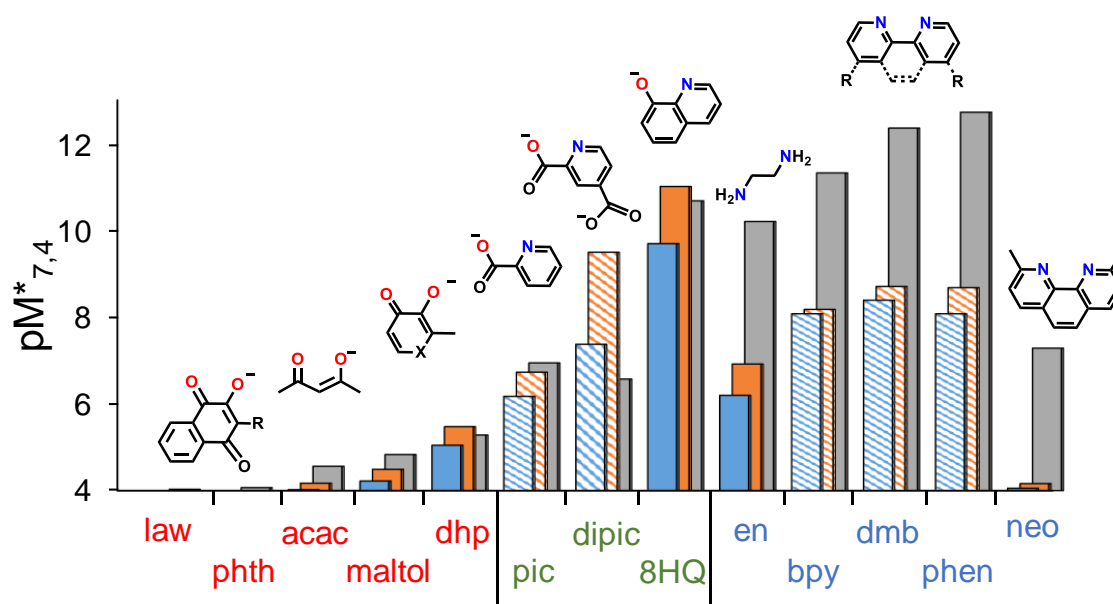
A kloridaffinitást jellemző egyensúlyi állandókat is meghatároztuk ($\text{lg}K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)$, 9. táblázat). Egy adott ligandumnál a $\text{p}K_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ értékekhez hasonló trendet találtunk: $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5) \gg \text{Ru}(\text{Cym}) > \text{Ru}(\text{Tol})$. Meglepően nagy eltérés van a phen és neokuproin Ru-komplexei esetén, melyre magyarázatot adhat a komplexek szerkezete, mivel a neokuproinban a nitrogének melletti metilcsoportok valószínűleg sztérikusan gátolják a nagyobb méretű kloridion koordinálódását.

5.4. Az meghatározott egyensúlyi állandók összehasonlítása

5.4.1. A komplexek stabilitása és a koordinált víz deprotonálódása

Az előző fejezetekben bemutatott komplexek az egyes ligandumtípusokon belül kisebb-nagyobb stabilitásbeli különbségeket mutatnak, azonban érdemes összehasonlítani,

hogy a különböző ligandumtípusok között milyen eltérések, ill. trendek mutatkoznak. Az összehasonlításhoz azonos körülmények között számolhatunk koncentrációeloszlási görbéket, $pM^* - pH$ görbéket, a ligandum savi disszociációs állandóival korrigált stabilitási állandókat (K^*) vagy adott pH-n látszólagos stabilitási állandókat (K_{app}). pM^* értékek számolását választottuk a biológiailag fontos fiziológias pH-n (7,4), ahol a ligandum és a fémorganikus kation koncentrációja is $100 \mu M$ (azaz a pM^* értéke ligandum nélkül 4). Ezeket az értékeket feltüntettük a 37. ábrán azokra a ligandumokra, melyekkel mindhárom vizsgált fémorganikus kationnal meghatároztuk a stabilitási állandókat. Szükséges hozzátenni, hogy bizonyos egyensúlyi állandók, mint az (O,O) donor ligandumok és a picH és 2,4-dipicH₂ ligandumok komplexeinek stabilitási állandói, kloridionokat tartalmazó közegben, míg a többi állandó kloridion mentes közegben volt meghatározva.



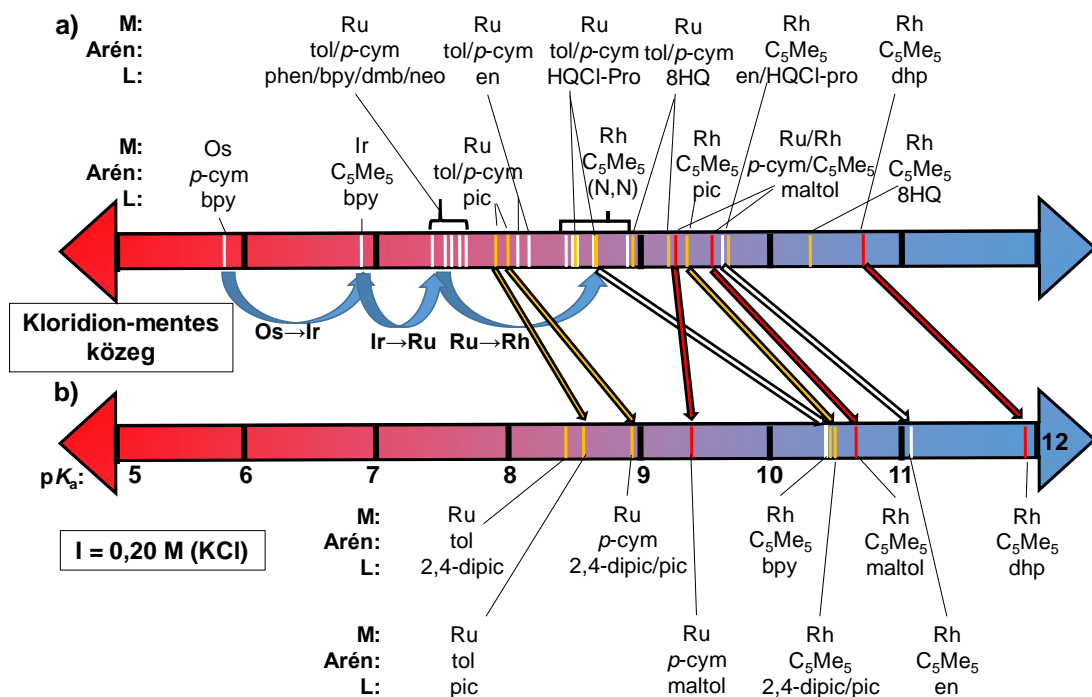
37. ábra: A pM^* értékek fiziológias pH-ra kiszámolva azon ligandumokra, melyeknél mindhárom fémorganikus kation esetén meghatároztuk a stabilitási állandókat. $[Rh(C_5Me_5)(H_2O)_3]^{2+}$: szürke; $[Ru(Cym)(H_2O)_3]^{2+}$: narancssárga; $[Ru(Tol)(H_2O)_3]^{2+}$: kék. A lawH és phthH, acacH [62], maltol [36,62], deferipron (dhp) [62,67], picH [67,88,159], 2,4-dipicH₂ állandók $I = 0,20 M KCl$, míg a 8HQ [97], en [37], bpy [37], dmb, phen és neo állandók $I = 0,20 M KNO_3$ mellett lettek mérve. A csíkozott oszlopok azon állandókkal számolt értékeket jelölik, melyeknél minimum érték lett megadva. A ligandumok koordinált formájának szerkezete fel van tüntetve az ábrán (R= -H vagy -CH₃; X= O vagy N-CH₃). $\{c([M(arén)(H_2O)_3]^{2+} = c(L) = 100 \mu M; I = 0,20 M (KCl \text{ vagy } KNO_3); T = 25,0^\circ C\}$

Szembetűnő a naftokinon típusú ligandumok gyenge komplexképző tulajdonsága, a pM^* gyakorlatilag a ligandum nélküli 4,00-es értéket mutatja. Jól látható az is, hogy a Ru(Cym) komplexek stabilitása dominál az (N,O) donorok és a deferipron esetén, míg a többi (O,O) donor és az (N,N) donoroknál a Rh(C₅Me₅) komplexei mutatják a legnagyobb stabilitást ezen a pH-n. Jól látható a metil-szubsztituensek hatása: a phen→neo csere drasztikusan lecsökkenti a stabilitást. Az etilén-diamin komplexeinek stabilitási állandója nem tér el nagymértékben egymástól, azonban fiziológiás pH-n már a fémorganikus kation hidrolízisének és a kétmagvú hidroxidokomplexek stabilitásának a hatása látszik, ezért is kisebb három nagyságrenddel a komplexben kötött kation mennyisége a Ru(arén) kationok esetében.

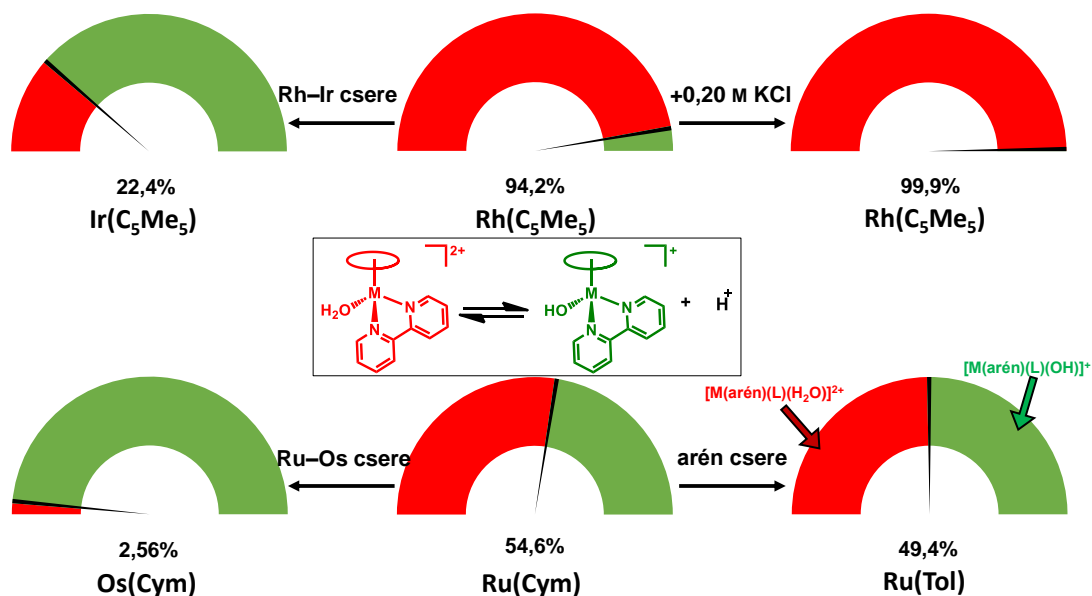
A koordinált vízmolekula deprotonálódásának jelentőségét már említettük korábban: a képződő vegyes ligandumú hidroxidokomplex kevésbé reaktív, ezért érdekes ennek a formának a jelenléte fiziológiás pH-n. Azonos fémorganikus kation esetén általában az anionos ligandumok komplexeinek nagyobb a $pK_a[M(\text{arén})(L)]$ értéke, emellett a kloridionok jelenléte is visszaszorítja a deprotonálódást. A 38. ábrán ábrázoltuk a $pK_a[M(\text{arén})(L)]$ értékeket egymáshoz képest, kiegészítve a 0,20 M-os KCl mellett mért állandókkal is.

Megjegyzendő, minél nagyobb egy komplex kloridion-affinitása, annál nagyobb a kétféle ionerősség mellett mért pK_a érték különbsége (ΔpK_a). Ezt jól szemlélteti a [Ru(Cym)(maltol)(H₂O)]⁺ esete, ahol $\lg K'(H_2O/Cl^-) = 1,17$, $\Delta pK_a = 0,11$, míg a [Rh(C₅Me₅)(bpy)(H₂O)]²⁺ komplexnél ezen értékek: $\lg K'(H_2O/Cl^-) = 2,58$ és $\Delta pK_a = 1,78$. Ez azért is érdekes, mert a szervezetben előforduló különböző közegekben a kloridion hozzávetőleges koncentrációja ~103 mM és ~4 mM között változik [107].

Azonos kétfogú ligandum esetén egy általános sorrend állítható fel a $pK_a[M(\text{arén})(L)]$ értékre: Rh(C₅Me₅) >> Ru(Cym) > Ru(Tol). Más kutatócsoportok méréseivel kiegészítve ez a sorrend bővíthető egyéb félszendvics fémorganikus kationokra: Rh(C₅Me₅) >> Ru(Cym) > Ru(Tol) ≥ Ir(C₅Me₅) > Os(Cym). A 39. ábra az [M(arén)(bpy)(H₂O)]²⁺ példáján keresztül mutatja be erre az öt kationra az akva és hidroxido formák százalékos arányát pH = 7,4-en, valamint láthatjuk a kloridionok deprotonálódást visszaszorító hatását is.



38. ábra: A $pK_a[M(\text{arén})(L)]$ értékek a) kloridion mentes (felső nyíl) és b) 0,20 M KCl-ot (alsó nyíl) tartalmazó közegben mérve. A ligandumok típusai színek szerint: (O,O) = piros, (N,O) = sárga, (N,N) = fehér. A lapos kék nyilak az eltérő fémionokat tartalmazó félszendvics bpy komplexek közti eltéréseket jelölik [37,86,105]. A piros/sárga/fehér nyilak azon komplexekhez tartoznak, melyekre mindkét közegben meghatároztunk állandót.



39. ábra: A bpy félszendvics akva és vegyes hidroxido komplexeinek százalékos megoszlása fiziológiás pH-n, feltüntetve az akvakomplex pontos arányát. pK_a értékek: Rh(C₅Me₅): 10,39 (KCl) és 8,61 (KNO₃) [37]; Ru(Cym): 7,48 (KNO₃) és Ru(Tol): 7,39 (KNO₃) (9. táblázat); Ir(C₅Me₅): 6,86 (kloridion mentes) [86]; Os(Cym): 5,82 (kloridion mentes) [105]. {c = 100 μM; T = 25,0°C}

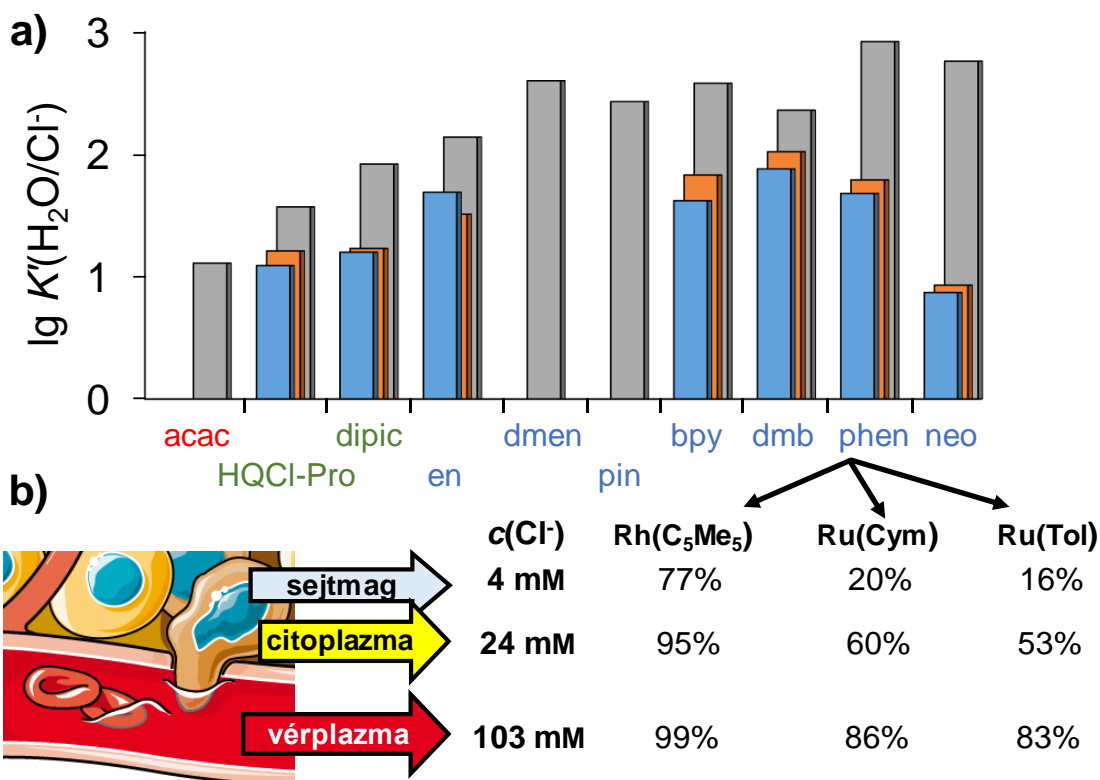
Az eltérő pK_a értékek részletesebb magyarázata megtalálható már Buglyó és mtsai korábbi publikációjában a félszendvics $[\text{Ru}(\text{arén})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$, $[\text{Os}(\text{Cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ és $[\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kationokra [35]. Javaslatuk alkalmazható a kétfogú ligandumok akvakomplexeire is. Eszerint a Rh(III)-hoz koordinálódó pentametil-ciklopentadienid anion jobb elektronküldő hatású (jobb π -donor), mint a *p*-cimol [39,40], így csökkenti az effektív töltést a fémionon és az M–O kötés polározottságát is. Ennek megfelelően a vízmolekula gyengébben kötődik a fémionhoz, azaz magasabb pK_a érték rendelhető hozzá, mert kevésbé polarizálódott benne az O–H kötés. Gyengébb π -donor esetén (itt a toluol a leggyengébb) nagyobb töltés marad a fémcentrumon, erősebb lesz a Ru–O(víz) kötés, azaz az O–H kötés jobban polarizálttá válik, és emiatt savasabb lesz a kötött vízmolekula. Emellett az 5d fémionoknál még nagyobb a kötéspolarizáció, mint a 4d fémionoknál.

5.4.2. A víz–kloridion csereállandó, azaz a komplexek kloridion-affinitása

Az M–Cl kötés stabilitása meghatározó lehet a biológiai hatás kifejtésében [107]. Az akvakomplexben kötött vízmolekula egy labilis, könnyen távozó csoport, míg a kloridion erősebben kötődik, ezért ennek valószínűleg kevésbé reaktív a komplexe. Az M–Cl kötés hidrolízise a kulcslépés a ciszplatin esetén, így ez feltételezhető ezen félszendvics komplexeknél is [107]. Az egyes ligandumtípusoknál már bemutattuk a víz–kloridion csereállandók meghatározásának menetét, a 40.a ábrán a dolgozatban szereplő állandók szerepelnek összesítve. A $pK_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ -l el megegyező trend válik láthatóvá: $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5) \gg \text{Ru}(\text{Cym}) > \text{Ru}(\text{Tol})$. A 40.b ábrán feltüntettük az $[\text{M}(\text{arén})(\text{phen})\text{Cl}]^+$ komplexek százalékos arányát fiziológiás körülményeknek megfelelő kloridion-koncentrációknál [107].

A koordinált víz deprotonálódása és a kloridion koordinálódása hasonló reakciók, melynek során a vízmolekula egy egyszeresen negatív töltésű részecskére cserélődik. Azonban fellép az ellentmondás: a különböző fémcentrumokat összevetve a nagyobb kloridion affinitású komplexek vízmolekulája deprotonálódik nagyobb pH-n (azaz ezeknek van a legkisebb „hidroxidion-affinitása”). Ennek hátterében a fémion és a vízmolekula között kialakuló kölcsönhatás erőssége áll, melyet részletesen kifejtettünk az előző fejezetben. A gyengébben kötött vízmolekula tehát kevésbé savas karakterű, viszont könnyebben leszorítható kloridionokkal. Ez alapján a $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ esetében

könnyen távozik a vízmolekula, míg a Ru(Tol) esetén a legnehezebben. Így megmagyarázható a tapasztalt ellentmondás.

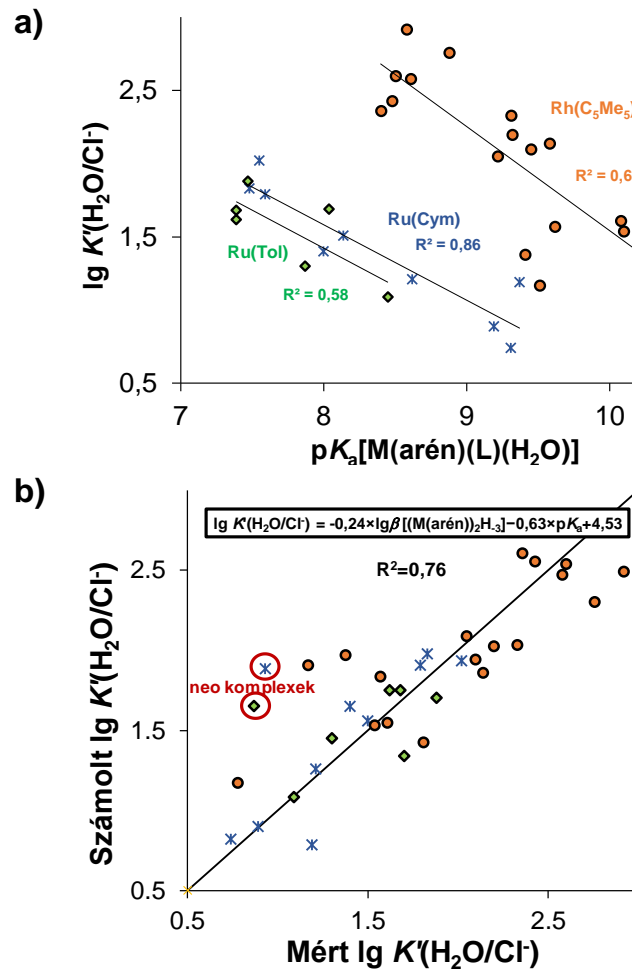


40. ábra: a) A dolgozatban bemutatott komplexek víz–kloridion csereállandói (K' (H₂O/Cl⁻)). [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺: szürke; [Ru(Cym)(H₂O)₃]²⁺: narancssárga; [Ru(Tol)(H₂O)₃]²⁺: kék. b) Az [M(arén)(phen)Cl]⁺ komplexek aránya fiziológias kloridion koncentrációk mellett számolva.

Azonban fontos megvizsgálni a 40.a ábrán azonos fémorganikus rész mellett a kétfogú ligandum hatását erre az egyensúlyi állandóra. Általánosan igaz a következő stabilitási sorrend a donor atomok típusát tekintve: (N,N) > (N,O) > (O,O). Valószínűleg a donoratomok mellett a ligandum koordinált formájának töltése is számít, mivel az anionos ligandumoknak (2,4-dipicH₂, HQCl-Pro, acacH) vannak a legkisebb állandóik. Valószínűleg ezek akvakomplexe, kisebb pozitív töltésüknél fogva, gyengébb kölcsönhatást tud kialakítani a kloridionnal.

Mivel a deprotonálódás és a kloridion megkötődése hasonló folyamat, állandóik korrelációja érdekes lehet. A dolgozatban szereplő és a kutatócsoportunk által korábban publikált félszendvics fémkomplexek egyensúlyi állandóik közül azokat vetettük össze, melyeknél mind a két állandó (pK_a [M(arén)(L)] és $\lg K'$ (H₂O/Cl⁻)) ismert. Az illesztésből kihagytuk a [Ru(arén)(neo)(H₂O)]²⁺ komplexeket, melyeknél jelentős a sztérikus hatás. Csak a 0,20 M (KNO₃) mellett meghatározott pK_a értékeket használtuk

fel. A kisebb pK_a érték (azaz a nagyobb affinitás a OH^- ionra) nagyobb víz–kloridion csereállandóval jár általánosan (41.a ábra) azonos fémorganikus kation esetén. Ebben az esetben a kétfogú ligandum hatása a döntő.



41. ábra: a) A félszendvics Ru- és Rh-komplexek víz–kloridion csereállandójának logaritmusának koordinált víz deprotonálódását jellemző $pK_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ értékek függvényében ($I = 0,20 \text{ M KNO}_3$), jelölve a különböző fémorganikus részekhez tartozó értékeket és a rájuk illesztett egyenseket: \circ : Rh(C_5Me_5); \times : Ru(Cym); \diamond : Ru(Tol). b) A három fémorganikust egyesítő modell által számolt víz–kloridion csereállandók a mért állandók függvényében. Az átló az ideális esetet mutatja, amikor a mért és számolt értékek megegyeznek egymással.

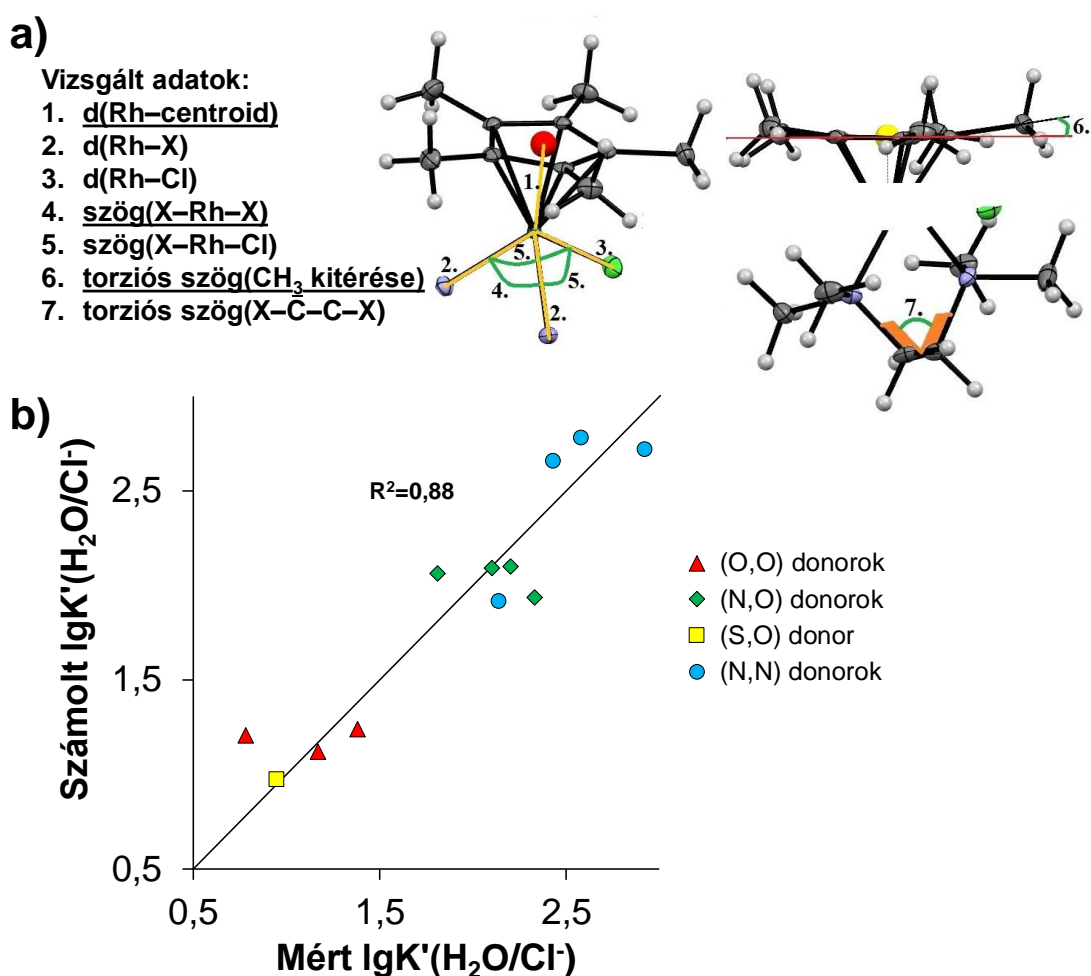
Említésre méltó, hogy a 41.a ábra illesztett görbéinek meredeksége hasonló egymáshoz, azonban a tengelymetszetükben van eltérés. Multilineáris regresszióval a különböző fémorganikus kationok komplexei egy modellben kezelhetők: a 41.b ábrán az eddig meghatározott $\lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)$ értékek vannak az x-tengelyen, míg a $pK_a[\text{M}(\text{arén})(\text{L})]$ és $\lg \beta[(\text{M}(\text{arén}))_2\text{H}_3]$ adatokból számolt $\lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-)$ értékek találhatók az y-tengelyen, $R^2 = 0,76$ -os értékkel. Ebben az illesztésben tizenhét Rh-

komplex, kilenc Ru(Cym) és hat Ru(Tol) komplex található. A komplexek kloridionok felé mutatott affinitását jellemző egyensúlyi állandó meghatározása időigényes, és a komplexek megfelelő vízoldhatósága is szükséges. Ezért megpróbáltunk kapcsolatot találni ezen állandó és röntgenkrisztallográfiás szerkezetek geometriai paramétereinek között a kisebb méretű ligandumok fémkomplexeire, melyek különböző típusú ligandumcsoportokat modelleznek. Az akvakomplex geometriájának ismerete (pl. az M–O(víz) kötэшossz) megfelelőbb lenne a számolásunkhoz, azonban általában az [M(arén)(L)Cl] formát szokták izolálni, így mi is ezeket használtuk. Felállítottunk egy modellt azon Rh-komplexekre, melyeknél mind a szerkezet, mind a csereállandók ismertek voltak 2018-ig. Ezekben a komplexekben különböző donoratomok vannak, a ligandumok ötagú kelátgyűrűt alkotnak: maltol és allomaltol [36], deferipron [67], pic, 6-metil-pikolin-sav és kinaldinsav [89,179], 8-hidroxi-kinolin [97], tiomaltol [180], bpy, phen, pin és etilén-diamin [37,144]. A dmen komplexéből csak egyik izomerének kristályai lettek előállítva, így ezt kihagytuk az illesztésből. Többféle geometriai paramétert is megvizsgáltunk (42.b ábra): különböző kötэшosszak, kötэшszögek, torziósszögek voltak tesztelve úgy, hogy a változók reális függést mutassanak. Az alábbi modellt fogadtuk el (8. egyenlet, 42.a ábra):

$$\begin{aligned} \text{számolt } \lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-) = & 27,59 \times (\text{Rh}-\text{C}_5\text{Me}_5 \text{ centroid távolság}) - 0,23 \times \\ & \text{szög}(\text{X}-\text{Rh}-\text{Y}) - 0,23 \times (\text{CH}_3 \text{ kitérése a } \text{C}_5\text{Me}_5 \text{ síkból}) + \\ & + 0,46 \times [\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{L})] \text{ töltése} - 28,75 \end{aligned} \quad (8)$$

Ez alapján annál nagyobb a komplex kloridion affinitása, minél távolabb van a C_5Me_5 gyűrű a fémiontól, ami a fémion nagyobb effektív töltésével értelmezhető. Az akvakomplex töltöttségével arányosan nő ez az egyensúlyi állandó. A donoratomok és a Rh által alkotott kötэшszög, ill. a metilcsoportok kitérése a gyűrű síkjából a komplex sztérikus hatásait hivatottak figyelembe venni. 2018 óta meghatározott $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexeiken ellenőrizni lehet a modell jóságát, emellett azokra is lehet jóslani állandót, melyeknek csak a szerkezete ismert. A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(2,4\text{-dipicH})\text{Cl}]$ komplex esetében egy olyan probléma lép fel, hogy a szerkezet alapján +1 a töltése a komplexnek (protonált karboxilcsoport), míg az állandó meghatározása során az oldatban semleges komplexszünk volt; emellett a szabad karboxilcsoport deprotonálódásának hatása a geometriai paraméterekre sem elhanyagolható. A komplexet semlegesnek véve a $\lg K'(\text{H}_2\text{O}/\text{Cl}^-) = 1,53$, míg +1-nek véve 1,99, azaz utóbbi mutat közelebbi eredményt (ld. 6. táblázat). A dmb és neo komplexei esetén a csereállandó 3,07 és 2,54 ebben a

sorrendben. A dmb esetén a szokatlanul hosszú Rh–C₅Me₅ távolság (1,790 Å, aminél hosszabb már csak a tmeda komplexében van) okozott nagy eltérést, azonban a neo esetén a metilcsoportok sztérikus hatása ellenére is jó a közelítés. Emellett állandót számoltunk a tmeda, a ftiokol és a kurkumin komplexeire is, ezek rendre: 1,98, 1,48 és - 1,33. Egyértelműen kiugró pont a kurkumin, a modell erre a komplekre nem teljesít jól nagy kötésszöge miatt. Ez alapján elmondható, hogy hattagú kelátgyűrűket tartalmazó komplekre valószínűleg nem használható a modellünk.



42. ábra: a) Az egykristály röntgenkristallográfia által meghatározott szerkezetekben vizsgált geometriai paraméterek, aláhúzva a 8. egyenletben felhasznált kötéshosszt és szögeket. b) A 8. egyenlet által számított víz–kloridion csereállandók a mért értékek függvényében. Az átló azon pontokat jelöli, ahol a modell által számolt és a mért értékek megegyeznek.

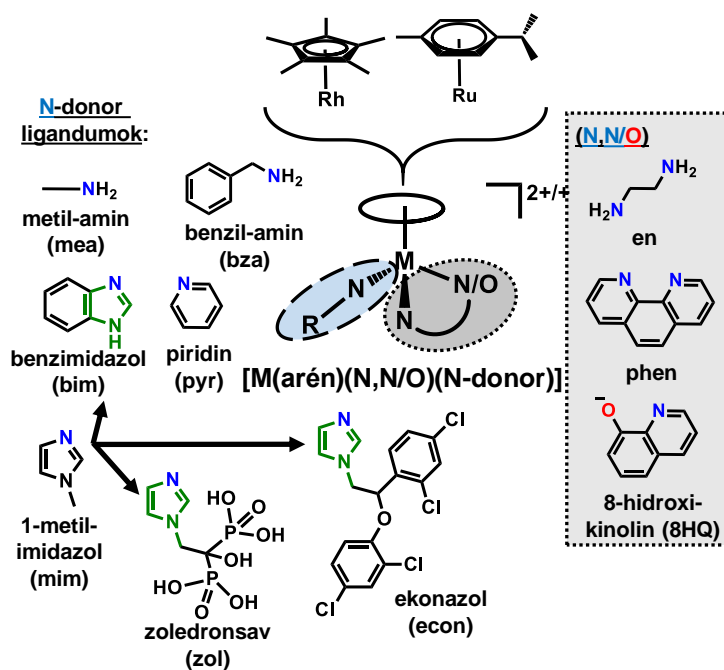
5.5. Egyfogú ligandumok és biomolekulák kötődése

A félszendvics ruténium- és ródiumkomplexek az arén ligandum és a kétfogú ligandum mellett egy egyfogú ligandumot tartalmaznak. Ez lehet az oldószer molekula (pl. H₂O

vagy OH^- a pH-tól függően), ill. kloridionokat tartalmazó közegben maga a Cl^- , de egyéb halogenidionok (Br^- , I^-) is szerepelhetnek a szilárdan előállított komplexekben [121]. Ezen egyfogú segédligandum szubsztitúciója játszódik le endogén biomolekulákkal való kölcsönhatás során, és ezen ligandumcsere folyamat sebessége és mértéke meghatározó szerepet játszhat a fémorganikus komplex biológiai közegben való viselkedésében.

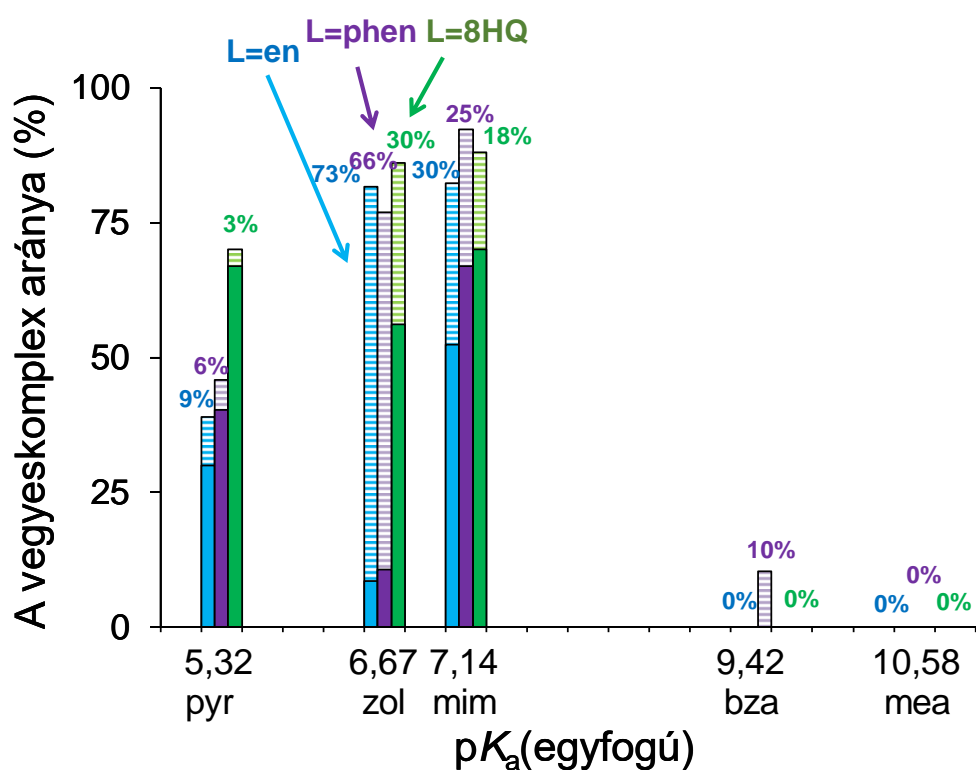
5.5.1. N-donor ligandumok a harmadik koordinációs helyen

A halogenidionok helyett egyéb segédligandumok használata számos előnnyel járhat: i) növelheti a szelektivitást, elősegítve a komplex aktiválódását a célpont közelében, ii) önmaga is biológiailag aktív lehet, így additív vagy szinergisztikus módon fejthetik ki hatásukat a kétfogú ligandum komplexével, iii) az inert vagy nagy stabilitású komplexek gátolhatják a bioligandumok koordinációját, így a komplex egésze új mechanizmuson keresztül érheti el hatását, ill. ellenállhat a védekezésben szerepet játszó glutation koordinálódásának. Doktori munkámban az i) és ii) pontokban tárgyalt komplexeket terveztünk, az aktiválódást a rákos szövet savasabb pH-ja biztosítja (pH = 5,5-6,5) [24].



43. ábra: A savra aktiválódó komplexek előállításánál és vizsgálatánál alkalmazott fémorganikus fragmensek, kétfogú és egyfogú ligandumok.

A vegyes ligandumú komplexek előállításához az etilén-diamin, a 8HQ és a phen kiemelkedően nagy stabilitású Rh(C₅Me₅)- és Ru(Cym)-komplexeit választottuk (43. ábra). Ezek szerepe kettős: egyrészt, mint stabilis platformok, hordozzák a citotoxikus egyfogú ligandumot, ill. ha maguk is citotoxikusak, akkor az egyfogú ligandum savas disszociációja során aktiválódhatnak. Olyan egyfogú segédligandumokat kerestünk, melyektől azt vártuk, hogy pH = 7,4-en 100%-ban koordinálódnak, míg a pH = 6,0-6,5 tartományban teljes mértékben disszociálnak. A bázicitásuk és a szakirodalmi példák alapján [133-135] a metil-amin (mea), benzil-amin (bza), piridin (pyr), benzimidazol (bim) és 1-metil-imidazol (mim) (43. ábra) nitrogéndonor ligandumokat választottunk, melyek mindegyike gyakori alkotója biológiailag aktív (gyógyszer-) molekuláknak is.



44. ábra: A ¹H NMR spektroszkópián meghatározott komplexképződési és savérzékenységi tesztekben számolt Rh(C₅Me₅)-vegyes ligandumú komplexek aránya pH = 6,0 és 7,4 értékeken, az egyfogú ligandum pK_a értékének függvényében. (A pK_a értékeket a vizsgálati körülményeink között pH-potenciometriásan határoztuk meg.) A teli oszlopok a pH = 6,0-on kapott értékeket, míg a csíkos oszlopok az ezen felüli kötődést mutatják pH = 7,4-en, a kettő érték különbsége az oszlopok felett látható. {c([Rh(C₅Me₅)(L)(H₂O)] = c(egyfogú ligandum) = 1 mM (8HQ esetén 0,5 mM); pH = 6,0 és 7,4 (20 mM PBS* puffer); várakozási idő: 24 h; 10% D₂O; T = 25,0°C}

^1H NMR spektroszkópiás méréseket végeztünk a választott $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexekre egy ekvivalens N-donor segédligandum jelenlétében pH = 6,0-n és 7,4-n. Első lépésként megvizsgáltuk, hogy a vegyes ligandumú komplexek képződésénél mennyi idő szükséges az egyensúly eléréséig. Megállapítottuk, hogy a 8HQ komplexeinél a segédligandum koordinációja gyors (< 6 perc), míg a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{N},\text{N})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexeknél általában perc-óra nagyságrendű reakcióidőket figyeltünk meg. Ennek megfelelően a ^1H NMR spektrumok felvétele előtt 24 órát vártunk (44. ábra), majd a spektrumok elemzésével határoztuk meg a képződött vegyes ligandumú komplexek arányát a kétféle pH-n. Megállapítottuk, hogy az aminocsoportot tartalmazó ligandumok (mea, bza) csak csekély mértékben koordinálódnak. A heterociklusos vegyületek (pyr, mim) már nagyobb mértékű kötődést mutatnak (30-90%), és a kétféle pH-n mérve az 1-metil-imidazol esetén kaptuk a legnagyobb különbséget a ligandum megkötődésének mértékére vonatkozóan. Ugyanakkor ez az a segédligandum, mely a legnagyobb mértékben (80-90%) koordinálódik a törzskomplexeinkhez fiziológias pH-n. Azt találtuk, hogy a segédligandum $\text{p}K_a = 6,5-7,5$ körüli értéke az optimális (44. ábra), mely az imidazol-származékoknál teljesül. Ezt az információt felhasználva választottuk a további vizsgálatainkhoz az imidazol-tartalmú benzimidazolt, a zoledronsavat és az ekonazolt (43. ábra). A benzimidazol motívum gyógyszer-molekulákban megtalálható, emellett származékai aktivitást mutattak többféle rákos sejtvonalon [181]. A zoledronsav és az ekonazol olyan gyógyszer-molekulák, melyek rákellenes hatását már kimutatták egyéb kutatásokban [182,183]. A benzimidazol savasabb pH-n deprotonálódik ($\text{p}K_a = 5,44(1)$, UV-vis méréseink alapján, $I = 0,10 \text{ M KCl}$). A zoledronsavnak több disszociálós protonja is van (jósolt $\text{p}K_a$ értékek: 6,67, 7,48, 8,13 [162]), és az átfedő deprotonálódási folyamatok miatt nehéz megítélni, hogy valóban alkalmas-e ilyen célú segédligandumnak. Így a vegyes ligandumú komplexek tervezett szintézise előtt a zoledronsav esetében is megvizsgáltuk a kétféle választott pH-n a koordinációjának a mértékét (44. ábra). A ^1H NMR méréseink alapján zoledronsav igen jelentős mértékű disszociációját (30-73%) tapasztaltunk pH = 6-on a fiziológias pH-n mérthez képest, ami messze felülmúlja a többi ligandumnál kapott értékeket. Az ekonazol gombaellenes szer, melynek rákellenes hatása is ismert, mivel apoptózist okoz rákos sejtekben [182], így vegyes ligandumú komplexeinek szintézisét szintén terveztük. A jósolt $\text{p}K_a$ értéke 6,48 [162], azaz valószínűleg alkalmas jelölt lehet,

azonban rossz vízoldhatósága miatt nem végeztük el az NMR spektroszkópiás vizsgálatot.

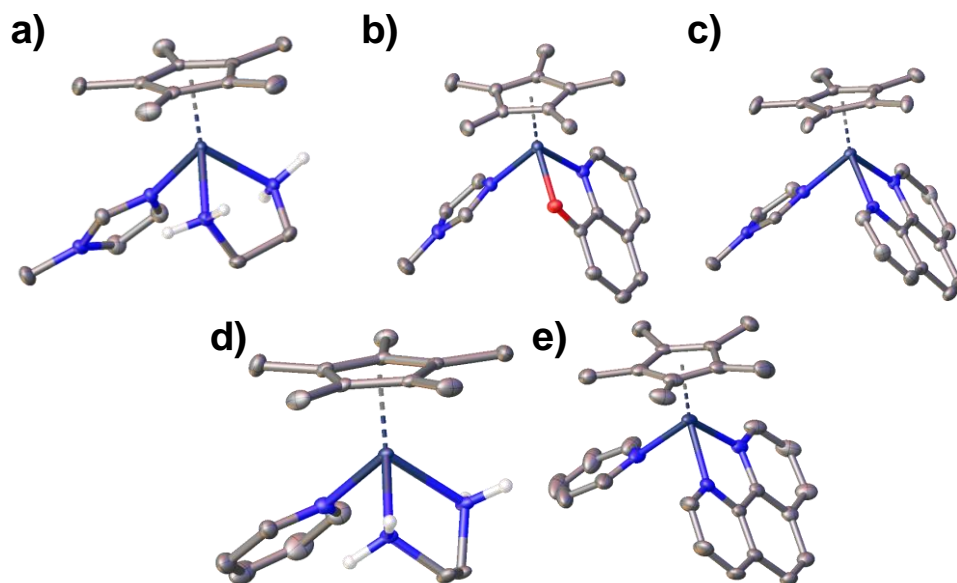
Célunk volt, hogy egyensúlyi állandókat határozzunk meg vegyes ligandumú komplexek képződésére vonatkozóan a fenti eredmények alapján kiválasztott heterociklusos pyr, bim és mim segédligandumokkal UV-vis spektrofotometriás módszerrel. Megvizsgáltuk a Ru(Cym)-komplexek és a segédligandumok közötti reakciók időfüggését is, és a Rh(C₅Me₅)-komplexekhez képest hosszabb idő volt szükséges a kémiai egyensúly eléréséhez az adott körülmények között (pl. [Ru(Cym)(8HQH₁)(mim)]⁺: ~40 perc). Így az összes rendszernél a 24 óra várakozási időt használtunk a UV-vis spektrumok felvétele előtt. Egyedi mintákat készítettünk, melyekben a Ru(Cym)-, ill. Rh(C₅Me₅)-komplexek koncentrációja állandó volt (200 μM) és a segédligandum koncentrációját változtattuk a 10 μM–1 mM tartományban, 0,10 M KCl ionerősség mellett. Ha nem volt jól mérhető változás az UV-vis spektrumokban, akkor ¹H NMR spektroszkópiás méréseket végeztünk (pl. a [Ru(Cym)(phen)(pyr)]²⁺ esetében). A spektrális változások alapján meghatározott egyensúlyi állandókat a 10. táblázat tartalmazza. Több esetben mindkét pH-n (6,0 és 7,4) is elvégeztük a méréseket, melyek eredményei jó egyezést adtak egymással. A 0,10 M kloridion jelenlétében meghatároztuk a törzskomplexekben koordinált vízmolekulák deprotonálódását jellemző pK_a értékeket is spektrofotometriás titrálásokkal (10. táblázat), melyek alapján elmondhatjuk, hogy vegyes hidroxido komplexek képződésével nem kell számolnunk ezen komplexeknél fiziológiás pH-n. Megjegyzendő, hogy Ru(Cym)-komplexek esetén nem minden esetben volt látható a vegyes ligandumú komplex képződése. Emellett a kétfogú ligandum alapján a lépcsőzetes állandók a 8HQ > phen ~ en sorrendet követik.

10. táblázat: A kétfogú ligandumok félszendvics komplexeiben a koordinált vízmolekula savi disszociációs állandója (pK_a), a vegyes ligandumú komplexeinek képződését jellemző lépcsőzetes stabilitási állandók ($K[M(\text{arén})(N,X)(N)]$), ill. a vegyeskomplex aránya 1:1 komplex-egyfogú ligandum arányánál, 1 mM és 100 μM koncentrációknál, pH = 6,0 és 7,4 értékeken. { $I = 0,10 \text{ M KCl}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$; várakozási idő: 24 h}

fémkomplex	lig	lgK	% 1 mM pH = 6,0→7,4	% 100 μM pH = 6,0→7,4
[Rh(C ₅ Me ₅)(en)(H ₂ O)] ²⁺ (10,63(1))	pyr	2,6(1) ^a	21→23	3→4
	mim	4,2(1) ^b	40→74	9→39
	bim	3,3(2) ^b	46→50	12→15
[Rh(C ₅ Me ₅)(phen)(H ₂ O)] ²⁺ (10,05(1))	pyr	3,0(1) ^b	35→38	7→8
	mim	4,7(2) ^b	59→84	21→58
	bim	3,4(1) ^b	50→54	15→17
[Rh(C ₅ Me ₅)(8HQH ₁)(H ₂ O)] ²⁺ (10,62(1))	pyr	4,1(1) ^b	74→76	39→42
	mim	5,5(1) ^b	81→94	51→81
	bim	4,9(2) ^b	89→90	68→71
[Ru(Cym)(en)(H ₂ O)] ²⁺ (9,03(5))	pyr	nincs kh. ^{a,b}	-	-
	mim	nincs kh. ^{a,b}	-	-
	bim	3,5(1) ^b	54→57	17→20
[Ru(Cym)(phen)(H ₂ O)] ²⁺ (8,91(1))	pyr	1,6(2) ^a	3→4	< 1%
	mim	nincs kh. ^{a,b}	-	-
	bim	2,9(1) ^a	30→34	6→7
[Ru(Cym)(8HQH ₁)(H ₂ O)] ²⁺ (9,31(1))	pyr	4,3(2) ^b	79→80	47→50
	mim	6,7(2) ^b	95→99	85→95
	bim	5,6(2) ^b	95→96	84→86

a: ¹H NMR spektrumokból számolva; b: UV-vis spektrumokból számolva

A pH mellett a koncentráció is igen fontos a disszociáció mértékének szempontjából. Ezért a meghatározott egyensúlyi állandók alapján kiszámítottuk kétféle pH-n és koncentráció (1 mM és 100 μM) mellett a vegyes ligandumú komplexek képződésének mértékét (10. táblázat). Általánosan elmondható, hogy minden rendszerben a pH és a koncentráció csökkenésével csökken a segédligandum kötött mennyisége, de mértéke nagy különbségeket mutat. A legnagyobb eltérést a kétféle pH-n kapott értékek között a Rh(C₅Me₅)-komplexek esetében, azokon belül az 1-metil-imidazollal képzett vegyes ligandumú komplexekre kaptunk, a pyr és bim ligandumokkal jóval kisebb az eltérés. Ennek megfelelően a továbbiakban elsősorban a Rh(C₅Me₅)-komplexek, ill. azok 1-metil-imidazollal képzett vegyes ligandumú komplexeinek szilárd fázisú előállítására törekedtünk.



45. ábra: a) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{mim})](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$, b) a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(8\text{HQH}_{.1})(\text{mim})](\text{BPh}_4) \times \text{CH}_3\text{OH}$ és c) a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{mim})](\text{BPh}_4)_2 \times 2 \text{CH}_2\text{Cl}_2$ d) a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{pyr})](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ e) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{pyr})](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2 \times 2 \text{CH}_3\text{OH}$ komplexek egykristály röntgendiffrakciós módszerrel meghatározott szerkezete. A termális ellipszoidok 50%-os valószínűséggel jelölik az atomok pozícióit. A hidrogének és az oldószermolekulák a jobb láthatóságért nincsenek ábrázolva.

Előállítottuk és kristályosítottuk a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{mim})]^{2+}$, $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(8\text{HQH}_{.1})(\text{mim})]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{mim})]^{2+}$ komplexet (45. ábra) CF_3SO_3^- és BPh_4^- ellenionokkal. Az imidazol-tartalmú zolodronsav és ekonazol komplexeinek előállítása azonban nem volt sikeres. Bár a piridin és benzimidazol segédligandummal képzett adduktumokat nem találtuk ideálisnak a céljainkhoz, az összehasonlítás érdekében néhány esetben piridinnel is preparáltunk komplexeket ($[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{pyr})]^{2+}$ és $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{pyr})]^{2+}$), melyeket sikerült röntgenkristallográfias analízisre alkalmas formában is előállítanunk (45. ábra). A komplexek a vártak megfelelően tipikus 'zongoraszék' geometriai elrendeződést mutat: a pentahapto koordinációjú arén elfoglal három koordinációs helyet, és a kétfogú ligandum kötődése mellett a koordinációs szférát a mim ill. pyr ligandum telíti.

Ezt követően kétféle pH-n (6 és 7,4) vizsgáltuk a vegyes ligandumú komplexek citotoxikus hatását két, az 4.4.2. fejezetben már bemutatott, humán rákos sejtvonalon (Colo205, Colo320). A biológiai mérésekhez a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})\text{Cl}]^+$ és a mim, ill. pyr segédligandumok ekvimoláris oldatait választottuk. Előzetes vizsgálataink alapján a zolodronsav önmagában nem bizonyult citotoxikusnak a használt rákos sejtvonalakon, így azzal nem végeztünk további méréseket. Helyette az ekonazol és komplexének

rákellenes hatását vizsgáltuk, mely ligandum citotoxicitása kellően nagy volt már önmagában is ($IC_{50} = 10 - 23 \mu M$ között). A mérési eredményeket a 11. táblázatában (ill. a **Függelék** F4-F6. táblázatokban) foglaltuk össze. A kapott eredmények alapján, a vizsgált sejtvonalakon sem a törzskomplex, sem a vegyes ligandumú komplexek nem mutatnak erős citotoxikus hatást, kivéve az ekonazol komplexét, bár az IC_{50} értékek igen hasonlóak a kétféle pH-n. Azonban a mim és pyr vegyes ligandumú komplexe savasabb közegben egyértelműen citotoxikusabb mint fiziológias pH-n.

Ugyanezen vegyes ligandumú $Rh(C_5Me_5)$ -komplexek antibakteriális hatását is teszteltük négyféle baktériumtörzsön (*Staphylococcus aureus* (Gram-pozitív), *Escherichia coli* (Gram-negatív), érzékeny és antibiotikum-rezisztens változatok) négyféle pH-n (5,0, 6,0, 7,0, 8,0). Ezekben a mérésekben a minimális gátló koncentrációt (MIC) határozták meg, ezen értéknél már nem jelennek meg baktériumok a mintában (nem zavarosodik be) egy éjszakás várakozás után. A vizsgált anyagok körét kibővítettük, végeztünk méréseket a zoledronsav és a 8HQ komplexeivel is. A meghatározott IC_{50} értékek és MIC a 11. táblázatban láthatók azoknál a vegyületeknél, melyeknél savas aktiválódás látható. A **Függelék** F4-F6. táblázataiban található meg az összes adat.

11. táblázat: A $[Rh(C_5Me_5)(phen)Cl]^+$ komplex (C-vel jelölve), az egyfogú ligandumok és vegyeskomplexeik rákellenes hatása Colo320 vastagbélrák sejteken (IC_{50} , μM), ill. antimikrobiális hatásuk Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumtörzseken (MIC, μM). Szürkével kiemelve a savas aktiválódásra utaló eredmények.

pH =	Colo320		<i>S. aureus</i> (rez.)		<i>E. coli</i> (érz.)		<i>E. coli</i> (rez.)	
	6	7,4	6	7	6	7	6	7
econ	10 ± 2	11,4 ± 0,4	12,5	6,25	> 100	> 100	> 100	> 100
mim	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
pyr	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
C	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
C+econ	14 ± 1	13 ± 2	12,5	3,125	25	50	50	100
C+mim	72 ± 3	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
C+pyr	84 ± 4	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100

Sem a $Rh(C_5Me_5)$ törzskomplexek, sem azok mim és pyr vegyes ligandumú komplexei nem mutattak mérhető antibakteriális hatást egyik baktériumnál sem. Az ekonazol antibakteriális hatása régóta ismert [181], a vizsgált Gram-pozitív

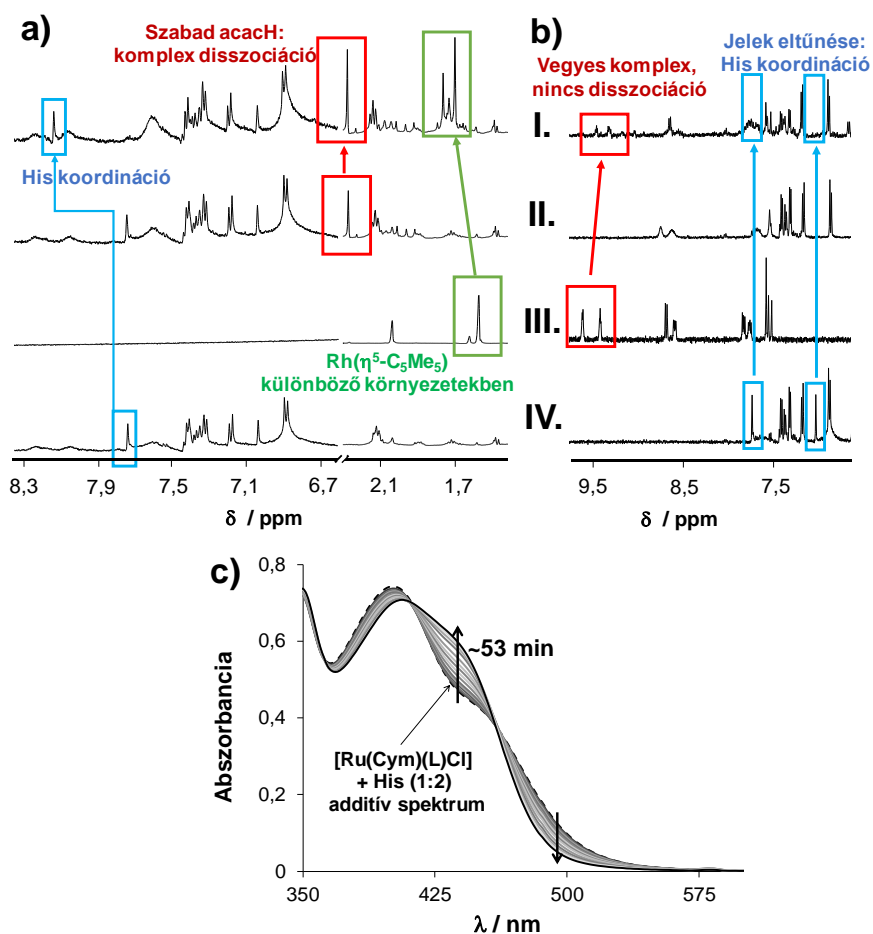
baktériumokon mért MIC értékek a pH emelésével váltak egyre kisebbé, és hasonlóan viselkedett a phen-t tartalmazó vegyes komplexe is. Ugyanakkor a Gram-negatív baktériumoknál csak a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{econ})]^{2+}$ komplex mutatott antibakteriális hatást, és a pH csökkentésével vált aktívabbá az érzékeny és a rezisztens törzseken egyaránt.

5.5.2. Választott félszendvics komplexek kölcsönhatása HSA-nal és DNS-sel

A félszendvics fémorganikus komplexek az emberi szervezet vizeitereibe kerülve kölcsönhatásba léphetnek az oldószerrel és a különböző jelenlévő endogén ligandumokkal, ahogy ezt már az irodalmi áttekintésben is bemutattam. Az előző fejezetekben részletezett oldatkémiai folyamatok egyértelműen lejátszódhatnak, ilyen az eredetileg koordinált klorido ligandum vízre történő cseréje, a koordinált víz deprotonálódása, vagy kisebb oldatbeli stabilitás esetén a komplex disszociációja. Ezek a folyamatok megváltoztatják a komplex szilárd formában jellemzett szerkezetét, ezért fontos tudnunk, hogy mely forma a domináns, amely kölcsönhat a biomolekulákkal.

A fémkomplexek a citotoxicitási vizsgálatok során először a sejtek tenyésztéséhez használt médium (pl. EMEM, DMEM és RPMI 1640) komponenseivel találkoznak. Ezekben szervesen sók, aminosavak, vitaminok, cukor és a pH-t biztosító puffer található, eltérő koncentrációban. Számos komplex stabilitását vizsgáltuk médiumokban UV-vis és ^1H NMR spektroszkópiás módszerekkel. A kisebb stabilitású (O,O) donoratomokat tartalmazó acac-komplexek esetén egyértelműen disszociált a komplex, mivel a ^1H NMR spektrumokon a szabad ligandum és fémorganikus kation különböző kötött formáinak jelei jelentek meg (46.a ábra), azaz a médium komponensei (és a hozzáadott borjúsavó komponensei) kiszorítják komplexéből az eredeti ligandumot. A nagy stabilitású oligopiridil, (N,N) kétfogú ligandumok komplexeinél egy gyors reakció játszódott le (< 5 h), ezután nem láttunk a ^1H NMR spektrumokon jelentős változást az egy hetes vizsgálat alatt. A szintén nagy stabilitású (N,O) donor HQCl-Pro ligandum komplexeinél is változásokat detektáltunk. A Ru(Cym)-komplexe például nem disszociál, valószínűleg vegyes ligandumú komplexet képez a hisztidinnel (46.b ábra), amire a hisztidinhez tartozó szinglettek jeleinek az eltolódásása alapján következtettünk. A hisztidin koordinációját spektrofotometriás mérésekkel is bizonyítottuk RPMI 1640 médiumban (46.c ábra). Fontos megjegyezni, hogy a médiumokban egyik vizsgált Ru(arén) komplex $[\text{Ru}(\text{Cym}/\text{Tol})(\text{acac})\text{Cl}]$ $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{HQCl-ProH}_1)\text{Cl}]$,

$[\text{Ru}(\text{Cym}/\text{Tol})(\text{neo})\text{Cl}]^+$ és $[\text{Ru}(\text{Cym}/\text{Tol})(\text{phen})\text{Cl}]^+$ esetén sem detekáltuk az arén ligandum disszociációját.

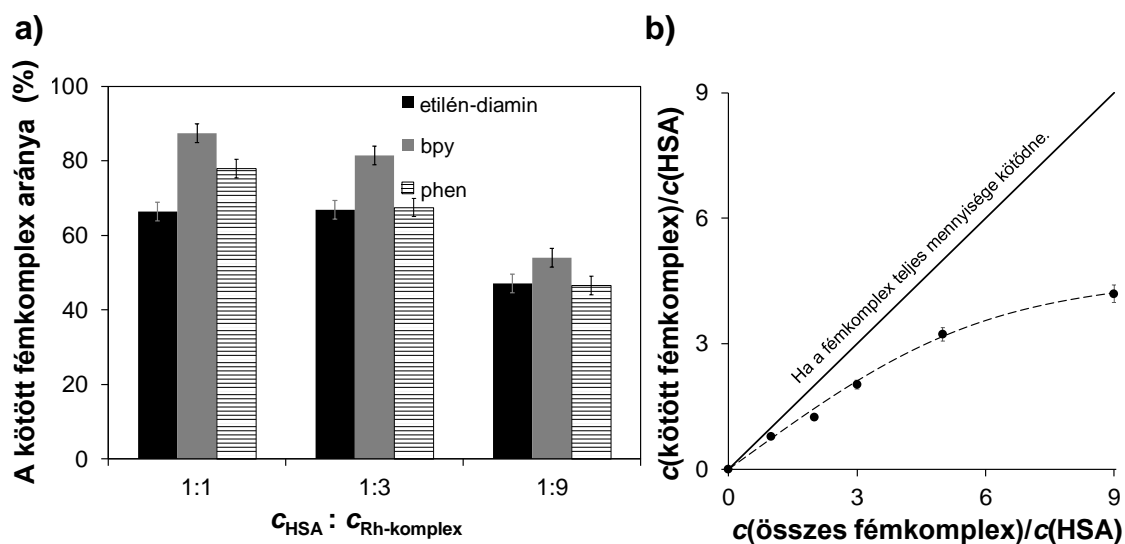


46. ábra: A a) $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]^+$ és a b) $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{HQCl-ProH}_1)(\text{H}_2\text{O})]^+$ reakciója rákos sejtek tápközegével (RPMI 1640 médium, a) esetben 10% borjúsavóval kiegészítve). Spektrumok: **I.** $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+$ a médiumban (L = acac vagy HQCl-ProH₁); **II.** ligandum a médiumban; **III.** $[\text{M}(\text{arén})(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^+$ PBS* pufferben; **IV.** médium. c) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(\text{HQCl-ProH}_1)(\text{H}_2\text{O})]^+$ időfüggő spektrumai 2 ekvivalens hisztidin jelenlétében. $\{c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]^+) = 1 \text{ mM}; c([\text{Ru}(\text{Cym})(\text{HQCl-ProH}_1)(\text{H}_2\text{O})]^+) = 100 \text{ }\mu\text{M}$ (b) és $200 \text{ }\mu\text{M}$ (c); pH = 7,40 (médium és PBS*); 10 % D₂O (a és b); $\ell = 1 \text{ cm}$ (c); $T = 25,0^\circ\text{C}$

A gyógyszermolekulák jelentős része közvetlenül vagy közvetetten bekerül a szisztémás vérkeringésbe, és ott kölcsönhatásba lép(het)nek a legfontosabb szállítófehérjével, a HSA-nal. A HSA, ahogyan az 2.4. fejezetben is részleteztem, többféle típusú (másodlagos, koordinációs) módon is képes kölcsönhatásba lépni a fémkomplexekkel. A kölcsönhatás jellegétől, a fémkomplex oldhatóságától és spektroszkópiai tulajdonságától függően többféle módszerrel is lehet a kötődés kinetikáját, mértékét és helyét jellemezni. A Trp214 kioltásán alapuló mérések alapján

az $[M(\text{arén})(\text{acac})(\text{H}_2\text{O})]^+$ komplex disszociatív kötéseire utal, hogy a komplexek hozzáadására a fluorimetriás intenzitás változása gyakorlatilag megegyezett a fémorganikus kationnal való titrálásnál tapasztaltakkal [37,88]. A fémkomplex disszociációja után a fémorganikus kation hat kölcsön a fehérjével. Ezzel szemben pl. a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexnél minimális intenzitásváltozást kaptunk, ami alapján ezen a kötőhelyen nincs kölcsönhatás a fehérjével, és nem történik komplex disszociáció.

Az $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{N,N})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexek ((N,N) = etilén-diamin, phen és bpy) globális megkötődéséről és az elérhető kötőhelyek számáról ultraszűrés/UV-vis módszerrel nyertünk információt [184]. Adott idejű inkubálás után a fehérjét és fémkomplexeket eltérő arányban tartalmazó mintákat ultraszűrtük, amivel a nagy molekulatömegű részt elválasztottuk a kis molekulatömegű résztől. A spektrumok elemzése azt is mutatta, hogy ezen nagy stabilitású komplexek fehérjén való megkötődése során sem az arényűrű, sem a kétfogú ligandum nem szorítódik ki a koordinációs szférából. A kötött fémkomplexek arányát mutatja a 47. ábra, ami alapján biztosan több mint egy (akár öt ekvivalens) fémkomplex kötődik meg egy fehérje molekulán. A kísérleti adatokból kötési állandókat nem számoltunk.

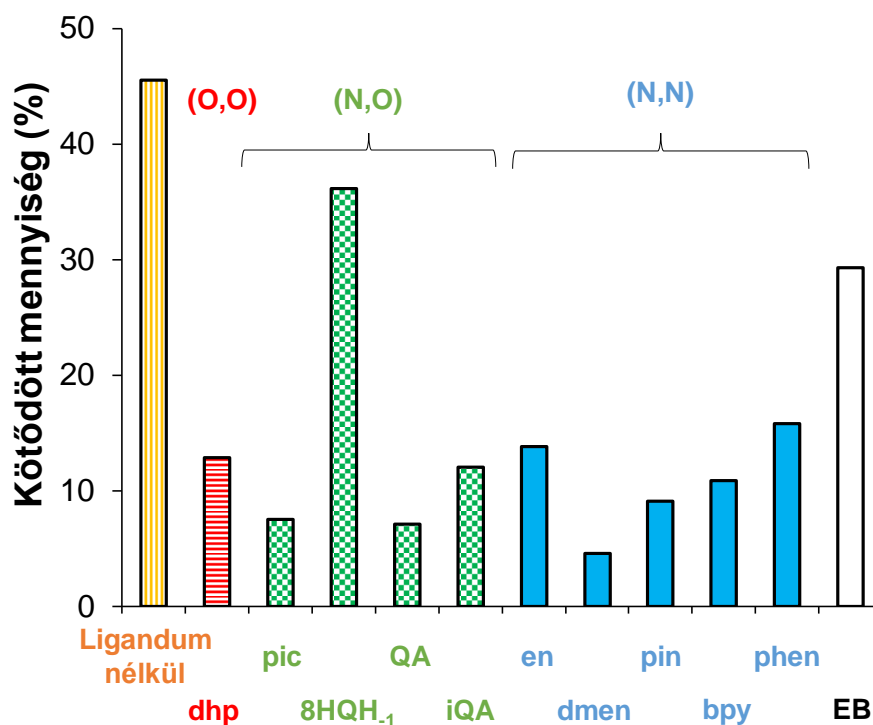


47. ábra: a) A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplex HSA-hoz való kötődése különböző arányoknál, ultraszűrés/UV-vis módszerrel meghatározva és összehasonlítva a már publikált etilén-diamin és bpy-komplexek kötődésével [37]. b) Öt különböző HSA:fémkomplex arányánál mért kötődés mértéke ultraszűrés/UV-vis módszerrel meghatározva. $\{c(\text{HSA}) = 50 \mu\text{M}; c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}) = 50\text{-}450 \mu\text{M}; T = 25,0^\circ\text{C}; \text{pH} = 7,40 (\text{PBS}^*)\}$

Szakirodalmi adatok [112], ill. korábbi munkámban kötőhely-modell kis molekulákkal végzett mérések alapján [37] a fehérjén a hisztidin nitrogénekhez való kötődés a legvalószínűbb.

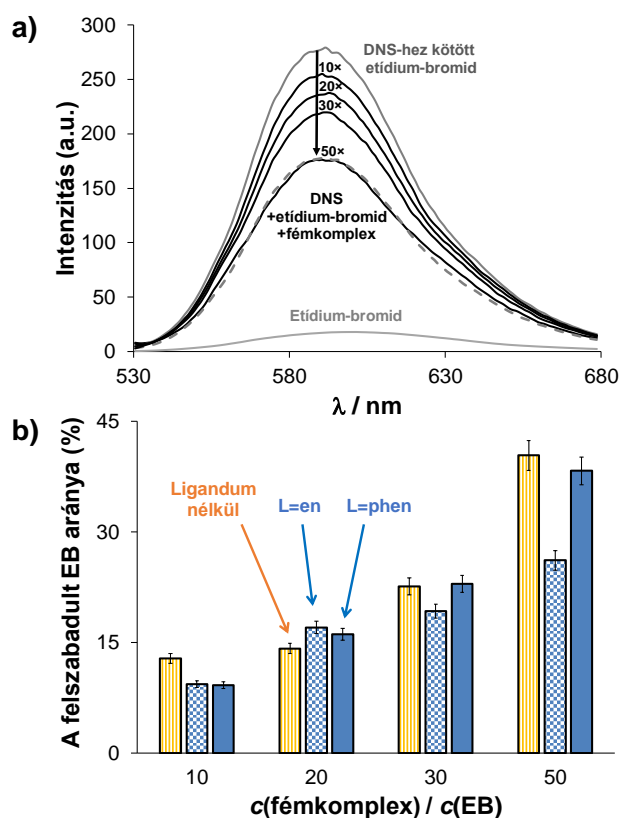
A DNS-t számos rákellenes fémkomplex célmolekulájának tartják, ami a ciszplatin hatásmechanizmusából ered [8]. Az általunk vizsgált fémkomplexek hatásmechanizmusa nem ismert, bár általában fehérje támadásközpontot valószínűsítenek ilyen típusú komplexre, de a DNS-sel való kölcsönhatás sem zárható ki. A DNS-en többféle típusú kötődés lehetséges, melyet a fémion hard-szoft jellege és a komplexek mérete, alakja is befolyásol. A dolgozatban vizsgált komplexek fémionjai *borderline* karakterűek, azaz a kölcsönhatás nagy valószínűséggel a nukleobázisokkal képzelhető el, a DNS vázát alkotó foszfodiészter-lánchoz való kötődésre kisebb a valószínűség (kivéve az etilén-diamin komplexeit, ld. 5.3.1. fejezet). A DNS-kötődés mértékének megállapításához itt is ultraszűrést alkalmaztunk. A különböző ligandumok hatásának vizsgálatához különböző $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexeit választottunk ki. (O,O), (N,O) és (N,N) donoratomokat tartalmazó ligandumokra esett a választás a mérésorozathoz. (Ezek komplexei közül a deferipron, a 2-pikolinsav, a 8-hidroxi-kinolin, a kinaldinsav, az 3-izokinolin-karbonsav és az etilén-diamin komplexeit kutatócsoportunkban korábban előállították és jellemezték oldatkémiai viselkedésüket [37,67,89,97].)

A 48. ábrán látható az 1:1 DNS-nukleobázis:fémkomplex aránynál mért kötődés mértéke egy nap inkubációs idő után. Referenciavegyületnek az etídium-bromidot választottuk, mely interkalációval kötődik a DNS-hez. Jól látható, hogy a ligandum nélküli fémorganikus kation $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ kötődik a legnagyobb mértékben, a komplexek közül pedig a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(8\text{HQH}_1)(\text{H}_2\text{O})]^+$. Ezt az (N,O)₂-pikolinát és (N,N) donor ligandumok komplexei követik. Bár ezek a komplexek hasonló mértékben kötődnek, a citotoxicitási eredményeik teljesen mást mutattak. Érdekeség, hogy a citotoxikus $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ és a nem toxikus $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{en})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ [37] ugyanolyan arányban reagál DNS-sel. A legkisebb mértékben a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{dmen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ kötődik, valószínűleg a dmen-en levő metilcsoportok sztérikusan gátolják a kötődést.



48. ábra: A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$, az etídium-bromid (EB) és a $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]$ komplexek DNS-hez való kötődése 1:1 fémkomplex:nukleobázis aránynál, ultraszűrés/UV-vis módszerrel meghatározva a nem kötött mennyiséget. Rövidítések: QA = kinaldinsav; iQA = 3-izokinolin-karbonsav; EB = etídium-bromid. $\{c(\text{DNS}) = c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}) = 100 \mu\text{M}; T = 37,0^\circ\text{C}; \text{pH} = 7,40 (20 \text{ mM foszfát})\}$

A phen és etilén-diamin $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ -komplexeinek kötődését spektrofluorimetriás módszerrel is követtük, etídium-bromid kompetíciót alkalmazva. Ennél a módszernél azt használjuk ki, hogy az etídium-bromid fluoreszcens intenzitása jelentősen megnő, amikor a DNS nukleobázisai közé kötődik, mint ezt a 49.a ábrán bemutatott saját méréseink is bizonyítják. Ezen körülmények között sem a komplexek, sem a DNS nem fluoreszcens. A fémkomplexek hozzáadásakor a fluoreszcencia intenzitás lecsökkent (49.a ábra), ami a fémkomplex és a DNS kölcsönhatására utal. Ebből a módszerekből azonban nem lehet megmondani, hogy valóban felszabadul az etídium-bromid, vagy a koordinálódott fémkomplex kioltja a kötött marker jelét, ahogy ezt a korábbiakban a HSA Trp214 esetében is láttuk. Ennek eldöntésére ultraszűrést végeztünk, ahol a DNS-etídium-bromid rendszerhez fémkomplext adtunk. A szűrletben az etídium-bromid elnyelési spektrumának vállát lehetett látni, ami bizonyította az etídium-bromid felszabadulását.

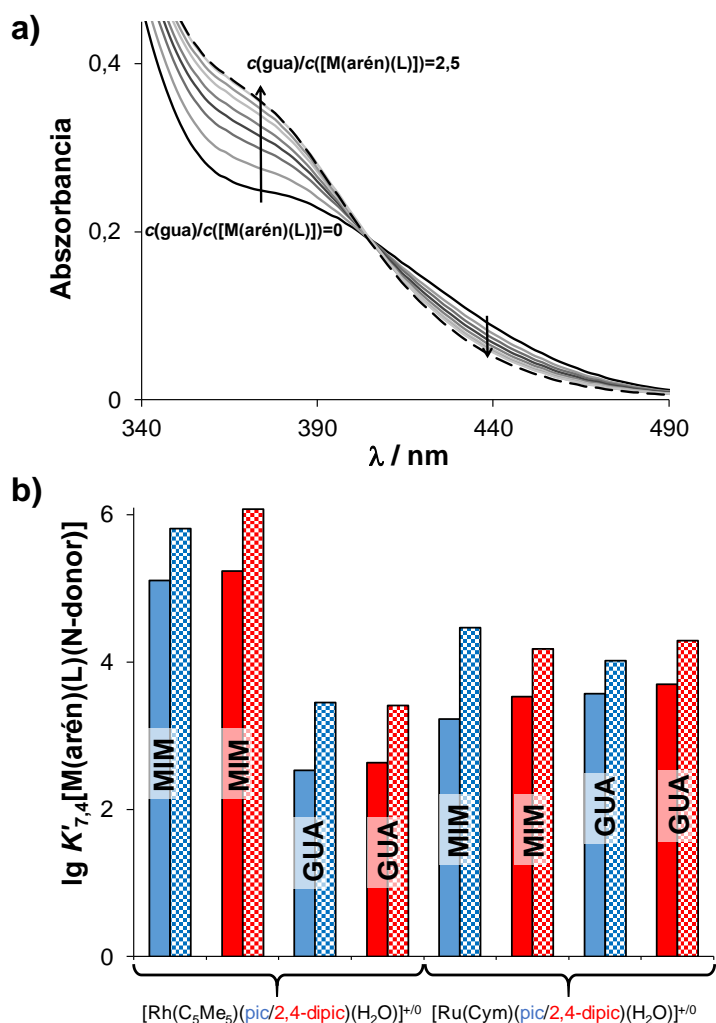


49. ábra: A Rh-tartalmú fémkomplexek és a fémorganikus kation etídium-bromid kiszorítása a DNS-en. a) Az etídium-bromid szabad és DNS-ben kötött formájának emissziós spektruma, ill. az $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ komplexet különböző arányban tartalmazó minták és az 50× feleslegben lévő minta illesztett spektruma (szaggatott vonal). b) A felszabadult etídium-bromid aránya a fémkomplex feleslegének függvényében, a két fémkomplex és a ligandum nélküli kation esetén. $\{c(\text{EB}) = 5 \mu\text{M}; c(\text{DNS}) = 20 \mu\text{M}; c([\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{L})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}) = 50\text{--}250 \mu\text{M}; \lambda_{\text{EX}} = 510 \text{ nm}; \text{pH} = 7,40 \text{ (20 mM foszfát és 4 mM KCl)}; T = 25,0^\circ\text{C}; \ell = 1,0 \text{ cm}\}$

Így a DNS-etídium-bromid-fémkomplex rendszereket tartalmazó minták fluoreszcencia spektrumait fel lehetett bontani a szabad és kötött etídium-bromid spektrumára, megkapva így azok móltörtjeit. Ebből azonban nem következik egyértelműen, hogy a szabad etídium-bromid mennyisége megegyezik a bekötött fémkomplex mennyiségével, mivel kötési módjuk nagy valószínűséggel eltér (interkaláció a koordinációval szemben). A $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ interkalálódása a phen ligandumon keresztül elképzelhető lehetne, azonban korábbi viszkozitás- és olvadáspont-mérések ezt kizárták [27,144]. Valószínűbb, hogy a fémkomplex koordinatív kötődésekor a DNS másodlagos szerkezete feszültebbé válik és torzul, az interkalációra kevésbé alkalmas térszerkezet alakul ki, melynek eredménye az etídium-bromid egy részének felszabadulása.

Az irodalmi áttekintés alapján nagy guanin-szelektivitás tapasztalható a fémkomplexek egy jelentős részénél, míg mások mindkét purinbázishoz kötődnek, közel azonos mértékben [84,86,106]. Mi is e két purinbázis nukleozidjait vizsgáltuk ^1H NMR spektroszkópián. A felvett ^1H NMR spektrumok elemzése azt mutatta, hogy a fémorganikus kation mindkét nukleoziddal közel azonos mértékben (~28%) képez komplexet, ráadásul az adenzin esetében kétféle mágneses környezetbe kerül a kötött C_5Me_5 ligandum. Ezzel szemben a fémkomplexek szelektíven csak a guanozinnal hatnak kölcsön (phen: 35%, etilén-diamin: 72%), míg az adenzinnal nincs nyoma vegyes ligandumú komplex képződésének.

Egy összehasonlító mérési sorozat keretében a picH és 2,4-dipicH₂ félszendvics Rh(C_5Me_5)- és Ru(Cym)-komplexeinek megvizsgáltuk, mely modellhez kötődnek jobban: a hisztidint (és fehérjét) modellező 1-metil-imidazolhoz vagy a DNS-t modellező guanozinhoz. Itt a komplex eltérő töltésének hatását is szeretnénk volna vizsgálni, mivel a 2,4-dipic ligandumon egy extra karboxilátcsoport van a 2-pikolináthoz képest, és a mim fiziológiás pH-n ~30%-ban protonált formában van jelen, míg a guanozin semleges töltésű. Azonban fontos megemlíteni, hogy ez természetesen csak egy egyszerűsített modell, mivel a DNS-nek negatív töltésű foszfodiészter lánc van, mely befolyásolhatja a valós kötődést. A közeg kloridion koncentrációját is változtattuk: a 0 mM-os koncentráció az akvakomplexek reaktivitását mutatja, míg a 100 mM a szérum koncentrációjához hasonló közeget biztosítja [107]. A guanozin esetén 4 mM Cl⁻ koncentrációt is alkalmaztunk, mely a sejtmagban levő körülménynek felel meg [107]. Spektrofotometriás és ^1H NMR méréseink során egyedi mintákat készítettünk, melyekben a modell ligandum koncentrációját változtattuk állandó fémkomplex koncentráció mellett. Az egyensúly beállta jelentősen eltért, mivel Rh(C_5Me_5)-komplexeik esetén percek alatt beállt az egyensúly, míg Ru(Cym)-komplexeiknél ehhez 5–8 óra is szükséges volt. Az 50.a ábrán bemutatott példa alapján is látható, hogy a modell ligandumok koordinációja jelentős spektrális változással járt, melyből látszólagos stabilitási állandókat lehetett számolni fiziológiás pH-n. Ezek az 50.b ábrán vannak feltüntetve, két ionerősség mellett. A Rh(C_5Me_5)-komplexeik kölcsönhatása guanozinnal nem járt jelentős fotometriás változással, így ott ^1H NMR spektroszkópiai méréseket végeztünk.



50. ábra: a) A $[\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]$ UV-vis spektruma különböző guanozin koncentrációk mellett, fiziológias pH-n. b) Az $[\text{M}(\text{arén})(\text{pic}/2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]^{+0}$ komplexek vegyeskomplex-képződést jellemző látszólagos stabilitási állandók 7,4-es pH-n. $I = 0,10 \text{ M}$ KCl (teli oszlopok) és $I = 0 \text{ M}$ (kockás oszlopok). $\{c([\text{Ru}(\text{Cym})(2,4\text{-dipic})(\text{H}_2\text{O})]) = 200 \mu\text{M}; c(\text{gua}) = 0\text{--}500 \mu\text{M}; \text{pH} = 7,40 (20 \text{ mM foszfát puffer}); T = 25,0^\circ\text{C}; \ell = 1,0 \text{ cm}\}$

A kapott egyensúlyi állandók összehasonlítása alapján, a kloridion koncentrációjának növelésével csökken a stabilitási állandó, mivel ugyanazért a kötőhelyért versengenek. A $\text{pic} \rightarrow 2,4\text{-dipic}$ cserének nincs nagy hatása az állandókra, azonban a $\text{Ru}(\text{Cym}) \rightarrow \text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ cserének igen. A Rh-komplexeknek mim felé mutatott affinitása nagyobb, mint a guanozin felé, míg a Ru-komplexek közel azonos mértékben kötődnek a két modellhez. Természetesen ezt nem lehet általános érvényű kijelentésnek venni, mivel több példa is mutatta, hogy a Ru-komplexek fehérje- és DNS-affinitása változtatható a ligandumok megfelelő megválasztásával: a PTA és maltol ligandumok komplexei a fehérjével hatnak kölcsön [46,47,111], míg a RAED-

komplexekre a DNS-kötés jellemző [46,111]. A pontos mechanizmus felismeréséhez további biológiai mérések szükségesek a metallomikai és a proteomikai mérések kombinációjával. Elengedhetetlen azonban megismerni a fémkomplexek oldategyensúlyi viselkedését, mivel a jövőbeni vegyületek tervezésében jelentős szerepük van ezen ismereteknek.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A fémkomplexek terápiás felhasználása előtt érdemes részletes oldatkémiai méréseket végezni, mert természetükből eredően farmakokinetikai viselkedésük sokkal bonyolultabb lehet, mint a szerves vegyületeknek. Dolgozatom fő célja rákellenes hatású félszendvics fémkomplexek előállításának és oldatkémiai viselkedésük feltárása volt. Emellett endogén ligandumokkal való kölcsönhatásukat is jellemeztük.

Az (O,O) donoratomokat tartalmazó kétfogú ligandumokként viselkedő természetes eredetű 2-hidroxi-1,4-naftokinon ligandumok rákellenes hatása felerősödik a félszendvics fémorganikus Ru(II) kationok jelenlétében. A citotoxikus aktivitás javítását szerettük volna elérni a [Ru(Cym)(phth)Cl] komplex módosításával. Sem a fémion cseréje, sem a *p*-cimol → toluol csere, ill. a fiokol cseréje lawsonra sem eredményezett javulást. A meghatározott stabilitási állandók kis komplex stabilitást jeleznek. Fiziológias pH-n a Ru(arén)-tartalmú komplexek teljes mértékben disszociálnak, míg a [Rh(C₅Me₅)(phth)(H₂O)]⁺ komplexből van a legtöbb azonos körülmények között. Megállapítottuk, hogy ezen naftokinonok esetében a citotoxicitás ellentétes a képződött komplex arányával, azaz a hatásmechanizmus nem a komplexhez köthető.

A természetben előforduló β -diketon kurkumin citotoxicitása Colo320 sejteken nem változott a [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺ kation jelenlétében, azonban a [Ru(arén)(H₂O)₃]²⁺ kationok csökkentették hatásosságát. A [Rh(C₅Me₅)(curcH₂)(H₂O)]⁺ komplex stabilitási szorzatát spektrofotometriásan (5% etanol) meg tudtuk határozni, azonban a Ru(arén)-komplexek kicsapódtak az oldatból ilyen körülmények között. Összehasonlítás céljából a jól oldódó acetyl-acetone választottuk, mely a koncentrációeloszlási görbék és a szerkezetek alapján a kurkumin jó modelljének bizonyult. A Rh(C₅Me₅)-komplex kisebb stabilitási állandója ellenére pH = 7,4-en 100%-ban jelen van az oldatban 1 mM koncentrációban, míg azonos körülmények között a Ru(arén)-komplexek egy része disszociál. A szakirodalomban közölt maltol és deferipron ligandumokhoz képest a naftokinonok és β -diketonok kisebb stabilitású komplexeket képeznek.

Az (N,O) donor kétfogú ligandumok két típusával foglalkoztunk. A 2-pikolinátok közül a 2,4-dipikolinsav, míg a 8-hidroxi-kinolinok közül egy prolinnal alkotott hibrid (HQCl-Pro) komplexképző tulajdonságait vizsgáltuk. A 2,4-dipikolinát komplexeinek szerkezeteit meghatározta partnerünk röntgenkristallográfiásan, és a [Ru(Tol)(2,4-

dipic)]₃ hárommagvú komplex szerkezete bebizonyította, hogy a ligandum képes hidligandumként viselkedni, azonban ez a szerkezet valószínűleg vizes oldatban nem jön létre. A HQCl-Pro komplexeinek ¹³C NMR spektrumai alapján két izomer jelenlétére utaló jeleket találtunk, mely valószínűsíti a hidrogénkötés jelenlétét a koordinált fenolátcsoport és a protonált aminocsoport között.

A szakirodalomból ismert volt, hogy a 2-pikolinát komplexeinek rákellenes hatását megszünteti az extra töltést hordozó karboxilátcsoport jelenléte. A 8-hidroxi-kinolin esetében azonban ikerionos részt építettünk be, így a kiindulási ligandum komplexeihez képest nem változtatja meg a komplex összetöltését széles pH-tartományban. *In vitro* sejtes vizsgálatokból kiderült, hogy az oldhatóság javulásával nem veszítjük el a rákellenes aktivitást, ráadásul a doxorubicin-rezisztens Colo320 sejteken nagyobb citotoxicitás volt mérhető, mint az érzékeny Colo205 sejteken. Félszendvics Ru(arén)-kationokkal kombinálva azonban nagymértékben csökkent a rákellenes hatás.

Az újonnan előállított HQCl-Pro vegyületet jellemeztük, protonálódási folyamatai alapján elmondható, hogy a kinolínium nitrogén és a fenolos hidroxilcsoport pK_a értékei is jelentősen kisebbek a 8-hidroxi-kinolinhoz képest. A komplexképződés mindkét (N,O) donor esetén lassabb az (O,O) donor ligandumokhoz viszonyítva. A víz lecserélődését halogenidionokra a víz–halogenidion csereállandóval jellemeztük, melyet meghatároztunk klorid- és bromidionokra. Bemutattuk, hogy ezekre az egyensúlyi állandókra hatással van a 4. pozícióban jelen lévő, többlet negatív töltést hordozó karboxilátcsoport: a 2,4-dipikolinát komplexek rendre kisebb halogenidion-affinitással rendelkeznek, mint a 2-pikolinát komplexei. A komplexek stabilitása nagy, azonban mind a 2,4-dipikolinát, mind a HQCl-Pro esetén mérhető volt az arén ligandum disszociációja ligandumfelesleg hatására, mely reakció sebessége pH-függést mutatott. A feleslegben levő kétfogú ligandum minősége (donoratomok típusa, flexibilitás, felesleg mértéke) is nagyban befolyásolta a lejátszódó reakciót. Ennek a reakciónak valószínűleg szerepe van a Ru(arén)-komplexek kisebb citotoxicitásában.

Az (N,N) donor etilén-diamin és származékai lassabban reagálnak a félszendvics akvakationokkal, mint az (O,O), (N,O) vagy a polipiridin (N,N) donor kétfogú ligandumok. ¹H NMR spektroszkópiás és spektrofotometriás mérések alapján az (N,N) donor ligandumok nagy stabilitású komplexeket képeznek mind a [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺, mind a [Ru(arén)(H₂O)₃]²⁺ kationokkal. Kivételt képeznek azok a ligandumok, melyeknél metilcsoport helyezkedik el a koordinálódó nitrogéneken vagy

azok közelében (tmeda és neokuproin). Ezek szerkezetében több jel utal a C_5Me_5 és a kétfogú ligandum metilcsoportjai közötti szterikus feszültségére. Az arén ligandum disszociációja a polipiridil ligandumok Ru(arén)-komplexeinél is detektálható, ligandum feleslege nélkül. A phen és a dmb citotoxikusabb a MES-SA/Dx5 rezisztens rákos sejtvonalakon, mint a nem rezisztens változat. Ezt a tulajdonságot a Rh(C_5Me_5)-komplexeik is mutatják, azonban a Ru(arén)-komplexek nem.

A dolgozatomban bemutatott és a kutatócsoportunkban korábban vizsgált félszendvics komplexekre meghatározott egyensúlyi állandók alapján összehasonlítottuk, és azt tanulmányoztuk, hogy a komplexek stabilitása, a koordinált víz deprotonálódása és a víz–kloridion csereállandó milyen módon változik a kétfogú ligandumok, ill. a fémorganikus rész cseréjével. A deferipron és (N,O) donor ligandumok Ru(Cym)-komplexe nagyobb stabilitást mutat, mint a Rh(C_5Me_5)-komplex, a többi ligandum esetén fordított sorrendet kaptunk. A $pK_a[M(\text{arén})(L)]$ és a $\lg K'(H_2O/Cl^-)$ állandók esetén egységes sorrend látható: Rh(C_5Me_5) > Ru(Cym) > Ru(Tol), és egy adott ligandum esetében a komplex nagyobb kloridion-affinitása kisebb hidroxidion-affinitással párosul. Ezt alapvetően a fémion–víz kölcsönhatás határozza meg, annak erősségével jól magyarázható ez a látszólagos ellentmondás. A két egyensúlyi állandó között összefüggést mutattunk be multilineáris regresszió alkalmazásával, mely érvényes a Rh(C_5Me_5)-, Ru(Cym)- és Ru(Tol)-komplexekre is. Mivel a Rh(C_5Me_5)-komplexek egy jelentős részének a szerkezete is ismert, ezért csak geometriai paraméterek felhasználásával a víz–kloridion csereállandót megjósolni képes modellt állítottunk fel.

A koordinált víz lecserélődését egyfogú N-donor ligandumokra is vizsgáltuk. A heterociklusos, azok közül is az imidazol nitrogént tartalmazó vegyületek esetén nagy stabilitású vegyes ligandumú komplexeket sikerült előállítani, melyekkel a rákos szövetre jellemző savas pH-n nagyobb arányú disszociáció volt mérhető. A biomolekulák koordinációja is valószínűleg N-donor oldalláncokon/bázisokon keresztül valósul meg, amint azt a modellvegyületekkel való reakciók is bizonyították. Az albumin hisztidin oldalláncai, valamint a DNS guanin bázisai is képesek a vegyes ligandumú komplex képzésére. A 2-pikolinát jellegű ligandumok komplexeire kapott eredményeink alapján a félszendvics Rh-komplexek a fehérjével való kölcsönhatást részesítik előnyben, míg a félszendvics Ru-komplexek hasonló stabilitással kötődnek fehérjéhez és DNS-hez.

7. SUMMARY

Prior to the therapeutic application of metal complexes, it is advisable to perform detailed solution equilibrium studies, since their pharmacokinetic behaviour can be more complicated than that of organic compounds. The main goal of my dissertation was the synthesis of anticancer half-sandwich metal complexes and understanding their solution properties. Moreover, we wanted to investigate and understand their interaction with endogenous bioligands.

The anticancer activity of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinones increases in the presence of half-sandwich organometallic Ru(arene) cations. We tried to achieve higher cytotoxic activity with the modification of the [Ru(Cym)(phth)Cl] complex. No improvement was found in the anticancer activity, neither with the metal centre replacement, nor with the *p*-cymene→toluene or phthiocol→lawsone exchanges. The determined stability constants indicated low stability of the complexes. While at physiological pH all the Ru(arene) complexes are dissociated, the [Rh(C₅Me₅)(phth)(H₂O)]⁺ complex is present in the highest extent. It was concluded that in the case of naphthoquinones the cytotoxicity is in contrast with the amount of complex present in solution.

The cytotoxicity of the naturally occurring β -diketone curcumin showed no change in the presence of [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺ cation; although, [Ru(arene)(H₂O)₃]²⁺ cations decreased it. The overall stability constant of [Rh(C₅Me₅)(curcH₂)(H₂O)]⁺ complex was determined by spectrophotometry (5% ethanol), however, the Ru(arene) complexes precipitated from the solution. For comparative purposes, the water-soluble acetylacetonate was chosen, which is a good model of curcumin based on the concentration distribution curves of the analogous metal complexes. Although, the Rh(C₅Me₅) complex has smaller stability constant, it is present in 100% in solution at pH = 7.4 (*c* = 1 mM), while the Ru(arene) analogues dissociated partly under the same conditions. Compared with the already published maltol and deferipron ligands, naphthoquinones and β -diketonates form complexes of lower stability.

Herein two types of (N,O) donor bidentate ligands were studied. Complexation behaviour of 2,4-dipicolinic acid from the 2-picolinates and from the 8-hydroxyquinolines an amino acid hybrid (HQCl-Pro) was studied. The structures of 2,4-dipicolinate complexes were determined by X-ray crystallography, and the existence of

the trinuclear $[\text{Ru}(\text{Tol})(2,4\text{-dipic})]_3$ proves the bridging ability of this ligand. However, this structure does hardly exist in aqueous solution. Based on the ^{13}C NMR spectra of the HQCl-Pro complexes, two isomers are present, and a hydrogen bond is suggested to be formed between the coordinated phenolate group and the protonated amino group.

It was already known from the literature data that the cytotoxic activity of 2-picolinate complexes decreases when another charged carboxylate functional group is present. In the case of HQCl-Pro, a zwitterionic group is introduced to the 8-hydroxyquinoline molecule which group has 0 net charge in a wide pH range. The improvement of the water solubility did not decrease the cytotoxic effect, moreover, the ligand and its $\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)$ complex showed higher anticancer effect in doxorubicin-resistant Colo320 cancer cells *in vitro* than in the generally sensitive Colo205 cells. The combination with half-sandwich $\text{Ru}(\text{arene})$ cations resulted in decreased cytotoxicity and loss of selectivity.

The solution chemical properties of HQCl-Pro compound was characterized in details. Based on the proton dissociation processes, it can be concluded that the quinolinium nitrogen and the phenolic hydroxyl group have much lower $\text{p}K_a$ values than the reference compound 8-hydroxyquinoline. The complex formation reaction of both (N,O) ligands is slower than in case of the (O,O) donor ligands. Substitution of coordinated water molecule by halide ions is expressed with the water-halide ion exchange constant, which we determined for chloride and bromide ions. We showed that the carboxylate group in position 4 with extra negative charge has an effect on this constant, namely the complexes of 2,4-dipicolinate have smaller halide ion affinity in comparison to the analogous 2-picolinate complexes. The solution stability of these half-sandwich complexes was found to be high; however, a decomposition reaction occurs for both complexes in the presence of excess bidentate ligands. The reaction rate is pH-dependent. The type of the competitive bidentate ligand (donor atoms, flexibility, extent of excess) has a great effect on the reaction. This decomposition process is probably responsible for the diminished cytotoxicity of $\text{Ru}(\text{arene})$ complexes.

The (N,N) donor ethylenediamine and its derivatives react slower with the half-sandwich triaqua cations than with (O,O), (N,O) or oligopyridyl (N,N) donor bidentate ligands. Based on the ^1H NMR spectroscopic and spectrophotometric measurements the complexes of (N,N) donor ligands with $[\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ and $[\text{Ru}(\text{arene})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$ cations show high stability. The only exceptions are the ligands, which have methyl

groups on the coordinating nitrogen atoms or next to them (tmeda, neocuproine). Based on their structures, there are more signs of this steric repulsion, which occurs between the C₅Me₅ and methyl groups of the bidentate ligand. Dissociation of the arene ligand also occurred in the oligopyridyl Ru(arene) complexes without excess of the bidentate ligand. Phen and dmb are more cytotoxic in the doxorubicin-resistant MES-SA/Sx5 cancer cell lines than in the sensitive cells. This paradoxical behaviour is true also for their Rh(C₅Me₅) complexes, while the Ru(arene) complexes do not show this effect.

We compared the half-sandwich complexes reported in this work and in the publications of our research group regarding their various solution equilibrium constants, in order to investigate how the complex stability, coordinated water deprotonation and the water–chloride ion exchange constants are affected by the actual type of the bidentate ligands and organometallic units. Complexes of deferiprone and (N,O) donor ligands with Ru(Cym) showed higher stability than the corresponding Rh(C₅Me₅) complexes. The opposite was found for other ligands. $pK_a[M(\text{arene})(L)]$ and $\log K'(H_2O/Cl^-)$ showed a general trend: Rh(C₅Me₅) > Ru(Cym) > Ru(Tol) in case of the given ligand, so the higher the chloride ion affinity, the less the hydroxide ion affinity. This phenomenon is originated from the metal ion–water interaction, and could be explained by the strength of this bond. Multilinear regression was applied to find a mathematical relationship between $\log K'(H_2O/Cl^-)$ and crystallographic data, which can be used for Rh(C₅Me₅), Ru(Cym) and Ru(Tol) complexes. Due to the higher number of half-sandwich Rh(C₅Me₅) complex structures and constants, we created a model for the prediction of water–chloride ion exchange constant from the geometrical parameters.

We studied the ligand exchange process of coordinated water to monodentate *N*-donor ligands. From the heterocyclic imidazole nitrogen containing compounds, highly stable mixed ligand complexes could be synthesized, which are able to dissociate in the acidic environment of the tumor tissue. Biomolecules are also coordinated through *N*-donor side chains/bases to the organometallic complexes, which was proven by binding site model small molecules. Histidine side chains of albumin and the DNA guanine bases are capable to form mixed ligand complexes. Based on our results for the complexes of the 2-picolinate type ligands, it is suggested that half-sandwich Rh complexes prefer to interact with proteins, while Ru(Cym) complexes bind to protein and DNA with similar affinity.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Kiss T., Gajda T., Gyurcsik B.: Bevezetés a bioszervetlen kémiába, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2007)
- [2] E. J. Anthony, E. M. Bolitho, H. E. Bridgewater, O. W. L. Carter, J. M. Donnelly, C. Imberti, E. C. Lant, F. Lermyte, R. J. Needham, M. Palau, P. J. Sadler, H. Shi, F.-X. Wang, W.-X. Zhang, Z. Zhang, *Chem. Sci.* 11 (2020) 12888–12917.
- [3] D. Pan, A. H. Schmieder, S. A. Wickline, G. M. Lanza, *Tetrahedron* 67 (2011) 8431–8444.
- [4] N. H. Álvarez, D. Bauer, J. Hernández-Gil, J. S. Lewis, *ChemMedChem* 16 (2021) 1–34.
- [5] M. Patra, G. Gasser, *Nat. Rev. Chem.* 1 (2017) nr.: 0066
- [6] A. Frei, J. Zuegg, A. G. Elliott, M. Baker, S. Braese, C. Brown, F. Chen, C. G. Dowson, G. Dujardin, N. Jung, A. P. King, A. M. Mansour, M. Massi, J. Moat, H. A. Mohamed, A. K. Renfrew, P. J. Rutledge, P. J. Sadler, M. H. Todd, C. E. Willans, J. J. Wilson, M. A. Cooper, M. A. T. Blaskovich, *Chem. Sci.* 11 (2020) 2627–2639.
- [7] J. Karges, S. M. Cohen, *ChemBioChem* (2021) nyomtatásban DOI: 10.1002/cbic.202100186
- [8] T. C. Johnstone, K. Suntharalingham, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* 116 (2016) 3436–3486.
- [9] A. Bergamo, P. J. Dyson, G. Sava, *Coord. Chem. Rev.* 360 (2018) 17–33.
- [10] E. Boros, P. J. Dyson, G. Gasser, *Chem* 6 (2020) 1–20.
- [11] A. R. Timerbaev, *Metallomics* 1 (2009) 193–198.
- [12] M. Mathuber, H. Schueffl, O. Dömötör, C. Karnthaler, É. A. Enyedy, P. Heffeter, B. K. Keppler, C. R. Kowol, *Inorg. Chem.* 59 (2020) 17794–17810.
- [13] S. Thota, D. A. Rodrigues, D. C. Crans, E. J. Barreiro, *J. Med. Chem.* 61 (2018) 5805–5821.
- [14] E. Alessio, L. Messori, *Molecules* 24 (2019) nr.: 1995
- [15] T. Kiss, É. A. Enyedy, T. Jakusch, *Coord. Chem. Rev.* 352 (2017) 401–423.
- [16] F. E. Poynton, S. A. Bright, S. Blasco, D. C. Williams, J. M. Kelly, T. Gunnlaugsson, *Chem. Soc. Rev.* 46 (2017) 7706–7756.
- [17] M. Hanif, M. V. Babak, C. G. Hartinger, *Drug Discov. Today* 19 (2014) 1640–1648.
- [18] P. Zhang, H. Huang, *Dalton Trans.* 47 (2018) 14841–14854.
- [19] Z. Liu, P. J. Sadler, *Acc. Chem. Res.* 47 (2014) 1174–1185.
- [20] K. Málíková, L. Masaryk, P. Starha, *Inorganics* 9 (2021) nr.: 26
- [21] R. Oun, Y. E. Moussa, N. J. Wheate, *Dalton Trans.* 47 (2018) 6645–6653.
- [22] J. Nonnekens, J. H. J. Hoeijmakers, *EMBO Mol. Med.* 9 (2017) 4–6.
- [23] M. M. Gottesman, O. Lavi, M. D. Hall, J. P. Gillet, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 56 (2016) 85–102.
- [24] J. S. Fang, R. D. Gillies, R. A. Gatenby, *Sem. Cancer Biol.* 18 (2008) 330–337.
- [25] N. N. Pavlova, C. B. Thompson, *Cell Metab.* 23 (2016) 27–47.
- [26] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, K. Hori, *J. Control. Release* 65 (2000) 271–284.
- [27] Y. Geldmacher, M. Oleszak, W. S. Sheldrick, *Inorg. Chim. Acta* 393 (2012) 84–102.
- [28] J. R. Durig, J. Danneman, W. D. Behnke, E. E. Mercer, *Chem. Biol. Interact.* 13 (1976) 287–294.
- [29] M. Galanski, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, *Curr. Med. Chem.* 12 (2005) 2075–2094.
- [30] S. Liu, Y. Li, X. Wang, J. Ma, L. Zhang, G. Xia, *J. Pharm. Sci.* 105 (2016) 78–87.

- [31] <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04421820> (elérés dátuma: **2021.06.22.**)
- [32] S. Monro, K. L. Colón, H. Yin, J. Roque III, P. Konda, S. Gujar, R. P. Thummel, L. Lilge, C. G. Cameron, S. A. McFarland, *Chem. Rev.* 119 (**2019**) 797–828.
- [33] C. E. Housecroft, A. G. Sharpe: *Inorganic chemistry* (2. kiadás), Pearson Education Limited, Harlow (**2005**) 540. o.
- [34] L. Helm, A. E. Merbach, *Coord. Chem. Rev.* 187 (**1999**) 151–181.
- [35] L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó, *Dalton Trans.* 41 (**2012**) 285–291.
- [36] O. Dömötör, S. Aicher, M. Schmidlehner, M. S. Novak, A. Roller, M. A. Jakupec, W. Kandioller, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, É. A. Enyedy, *J. Inorg. Biochem.* 134 (**2014**) 57–65.
- [37] É. A. Enyedy, J. P. Mészáros, O. Dömötör, C. M. Hackl, A. Roller, B. K. Keppler, W. Kandioller, *J. Inorg. Biochem.* 152 (**2015**) 93–103.
- [38] M. A. Bennett, A. K. Smith, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (**1974**) 233–241.
- [39] P. M. Maitlis, *Acc. Chem. Res.* 11 (**1978**) 301–307.
- [40] Faigl F., Kollár L., Kotschy A., Szepes L.: *Szerves fémvegyületek kémiája*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (**2001**) 47-48. o.
- [41] B. S. Murray, M. V. Babak, C. G. Hartinger, P. J. Dyson, *Coord. Chem. Rev.* 306 (**2016**) 86–114.
- [42] R. Pettinari, F. Condello, F. Marchetti, C. Pettinari, P. Smolenski, T. Riedel, R. Scopelliti, P. J. Dyson, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017 (**2017**) 2905–2910.
- [43] L. Tabrizi, H. Chiniforoshan, *J. Organomet. Chem.* 822 (**2016**) 211–220.
- [44] C. Scolaro, A. Bergamo, L. Brescacin, R. Delfino, M. Cocchietto, G. Laurency, T. J. Geldbach, G. Sava, P. J. Dyson, *J. Med. Chem.* 48 (**2005**) 4161–4171.
- [45] C. S. Allardyce, P. J. Dyson, D. J. Ellis, S. L. Heath, *Chem. Commun.* (**2001**) 1396–1397.
- [46] Z. Adhireksan, G. E. Davey, P. Campomanes, M. Groessl, C. M. Clavel, H. Yu, A. A. Nazarov, C. H. F. Yeo, W. H. Ang, P. Dröge, U. Rothlisberger, P. J. Dyson, C. A. Davey, *Chem. Commun.* 5 (**2014**) nr.: 3462
- [47] M. V. Babak, S. M. Meier, K. V. M. Huber, J. Reynisson, A. A. Legin, M. A. Jakupec, A. Roller, A. Stukalov, M. Gridling, K. L. Bennett, J. Colinge, W. Berger, P. J. Dyson, G. Superti-Furga, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *Chem. Sci.* 6 (**2015**) 2449–2456.
- [48] R. F. S. Lee, A. Chernobrovkin, D. Rutishauer, C. S. Allardyce, D. Hacker, K. Johnsson, R. A. Zubarev, P. J. Dyson, *Sci. Rep.* 7 (**2017**) nr.: 1590
- [49] A. Dorcier, W. H. Ang, S. Bolano, L. Gonsalvi, L. Juillerat-Jeannerat, G. Laurency, M. Peruzzini, A. D. Phillips, F. Zanobini, P. J. Dyson, *Organometallics* 25 (**2006**) 4090–4096.
- [50] S. Bolano, M. Plaza, J. Bravo, J. Castro, M. Peruzzini, L. Gonsalvi, G. Ciancaleoni, A. Macchioni, *Inorg. Chim. Acta* 363 (**2010**) 509–516.
- [51] A. Kurzwernhart, W. Kandioller, C. Bartel, S. Bächler, R. Trondl, G. Mühlgassner, M. A. Jakupec, V. B. Arion, D. Marko, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *Chem. Commun.* 48 (**2012**) 4839–4841.
- [52] M. Malecka, A. Skoczynska, D. M. Goodman, C. G. Hartinger, E. Budzisz, *Coord. Chem. Rev.* 436 (**2021**) nr.: 213849
- [53] A. Kurzwernhart, S. Mokesch, E. Klapproth, M. S. Adib-Ravazi, M. A. Jakupec, C. G. Hartinger, W. Kandioller, B. K. Keppler, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2016 (**2016**) 240–246.
- [54] M. Kubanik, W. Kandioller, K. Kim, R. F. Anderson, E. Klapproth, M. A. Jakupec, A. Roller, T. Söhnel, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *Dalton Trans.* 45 (**2016**) 13091–13103.

- [55] Jeney A., Kralovánszky J.: *Onkofarmakológia*, Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest (2005): 391–392. o.
- [56] A. Petrini, R. Pettinari, F. Marchetti, C. Pettinari, B. Therrien, A. Galindo, R. Scopelliti, T. Riedel, P. J. Dyson, *Inorg. Chem.* 56 (2017) 13600–13612.
- [57] R. A. Sharma, A. J. Gescher, W. P. Steward, *Eur. J. Cancer* 41 (2005) 1955–1968.
- [58] M. S. Hosseini-Zare, M. Sarhadi, M. Zarei, R. Thilagavathi, C. Selvam, *Eur. J. Med. Chem.* 210 (2021) nr.: 113072
- [59] E. Arslan, R. A. Lalancette, I. Bernal, *Struct. Chem.* 28 (2017) 201–212.
- [60] R. Fernández, M. Melchart, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* 10 (2004) 5173–5179.
- [61] A. Habtemariam, M. Melchart, R. Fernández, S. Parsons, I. D. H. Oswald, A. Parkin, F. P. A. Fabbiani, J. E. Davidson, A. Dawson, R. E. Aird, D. I. Jodrell, P. J. Sadler, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 6858–6868.
- [62] L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó, *Dalton Trans.* 39 (2010) 10272–10278.
- [63] C. M. DuChane, L. C. Brown, V. S. Dozier, J. S. Merola, *Organometallics* 37 (2018) 530–538.
- [64] R. Pettinari, F. Marchetti, C. Di Nicola, C. Pettinari, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2018 (2018) 3521–3536.
- [65] J. Markham, J. Liang, A. Levina, R. Mak, B. Johannessen, P. Kappen, C. J. Glover, B. Lai, S. Vogt, P. A. Lay, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017 (2017) 1812–1823.
- [66] A. F. A. Peacock, M. Melchart, R. J. Deeth, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* 13 (2007) 2601–2613.
- [67] É. A. Enyedy, O. Dömötör, C. M. Hackl, A. Roller, M. S. Novak, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, W. Kandioller, *J. Coord. Chem.* 68 (2015) 1583–1601.
- [68] W. Kandioller, A. Kurzwernhart, M. Hanif, S. M. Meier, H. Henke, B. K. Keppler, C. G. Hartinger, *J. Organomet. Chem.* 696 (2011) 999–1010.
- [69] O. Dömötör, É. A. Enyedy, *J. Biol. Inorg. Chem.* 24 (2019) 703–719.
- [70] T. Peters: *All about albumin: biochemistry, genetics and medical applications*, Academic Press, San Diego (1996) 230. o.
- [71] A. R. Timerbaev, C. G. Hartinger, S. S. Aleksenko, B. K. Keppler, *Chem. Rev.* 106 (2006) 2224–2248.
- [72] F. Kratz, *J. Control. Release* 132 (2008) 171–183.
- [73] B. S. Mann, J. R. Johnson, M. H. Cohen, R. Justice, R. Pazdur, *Oncologist* 12 (2007) 1247–1252.
- [74] P. Buglyó, E. Farkas, *Dalton Trans.* (2009) 8063–8070.
- [75] A. J. Godó, A. C. Bényei, B. Duff, D. A. Egan, P. Buglyó, *RSC Advances* 2 (2012) 1486–1495.
- [76] P. Buglyó, P. L. Parajdi-Losonczai, A. C. Bényei, N. Lihi, L. Bíró, E. Farkas, *ChemistrySelect* 2 (2017) 8127–8136.
- [77] P. L. Parajdi-Losonczai, A. C. Bényei, É. Kováts, I. Timári, T. R. Muchova, V. Novohradsky, J. Kasparikova, P. Buglyó, *J. Inorg. Biochem.* 160 (2016) 236–245.
- [78] P. L. Parajdi-Losonczai, P. Buglyó, H. Skakalova, J. Kasparikova, N. Lihi, E. Farkas, *New. J. Chem.* 42 (2018) 7659–7670.
- [79] P. Puccetti, F. Fallarino, A. Italiano, I. Soubeyran, G. MacGrogan, M. Debled, V. Velasco, D. Bodet, S. Eimer, M. Veldhoen, G. C. Prendergast, M. Platten, A. Bessede, G. J. Guillemin, *PLoS ONE* 10 (2015) nr.: e0122046

- [80] R. Sharma, B. Fatma, A. Saha, S. Bajpai, S. Sistla, P. K. Dash, M. Parida, P. Kumar, S. Tomar, *Virology* 498 (2016) 265–276.
- [81] T. A. Slieman, W. L. Nicholson, *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (2001) 1274–1279.
- [82] J. Sayegh, J. Cao, M. R. Zou, A. Morales, L. P. Blair, M. Norcia, D. Hoyer, A. J. Tackett, J. S. Merkel, Q. Yan, *J. Biol. Chem.* 288 (2013) 9408–9417.
- [83] L. Brewitz, A. Tumber, A. Thalhammer, E. Salah, K. E. Christensen, C. J. Schofield, *ChemMedChem* 15 (2020) 1139–1149.
- [84] A. F. A. Peacock, S. Parsons, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 3348–3357.
- [85] I. Ivanovic, K. K. Jovanovic, N. Gligorijevic, S. Radulovic, V. B. Arion, K. S. A. M. Sheweshein, Z. L. Tesic, S. Grguric-Sipka, *J. Organomet. Chem.* 749 (2014) 343–349.
- [86] Z. Liu, A. Habtemariam, A. M. Pizarro, S. A. Fletcher, A. Kisova, O. Vrana, L. Salassa, P. C. A. Bruijninx, G. J. Clarkson, V. Brabec, P. J. Sadler, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 3011–3026.
- [87] S. Grguric-Sipka, I. Ivanovic, G. Rakic, N. Todorovic, N. Gligorijevic, S. Radulovic, V. B. Arion, B. K. Keppler, Z. L. Tesic, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 1051–1058.
- [88] J.M. Poljarevic, G. T. Gál, N. V. May, G. Spengler, O. Dömötör, A. R. Savić, S. Grgurić-Sipka, É. A. Enyedy, *J. Inorg. Biochem.* 181 (2018) 74–85.
- [89] O. Dömötör, C. M. Hackl, K. Bali, A. Roller, M. Hejl, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, W. Kandioller, É. A. Enyedy, *J. Organomet. Chem.* 846 (2017) 287–295.
- [90] V. Prachayasittikul, S. Prachayasittikul, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, *Drug Des., Dev. Ther.* 7 (2013) 1157–1178.
- [91] V. Oliveri, G. Vecchio, *Eur. J. Med. Chem.* 120 (2016) 252–274.
- [92] M. Roca, E. F. J. de Vries, F. Jamar, O. Israel, A. Signore, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 37 (2010) 835–841.
- [93] A. Füredi, S. Tóth, K. Szebényi, V. F. S. Pape, D. Türk, N. Kucsma, L. Cervenak, J. Tóvári, G. Szakács, *Mol. Cancer Ther.* 16 (2017) 45–56.
- [94] J. Kljun, I. E. León, S. Persic, J. F. Cadavid-Vargas, S. B. Etcheverry, W. He, Y. Bai, I. Turel, *J. Inorg. Biochem.* 186 (2018) 187–196.
- [95] A. Mitrovic, J. Kljun, I. Sosic, S. Gobec, I. Turel, J. Kos, *Dalton Trans.* 45 (2016) 16913–16921.
- [96] A. Mitrovic, J. Kljun, I. Sosic, M. Ursic, A. Meden, S. Gobec, J. Kos, I. Turel, *Inorg. Chem.* 58 (2019) 12334–12347.
- [97] O. Dömötör, V. F. S. Pape, N. V. May, G. Szakács, É. A. Enyedy, *Dalton Trans.* 46 (2017) 4382–4396.
- [98] M. Kubanik, H. Holtkamp, T. Söhnel, S. M. F. Jamieson, C. G. Hartinger, *Organometallics* 34 (2015) 5658–5668.
- [99] S. Movassaghi, M. Hanif, H. U. Holtkamp, T. Söhnel, S. M. F. Jamieson, C. G. Hartinger, *Dalton Trans.* 47 (2018) 2192–2201.
- [100] J. Patalenzski, L. Bíró, A. C. Bényei, T. R. Muchova, J. Kasparkova, P. Buglyó, *RSC Adv.* 5 (2015) 8094–8107.
- [101] L. Biancalana, I. Abdalghani, F. Chiellini, S. Zacchini, G. Pampaloni, M. Crucianelli, F. Marchetti, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2018 (2018) 3041–3057.
- [102] R. E. Aird, J. Cummings, A. A. Titchie, M. Muir, R. E. Morris, H. Chen, P. J. Sadler, D. I. Jodrell, *Br. J. Cancer* 86 (2002) 1652–1657.
- [103] A. H. Ngo, L. H. Do, *Inorg. Chem. Front.* 7 (2020) 583–591.
- [104] F. Wang, H. Chen, S. Parsons, I. D. H. Oswald, J. E. Davidson, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* 9 (2003) 5810–5820.

- [105] A. F. A. Peacock, A. Habtemariam, S. A. Moggach, A. Prescimone, S. Parsons, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* 46 (2007) 4049–4059.
- [106] H. Chen, J. A. Parkinson, R. E. Morris, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 173–186.
- [107] A. M. Pizarro, A. Habtemariam, P. J. Sadler, *Top. Organomet. Chem.* 32 (2010) 21–56.
- [108] H. Chen, J. A. Parkinson, S. Parsons, R. A. Coxall, R. O. Gould, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 3064–3082.
- [109] H.-K. Liu, H. Kostrhunova, A. Habtemariam, Y. Kong, R. J. Deeth, V. Brabec, P. J. Sadler, *Dalton Trans.* 45 (2016) 18676–18688.
- [110] O. Novakova, H. Chen, O. Vrana, A. Rodger, P. J. Sadler, V. Brabec, *Biochemistry* 42 (2003) 11544–11554.
- [111] C. Artner, H. U. Holtkamp, W. Kandioller, C. G. Hartinger, S. M. Meier-Menches, B. K. Keppler, *Chem. Commun.* 53 (2017) 8002–8005.
- [112] W. Hu, Q. Luo, X. Ma, K. Wu, J. Liu, Y. Chen, S. Xiong, J. Wang, P. J. Sadler, F. Wang, *Chem. Eur. J.* 15 (2009) 6586–6594.
- [113] T. Sriskandakumar, S. Behyan, A. Habtemariam, P. J. Sadler, P. Kennepohl, *Inorg. Chem.* 54 (2015) 11574–11580.
- [114] S. Banerjee, P. J. Sadler, *RSC Chem. Biol.* 2 (2021) 12–29.
- [115] E. M. Bolitho, J. P. C. Coverdale, H. E. Bridgewater, G. J. Clarkson, P. D. Quinn, C. Sanchez-Cano, P. J. Sadler, *Ang. Chem. Int. Ed.* 60 (2021) 6462–6472.
- [116] V. J. Kolcsár, F. Fülöp, G. Szöllösi, *ChemCatChem* 11 (2019) 2725–2731.
- [117] R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *Tetrahedron Lett.* 28 (1987) 6583–6586.
- [118] R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1980) 1150–1151.
- [119] F. Hollmann, B. Witholt, A. Schmid, *J. Mol. Catal. B Enzym.* 19–20 (2003) 167–176.
- [120] M. Poizat, I. W. C. E. Arends, F. Hollmann, *J. Mol. Catal. B Enzym.* 63 (2010) 149–156.
- [121] S. Betanzos-Lara, O. Novakova, R. J. Deeth, A. M. Pizarro, G. J. Clarkson, B. Liskova, V. Brabec, P. J. Sadler, A. Habtemariam, *J. Biol. Inorg. Chem.* 17 (2012) 1033–1051.
- [122] G. Nogueira, O. Dömötör, A. Pilon, M. P. Robalo, F. AVECILLA, M. H. Garcia, É. A. Enyedy, A. Valente, *J. Organomet. Chem.* 820 (2016) 20–29.
- [123] L. Colina-Vegas, W. Villareal, M. Navarro, C. R. de Oliveira, A. E. Graminha, P. I. da S. Maia, V. M. Deflon, A. G. Ferreira, M. R. Cominetti, A. A. Batista, *J. Inorg. Biochem.* 153 (2015) 150–161.
- [124] S. Schäfer, I. Ott, R. Gust, W. S. Sheldrick, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 3034–3046.
- [125] A. Savic, N. Gligorijevic, S. Arandelovic, B. Dojcinovic, A. M. Kaczmarek, S. Radulovic, R. Van Deun, K. Van Hecke, *J. Inorg. Biochem.* 202 (2020) nr.: 110869
- [126] G. S. Biggs, M. J. O'Neill, P. C. Mendez, T. G. Scrase, Y. Lin, A. M. Bin-Maarof, A. D. Bond, S. R. Boss, P. D. Barker, *Dalton Trans.* 48 (2019) 6910–6920.
- [127] Y. Hao, Q. Wu, J. Li, C. Ge, C. Ma, Y. Qian, Z. Su, H. Liu, *Chem. J. Chin. Univ.* 39 (2018) 614–622.
- [128] S. J. Dougan, A. Habtemariam, S. E. McHale, S. Parsons, P. J. Sadler, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105 (2008) 11628–11633.
- [129] Y. Fu, A. Habtemariam, A. M. Pizarro, S. H. van Rijt, D. J. Healey, P. A. Cooper, S. D. Shnyder, G. J. Clarkson, P. J. Sadler, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 8192–8196.
- [130] J. M. Cross, T. R. Blower, N. Gallagher, J. H. Gill, K. L. Rockley, J. W. Walton, *ChemPlusChem* 81 (2016) 1276–1280.

- [131] W. Ma, Z. Tian, S. Zhang, X. He, J. Li, X. Xia, X. Chen, Z. Liu, *Inorg. Chem. Front.* 5 (2018) 2587–2597.
- [132] F. Martínez-Pena, S. Infante-Tadeo, A. Habtemariam, A. M. Pizarro, *Inorg. Chem.* 57 (2018) 5657–5668.
- [133] A. C. Carrasco, V. Rodríguez-Fanjul, A. M. Pizarro, *Inorg. Chem.* 59 (2020) 16454–16466.
- [134] A. C. Carrasco, V. Rodríguez-Fanjul, A. Habtemariam, A. M. Pizarro, *J. Med. Chem.* 63 (2020) 4005–4021.
- [135] T. J. Prior, H. Savoie, R. W. Boyle, B. S. Murray, *Organometallics* 37 (2018) 294–297.
- [136] P. Starha, Z. Trávníček, J. Vanco, Z. Dvůrák, *Molecules* 23 (2018) nr.: 420
- [137] S. Betanzos-Lara, L. Salassa, A. Habtemariam, O. Novakova, A. M. Pizarro, G. J. Clarkson, B. Liskova, V. Brabec, P. J. Sadler, *Organometallics* 31 (2012) 3466–3479.
- [138] Z. Liu, I. Romero-Canelón, A. Habtemariam, G. J. Clarkson, P. J. Sadler, *Organometallics* 33 (2014) 5324–5333.
- [139] S. M. Meier-Menches, C. Gerner, W. Berger, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, *Chem. Soc. Rev.* 47 (2018) 909–928.
- [140] R. Zhu, L. Xing, X. Wang, C. Cheng, B. Liu, Y. Hu, *Synlett* 2007 (2007) 2267–2271.
- [141] L. Kathawate, S. P. Gejji, S. D. Yeole, P. L. Verma, V. G. Puranik, S. Salunke–Gawali, *J. Mol. Struct.* 1088 (2015) 56–63.
- [142] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* 43 (1996) 1739–1753.
- [143] S. R. Gallagher, Quantitation of DNA and RNA with absorption and fluorescence spectroscopy, in: *Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith, K. Struhl (Eds.), Greene and Wiley-Interscience, New York (1994) Appendix 3, D2. o.
- [144] M. A. Scharwitz, I. Ott, Y. Geldmacher, R. Gust, W. S. Sheldrick, *J. Organomet. Chem.* 693 (2008) 2299–2309.
- [145] J. Canivet, G. Süß-Fink, *Green Chem.* 9 (2007) 391–397.
- [146] F. J. C. Rossotti, H. Rossotti, *J. Chem. Educ.* 42 (1965) 375–378.
- [147] H. M. Irving, M. G. Miles, L. D. Petit, *Anal. Chim. Acta* 38 (1967) 475–482.
- [148] D. L. Leggett: *Computational Methods for the Determination of Stability Constants*, Plenum Press, New York (1985) 291–353. o. (L. Zékány, I. Nagypál)
- [149] J. R. Lakowicz: *Principles of fluorescence spectroscopy* (3. kiadás), Springer, New York (2006) 56. o.
- [150] C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. van De Streek, *J. Appl. Crystallogr.* 39 (2006) 453–457.
- [151] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Crystallogr.* 42 (2009) 339–341.
- [152] E. B. Ball, *J. Biol. Chem.* 106 (1934) 515–524.
- [153] A. Beauchamp, R. L. Benoit, *Can. J. Chem.* 44 (1966) 1607–1613.
- [154] M. Borsari, E. Ferrari, R. Grandi, M. Saladini, *Inorg. Chim. Acta* 328 (2002) 61–68.
- [155] F. Caruso, M. Rossi, A. Benson, C. Opazo, D. Freedman, E. Monti, M.B. Gariboldi, J. Shaulky, F. Marchetti, R. Pettinari, C. Pettinari, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 1072–1081.
- [156] J. Bunting, J. Kanter, R. Nelander, Z. Wu, *Can. J. Chem.* 73 (1995) 1305–1311.
- [157] F. Wang, A. Habtemariam, E. P. L. van der Geer, R. Fernández, M. Melchart, R. J. Deeth, R. Aird, S. Guichard, F. P. A. Fabbiani, P. Lozano-Casal, I. D. H. Oswald, D. I. Jodrell, S. Parsons, P. J. Sadler, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102 (2005) 18269–18274.
- [158] Y.-F. Xie, A.-Q. Jia, H. Zhu, H.-T. Shi, Q.-F. Zhang, *Z. Naturforsch.* 71 (2016) 119–123.

- [159] É. Sija, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, T. Kiss, É. A. Enyedy, *Polyhedron* 67 (2014) 51–58.
- [160] S. J. Dougan, M. Melchart, A. Habtemariam, S. Parsons, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* 45 (2006) 10882–10894.
- [161] D. P. Smith, H. Chen, S. Ogo, A. I. Elduque, M. Eisenstein, M. M. Olmstead, R. H. Fish, *Organometallics* 33 (2014) 2389–2404.
- [162] Marvin, version 18.23.0, ChemAxon, Budapest (2018) <https://chemaxon.com/>.
- [163] A. A. Kurganov, V. A. Davankov, Y. D. Koreshkov, S. V. Rogozhin, *Russ. J. Coord. Chem.* 3 (1977) 667.
- [164] V. F. S. Pape, N. V. May, G. T. Gál, I. Szatmári, F. Szeri, F. Fülöp, G. Szakács, É. A. Enyedy, *Dalton Trans.* 47 (2018) 17032–17045.
- [165] M. Albrecht, K. Witt, P. Weis, E. Wegelius, R. Fröhlich, *Inorg. Chim. Acta* 341 (2002) 25–32.
- [166] J. G. Malecki, M. Jaworska, R. Kruszynski, J. Klak, *Polyhedron* 24 (2005) 3012–3021.
- [167] E. Farkas, É. A. Enyedy, G. Micera, E. Garibba, *Polyhedron* 19 (2000) 1727–1736.
- [168] I. Sóvágó, A. Gergely, *Inorg. Chim. Acta* 20 (1976) 27–32.
- [169] K. Polborn, K. Severin, *Chem. Commun.* (1999) 2481–2482.
- [170] J. A. Bilbrey, A. H. Kazez, J. Locklin, W. D. Allen, *J. Comput. Chem.* 34 (2013) 1189–1197.
- [171] J. A. Bilbrey, A. H. Kazez, J. Locklin, W. D. Allen, *J. Chem. Theory Comput.* 9 (2013) 5734–5744.
- [172] L. Falivene, R. Credendino, A. Poater, A. Petta, L. Serra, R. Oliva, V. Scarano, L. Cavallo, *Organometallics* 35 (2016) 2286–2293.
- [173] I. A. Guzei, M. Wendt, *Dalton Trans.* (2006) 3991–3999.
- [174] H. A. Schwartz, C. Creutz, N. Sutin, *Inorg. Chem.* 24 (1985) 433–439.
- [175] G. D. Stevens, R. A. Holwerda, *Inorg. Chem.* 23 (1984) 2777–2780.
- [176] R. G. Lacoste, A. E. Martell, *Inorg. Chem.* 3 (1964) 881–884.
- [177] S. Bandyopadhyay, G. N. Mukherjee, M. G. B. Drew, *Inorg. Chim. Acta* 358 (2005) 3786–3798.
- [178] S. Mori, T. Mochida, *Organometallics* 32 (2013) 283–288.
- [179] A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies, J. Fawcett, D. R. Russell, *J. Chem Soc. Dalton Trans.* (1995) 3709–3713.
- [180] C. M. Hackl, M. S. Legina, V. Pichler, M. Schmidlehner, A. Roller, O. Dömötör, É. A. Enyedy, M. A. Jakupec, W. Kandioller, B. K. Keppler, *Chem. Eur. J.* 22 (2016) 17269–17281.
- [181] S. Yadav, B. Narasimhan, H. Kaur, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 16 (2016) 1403–1425.
- [182] Y.-S. Ho, C.-H. Wu, H.-M. Chou, Y.-J. Wang, H. Tseng, C.-H. Chen, L.-C. Chen, C.-H. Lee, S.-Y. Lin, *Food Chem. Toxicol.* 43 (2005) 1483–1495.
- [183] M. Grant, *Ther. Adv. Med. Oncol.* 3 (2011) 293–301.
- [184] I. Moreno-Villoslada, V. Miranda, F. Oyarzún, S. Hess, M. Luna, B. L. Rivas, *J. Chil. Chem. Soc.* 49 (2004) 121–126.

9. KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT) azonosító: 10061312

A dolgozat alapját képező közlemények:

1. **János P. Mészáros***, Veronika F. S. Pape, Gergely Szakács, Gábor Németi, Márk Dénes, Tamás Holczbauer, Nóra V. May, Éva A. Enyedy*
Half-sandwich organometallic Ru and Rh complexes of (N,N) donor compounds: effect of ligand methylation on solution speciation and anticancer activity
DALTON TRANSACTIONS 50 (2021) 8218–8231., IF: 4,174
2. **János P. Mészáros**, Gábor Németi, Jelena M. Poljarevic, Tamás Holczbauer, Nóra V. May, Éva Anna Enyedy*
Effect of the additional carboxyl group in half-sandwich organometallic 2,4-dipicolinate complexes on solution speciation and structure
EUROPEAN JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRY 19 (2021) 1858–1868., IF: 2,529
3. **János P. Mészáros**, Jelena M. Poljarevic, István Szatmári, Oszkár Csuvik, Ferenc Fülöp, Norbert Szoboszlai, Gabriella Spengler, Éva A. Enyedy*
An 8-hydroxyquinoline-proline hybrid with multidrug resistance reversal activity and solution chemistry of its half-sandwich organometallic Ru and Rh complexes
DALTON TRANSACTIONS 49 (2020) 7977–7992., IF: 4,052
4. **János P. Mészáros**, Heiko Geisler, Jelena M. Poljarević, Alexander Roller, Maria S. Legina, Michaela Hejl, Michael A. Jakupec, Bernhard K. Keppler, Wolfgang Kandioller, Éva A. Enyedy*
Naphthoquinones of natural origin: Aqueous chemistry and coordination to half-sandwich organometallic cations
JOURNAL OF ORGANOMETALLIC CHEMISTRY 907 (2020) 121070., IF: 2,066
5. **János P. Mészáros**, Jelena M. Poljarević, G. Tamás Gál, Nóra V. May, Gabriella Spengler, Éva A. Enyedy*
Comparative solution and structural studies of half-sandwich rhodium and ruthenium complexes bearing curcumin and acetylacetone
JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY 195 (2019) 91–100., IF: 3,063
6. **János P. Mészáros**, Orsolya Dömötör, Carmen M. Hackl, Alexander Roller, Bernhard K. Keppler, Wolfgang Kandioller, Éva A. Enyedy*
Structural and solution equilibrium studies on half-sandwich organorhodium complexes of (N,N) donor bidentate ligands
NEW JOURNAL OF CHEMISTRY 42 (2018) 11174–11184., IF: 3,201

ΣIF=19,085

Az értekezésben nem tárgyalt közlemények:

1. Éva A. Enyedy*, **János P. Mészáros**, Gabriella Spengler, Muhammad Hanif, Christian G. Hartinger*

Comparative solution studies and cytotoxicity of gallium(III) and iron(III) complexes of 3-hydroxy-2(1H)-pyridinones

POLYHEDRON 172 (2019) 141–147., IF: 2,067

2. Éva A. Enyedy*, **János P. Mészáros**, Orsolya Dömötör, Carmen M. Hackl, Alexander Roller, Bernhard K. Keppler, Wolfgang Kandioller

Comparative solution equilibrium studies on pentamethylcyclopentadienyl rhodium complexes of 2,2'-bipyridine and ethylenediamine and their interaction with human serum albumin

JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY 152 (2015) 93–103., IF: 3,205

ΣIF=5,272

ΣΣIF=24,357

Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások, poszterek:

1. **János P. Mészáros**, Jelena M. Poljarevic, István Szatmári, Oszkár Csuvik, Ferenc Fülöp, Norbert Szoboszlai, Gabriella Spengler, Éva A. Enyedy* (előadás)

An 8-hydroxyquinoline-proline hybrid with multidrug resistance reversal activity and solution chemistry of its half-sandwich organometallic Ru and Rh complexes

International Symposium on Metal Complexes, 2021.06.16-18., Białystok, Lengyelország

2. **Mészáros János P.**, Némethi Gábor, May Nóra V., Enyedy Éva A. (előadás)

A 2,4-dipikolinát félszendvics ródium és ruténium komplexei: oldategyensúly és szerkezet

XLIII. Kémiai Előadói Napok, 2020.10.27-28., Szeged

3. Orsolya Dömötör, Tamás Pivarcsik, **János P. Mészáros**, Éva A. Enyedy (poszter)

Human serum albumin binding of high stability Rh(III)(η^5 -C₅Me₅) and Ru(II)(η^6 -p-cymene) complexes

1st European NECTAR Conference (COST Meeting), 2020.03.05-06. Belgrád, Szerbia

4. **János P. Mészáros**, Wolfgang Kandioller, Alexander Roller, Bernhard K. Keppler, Éva A. Enyedy (poszter)

Activation by acidosis: synthesis and solution equilibrium studies of half-sandwich Rh complexes containing monodentate N-donor ligands

9th International Symposium on Bioorganometallic Chemistry, 2019.07.28-08.01., York, Egyesült Királyság

5. Éva A. Enyedy, **János P. Mészáros**, Orsolya Dömötör, Jelena M. Poljarević, Nóra V. May, G. Tamás Gál, István Szatmári, Ferenc Fülöp, Gabriella Spengler (előadás)
Solution equilibria of various antitumor half-sandwich organometallic complexes of 8-hydroxyquinolines and 2-picolinates: structure, stability and activity
 9th International Symposium on Bioorganometallic Chemistry, 2019.07.28-08.01., York, Egyesült Királyság
6. Orsolya Dömötör, **János P. Mészáros**, Jelena M. Poljarević, Éva A. Enyedy (előadás)
Variations on a theme: different ways of albumin binding of half-sandwich organoruthenium and organorhodium complexes
 9th International Symposium on Bioorganometallic Chemistry, 2019.07.28-08.01., York, Egyesült Királyság
7. **Mészáros János P.**, Wolfgang Kandioller, Alexander Roller, Bernhard K. Keppler, Enyedy Éva A. (poszter)
Potenciálisan rákellenes félszendvics ródiumkomplexek: savra aktiválódó fémkomplexek
 MKE Vegyészkonferencia 2019, 2019.06.24-26., Eger
8. **János P. Mészáros**, Jelena M. Poljarević, Heiko Geisler, Fanni Veréb, Nóra V. May, Wolfgang Kandioller, Bernhard K. Keppler, Éva A. Enyedy (poszter)
A novel 8-hydroxyquinoline derivative with multidrug resistance selectivity and its half-sandwich Ru and Rh complexes
 International Symposium on Metal Complexes, 2019.06.11-14., Hajdúszoboszló
9. **J. P. Mészáros**, J. M. Poljarević, H. Geisler, F. Veréb, N. V. May, W. Kandioller, B. K. Keppler, É. A. Enyedy (poszter)
Comparative solution equilibrium studies on complexes of Ru(η^6 -toluene), Ru(η^6 -p-cymene) and Rh(η^5 -C₅Me₅) formed with (O,O) donor ligands of natural origin
 35th International Conference on Solution Chemistry, 2018.08.26-30., Szeged
10. M. Mészáros, **J. P. Mészáros**, É. A. Enyedy (poszter)
Comparative solution equilibrium studies on complexes of organometallic half-sandwich cations formed with (N,N) donor ligands
 35th International Conference on Solution Chemistry, 2018.08.26-30., Szeged
11. **Mészáros J.P.**, Enyedy É.A. (előadás)
Potenciálisan rákellenes ruténium- és ródiumkomplexek oldatkémiaja
 Pro Scientia Aranyérmesek XIV. Konferenciája, 2018.08.23-25., Budapest

12. **János P. Mészáros**, Wolfgang Kandioller, Alexander Roller, Bernhard K. Keppler, Éva A. Enyedy (poszter)
Synthesis and solution equilibrium studies of half-sandwich Rh-complexes containing bidentate (N,N) and monodentate N-donor ligands
 International Symposium on Metal Complexes, 2018.06.03-07., Firenze, Olaszország
13. Éva A. Enyedy, Jelena M. Poljarevic, Orsolya Dömötör, **János P. Mészáros**, Nóra V. May, István Szatmári, Ferenc Fülöp, Gabriella Spengler (előadás)
Comparative solution equilibrium studies on various antitumor half-sandwich organometallic complexes of 2-picolinates and 8-quinolinols
 International Symposium on Metal Complexes, 2018.06.03-07., Firenze, Olaszország
14. **Mészáros János P.**, Jelena M. Poljarević, Heiko Geisler, Veréb Fanni, May Nóra V., Wolfgang Kandioller, Bernhard K. Keppler, Enyedy Éva A. (előadás)
Természetes eredetű (O,O) donoratomokat tartalmazó vegyületek félszendvics fémorganikus komplexeinek oldatkémiai vizsgálata
 52. Komplexkémiai Kollokvium, 2018.05.22-24., Balatonvilágos
15. Enyedy É.A., Dömötör O., J.M. Poljarevic, **Mészáros J.P.**, May N.V., Gál T.G., Szatmári I., Fülöp F., Spengler G. (előadás)
8-Hidroxi-kinolin- és 2-pikolinsav-származékok fémorganikus félszendvics komplexeinek oldatkémiai vizsgálata
 52. Komplexkémiai Kollokvium, 2018.05.22-24., Balatonvilágos
16. **Mészáros J.P.**, Enyedy É.A. (előadás)
Félszendvics Rh(η^5 -C₅Me₅)-komplexek oldatkémiája és szerkezetvizsgálata
 XL. Kémiai Előadói Napok, 2017.10.16-18., Szeged
17. **J.P. Mészáros**, O. Dömötör, C.M. Hackl., A. Roller, W. Kandioller, B.K. Keppler, É.A. Enyedy (előadás)
Half-sandwich rhodium(III) complexes formed with (N,N) ligands: structural characterization and solution chemistry
 XXVI. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, 2017.06.04-09., Smolenice, Szlovákia

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni támavezetőmnek, Dr. Enyedy Éva Annának, hogy az évek során mindig segítséget nyújtott, biztatásával és támogatásával segítette munkámat és számos lehetőséget biztosított, hogy fejlesszem tudásom. Dr. Dömötör Orsolyának, aki türelemmel meghallgatta ötleteimet és kérdéseimet, mindig készségesen adott szakmai tanácsokat. Köszönöm neki és Pivarcsik Tamásnak, hogy figyelmesen átolvasták a dolgozatomat és hasznos megjegyzésekkel láttak el.

Köszönettel tartozom a Szervetlen Kémiai és Analitikai Tanszék vezetőjének, Dr. Galbács Gábornak, hogy lehetőséget biztosított doktori értekezésem elvégzéséhez a tanszéken.

Hálás vagyok a három hallgatónak, Veréb Fanninak, Mészáros Mártának és Köhler Fanninak, akik témavezetésem alatt laboratóriumi munkájukkal segítették a mérések elvégzését. Köszönet illeti együttműködő partnereinket is a doktori disszertációm alapjául szolgáló közös munkák megvalósulásáért: Szegedről Németi Gábor, Jelena M. Poljarevic, Dr. Szatmári István, Csuvik Oszkár, Dr. Fülöp Ferenc, Dr. Spengler Gabriella, Dr. Kincses Annamária, Dr. Kele Zoltán; Budapestről Dr. Szoboszlai Norbert, Dr. Holczbauer Tamás, Dr. May Nóra V., Dr. Gál G. Tamás; Bécsből Heiko Geisler, Alexander Roller, Maria S. Legina, Michaela Hejl, Dr. Michael A. Jakupec, Dr. Wolfgang Kandioller és Dr. Bernhard K. Keppler.

Köszönettel tartozom technikusunknak, Szűcsné Tóth Katalinnak, aki a laborban mindig segítségemre volt. Továbbá a Bioszervetlen Kutatócsoport, az MTA Lendület Funkcionális Fémkomplexek Kutatócsoport és a Tanszék tagjainak is szeretném megköszönni segítőkész megjegyzéseiket, a folyosói beszélgetéseket, és a jó hangulat megteremtését mind a PhD szobában, mind a laborban.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni édesanyámnak, testvéremnek, páromnak és barátaimnak szeretetüket és türelmüket a doktori éveim alatt, és hogy mindig mellettem álltak.

FÜGGELÉK

Kísérleti rész

F1. táblázat: Az újonnan előállított komplexek számolt és HR-ESI-MS-sel mért m/z értékei.

Komplex	Detektált részecske	Számolt m/z	Mért m/z
[Ru(Tol)(acac)Cl]	[M(arén)(L)] ⁺	293,0116	293,0111
[Rh(C ₅ Me ₅)(curcH ₂)Cl]	[M(arén)(L)] ⁺	605,1411	605,1398
[Rh(C ₅ Me ₅)(HQCl-ProH ₁)Cl]	[M(arén)(L)] ⁺ +H ⁺	272,0500	272,0501
[Ru(Cym)(HQCl-ProH ₁)Cl]	[M(arén)(L)] ⁺ +H ⁺	271,0455	271,0449
[Ru(Tol)(HQCl-ProH ₁)Cl]	[M(arén)(L)] ⁺	499,0363	499,0354
[Rh(C ₅ Me ₅)(dmen)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	361,0913	361,1081
	[M(arén)(L)] ²⁺ -H ⁺	325,1146	325,1108
	[M(arén)(L)] ²⁺ +CF ₃ SO ₃ ⁻	475,0745	475,0735
[Rh(C ₅ Me ₅)(tmeda)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	389,1226	389,0992
	[M(arén)(L)] ²⁺ -H ⁺	353,1459	353,1393
	[M(arén)(L)] ²⁺ +CF ₃ SO ₃ ⁻	503,1058	503,1016
[Rh(C ₅ Me ₅)(pin)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	381,0600	381,0326
[Ru(Tol)(phen)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	409,0045	409,0047
[Rh(C ₅ Me ₅)(neo)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	481,0918	481,0921
[Ru(Cym)(neo)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	479,0828	479,0831
[Ru(Tol)(neo)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	437,0358	437,0361
[Ru(Tol)(bpy)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	385,0045	385,0063
[Ru(Tol)(dmb)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	413,0358	413,0359
[Ru(Tol)(en)Cl] ⁺	[M(arén)(L)Cl] ⁺	289,0045	289,0036

Az előállított komplexek karakterizálása ¹H és ¹³C NMR spektroszkópián

[Ru(Cym)(2,4-dipicH)Cl]: ¹H NMR (DMSO-d₆, ppm, 500,10 MHz): 9,330 (1 H, d, J = 5,63 Hz, H_{2,4-dipic}(6)), 8,077 és 8,072 (1 H, d, J = 5,62 Hz, H_{2,4-dipic}(5)), 8,048 és 8,044 (1 H, s, H_{2,4-dipic}(3)), 5,915 (2 H, t, J = 5,47 Hz, H_{p-cym}(3)), 5,706 és 5,672 (2 H, d, J = 6,02 és 5,87 Hz, H_{p-cym}(2)), 2,735 (1 H, m, J = 6,94 Hz, H_{p-cym}(5)), 2,154 (3 H, s, H_{p-cym}(7)), 1,137 (6 H, t, J = 7,02 Hz, H_{p-cym}(6)).

¹³C NMR (DMSO-d₆, ppm, 125 MHz): 169,71 (C_{2,4-dipic}(8)), 164,65 (C_{2,4-dipic}(7)), 154,85 (C_{2,4-dipic}(6)), 151,62 (C_{2,4-dipic}(2)), 141,00 (C_{2,4-dipic}(4)), 126,75 (C_{2,4-dipic}(3)), 123,79 (C_{2,4-dipic}(5)), 101,47 (C_{p-cym}(1)), 98,48 (C_{p-cym}(4)), 82,56 és 82,78 (C_{p-cym}(3)), 80,25 és 81,25

($C_{p-cym}(2)$), 30,44 ($C_{p-cym}(5)$), 21,74 és 21,84 ($C_{p-cym}(6)$), 18,05 ($C_{p-cym}(7)$). Az értékek jól egyeznek a korábban közölt értékekkel [87].

[Rh(C₅Me₅)(2,4-dipicH)Cl]: ¹H NMR (DMSO-d₆, ppm, 500,10 MHz): 8,983 és 8,899 (1 H, d, J = 5,51 és 4,87 Hz, H_{2,4-dipic}(6)), 8,386 és 8,153 (1 H, s, H_{2,4-dipic}(5)), 8,119 és 8,025 (1 H, dd, J = 5,54 és 4,87 Hz; 1,94 és 1,60 Hz, H_{2,4-dipic}(3)), 1,648 és 1,629 (15 H, s, H_{C₅Me₅}(CH₃)).

¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): 8,989 (1 H, d, J = 5,54 Hz, H_{2,4-dipic}(6)), 8,460 (1 H, s, H_{2,4-dipic}(5)), 8,279 (1 H, dd, J = 5,53; 1,83 Hz, H_{2,4-dipic}(3)), 1,740 (15 H, s, H_{C₅Me₅}(CH₃)).

¹³C NMR (DMSO-d₆, ppm, 125 MHz): 168,30 (C_{2,4-dipic}(8)), 165,48 és 164,78 (C_{2,4-dipic}(7)), 153,12 és 149,49 (C_{2,4-dipic}(2)), 151,71 és 150,75 (C_{2,4-dipic}(6)), 141,08 és 139,44 (C_{2,4-dipic}(4)), 127,31 és 125,83 (C_{2,4-dipic}(3)), 124,23 és 123,36 (C_{2,4-dipic}(5)), 98,76 és 93,87 (d, C_{C₅Me₅}(C₅)), 8,55 és 8,46 (C_{C₅Me₅}(CH₃)).

[Ru(Cym)(HQCl-ProH₁)Cl]: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 9,360 (t, J = 4,19 Hz, 1 H, H_{lig}(2)), δ 8,517 (d, J = 8,63 Hz, 1 H, H_{lig}(4)), δ 7,722 (m, 1 H, H_{lig}(3)), δ 7,519 (s, 0,34 H, H_{lig}(6)), δ 7,450 (s, 0,66 H, H_{lig}(6)), δ 5,875 (m, 2 H, H_{p-cym}(3)), δ 5,632 (m, 2 H, H_{p-cym}(2)), δ 4,851 (d, J = 13,21 Hz, 0,66 H, H_{lig}(9)), δ 4,651 (m, 1 H, H_{lig}(9)), δ 4,519 (d, J = 12,96 Hz, 0,34 H, H_{lig}(9)), δ 4,394 (dd, J = 9,37 Hz, 5,79 Hz, 0,66 H, H_{lig}(11)), δ 4,296 (d, J = 13,3 Hz, 0,66 H, H_{lig}(9)), δ 3,538 (m, 1 H, H_{lig}(14)), δ 3,053 (q, J = 8,9 Hz, 0,66 H, H_{lig}(14)), δ 2,858 (m, 0,66 H, H_{p-cym}(5)), δ 2,809 (m, 0,34 H, H_{p-cym}(5)), δ 2,565 (m, 1 H, H_{lig}(12)), δ 2,303 (m, 1 H, H_{lig}(12)), δ 2,263 (s, 2 H, H_{p-cym}(7)), δ 2,253 (s, 1 H, H_{p-cym}(7)), δ 2,111 (m, 1 H, H_{lig}(13)), δ 1,948 (m, 1 H, H_{lig}(13)), δ 1,194 (m, 6 H, J = 7,5 Hz, H_{p-cym}(6)).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 171,87 (C_{lig}(15)), δ 168,69 és 167,64 (C_{lig}(8)), δ 153,01 és 152,84 (C_{lig}(2)), δ 145,95 és 145,29 (C_{lig}(8a)), δ 135,84 és 135,78 (C_{lig}(4)), δ 132,09 és 130,61 (C_{lig}(6)), δ 129,69 és 129,28 (C_{lig}(5)), δ 125,61 és 125,47 (C_{lig}(3)), δ 115,95 és 115,22 (C_{lig}(4a)), δ 114,36 és 113,99 (C_{lig}(7)), δ 103,42 és 103,19 (C_{cym}(4)), δ 100,27 és 99,82 (C_{p-cym}(1)), δ 84,10, 83,91, 83,45, 83,43, 82,91, 82,61, 82,16 és 81,93 (C_{p-cym}(3&2)), δ 68,44 (C_{lig}(11)), δ 57,18 and 54,81 (C_{lig}(14)), δ 55,34 és 54,54 (C_{lig}(9)), δ 32,30 és 32,24 (C_{p-cym}(5)), δ 30,02 és 29,13 (C_{lig}(12)), δ 24,20 és 23,63 (C_{lig}(13)), δ 22,52, 22,50, 22,35 és 22,30 (C_{p-cym}(6)), δ 18,76 és 18,69 (C_{p-cym}(7)).

[Ru(Tol)(HQCl-ProH₁)Cl]: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 9,403 (t, J = 3,81 Hz, 1 H, H_{lig}(2)), δ 8,512 (dd, J = 8,53 Hz; 3,27 Hz, 1 H, H_{lig}(4)), δ 7,713 (m, 1 H, H_{lig}(3)), δ 7,521 (s, 0,34 H, H_{lig}(6)), δ 7,458 (s, 0,66 H, H_{lig}(6)), δ 6,016 (m, 2 H, H_{tol}(3)), δ 5,615 (m, 3 H, H_{tol}(2&4)), δ 4,836 (d, J = 13,15 Hz, 0,66 H, H_{lig}(9)), δ 4,670 (d, J = 13,36 Hz, 0,34 H, H_{lig}(9)),

δ 4,518 (d, $J = 12,96$ Hz, 0,34 H, $H_{\text{lig}}(9)$), δ 4,380 (dd, $J = 9,19$ Hz; 5,66 Hz, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(11)$), δ 4,327 (d, $J = 13,14$ Hz, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(9)$), δ 3,567 (m, 1 H, $H_{\text{lig}}(14)$), δ 3,090 (q, $J = 8,5$ Hz, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(14)$), δ 2,550 (m, 1 H, $H_{\text{lig}}(12)$), δ 2,326 (s, 2 H, $H_{\text{tol}}(5)$), δ 2,308 (s, 1 H, $H_{\text{tol}}(5)$), δ 2,118 (m, 1,5 H, $H_{\text{lig}}(12$ és $13)$), δ 1,946 (m, 1 H, $H_{\text{lig}}(13)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 171,93 és 171,83 ($C_{\text{lig}}(15)$), δ 168,83 és 167,80 ($C_{\text{lig}}(8)$), δ 153,24 és 153,06 ($C_{\text{lig}}(2)$), δ 146,20 és 145,50 ($C_{\text{lig}}(8a)$), δ 135,83 és 135,76 ($C_{\text{lig}}(4)$), δ 132,22 és 130,71 ($C_{\text{lig}}(6)$), δ 129,75 és 129,36 ($C_{\text{lig}}(5)$), δ 125,58 és 125,44 ($C_{\text{lig}}(3)$), δ 115,94 és 115,12 ($C_{\text{lig}}(4a)$), δ 114,37 és 114,01 ($C_{\text{lig}}(7)$), δ 102,89 és 102,85 ($C_{\text{tol}}(1)$), δ 89,07, 89,02, 87,11 és 87,07 ($C_{\text{tol}}(3)$), δ 81,24, 81,09, 80,92 és 80,87 ($C_{\text{tol}}(2)$), δ 79,04 és 78,91 ($C_{\text{tol}}(4)$), δ 68,42 és 67,78 ($C_{\text{lig}}(11)$), δ 57,18 és 54,96 ($C_{\text{lig}}(14)$), δ 55,47 és 54,21 ($C_{\text{lig}}(9)$), δ 29,97 és 29,21 ($C_{\text{lig}}(12)$), δ 24,18 és 23,66 ($C_{\text{lig}}(13)$), δ 19,05 és 19,03 ($C_{\text{tol}}(5)$).

[Rh(C_5Me_5)(HQCl-ProH₁)Cl]: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 8,945 (d, $J = 4,9$ Hz, 1 H, $H_{\text{lig}}(2)$), δ 8,558 (d, $J = 9,3$ Hz, 1 H, $H_{\text{lig}}(4)$), δ 7,773 (dd, $J = 9,2$ Hz; 5,1 Hz, 1 H, $H_{\text{lig}}(3)$), δ 7,550 (s, 0,34 H, $H_{\text{lig}}(6)$), δ 7,481 (s, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(6)$), δ 4,944 (d, $J = 9,3$ Hz, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(9)$), δ 4,678 (d, $J = 9,3$ Hz, 0,34 H, $H_{\text{lig}}(9)$), δ 4,516 (d, $J = 9,3$ Hz, 0,34 H, $H_{\text{lig}}(9)$), δ 4,399 (t, $J = 9,3$ Hz, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(11)$), δ 4,211 (d, $J = 9,3$ Hz, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(9)$), δ 3,558 (m, 1 H, $H_{\text{lig}}(14)$), δ 3,065 (q, $J = 9,3$ Hz, 1 H, $H_{\text{lig}}(14)$), δ 2,577 (m, 1 H, $H_{\text{lig}}(12)$), δ 2,291 (m, 0,66 H, $H_{\text{lig}}(12)$), δ 2,114 (m, 1,5 H, $H_{\text{lig}}(13)$), δ 2,114 (m, 1,5 H, $H_{\text{lig}}(13)$), δ 1,953 (m, 1 H, $H_{\text{lig}}(13)$), δ 1,776 (s, 15 H, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 171,66 ($C_{\text{lig}}(15)$), δ 166,76 ($C_{\text{lig}}(8)$), δ 150,14 és 150,04 ($C_{\text{lig}}(2)$), δ 145,95 ($C_{\text{lig}}(8a)$), δ 136,06 ($C_{\text{lig}}(4)$), δ 132,78 és 131,16 ($C_{\text{lig}}(6)$), δ 129,76 ($C_{\text{lig}}(5)$), δ 125,78 és 125,64 ($C_{\text{lig}}(3)$), δ 116,00 ($C_{\text{lig}}(4a)$), δ 113,82 ($C_{\text{lig}}(7)$), δ 95,96 ($\text{C}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{C}_5)$), δ 68,74 ($C_{\text{lig}}(11)$), δ 57,54 ($C_{\text{lig}}(14)$), δ 55,14 és 54,50 ($C_{\text{lig}}(9)$), δ 29,93 és 29,27 ($C_{\text{lig}}(12)$), δ 24,00 ($C_{\text{lig}}(13)$), δ 8,97 ($\text{C}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Ru(Cym)(en)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 6,013 (m, 2 H, $H_{\text{en}}(\text{NH}_2)$), δ 5,630 (d, $J = 6,07$ Hz, 2 H, $H_{p\text{-cym}}(3\&5)$), δ 5,466 (d, $J = 6,08$ Hz, 2 H, $H_{p\text{-cym}}(2\&6)$), δ 4,016 (m, 2 H, $H_{\text{en}}(\text{NH}_2)$), δ 2,883 (h, $J = 6,92$ Hz, 1 H, $H_{p\text{-cym}}(7)$), δ 2,533 (m, 2H, $H_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 2,427 (m, 2 H, $H_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 2,236 (s, 3 H, $H_{p\text{-cym}}(10)$), δ 1,301 (d, $J = 6,92$ Hz, 6 H, $H_{p\text{-cym}}(8\&9)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 105,77 ($C_{p\text{-cym}}(1)$), δ 98,50 ($C_{p\text{-cym}}(4)$), δ 83,58 ($C_{p\text{-cym}}(3\&5)$), δ 81,81 ($C_{p\text{-cym}}(2\&6)$), δ 45,80 ($C_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 32,02 ($C_{p\text{-cym}}(7)$), δ 22,80 ($C_{p\text{-cym}}(8\&9)$), δ 18,20 ($C_{p\text{-cym}}(10)$).

[Ru(Tol)(en)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 6,345 (m, 2 H, $\text{H}_{\text{en}}(\text{NH}_2)$), δ 5,761 (t, $J = 5,805$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 5,538 (t, $J = 5,52$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{tol}}(4)$), δ 5,480 (d, $J = 5,92$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 3,983 (m, 2 H, $\text{H}_{\text{en}}(\text{NH}_2)$), δ 2,530 (m, 2 H, $\text{H}_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 2,438 (m, 2 H, $\text{H}_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 2,243 (s, 3 H, $\text{H}_{\text{tol}}(7)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 102,44 ($\text{C}_{\text{tol}}(1)$), δ 85,56 ($\text{C}_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 82,68 ($\text{C}_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 78,87 ($\text{C}_{\text{tol}}(4)$), δ 45,96 ($\text{C}_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 45,84 ($\text{C}_{\text{en}}(\text{CH}_2)$), δ 19,07 ($\text{C}_{\text{tol}}(\text{CH}_3)$).

[Rh(C₅Me₅)(dmen)Cl](CF₃SO₃): ^1H NMR (500,10 MHz, ppm, CDCl_3) (két izomer): δ 5,93-6,03 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{NH})$), δ 5,48-5,58 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{NH})$), δ 3,42-3,53 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{NH})$), δ 2,903 (d, $J = 6,28$ Hz, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_3)$), δ 2,84-2,88 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_2)$), δ 2,76-2,82 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_2)$), δ 2,737 (d, $J = 5,73$ Hz, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_3)$), δ 2,657 (d, $J = 5,92$ Hz, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_3)$), δ 2,46-2,51 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_2)$), δ 2,27-2,39 (m, $\text{H}_{\text{dmen}}(\text{CH}_2)$), δ 1,748 (s, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$), δ 1,728 (s, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Rh(C₅Me₅)(tmeda)Cl](CF₃SO₃): ^1H NMR (500,10 MHz, ppm, CDCl_3): δ 3,17 (s, 6 H, $\text{H}_{\text{tmeda}}(\text{CH}_3)$), δ 2,82 (s, 6 H, $\text{H}_{\text{tmeda}}(\text{CH}_3)$), δ 2,80-2,88 (m, 2 H, $\text{H}_{\text{tmeda}}(\text{CH}_2)$), δ 2,62-2,68 (m, 2 H, $\text{H}_{\text{tmeda}}(\text{CH}_2)$), δ 1,604 (s, 15 H, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Rh(C₅Me₅)(pin)Cl]Cl: ^1H NMR (500,10 MHz, ppm, CDCl_3) δ 8,710 (d, $J = 3,93$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{pin}}(6)$), δ 8,024 (t, $J = 7,39$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{pin}}(5)$), δ 7,623 (t, $J = 6,21$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{pin}}(4)$), δ 7,574 (d, $J = 7,28$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{pin}}(3)$), δ 4,361 (d, $J = 8,73$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{pin}}(7)$), δ 1,766 (s, 15 H, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Rh(C₅Me₅)(phen)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 9,390 (d, $J = 5,08$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 8,868 (d, $J = 8,21$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 8,237 (s, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 8,192 (dd, $J = 8,21$ Hz; 5,16 Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 1,807 (s, 15 H, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 153,42 ($\text{C}_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 146,77 ($\text{C}_{\text{phen}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 140,47 ($\text{C}_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 132,23 ($\text{C}_{\text{phen}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 128,97 ($\text{C}_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 128,12 ($\text{C}_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 98,97 ($\text{C}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{C}_5)$), δ 8,99 ($\text{C}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Ru(Cym)(phen)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 9,832 (d, $J = 5,25$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 8,831 (d, $J = 8,23$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 8,205 (s, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 8,015 (dd, $J = 8,23$ Hz; 5,27 Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 6,222 (d, $J = 6,38$ Hz, 2 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(3\&5)$), δ 5,998 (d, $J = 6,37$ Hz, 2 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(2\&6)$), δ 2,659 (h, $J = 6,91$ Hz, 1 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(7)$), δ 2,266 (s, 3 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(10)$), δ 0,988 (d, $J = 6,92$ Hz, 6 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(8\&9)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 156,86 ($\text{C}_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 147,17 ($\text{C}_{\text{phen}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 140,05 ($\text{C}_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 132,19 ($\text{C}_{\text{phen}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 128,78 ($\text{C}_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 127,61 ($\text{C}_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 106,32 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(1)$), δ 104,93 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(4)$), δ 87,48 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(3\&5)$), δ 85,39 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(2\&6)$), δ 32,35 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(7)$), δ 22,21 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(8\&9)$), δ 18,87 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(10)$).

[Ru(Tol)(phen)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 9,839 (d, $J = 5,26$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 8,814 (d, $J = 8,19$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 8,188 (s, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 8,085 (dd, $J = 8,22$ Hz; 5,26 Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 6,325 (t, $J = 6,06$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 6,004 (d, $J = 6,19$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 5,795 (t, $J = 5,695$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{tol}}(4)$), δ 2,366 (s, 3 H, $\text{H}_{\text{tol}}(7)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 156,87 ($\text{C}_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 147,41 ($\text{C}_{\text{phen}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 139,99 ($\text{C}_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 132,16 ($\text{C}_{\text{phen}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 128,67 ($\text{C}_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 127,46 ($\text{C}_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 107,20 ($\text{C}_{\text{tol}}(1)$), δ 91,02 ($\text{C}_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 84,75 ($\text{C}_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 81,49 ($\text{C}_{\text{tol}}(4)$), δ 19,42 ($\text{C}_{\text{tol}}(7)$).

[Rh(C₅Me₅)(neo)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 8,676 (d, $J = 8,36$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(4\&7)$), δ 8,123 (s, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(5\&6)$), δ 8,020 (d, $J = 8,37$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(3\&8)$), δ 3,246 (s, 6 H, $\text{H}_{\text{neo}}(11\&12)$), δ 1,474 (s, 15 H, $\text{H}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 166,03 ($\text{C}_{\text{neo}}(2\&9)$), δ 147,76 ($\text{C}_{\text{neo}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 140,28 ($\text{C}_{\text{neo}}(4\&7)$), δ 130,34 ($\text{C}_{\text{neo}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 128,72 ($\text{C}_{\text{neo}}(5\&6)$), δ 127,58 ($\text{C}_{\text{neo}}(3\&8)$), δ 98,89 (d, $\text{C}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{C}_5)$), δ 27,84 ($\text{C}_{\text{neo}}(11\&12)$), δ 9,19 ($\text{C}_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Ru(Cym)(neo)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 8,611 (d, $J = 8,35$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(4\&7)$), δ 8,080 (s, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(5\&6)$), δ 7,997 (d, $J = 8,35$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(3\&8)$), δ 6,099 (d, $J = 6,19$ Hz, 2 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(3\&5)$), δ 5,929 (d, $J = 6,18$ Hz, 2 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(2\&6)$), δ 3,402 (s, 6 H, $\text{H}_{\text{neo}}(11\&12)$), δ 2,223 (s, 3 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(10)$), δ 2,070 (m, 1H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(7)$), δ 0,731 (d, $J = 6,77$ Hz, 6 H, $\text{H}_{p\text{-cym}}(8\&9)$). A neokuproinhoz tartozó csúcsok duplázódtak (csak kis mértékben látszódik egy másik csoport), mely a kloridionok metanolra való lecserelődésével magyarázható.

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 167,81 ($\text{C}_{\text{neo}}(2\&9)$), δ 147,90 ($\text{C}_{\text{neo}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 139,57 ($\text{C}_{\text{neo}}(4\&7)$), δ 130,19 ($\text{C}_{\text{neo}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 128,44 ($\text{C}_{\text{neo}}(5\&6)$), δ 127,56 ($\text{C}_{\text{neo}}(3\&8)$), δ 66,49 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(4)$), δ 64,10 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(1)$), δ 31,92 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(7)$), δ 28,66 ($\text{C}_{\text{neo}}(11\&12)$), δ 21,92 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(8\&9)$), δ 18,66 ($\text{C}_{p\text{-cym}}(10)$). A $\text{C}_{p\text{-cym}}(2\&6)$ és $\text{C}_{p\text{-cym}}(3\&5)$ csúcsok az oldószer jele alatt vannak.

[Ru(Tol)(neo)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 8,591 (d, $J = 8,35$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(4\&7)$), δ 8,050 (s, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(5\&6)$), δ 7,976 (d, $J = 8,36$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{neo}}(3\&8)$), δ 6,242 (t, $J = 6,01$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 5,875 (d, $J = 6,06$ Hz, 2 H, $\text{H}_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 5,398 (t, $J = 5,725$ Hz, 1 H, $\text{H}_{\text{tol}}(4)$), δ 3,403 (s, 6 H, $\text{H}_{\text{neo}}(11\&12)$), δ 2,280 (s, 3 H, $\text{H}_{\text{tol}}(7)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 167,55 ($\text{C}_{\text{neo}}(2\&9)$), δ 148,36 ($\text{C}_{\text{neo}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 139,59 ($\text{C}_{\text{neo}}(4\&7)$), δ 130,06 ($\text{C}_{\text{neo}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 128,34 ($\text{C}_{\text{neo}}(5\&6)$), δ 127,48 ($\text{C}_{\text{neo}}(3\&8)$), δ 110,14 ($\text{C}_{\text{tol}}(1)$), δ 92,39 ($\text{C}_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 84,42 ($\text{C}_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 79,43 ($\text{C}_{\text{tol}}(4)$), δ 28,63 ($\text{C}_{\text{neo}}(11\&12)$), δ 19,28 ($\text{C}_{\text{tol}}(7)$).

[Rh(C₅Me₅)(bpy)Cl]Cl: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 8,999 (d, J = 5,41 Hz, 2 H, H_{bpy}(3&3')), δ 8,561 (d, J = 8,07 Hz, 2 H, H_{bpy}(6&6')), δ 8,290 (t, J = 7,87 Hz, 2 H, H_{bpy}(4&4')), δ 7,872 (t, J = 6,58 Hz, 2 H, H_{bpy}(5&5')), δ 1,733 (s, 15 H, H_{C₅Me₅}(CH₃)),

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 155,95 (C_{bpy}(2&2')), δ 153,40 (C_{bpy}(6&6')), δ 141,68 (C_{bpy}(4&4')), δ 129,59 (C_{bpy}(5&5')), δ 124,99 (C_{bpy}(3&3')), δ 98,90 (C_{C₅Me₅}(C₅)), δ 8,86 (C_{C₅Me₅}(CH₃)).

[Ru(Cym)(bpy)Cl]Cl: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 9,474 (d, J = 5,15 Hz, 2 H, H_{bpy}(3&3')), δ 8,504 (d, J = 8,05 Hz, 2 H, H_{bpy}(6&6')), δ 8,239 (t, J = 7,87 Hz, 2 H, H_{bpy}(4&4')), δ 7,762 (t, J = 6,625 Hz, 2 H, H_{bpy}(5&5')), δ 6,111 (d, J = 6,35 Hz, 2 H, H_{p-cym}(3&5)), δ 5,860 (d, J = 6,33 Hz, 2 H, H_{p-cym}(2&6)), δ 2,638 (m, J = 6,90 Hz, 1 H, H_{p-cym}(7)), δ 2,274 (s, 3 H, H_{p-cym}(10)), δ 1,046 (d, J = 6,93 Hz, 6 H, H_{p-cym}(8&9)).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 156,88 (C_{bpy}(6&6')), δ 156,38 (C_{bpy}(2&2')), δ 141,19 (C_{bpy}(4&4')), δ 128,90 (C_{bpy}(5&5')), δ 124,97 (C_{bpy}(3&3')), δ 106,07 (C_{p-cym}(1)), δ 105,86 (C_{p-cym}(4)), δ 88,23 (C_{p-cym}(3&5)), δ 85,54 (C_{p-cym}(2&6)), δ 32,26 (C_{p-cym}(7)), δ 22,26 (C_{p-cym}(8&9)), δ 18,95 (C_{p-cym}(10)).

[Ru(Tol)(bpy)Cl]Cl: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 9,481 (d, J = 5,64 Hz, 2 H, H_{bpy}(3&3')), δ 8,487 (d, J = 5,66 Hz, 2 H, H_{bpy}(6&6')), δ 8,226 (t, J = 7,88 Hz, 2 H, H_{bpy}(4&4')), δ 7,743 (t, J = 6,65 Hz, 2 H, H_{bpy}(5&5')), δ 6,212 (t, J = 6,09 Hz, 2 H, H_{tol}(3&5)), δ 5,876 (d, J = 6,22 Hz, 2 H, H_{tol}(2&6)), δ 5,778 (t, J = 5,715 Hz, 1 H, H_{tol}(4)), δ 2,331 (s, 3 H, H_{tol}(7)).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 156,87 (C_{bpy}(6&6')), δ 156,61 (C_{bpy}(2&2')), δ 141,14 (C_{bpy}(4&4')), δ 128,77 (C_{bpy}(5&5')), δ 124,86 (C_{bpy}(3&3')), δ 107,73 (C_{tol}(1)), δ 91,78 (C_{tol}(2&6)), δ 84,98 (C_{tol}(3&5)), δ 81,48 (C_{tol}(4)), δ 19,39 (C_{tol}(7)).

[Rh(C₅Me₅)(dmb)Cl]Cl: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 8,794 (d, J = 5,74 Hz, 2 H, H_{dmb}(6&6')), δ 8,413 (s, 2 H, H_{dmb}(3&3')), δ 7,684 (d, J = 5,71 Hz, 2 H, H_{dmb}(5&5')), δ 2,631 (s, 6 H, H_{dmb}(7&7')), δ 1,713 (s, 15 H, H_{C₅Me₅}(CH₃)).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 155,65 (C_{dmb}(2&2')), δ 154,59 (C_{dmb}(4&4')), δ 152,52 (C_{dmb}(6&6')), δ 130,24 (C_{dmb}(3&3')), δ 125,58 (C_{dmb}(5&5')), δ 98,57 (d, C_{C₅Me₅}(C₅)), δ 21,30 (C_{dmb}(7&7')), δ 8,85 (C_{C₅Me₅}(CH₃)).

[Ru(Cym)(dmb)Cl]Cl: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 9,260 (d, J = 5,85 Hz, 2 H, H_{dmb}(6&6')), δ 8,354 (s, 2 H, H_{dmb}(3&3')), δ 7,581 (d, J = 5,36 Hz, 2 H, H_{dmb}(5&5')), δ 6,058 (d, J = 6,36 Hz, 2 H, H_{p-cym}(3&5)), δ 5,803 (d, J = 6,34 Hz, 2 H, H_{p-cym}(2&6)), δ 2,622 (s, 6 H,

$H_{\text{dmb}}(7\&7')$, δ 2,598 (h, $J = 6,97$ Hz, 1 H, $H_{p\text{-cym}}(7)$), δ 2,257 (s, 3 H, $H_{p\text{-cym}}(10)$), δ 1,036 (d, $J = 6,92$ Hz, 6 H, $H_{p\text{-cym}}(8\&9)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 156,03 ($C_{\text{dmb}}(2\&2')$), δ 155,97 ($C_{\text{dmb}}(6\&6')$), δ 154,16 ($C_{\text{dmb}}(4\&4')$), δ 129,59 ($C_{\text{dmb}}(3\&3')$), δ 125,54 ($C_{\text{dmb}}(5\&5')$), δ 105,54 ($C_{p\text{-cym}}(1)$), δ 105,44 ($C_{p\text{-cym}}(4)$), δ 87,99 ($C_{p\text{-cym}}(3\&5)$), δ 85,18 ($C_{p\text{-cym}}(2\&6)$), δ 32,33 ($C_{p\text{-cym}}(7)$), δ 22,27 ($C_{p\text{-cym}}(8\&9)$), δ 21,21 ($C_{\text{dmb}}(7\&7')$), δ 18,96 ($C_{p\text{-cym}}(10)$).

[Ru(Tol)(dmb)Cl]Cl: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 9,268 (d, $J = 5,85$ Hz, 2 H, $H_{\text{dmb}}(6\&6')$), δ 8,339 (s, 2 H, $H_{\text{dmb}}(3\&3')$), δ 7,565 (d, $J = 5,80$ Hz, 2 H, $H_{\text{dmb}}(5\&5')$), δ 6,157 (t, $J = 6,05$ Hz, 2 H, $H_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 5,830 (d, $J = 6,18$ Hz, 2 H, $H_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 5,732 (t, $J = 5,70$ Hz, 1 H, $H_{\text{tol}}(4)$), δ 2,618 (s, 6 H, $H_{\text{dmb}}(7\&7')$), δ 2,302 (s, 3 H, $H_{\text{tol}}(7)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 156,24 ($C_{\text{dmb}}(2\&2')$), δ 155,97 ($C_{\text{dmb}}(6\&6')$), δ 154,09 ($C_{\text{dmb}}(4\&4')$), δ 129,44 ($C_{\text{dmb}}(3\&3')$), δ 125,45 ($C_{\text{dmb}}(5\&5')$), δ 107,03 ($C_{\text{tol}}(1)$), δ 91,35 ($C_{\text{tol}}(2\&6)$), δ 84,84 ($C_{\text{tol}}(3\&5)$), δ 81,30 ($C_{\text{tol}}(4)$), δ 21,19 ($C_{\text{dmb}}(7\&7')$), δ 19,34 ($C_{\text{tol}}(7)$).

[Rh(C₅Me₅)(phen)(mim)](CF₃SO₃)₂: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 9,682 (d, $J = 5,14$ Hz, 2 H, $H_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 8,957 (d, $J = 8,25$ Hz, 2 H, $H_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 8,337 (dd, $J = 8,24$ Hz; 5,17 Hz, 2 H, $H_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 8,247 (s, 2 H, $H_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 7,750 (s, 1 H, $H_{\text{mim}}(2)$), δ 7,060 (s, 1 H, $H_{\text{mim}}(4)$), δ 6,851 (s, 1 H, $H_{\text{mim}}(5)$), δ 3,555 (s, 3 H, $H_{\text{mim}}(\text{CH}_3)$), δ 1,770 (s, 15 H, $H_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 153,88 ($C_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 146,76 ($C_{\text{phen}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 141,46 ($C_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 140,39 ($C_{\text{mim}}(2)$), δ 132,54 ($C_{\text{phen}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 129,33 ($C_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 128,93 ($C_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 128,81 ($C_{\text{mim}}(4)$), δ 125,04 ($C_{\text{mim}}(5)$), δ 100,33 (d, $C_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{C}_5)$), δ 34,87 ($C_{\text{mim}}(\text{CH}_3)$), δ 8,29 ($C_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Rh(C₅Me₅)(phen)(pyr)](CF₃SO₃)₂: ^1H NMR (CD_3OD , ppm, 500,10 MHz): δ 9,762 (d, $J = 4,29$ Hz, 2 H, $H_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 8,991 (d, $J = 8,26$ Hz, 2 H, $H_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 8,493 (d, $J = 5,18$ Hz, 2 H, $H_{\text{pyr}}(2\&6)$), δ 8,398 (dd, $J = 8,24$ Hz; 5,20 Hz, 2 H, $H_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 8,254 (s, 2 H, $H_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 7,913 (t, $J = 7,69$ Hz, 1 H, $H_{\text{pyr}}(4)$), δ 7,460 (t, $J = 5,14$ Hz, 2 H, $H_{\text{pyr}}(3\&5)$), δ 1,746 (s, 15 H, $H_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

^{13}C NMR (CD_3OD , ppm, 125 MHz): δ 153,91 ($C_{\text{phen}}(2\&9)$), δ 152,59 ($C_{\text{pyr}}(2\&6)$), δ 146,89 ($C_{\text{phen}}(10\text{a}\&10\text{b})$), δ 141,89 ($C_{\text{phen}}(4\&7)$), δ 141,79 ($C_{\text{pyr}}(4)$), δ 132,63 ($C_{\text{phen}}(4\text{a}\&6\text{a})$), δ 129,48 ($C_{\text{phen}}(5\&6)$), δ 129,25 ($C_{\text{pyr}}(3\&5)$), δ 129,04 ($C_{\text{phen}}(3\&8)$), δ 100,93 (d, $C_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{C}_5)$), δ 34,87 ($C_{\text{mim}}(\text{CH}_3)$), δ 8,20 ($C_{\text{C}_5\text{Me}_5}(\text{CH}_3)$).

[Rh(C₅Me₅)(en)(mim)](CF₃SO₃)₂: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 8,077 (s, 1 H, H_{mim}(2)), δ 7,400 (s, 1 H, H_{mim}(4)), δ 7,185 (s, 1 H, H_{mim}(5)), δ 3,868 (s, 3 H, H_{mim}(CH₃)), δ 2,603 (m, 2 H, H_{en}(CH₂)), δ 2,271 (m, 2 H, H_{en}(CH₂)), δ 1,703 (s, 15 H, H_{C₅Me₅}(CH₃)).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 141,83 (C_{mim}(2)), δ 129,72 (C_{mim}(4)), δ 125,17 (C_{mim}(5)), δ 97,49 (d, C_{C₅Me₅}(C₅)), δ 46,17 (C_{en}(CH₂)), δ 35,05 (C_{mim}(CH₃)), δ 8,78 (C_{C₅Me₅}(CH₃)).

[Rh(C₅Me₅)(en)(pyr)](CF₃SO₃)₂: ¹H NMR (CD₃OD, ppm, 500,10 MHz): δ 8,692 (d, J = 4,98 Hz, 2 H, H_{pyr}(2&6)), δ 8,186 (tt, J = 7,70; 1,49 Hz, 1 H, H_{pyr}(4)), δ 7,755 (dd, J = 7,67; 6,40 Hz, 2 H, H_{pyr}(3&5)), δ 2,687 (m, 2 H, H_{en}(CH₂)), δ 2,300 (m, 2 H, H_{en}(CH₂)), δ 1,680 (s, 15 H, H_{C₅Me₅}(CH₃)).

¹³C NMR (CD₃OD, ppm, 125 MHz): δ 154,15 (C_{pyr}(2&6)), δ 141,56 (C_{pyr}(4)), δ 129,12 (C_{pyr}(3&5)), δ 98,14 (d, C_{C₅Me₅}(C₅)), δ 46,49 (C_{en}(CH₂)), δ 8,71 (C_{C₅Me₅}(CH₃)).

[Rh(C₅Me₅)(8HQH₁)(mim)](BPh₄): az egykristályok izolálása történt csak meg.

F2. táblázat: A naftokinon-típusú ligandumok rákellenes hatása félszendvics kationok nélkül és azok jelenlétében. {IC₅₀-értékek μM-ban, t = 96 h}

IC ₅₀ (μM)	A549	SW480	CH1/PA-1
phthH	210 ± 32	116 ± 37	129 ± 29
+ [Ru(Cym)(H ₂ O) ₃] ²⁺	47 ± 4	15 ± 3	31 ± 10
+ [Ru(Tol)(H ₂ O) ₃] ²⁺	>100	87 ± 6	>100
+ [Os(Cym)(H ₂ O) ₃] ²⁺	111 ± 23	81 ± 18	59 ± 12
+ [Rh(C ₅ Me ₅)(H ₂ O) ₃] ²⁺	>200	96 ± 17	~200
lawH	157 ± 13	247 ± 17	246 ± 24
+ [Ru(Cym)(H ₂ O) ₃] ²⁺	98 ± 24	86 ± 20	84 ± 15
ciszplatin	6,2 ± 1,2	3,3 ± 0,2	0,077 ± 0,006

F3. táblázat: A polipiridin típusú kétfogú ligandumok és félszendvics komplexeik *in vitro* citotoxicitása doxorubicinre érzékeny és rezisztens (MES-SA és MES-SA/Dx5), ill. ciszplatin-érzékeny és -rezisztens (A2780 és A2780cis) sejtvonalakon. {IC₅₀-értékek μM-ban, *t* = 72 h}

IC ₅₀ (μM)	MES-SA	MES-SA/Dx5	A2780	A2780cis
phen	4 ± 1	1,30 ± 0,01	0,14 ± 0,03	2,5 ± 0,2
+ [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺	8 ± 2	2,0 ± 0,9	0,28 ± 0,09	10 ± 3
+ [Ru(Tol)(H₂O)₃]²⁺	> 100	> 100	38 ± 12	> 100
+ [Ru(Cym)(H₂O)₃]²⁺	24 ± 12	> 100	11 ± 2	> 100
neo	0,37 ± 0,08	0,30 ± 0,04	0,13 ± 0,03	9 ± 2
+ [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺	1,4 ± 0,1	2,66 ± 0,09	0,4 ± 0,2	1,2 ± 0,3
+ [Ru(Tol)(H₂O)₃]²⁺	2,1 ± 0,2	4,2 ± 0,7	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,3
+ [Ru(Cym)(H₂O)₃]²⁺	4 ± 1	7 ± 1	2 ± 1	6 ± 4
bpy	66 ± 19	50 ± 15	2,4 ± 0,8	39 ± 20
+ [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺	> 100	69 ± 25	7 ± 3	> 100
+ [Ru(Tol)(H₂O)₃]²⁺	> 100	> 100	11,2 ± 0,9	> 100
+ [Ru(Cym)(H₂O)₃]²⁺	> 100	> 100	19 ± 5	> 100
dmb	46 ± 7	15 ± 2	0,13 ± 0,07	35 ± 6
+ [Rh(C₅Me₅)(H₂O)₃]²⁺	41 ± 6	16 ± 6	0,4 ± 0,2	57 ± 10
+ [Ru(Tol)(H₂O)₃]²⁺	> 100	> 100	~100	> 100
+ [Ru(Cym)(H₂O)₃]²⁺	63 ± 11	> 100	13 ± 3	57 ± 9
[Rh(C₅Me₅)Cl₂]₂	> 100	> 100	45 ± 6	> 100
[Ru(Tol)Cl₂]₂	> 100	> 100	> 100	> 100
[Ru(Cym)Cl₂]₂	> 100	> 100	> 100	> 100
doxorubicin	0,35 ± 0,06	3 ± 0,9	-	-
ciszplatin	-	-	2,5 ± 0,8	17 ± 8

F4. táblázat: Minimális gátló koncentráció (MIC) értékek (μM) Gram-pozitív *S. aureus* baktériumtörzseken.

MIC (μM)	<i>S. aureus</i> , érzékeny				<i>S. aureus</i> , rezisztens				
	pH =	5	6	7	8	5	6	7	8
mim	A baktériumok nem életképesek ezen a pH-n.	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
pyr		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
econ		0,78	0,19	25	12,5	6,25	3,125		
zol		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
phen		>100	>100	50	>100	>100	>100	>100	>100
8HQ		25	25	100	6,25	6,25	6,25		
[Rh(C₅Me₅)(phen)Cl]Cl		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+mim		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+pyr		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+econ		0,78	1,56	25	12,5	3,125	3,125		
[Rh(C₅Me₅)(8HQH₁)Cl]		12,5	12,5	50	12,5	12,5	12,5		
+mim		12,5	12,5	50	25	12,5	12,5		
+econ		0,39	0,39	12,5	6,25	3,125	3,125		
+zol		12,5	25	50	50	12,5	12,5		

F5. táblázat: MIC értékek (μM) Gram-negatív *E. coli* baktériumtörzseken.

MIC (μM)	<i>E. coli</i> , érzékeny				<i>E. coli</i> , rezisztens				
	pH=	5	6	7	8	5	6	7	8
mim		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
pyr		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
econ		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
zol		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
phen		50	50	50	25	50	50	50	50
8HQ		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
[Rh(C₅Me₅)(phen)Cl]Cl		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+mim		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+pyr		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+econ		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
[Rh(C₅Me₅)(8HQH₁)Cl]		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+mim		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
+econ		25	25	25	25	50	100	100	50
+zol		>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

F6. táblázat: Az [Rh(C₅Me₅)(phen)Cl]Cl komplex és vegyes ligandumú komplexeinek *in vitro* citotoxicitása érzékeny és doxorubicinre rezisztens (Colo205 és Colo320) sejtvonalakon. {IC₅₀-értékek μM -ban, $t = 72$ h}

IC ₅₀ (μM)	Colo205		Colo320		
	pH=	6,0	7,4	6,0	7,4
mim		>100	>100	>100	>100
pyr		>100	>100	>100	>100
econ		23 ± 2	18,2 ± 0,7	10 ± 2	11,4 ± 0,4
phen		>100	>100	>100	>100
[Rh(C₅Me₅)(phen)Cl]Cl		>100	>100	>100	>100
+mim		>100	>100	72 ± 3	>100
+pyr		>100	>100	84 ± 4	>100
+econ		15,5 ± 0,7	9 ± 2	14 ± 1	13 ± 2