



1949

Ambidentát peptidkonjugátumok kölcsönhatásának vizsgálata platinafémionokkal

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

Ozsváth András

Témavezető: Dr. Buglyó Péter, egyetemi docens

DEBRECENI EGYETEM
Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács
Kémia Tudományok Doktori Iskola
Debrecen, 2020

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Természettudományi és Informatikai Doktori Tanács Kémia Tudományok Doktori Iskola K/2 programja keretében készítettem a Debreceni Egyetem természettudományi/műszaki doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Nyilatkozom arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Debrecen, 2020. 10. 12.

a jelölt aláírása

Tanúsítom, hogy Ozsváth András doktorjelölt 2016 - 2020 között a fent megnevezett Doktori Iskola K/2 programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Nyilatkozom továbbá arról, hogy a tézisekben leírt eredmények nem képezik más PhD disszertáció részét.

Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2020. 10. 12.

a témavezető aláírása

Ambidentát peptidkonjugátumok kölcsönhatásának vizsgálata platinafémionokkal

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a Kémia tudományágban

Írta: **Ozsváth András** okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem Kémia Tudományok doktori iskolája
(Koordinációs és analitikai kémiai programja) keretében

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

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 20...

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni *Prof. Dr. Fábíán István* és *Prof. Dr. Gáspár Attila* volt és jelenlegi tanszékvezetőknek, hogy lehetővé tették számomra a doktori értekezés elkészítését az általuk vezetett Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszéken.

Hálásan köszönöm témavezetőmnek, *Dr. Buglyó Péter* egyetemi docensnek, hogy egyetemi hallgatóként megismertette velem a kémiai kutatás világát, és szakmai tudásával, tapasztalatával, valamint biztatásával mindvégig önzetlenül segítette és nagy odafigyeléssel irányította munkámat.

Nagyon köszönöm *Prof. Dr. Farkas Etelka* professor emeritának, hogy bármikor fordulhattam hozzá hasznos szakmai tanácsokért, ha egy általam megoldhatatlannak hitt problémába ütköztem.

Köszönettel tartozom *Prof. Dr. Sóvágó Imre* professor emeritusnak a tanácsaiért, valamint *Prof. Dr. Várnagy Katalin* egyetemi tanárnak támogatásáért, valamint az oktatásban nyújtott segítségéért.

Köszönet illeti a *Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport* minden volt és jelenlegi tagját, hogy munkám elvégzéséhez baráti légkört biztosítottak. Köszönöm *Dr. Földi-Bíró Lindának* és *Dr. Bihari Zsoltnak*, hogy hallgatóként bevezettek a kutatómunka gyakorlati fogásaiba, és *Högyéné Dr. Grenács Ágnes Juditnak* a tanácsokat, továbbá köszönöm *Diószegi Róbert* és *Kapitány Réka* volt szakdolgozó hallgatóknak, hogy munkám során a segítségemre voltak.

Köszönettel tartozom a „PhD szoba” valamennyi egykori és jelenlegi „lakójának” a jó hangulatú és értékes szakmai beszélgetésekért, tanácsokért. Külön ki szeretném emelni *Dr. Szunyog Györgyit*, *Kozsup Mátét*, *Lukács Mártont*, *Nagy Imrét* és *Nagy Sándort*, akik biztatásukkal, baráti és szakmai támogatásukkal végig mellettem álltak. Köszönet illeti *Bogdányi-Fekete Orsolyát* a technikai segítségért és *Nagyné Dombi Gizellát* a hivatalos ügyek intézésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm *Dr. Nagy Tibornak* és *Nagy Cynthiának* az ESI-MS, *Dr. Bényei Attilának* a röntgenkristallográfiás mérésekben, valamint *Dr. Bányai Istvánnak*, *Dr. Lihi Norbertnek* és *Dr. Timári Istvánnak* az NMR mérésekben nyújtott segítségüket.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm *szüleimnek*, *családomnak* és *barátaimnak*, hogy egyetemi és doktori képzésem alatt végig mellettem álltak és támogattak.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00004 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00008 számú projektek keretében az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával, valamint az OTKA támogatásával (K112317) valósult meg.

TARTALOMJEGYZÉK

1	Bevezetés.....	1
2	Irodalmi áttekintés.....	3
2.1	A vizsgált fémionok koordinációs kémiája	3
2.1.1	A vizsgált fémionok általános jellemzése	3
2.1.2	A félszendvics szerkezetű platinafémionok jellemzése	4
2.2	A hidroxámsavak jellemzése	5
2.3	A hidroxipiridinonok jellemzése	8
2.4	Aminosavak és peptidok koordinációs kémiája.....	11
2.5	Aminosavak és peptidok platinafém komplexei	13
2.6	Rákellenes hatású platinafémkomplexek.....	15
2.7	A rákellenes fémkomplexek szelektivitásának növelése.....	17
2.8	Peptidkonjugátumok, mint a szelektív célbajuttatás eszközei.....	20
3	Célkitűzés	23
4	Kísérleti körülmények és alkalmazott módszerek.....	24
4.1	Felhasznált vegyszerek	24
4.2	A ligandumok előállítása	26
4.2.1	Z-AlaAlaN(Me)OH (1)	26
4.2.2	AlaAlaN(Me)OH·TFA (2)	26
4.2.3	Z-AlaGlyGlyNHOH (3)	26
4.2.4	Z-AlaGlyGlyN(Me)OH (4).....	27
4.2.5	AlaGlyGlyNHOH·TFA (5).....	28
4.2.6	AlaGlyGlyN(Me)OH·TFA (6).....	28
4.2.7	Z-AlaGlyGlyHP-OBn (7).....	28
4.2.8	AlaGlyGlyHP·TFA (8)	29
4.2.9	Z-AlaAlaHP-OBn (9).....	29
4.2.10	AlaAlaHP·TFA (10).....	30
4.3	A $[Pd(H_2LH_{-1})Cl_2] \cdot 2H_2O$ előállítása (11)	30

4.4	pH-potenciometria	31
4.5	Mágneses-magrezonancia spektroszkópia (NMR)	34
4.6	Elektroporlasztásos ionizációjú tömegspektrometria (ESI-MS)	35
4.7	Röntgenkrisztallográfiás szerkezetvizsgálat	36
5	Eredmények és értelmezésük	37
5.1	A vizsgált peptidhidroxámsavak szintézise	37
5.2	A peptidhidroxámsavak sav-bázis tulajdonságai	37
5.3	A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ kölcsönhatása dipeptidhidroxámsavakkal	38
5.4	A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ kölcsönhatása tripeptidhidroxámsavakkal	43
5.5	Pd(II)-ionok kölcsönhatása peptidhidroxámsavakkal	50
5.5.1	Pd(II)-AlaGlyGlyNHOH rendszer	50
5.5.2	Pd(II)-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszer	54
5.5.3	Pd(II)-dipeptidhidroxámsav rendszerek	58
5.6	Peptid-hidroxipiridinon konjugátumok vizsgálata	63
5.6.1	A ligandumok szintézise	63
5.6.2	A Pd(II)-ionok kölcsönhatása DHP-vel	63
5.6.3	A peptid-hidroxipiridinon konjugátumok sav-bázis tulajdonságai	66
5.6.4	A tripeptid-hidroxipiridinon konjugátumok kölcsönhatása Pd(II)-ionnal	67
5.6.5	A dipeptid-hidroxipiridinon konjugátumok kölcsönhatása Pd(II)-ionnal	77
5.6.6	A peptid-hidroxipiridinon konjugátumok Co(III)- és Pd(II)- tartalmú, kétmagvú komplexei	81
6	Összefoglalás	87
7	Summary	90
8	Irodalomjegyzék	93
9	Függelék	105

AZ ÉRTEKEZÉSBN ELŐFORDULÓ RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

9-MeG	9-metil-guanin
Ala, A	L-alanin
Arg, R	L-arginin
Asn, N	L-aszparagin
Asp, D	L-aszparaginsav
bha	benzohidroxamát anion
Bn	benzilcsoport
COO	karboxilátion
COSY	kétdimenziós homokorrelációs spektroszkópia (Correlation Spectroscopy)
Cp*	pentametil-ciklopentadienil anion
CPP	penetráló peptid (Cell Penetrating Peptide)
Cys, C	L-cisztein
DFB	deszferrioxamin B
DHA	dihidroantracén
DHP	1,2-dimetil-3-hidroxi-piridin-4(1 <i>H</i>)-on
DMSO	dimetil-szulfoxid
DNS	dezoxiribonukleinsav
en	1,2-diamino-etán
ESI	elektroporlasztásos ionizáció (Electro Spray Ionisation)
Et	etilcsoport
Et ₂ O	dietil-éter
EtOAc	etil-acetát
Gln, Q	L-glutamin
Gly, G	glicin
HAT	hiszton acetiltranszferáz enzim
HDAC	hiszton deacetiláz enzim
His, H	hisztidin

HN(Me)OH	N-metil-hidroxilamin
IC ₅₀	a maximális inhibíciós koncentráció fele
KP1019	[HInd] <i>transz</i> -[RuCl ₄ (Ind) ₂]; Ind = indazol
Lys, K	L-lizin
Mal	3-hidroxi-2-metil-4 <i>H</i> -pirán-4-on
MALDI	mátrix segített lézer deszorpció/ionizáció (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation)
Me	metilcsoport
MeOH	metanol
MS	tömegspektrometria (Mass Spectrometry)
NAMI-A	[HIm] <i>transz</i> -[RuCl ₄ (Im)(DMSO)]; Im = imidazol
N _{amid}	deprotonált amidcsoport
NH ₂	aminocsoport
N _{hidr.}	hidroxamát vagy hidroximát nitrogén
N _{im}	imidazol nitrogén
NMR	mágneses magrezonancia (Nuclear Magnetic Resonance)
N _{py}	piridin nitrogén
O _{hidr.}	hidroxamát oxigén
O _{karb.}	karbonil oxigén
<i>p</i> -cimol	1-metil-4-izopropil-benzol
PTA	1,3,5-triaza-7-foszfadamantán
SAHA	szuberoilanilid hidroxámsav
TFA	trifluorecetsav
THA	tetrahidroantracén
THF	tetrahidrofurán
TOF	repülési idő (Time Of Flight)
tpa	trisz-(2-metil-piridil)amin
tren	trisz-(2-amino-etil)amin
TSP	nátrium-trimetilszililpropionát
Tyr, Y	L-tirozin
Z	benziloxikarbonil védőcsoport

1 BEVEZETÉS

Napjainkban a különböző daganatos megbetegedések vezető halálozási oknak tekinthetők világszerte, továbbá a betegség hatásos kezelése komoly kihívást jelent az orvostudomány számára. Éppen ezért a mai kémiai, valamint élettudományi kutatások jelentős hányadának célja olyan szer, vagy eljárás kifejlesztése, aminek segítségével a betegek túlélési esélyei, valamint életminősége javítható.

A klinikai gyakorlatban évtizedek óta sikeresen alkalmazott fémtartalmú kemoterápiás szer a ciszplatin, melynek sejtosztódásgátló hatását először Rosenberg írta le 1965-ben. A ciszplatin mellett az utóbbi időkben további, ún. második generációs Pt(II)-komplexeket is kifejlesztettek és alkalmaznak kemoterápiás szerekként, úgymint például a karboplatint, vagy az oxaliplatint. Ezen szerek közös jellemzője azonban, hogy viszonylag kevés daganattípus ellen hatásosak, velük szemben legtöbbször sejtrezisztencia alakulhat ki, valamint a szelektivitás hiányából adódóan a normál sejteket is károsítják, így komoly mellékhatásaik vannak. Ezeken a fenti hátulütőkön többféleképpen is felülkerekedhetünk. Az egyik lehetőség, ha a komplex központi fémionját egy másik platinafémionra cseréljük. Ismert, hogy egyes Ru(III)-komplexek, mint például a KP1019 rákellenes hatásúak és jelenleg is a klinikai tesztelés fázisában vannak. Kimutatták azonban, hogy ezekben a vegyületekben a fémion fiziológiás körülmények között redukálódik, így a Ru(II) az aktív forma. Így újabb kutatások indultak félszendvics szerkezetű Ru(II)- ill. az azzal izoelektronos Rh(III)-komplexek bevonásával, így ezen fémionok komplexeinek alkalmazása jelenthet egyféle alternatívát a mai kemoterápiás szerekre.

Egy potenciálisan rákellenes hatású szer szelektivitása nagymértékben növelhető lehet, ha kihasználjuk a rákos és normál sejtek, szövetek tulajdonságai közötti különbségeket. Az egyik ilyen különbség, hogy a daganatos szövet alulfejlett érhálózattal rendelkezik, így a nem megfelelő vér- és oxigénellátottság miatt a tumor belsejében egy reduktív, oxigénhiányos (hipoxiás) állapot alakul ki. Ezt ún. hipoxia-aktivált szerekekkel célozhatjuk meg. Ilyen vegyületek lehetnek olyan Pt(II)-tartalmú komplexek, amelyben a várhatóan biológiailag aktív platinafémiont tartalmazó egységet, egy oktaéderes geometriájú, 4N donor ligandumot tartalmazó Co(III)-

komplexhez, mint egyfajta hordozóhoz kapcsoljuk. A daganatos sejtbe kerülve a redukív környezet hatására az inert Co(III)-komplex redukálódhat labilis Co(II)-kompleksszé, így disszociálhat róla a várhatóan rákellenes hatású Pt(II)-tartalmú egység. Egy ilyen, két fémion tartalmú komplex előállításához azonban egy olyan ambidentát ligandumra is szükség van, mely egyszerre képes mind a hard karakterű Co(III)-, mind pedig a szoft karakterű Pt(II)-ion megkötésére. Jól ismert, hogy a Pt(II) megkötésére nitrogén donortomot tartalmazó ligandumok lehetnek megfelelők, például egyszerű oligopeptidek, melyek az amino- és amidcsoportjaik nitrogénjeivel alakítanak ki nagy stabilitású, síknégyzetes komplexet a fémionnal. Ugyanakkor az oktaédes geometriájú, inert Co(III)-komplexek hat koordinációs helyéből négyet egy négyfogú 4N-donor ligandum foglalhat el, és a fémion koordinációs szféráját valamilyen kelátképző oxigéndonor ligandum telítheti. Mivel ez utóbbi (O,O)-donor egység felszabadulhat a redukció okozta gyors disszociáció által, így a várható hatás tovább lehet növelhető, ha az (O,O) kelátor vegyület önmagában is rendelkezik rákellenes hatással, ezért egyes hidroxámsav, illetve piridinon származékok alkalmasak lehetnek erre a célra. Mindezekből következően, egy hidroxámsav, vagy piridinon egységet tartalmazó peptidkonjugátum megfelelő jelölt lehet várhatóan hipoxia-aktivált potenciálisan rákellenes hatású készítmény előállítására. Mivel ezen előállítani kívánt vegyületek a későbbi biológiai vizsgálatok során oldatfázisban kerülnek alkalmazásra, szükséges ismernünk az oldatban jelenlévő részecskék összetételét, stabilitását, valamint szerkezetét is, ami segíthet a szerkezet-hatás összefüggés felderítésében.

Doktori dolgozatomban egyes peptidkonjugátumok szintézisével, valamint ezen vegyületek félszendvics szerkezetű $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$, ill. a Pt(II) modelljeként szolgáló, ugyancsak síknégyzetes komplexek kialakítására képes Pd(II)-ionnal alkotott komplexeinek döntően oldatbeli jellemzésével kapcsolatos eredményeket foglaltam össze.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A vizsgált fémionok koordinációs kémiája

2.1.1 A vizsgált fémionok általános jellemzése

A **ruténium** vegyértékelektronszerkezete $4d^65s^2$, vegyületeiben az oxidációs száma -2 és $+8$ között változhat. Jellemzően $+5$ -ös vagy annál nagyobb oxidációs állapotban oxoanionokat képez, míg $+2$ - $+4$ -es oxidációs állapotban kationos kémiát mutat. Vizes oldatban legjellemzőbb formája a $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ -ion ami többnyire kis spinszámú, oktaéderes komplexeket képez, főleg N-donor ligandumokkal. A Ru(III)-komplexek ligandumcsere sebessége széles időskálát ölelhet fel (s – év). A d^6 elektronkonfigurációjú, oktaéderes, kis spinszámú Ru(II)-vegyületek általában valamilyen aromás ligandummal stabilizálhatók.¹

A **ródiium** vegyértékelektronszerkezete $4d^75s^2$, oxidációs száma -3 és $+6$ között változhat. Legstabilabb oxidációs állapotai a $+1$ és $+3$, de ismertek Rh(IV) vegyületek is mint például a hexafluorido-komplexe. A Rh(I)-, valamint Rh(III)-ionok kationos kémiát mutatnak, de a két forma közül a legfontosabb a Rh(III), ami oktaéderes, kis spinszámú diamágneses komplexeket képez. Ez a d^6 elektronszerkezetű ion izoelektronos a Ru(II)-vel és egyértelműen szoft karaktert mutat, mivel N-, P- és S-donor ligandumokkal alkot stabil komplexet.²

A **palládium** vegyértékelektronszerkezetét $4d^{10}$ formában írhatjuk fel, vegyületeiben a nagyon kevés $+4$ -es oxidációs állapotú formát kivéve szinte kizárólag $+2$ -es oxidációs számmal szerepel. A d^8 elektronszerkezetű Pd(II)-ion koordinációs kémiai tulajdonságait tekintve nagymértékben hasonlít a Pt(II)-ionhoz: mindkét fémion síknégyszetes, kis spinszámú, diamágneses komplexek kialakítására képes, elsősorban szoft karakterű N- és S-donor ligandumokkal.³ Jelentős különbség azonban a két fémion között, hogy míg a Pt(II) meglehetősen inert komplexeket képez, addig a Pd(II) ligandumszubsztitúciós folyamatai mintegy 4-5 nagyságrenddel gyorsabban játszódnak le.³⁻⁴ Ennek köszönhetően a Pd(II)-iont a Pt(II) labilisabb, könnyebben vizsgálható modelljeként tekinthetjük.⁴⁻⁵

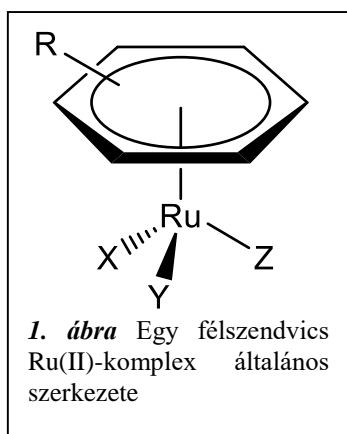
A $3d$ -elemek közé tartozó **kobalt** elektronszerkezete $3d^74s^2$. Leggyakoribb oxidációs állapotai a $+2$ és $+3$. A d^7 elektronszerkezetű Co(II) legtöbbször labilis, oktaéderes

komplexeit képez, melyek színe általában a rózsaszíntől az ibolyáig változhat, ugyanakkor tetraédres komplexei is gyakoriak melyek többnyire kék színűek. A Co(II)-vel szemben a Co(III)-nak szinte kizárólag oktaédres, kis spinszámú komplexei léteznek, melyek meglehetősen inertek.²

2.1.2 A félszendvics szerkezetű platinafémionok jellemzése

A d^6 vegyértékelektronszerkezetű Ru(II)-, illetve a Rh(III)-ionoknak fontos származékai a félszendvics szerkezetű, fémorganikus komplexek. Ezekben a vegyületekben az oktaédres geometriájú fémion három, faciális helyzetben lévő koordinációs helyét valamilyen semleges arén, vagy negatív töltéssel rendelkező arenil ligandum foglalhatja el. Egy öttagú aromás gyűrű kötődése (pl. ciklopentadienil anion és származékai) esetén öt, míg hattagú (pl. benzol és származékai) esetén hat egymással egyenértékű fém-szén kötés jön létre pentahapto (η^5) vagy hexahapto (η^6) kötésmóddal.⁶⁻⁷ Az így létrejött komplex ún. zongoraszék geometriájú, ahol a fémion szabadon maradt három koordinációs helyéhez egyéb ligandumok koordinálódhatnak. Az **1. ábrán** egy $[(\eta^6\text{-arén})\text{RuXYZ}]$ komplex általános szerkezetét mutatom be.

A fémionok hidrolízisének, valamint kloridionokkal való kölcsönhatásának – mint a



komplekképződéssel konkuráló folyamatoknak – megértése kulcsfontosságú ezen fémionok komplekképződése oldategyensúlyi leírásához. A munkám során alkalmazott $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ illetve $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ kationok hidrolitikus tulajdonságait, valamint kloridionnal való kölcsönhatását korábban már részletesen vizsgálták.⁸⁻¹⁰ Mindkét fémionban közös, hogy a hidrolízis során $[\text{M}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ összetételű hidroxidohidas kétmagvú részecske keletkezik (ahol $\text{M} = (\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}$, vagy $(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}$), melyek szerkezetét röntgendiffrakciós eredmények is igazolták.¹¹⁻¹³

A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ hidrolízise kloridionok távollétében $\text{pH} \sim 3$ fölött indul, míg kloridionok jelenlétében valamivel magasabb pH-n játszódik le a folyamatok

különböző vegyes klorido-hidroxido részecskék képződésén keresztül, ugyanakkor semleges és lúgos közegben mindkét esetben csak a $[\{(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ összetételű hidroxidokomplex van jelen.⁹⁻¹⁰

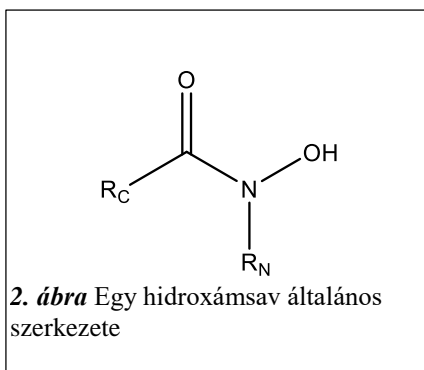
A $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ kation hidrolízisre való hajlama kisebb, mint a fent említett Ru(II)-ionnak, a hidrolízis kb 1,5 pH egységgel magasabb pH-n kezdődik, de pH ~ 7-re ezesetben is kialakul a $[\{(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$ összetételű hidrolízis termék.⁸ A 0,20 M KCl ill. 0,20 M KNO₃ ionerősség mellett képződött hidroxidokomplexek összetételét és képződési állandóit az **1. táblázatban** foglaltam össze.

1. táblázat: A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ kation hidrolízise közben képződő hidroxidokomplexek összetétele és stabilitási állandójának tízes alapú logaritmusai különböző ionerősség mellett ($\lg\beta$, $t = 25,0$ °C)^{8, 10}

	0,20 M KNO ₃	0,20 M KCl
$[\{(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}\}_2(\mu^2\text{-OH})_2]^{2+}$	–	-7,12(1)
$[\{(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$	-9,16(1)	-11,88(1)
$[\{(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}\}_2(\mu^2\text{-OH})_2]^{2+}$	-8,53(7)	-11,12(1)
$[\{(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}\}_2(\mu^2\text{-OH})_3]^+$	-14,26(4)	-19,01(1)

2.2 A hidroxámsavak jellemzése

A hidroxámsavak olyan vegyületek, melyek tartalmazzák a **2. ábrán** látható hidroxámsavcsoportot. Csoportosításuk történhet a molekulában található hidroxámsavcsoportok száma alapján (mono-, di-, trihidroxámsavak), illetve a nitrogénhez kapcsolódó szubsztituenstől függő rendűség alapján. Ha $R_N = \text{H}$, akkor

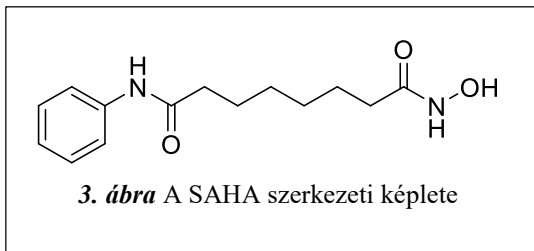


primer, míg ha $R_N =$ alkil- vagy arilcsoport, akkor szekunder hidroxámsavakról beszélünk.¹⁴⁻¹⁵ Vizes oldatban 8,5-9,4 közötti pK_s értékű egyértékű gyenge savként viselkednek, ahol az $-\text{OH}$ egység deprotonálódásával hidroxamát anion képződik.¹⁶ Ezen vegyületek jól ismert, kiváló

fémionmegkötők, melyek a fémionnal öttagú hidroxamát kelátot képeznek. A koordinálódó oxigén donoratombok hard tulajdonságánál fogva elsősorban hard fémionokkal képeznek stabil komplexeket, mint például Fe(III)- és Al(III)-ionokkal.¹⁷⁻¹⁸ A primer származékok hidroxamát komplexeiben a hidroxamát kelát deprotonálódhat, ami hidroximát kelát kialakulásához vezet.¹⁹ Ugyanakkor szoft karakterű fémionokkal a hidroxamát kelát kialakulásán túl a hidroxamát-N részt vehet egy második fémion megkötésében többmagvú komplexek képződése közben, ahogy azt kimutatták a $[Pd(en)]^{2+}$ (en = 1,2-diamino-etán) kation acetohidroxámsavval való kölcsönhatásának vizsgálata során.²⁰

A hidroxámsavak fontos szerepet játszanak biológiai rendszerekben, aminek oka elsősorban az erős komplexképző hajlamuk. Ez a vegyületcsalád alkotja – a katecholátok és α -hidroxikarboxilátok mellett – a sziderofórok egyik csoportját melyek a vas szállításáért és tárolásáért felelősek mikroorganizmusokban.²¹⁻²² Kiváló vasmegkötő képességét kihasználva, a természetes hidroxámsav alapú sziderofórok közül a deszferrioxamin-B-t (DFB) a szervezetben felhalmozódott Fe(III)-ionok eltávolítására, azaz a thalassemia kezelésére használják.²³⁻²⁴

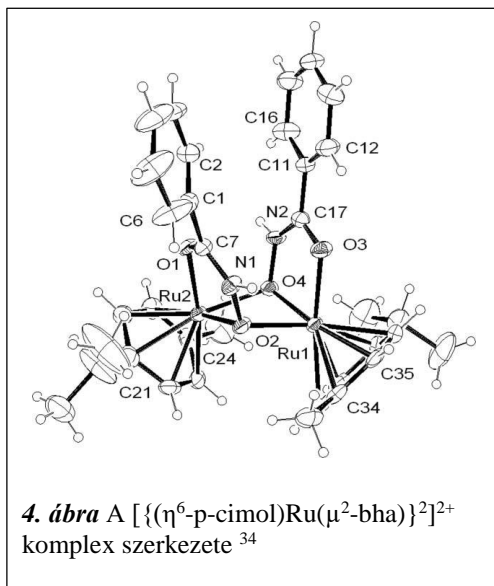
Egyes hidroxámsavak metalloenzim inhibitor hatást mutatnak. Hatásukat úgy fejtik ki, hogy koordinálódnak az enzim aktív centrumában lévő fémionhoz, így az elveszíti katalitikus aktivitását.²⁵ Kimutatták, hogy az acetohidroxámsav hatékonyan gátolja a Ni(II)-tartalmú ureázt,²⁵⁻²⁷ míg egyéb hidroxámsavak a Zn(II)-iont tartalmazó mátrix metalloproteázok működését akadályozzák meg.²⁸⁻²⁹ A hidroxámsavak legérdekesebb enzimgátló hatását azonban az ugyancsak Zn(II)-tartalmú hiszton deacetiláz (HDAC) enzimekhez köthetjük. Ezen enzimek kulcsfontosságú szerepet játszanak a sejtosztódás szabályozásában: a HDAC és hiszton acetiltranszferáz (HAT) enzimek katalizálják a hisztonok amino terminusán lévő lizin oldalláncok deacilezését és acilezését. Kimutatták, hogy a rákos sejtekben a HDAC enzimek túlműködése történik meg, így azok gátlásával a tumornövekedés visszaszorítható.³⁰ A HDAC inhibitorok egyik csoportját a hidroxámsav típusú vegyületek alkotják, melyek egyik



fontos képviselője a szuberoilamid hidroxámsav azaz a SAHA³¹ (3. ábra). Ez a vegyület a hidroxamátcsoportjával képes megkötni az enzim aktív centrumában

található Zn(II)-iont, míg aromás részével az enzim hidrofób zsebébe illeszkedik.^{30, 32} Klinikai vizsgálatok során megállapították, hogy a SAHA ciszplatinnal együtt alkalmazva ígéretes lehet a fej-nyaki daganatok ellen.³³ A hidroxámsavak kiváló fémionmegkötő képességének és rákellenes tulajdonságainak kapcsán korábban már vizsgálták ezen vegyületek kölcsönhatását platinafémionokkal. A félszendvics szerkezetű $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ kation stabil [ML] összetételű (ahol „L” a teljesen deprotonált ligandumot jelöli), hidroxamát komplexet képez az N-metil acetohidroxámsavval. A folyamat már pH = 2 alatt elkezdődik, majd egészen pH ~ 8-ig ez lesz a meghatározó részecske, és ezen pH felett indul a fémion hidrolízisével párhuzamosan a vegyes hidroxidokomplex képződése. Benzohidroxámsavval végzett szilárd fázisú vizsgálatok azt mutatták, hogy nem egymagvú, hanem kétmagvú, $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}(\mu^2\text{-bha})]_2^{2+}$ összetételű, dimer szerkezetű komplex keletkezik, amelyben a két fémionhoz egy-egy benzohidroxamát ligandum koordinálódik, ugyanakkor a hidroxamát oxigének hídligandumként kötnek össze két fémcentrumot, a 4. ábrán látható szerkezet szerint.³⁴

A szoft karakterű $[\text{Pd}(\text{en})]^{2+}$ ion egyszerű szekunder hidroxámsavakkal egyéb donortom hiányában egymagvú hidroxamát komplexet képez, mely a pH ~ 5-9 tartományban egyeduralkodó az oldatban. Ezen pH fölött azonban megtörténik a fémion teljes hidrolízise. A primer származék esetén szintén (O,O) koordinációval indul a komplexképződés, ugyanakkor ebben az



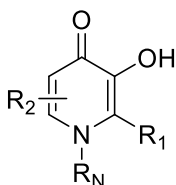
esetben a hidroximáto nitrogének részvételével két-, illetve hárommagvú komplexek is kialakulnak.²⁰

A piridin-2,5-dihidroxámsav esetén, ahol az egyik hidroxámsavcsoporttal kelátképző helyzetben egy piridin N-atom is található, merőben megváltozott a $[\text{Pd}(\text{en})]^{2+}$ -ion donoratompreferenciája. A komplexképződés jóval $\text{pH} = 2$ alatt indul egy (N_{Py} , $\text{N}_{\text{hidr.}}$) kötémódú komplex képződésével, majd 1:1 aránynál a pH emelésével bekövetkezik a második hidroxámsavcsoport deprotonálódása. A ligandum fémionfelesleget is képes megkötni, a második fémion a 2-es helyzetben lévő deprotonálódott hidroxamátcsoporthoz kötődik, míg egy harmadik fémion az 5-ös helyzetű hidroxámsavcsoporthoz koordinálódik, ami a pH emelésével egy újabb protonvesztést követően hidroximáto keláttá alakul.³⁵ A fentiekből tehát látható, hogy amennyiben a primer hidroxámsavcsoporttal kelátképző helyzetben N-atom található, akkor a fémion elsődleges kötőhelyei a N-atomok lesznek. Ennek következményeképp egyes félszendvics szerkezetű Ru(II)- vagy Rh(III)-, illetve síknégyszetes Pd(II)-tartalmú hidroxamát egységek felhasználhatók szupramolekuláris kalitka komplexek építőelemeiként.³⁶⁻³⁸

2.3 A hidroxipiridinonok jellemzése

A hidroxipiridinonok olyan hattagú N-heterociklusos ketonok, melyek hidroxilcsoportot is tartalmaznak. Legfontosabb képviselői a 3-hidroxipiridin-4-on származékok, melyek általános szerkezete az **5. ábrán** látható.

A vegyületcsalád egyik legegyszerűbb és legszélesebb körben vizsgált képviselője a 1,2-dimetil-3-hidroxipiridin-4-on (DHP), melynek szintézise maltol (3-hidroxipiridin-2-



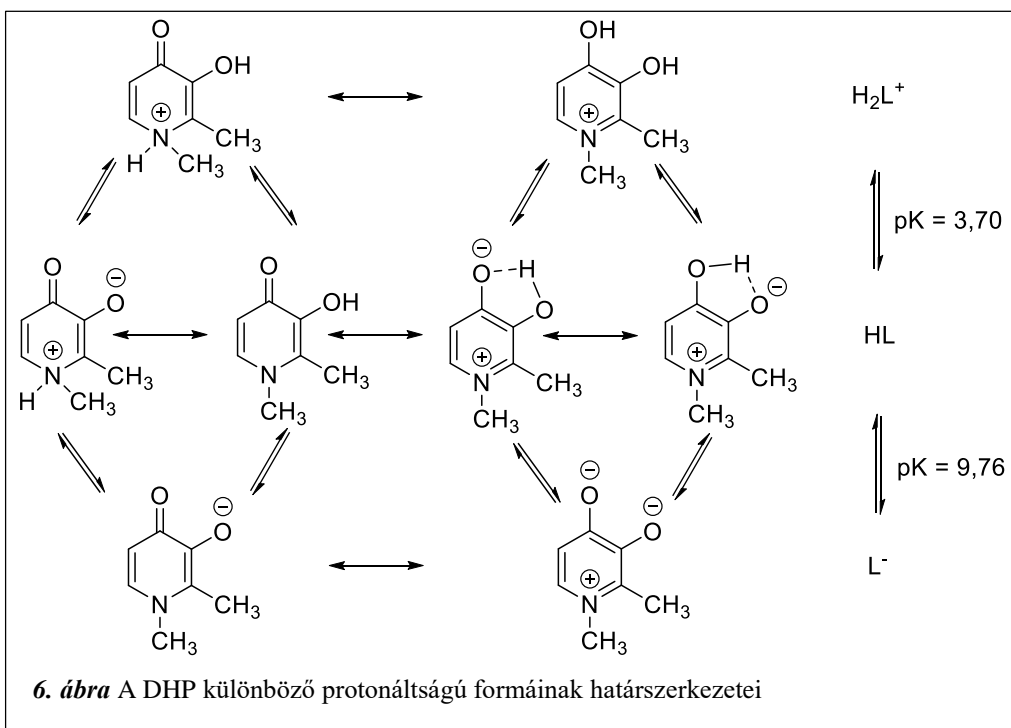
5. ábra Egy 3-hidroxipiridin-4-on általános szerkezete

metil-4*H*-pirán-4-on) és metil-amin reakciójában történik.³⁹ Ezen reakciósémát kihasználva megfelelő amin alkalmazásával olyan módosított piridinonszármazékok állíthatók elő, melyek építő elemei lehetnek egyéb N-szubsztituált piridinon-konjugátumoknak. Az egyik legelterjedtebb

módszer a piridinon funkcionálisálására a maltol és α,ω -diaminoalkánok reakciójából képződő N-aminoalkilpiridinon származékok szintézise, amik a szabad aminocsoportjaikon keresztül további kapcsolási reakcióba vihetők más molekulákkal.⁴⁰⁻⁴² Egy másik szintetikus stratégia lehet a kojisav hidroxi-metil csoportjának aktiválása, és átalakítása, ami első lépésben módosított piridon származékot eredményez, majd ezt a megfelelő aminnal reagáltatva kapjuk a kívánt szubsztituált piridinont.⁴³

A teljesen protonált DHP két lépésben deprotonálódik. Az első, $pK_s = 3,70$ értékkel jellemezhető folyamatban a piridinium egység veszíti el disszociálabilis hidrogénionját, miközben egy rezonanciastabilizált, erősen delokalizált π -elektronrendszerrel rendelkező HL forma keletkezik. Az így kialakult semleges molekula további protonvesztése viszonylag nagy pH-n következik be ($pK_s = 9,76$), ami a deprotonált hidroxilcsoportot tartalmazó piridinonát anion képződését eredményezi.³⁹ A különböző protonáltsági fokú DHP molekula határszerkezetei a **6. ábrán** láthatók.

Ezen vegyületek kiemelkedően jó fémionmegkötők, a legtöbb hard karakterű fémionnal (pl. Fe(III), Al(III), Mo(VI)) stabil öttagú (O,O) kelátot képeznek.⁴⁴ A hard



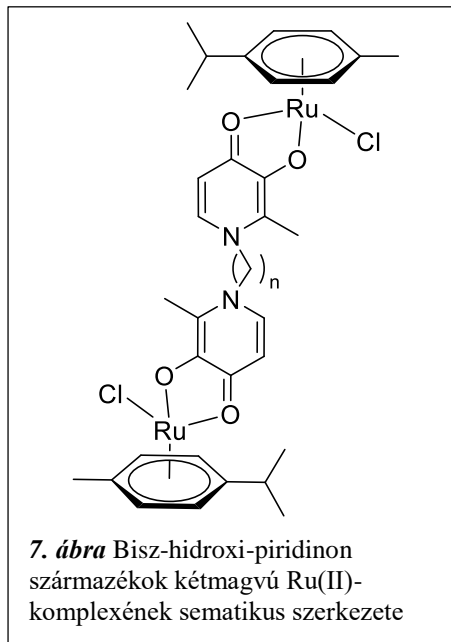
fémionokhoz való nagy affinitása révén az 1,2-dimetil-3-hidroxi-piridin-4-on-t elterjedten alkalmazzák a klinikai gyakorlatban vasfelhalmozódás kezelésére.⁴⁴⁻⁴⁵ Noha a DHP fiziológias körülmények között valamivel kisebb hatékonysággal köti meg a vasat, mint hidroxamát alapú DFB (pFe értékek rendre 19,4⁴⁶ és 26,3⁴⁷), az előbbi nagy előnye, hogy szájon át szedhető.⁴⁴

A DHP molekula módosításával változik annak vasmegkötő képessége, így az még hatásosabb terápiás szerré tehető. Santos és munkatársai olyan funkcionalizált, bi- és tripodális piridinoszármazékokat állítottak elő, melyek egyszerre két illetve három piridinonegységen keresztül képesek megkötni a Fe(III)- és Al(III)-ionokat. Mind a négyfogú, mind a hatfogú származékok nagyobb affinitást mutattak ezen fémionokhoz, mint önmagában a DHP, de a legjobb eredményt a nitrilotriecetsavval kapcsolt tripodális hidroxipiridinon konjugátumok mutatták, melyek koordinatívén telíteni tudják a fémionokat, nagy stabilitású, komplexet létrehozva. Ezen tulajdonságainál fogva ezek a vegyületek ígéretes jelöltek lehetnek későbbi klinikai alkalmazásra a β -thalassemia kezelésében.⁴⁰⁻⁴¹

Egyes hidroxipiridinon származékoknak rákellenes tulajdonságot is tulajdonítanak, ami részben az erős vasmegkötő képességükkel áll összefüggésben.⁴⁸⁻⁴⁹ Kimutatták, hogy a DHP eltávolítja a vasat a ribonukleotid reduktáz enzim aktív centrumából a K562 leukémia sejtekben, ami a DNS szintézis gátlásán keresztül a sejtsztódás megakadályozásához vezet,⁵⁰ valamint hasonló hatást idéz elő számos sejtvonalon a hiszton lizin demetiláz enzim gátlásával.⁵¹ Mindezekén túl, bizonyos hidroxipiridinon vegyületek cink(II)-megkötés révén hatékonyan gátolnak egyes HDAC enzimeket, ami szintén antitumor hatást biztosít.⁵²

A piridinon származékok rákellenes hatásából kiindulva történtek vizsgálatok ezen ligandumok platinafém komplexeivel, melyek várhatóan rákellenes tulajdonságúak lehetnek.^{44, 53-54} A vizsgált platinafémionok közül a félszendvics szerkezetű $[(\eta^6\text{-arén})\text{Ru}]^{2+}$ kation komplexei lehetnek a legígéretesebbek. Kutatócsoportunkban vizsgálták a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ oldatbeli kölcsönhatását DHP-val, megállapították, hogy ezen ligandum stabil komplexet képez a Ru(II)-vel ($\lg\beta_{\text{RuL}} = 11,86$), így a $[\text{RuL}]^+$ komplex széles pH-tartományban ($4 < \text{pH} < 8,5$) az uralkodó részecske.⁵⁵ Ennek ellenére az egymagvú $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{RuLCl}]$ komplex (ahol L = 1-propil-2-metil-3-

hidroxi-piridin-4-on) a biológiai tesztek során nem mutatott számottevő citotoxikus aktivitást, továbbá más vizsgálatok során megállapították, hogy az aminosavak konkurálnak a fémionért a piridinon ligandummal fiziológias körülmények között, ami magyarázatul szolgálhat a viszonylag magas IC_{50} értékre.⁵⁶⁻⁵⁷ Ugyanakkor a bisz-hidroxi-piridinon származékok kétmagvú Ru(II)-komplexei biztató eredményeket mutattak, a dodekán láncot tartalmazó ligandum $[(\eta^6-p\text{-cimol})RuLCl]_2$ komplexe (7. ábra, $n = 12$)



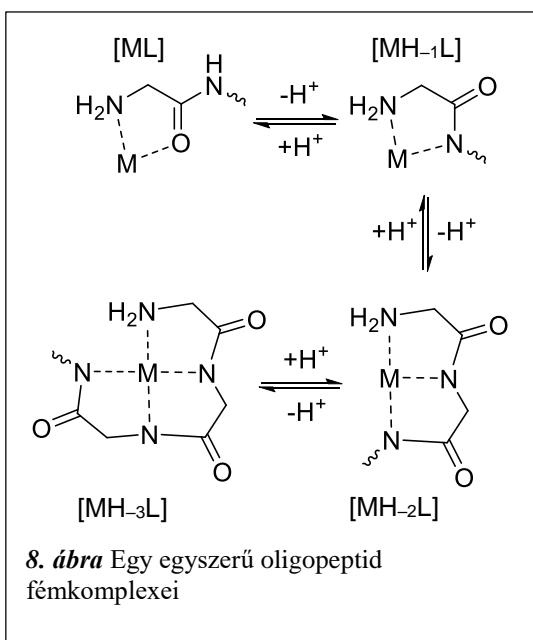
SW480 sejtvonallal szemben $0,29 \mu\text{M}$ -es IC_{50} értéket mutatott, ami egy nagyságrenddel kisebb, mint a ciszplatinnal kapott érték ($IC_{50} = 4,5 \mu\text{M}$).⁵⁴

2.4 Aminosavak és peptidok koordinációs kémiája

Az aminosavak és peptidok – mint fehérjefragmensek – fémionmegkötő képessége igen széleskörben kutatott terület a bioszervetlen kémiában. Ezekből a vizsgálatokból származó eredmények ugyanis nagymértékben segíthetik az egyes fémionokkal összefüggő betegségek (úgy mint prion-betegségek, fém mérgeзések) kialakulásának megértését. Ebből adódóan az utóbbi években számos közlemény jelent meg a témában.⁵⁸⁻⁶²

Az egyszerű aminosavak fiziológias pH-n ikerionos formában vannak jelen, ahol a karboxilcsoport deprotonált ($pK_{\text{karboxil}} \sim 2-2,5$), míg az aminocsoport protonált ($pK_{\text{ammónium}} \sim 9-10$) formában található. Komplexképző sajátásaikat tekintve az egyszerű, oldalláncban donoratomot nem tartalmazó aminosavak a legtöbb fémionnal az amino- és karboxilátcsoportok részvételével öttagú kelátot alakítanak ki.⁶³

Az aminosavakból felépülő peptidekben a terminális amino- és karboxilcsoportok egymástól távolabb helyezkednek el az aminosavakhoz képest, ami mind a sav-bázis, mind pedig a koordinációs kémiai tulajdonságaikat is megváltoztatja. Fontos megjegyezni, hogy az oldalláncban koordinálódni képes funkciós csoporttal rendelkező aminosavak jelenléte (Cys, His, Asp) nagymértékben módosítja a peptidek koordinációs kémiai viselkedését, elsősorban a fémion donoratom preferenciájától függően.⁵⁹ A továbbiakban az egyszerű, oldalláncban donoratomot nem tartalmazó peptidek tulajdonságait részletezem. A peptidekben a terminális karboxilcsoport bázicitása megnő ($pK_{\text{karboxil}} \sim 3$), míg a aminocsoporté lecsökken ($pK_{\text{amónium}} \sim 7-8$) az aminosavakhoz képest. Ennek oka, hogy míg az aminosavak esetén az ikerionos szerkezetben kialakulhat egy intramolekuláris hidrogénkötés a karboxilát- és ammóniumcsoportok között, addig a peptidekben erre nincs lehetőség ezen csoportok közötti nagyobb távolság miatt.⁶³ Ugyancsak sztérikus okokra vezethető vissza, hogy a peptidekben nem alakulhat ki aminosavszerű (NH_2 , COO) kötémód, így az elsődleges fémionmegkötő helyé a terminális aminocsoport válik, és a kialakult [ML] komplex ($\text{NH}_2, \text{O}_{\text{karb.}}$) kötémóddal rendelkezik (**8. ábra**). A peptidek amidcsoportjai meglehetősen nagy bázicitással rendelkeznek, így azok deprotonálódása a mérhető pH-tartományban nem történik meg, egyedül a GlyTyr peptid amidcsoportjának



deprotonálódási állandóját határozták meg eddig, $pK_{\text{NH}(\text{amid})} = 15,2$.⁶⁴ Ugyanakkor bizonyos fémionok jelentősen csökkentik az amidcsoport bázicitását, így elősegítve annak a mérhető pH-tartományba eső deprotonálódását és koordinációját. Ehhez a fémion indukált deprotonálódáshoz szükség van egy erősen koordinálódó ún. horgonycsoportra, melynek szerepét leggyakrabban a terminális aminocsoport tölti be. A folyamatot

olyan fémionok is elősegíthetik, melyek erős N-donor preferenciát mutatnak, illetve képesek síknégyzetes komplexek kialakítására (Cu(II), Ni(II), Pd(II), Au(III)). Dipeptidek esetén az [ML] komplex kialakulását követően a pH növelésével egy deprotonálódás kíséretében megtörténik az amidnitrogén koordinációja is [MH₁L] összetételű, (NH₂, N_{amid}, COO) kötésmódú, két ötagú kelátot tartalmazó komplex képződése közben (**8. ábra**). Nagyobb tagszámú peptideknél bekövetkezhet a második, illetve a harmadik amidnitrogén koordinációja is, további csatolt kelátú [MH₂L] és [MH₃L] összetételű komplexek kialakulása közben.

2.5 Aminosavak és peptidek platinafém komplexei

Az aminosavak és peptidek koordinációs kémiájának általános jellemzése után jelen fejezetben néhány példán keresztül mutatom be ezen ligandumcsalád platinafém komplexeivel kapcsolatos legfontosabb eredményeket.

A félszendvics szerkezetű platinafémionok az egyszerű α -aminosavakkal (NH₂, COO) kötésmódú komplexet képeznek, míg az oldalláncban donoratomot tartalmazó származékok háromfogú koordinációval képesek telíteni a fémionok koordinációs szféráját.⁶⁵⁻⁶⁷ A $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ és $[(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_6)\text{Ru}]^{2+}$ kationok di- ill. tripeptidészter komplexeinek előállításánál azt tapasztalták, hogy a reakciókörülményektől függően eltérő terméket tudtak izolálni. Míg egy ekvivalens bázis alkalmazásával a dipeptid észter egyfogú NH₂, vagy kétfogú (NH₂, O_{karb.}) koordinációjú komplexét kapták, addig két ekvivalens bázis alkalmazásával (NH₂, N_{amid}) kötésmódú termékhez jutottak. Hasonló kötésmódokat tapasztaltak a tripeptidészter komplexek esetén is, ám ebben az esetben a második amidnitrogén kötődésével nitrogén atomok telítik a fémion koordinációs szféráját.⁶⁵ Az aminosavak és peptidek félszendvics szerkezetű platinafémionnal alkotott komplexeinek a preparatív kémiában is jelentősége van, ugyanis aminosav metilészterből kiindulva fémion-segített folyamatban (templát reakció) előállíthatók kisebb tagszámú peptidek, vagy azok félszendvics szerkezetű platinafém komplexei.⁶⁵ Oldategyensúlyi eredmények ugyan nem találhatók az irodalomban az oldalláncban donoratomot nem tartalmazó peptidek és félszendvics szerkezetű platinafémionok közötti kölcsönhatásra vonatkozóan, de részletes

egyensúlyi vizsgálatok készültek a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ kation hisztidintartalmú peptidekkel alkotott komplexeiről.⁶⁸⁻⁷⁰ Ezen eredményekből kiderül, hogy az oldalláncbeli imidazolcsoport kötődése oly mértékben kedvezményezett a peptidváz koordinációjához képest, hogy ez a csoport lesz a horgony még a szabad aminoterminusú peptidek esetén is. Az egy hisztidint tartalmazó His-Ala peptid esetén hisztaminszerű (NH_2 , N_{im}) kötésmód alakulhat ki, ugyanakkor az Ala-His esetén kimutatták az amidcsoport koordinációját is (NH_2 , N_{amid} , N_{im}) kötésmódú komplex képződése közben. Hasonló eredményekre jutottak a HisAlaValAlaHisHisHis heptapeptid vizsgálata során is, ahol ekvimoláris oldatban az N-terminuson kötődik a fémion hisztamin szerű koordinációval, azonban fémionfelesleg esetén egy második Ru(II)-ion kötődése is bekövetkezik, (N_{im} , N_{amid}) kötésmóddal.⁷⁰

Szintén széles körben vizsgálták a síknégyzetes Pd(II)- és Pt(II)-ionok kölcsönhatását különböző peptidekkel oldat- és szilárd fázisban. A palládium(II)ion egyike azon fémionoknak, melyek rendkívüli mértékben képesek elősegíteni az amidcsoport deprotonálódását és koordinációját, aminek eredményeképp az amidnitrogén koordinációja már $\text{pH} \sim 2$ -n megtörténik, így több mint 12 nagyságrenddel lecsökkentve annak bázicitását.⁷¹⁻⁷³ Ezt erősítették meg az elmúlt évekből származó vizsgálatok eredményei, ahol a $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ -ion kölcsönhatását vizsgálták egyszerű di- tri- és tetrapeptidekkel. Megállapították, hogy a dipeptidekkel szekvenciától függetlenül háromfogú (NH_2 , N_{amid} , COO) kötésmódú komplex keletkezik, aminek képződése $\text{pH} = 2$ alatt indul az N-terminális rész felől, és a karboxilcsoport még protonált. A dipeptidek biszkomplexeket is képeznek a Pd(II)-ionnal, ám ezek összetételére és szerkezetére erősen hat a peptidszekvenciában lévő glicin helye. Amennyiben a glicin a C-terminuson helyezkedik el, úgy $[\text{PdH}_2\text{L}_2]^{2-}$ összetételű, (NH_2 , $\text{N}_{\text{amid}})_2$ kötésmódú komplex keletkezik, míg ha a glicin az N-terminuson található, akkor $[\text{PdH}_1\text{L}_2]^-$ összetételű komplex keletkezik, ahol az egyik ligandum háromfogú (NH_2 , N_{amid} , COO) kötésmóddal, míg a másik mindössze a terminális aminocsoportjával koordinálódik a fémionhoz. A tripeptidek hasonló komplexeket képeznek a Pd(II)-vel, ahol $\text{pH} = 6$ -ra a fémion koordinációs szféráját (NH_2 , N_{amid} , N_{amid} , COO) csoportok telítik. Ez a kötésmód képes visszaszorítani a vegyes hidroxido komplex képződését egészen $\text{pH} = 9$ -ig.⁷⁴ A különböző pozícióban β -alanint

tartalmazó peptidek Pd(II)-komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálatából kiderült, hogy a kialakult kelátok tagszámának jelentős hatása van a képződött komplexek stabilitására. Az (NH₂, N_{amid}, COO) kötésmódú [PdH₋₁L] komplexek képződési állandóit összevetve elmondható, hogy a Glyβ-Ala által kialakított, (5,6)-tagú csatolt kelátrendszer nagyobb stabilitást mutat a GlyGly-nel és β-AlaGly-nel képzett (5,5) és (6,5) tagú kelátokéval szemben, ugyanakkor a kelátok tagszámának nincs hatása a hidroxidokomplexek képződésére. A β-Ala tartalmú tripeptidek esetén az (5,6,5) tagú csatolt kelátrendszer bizonyult a legstabilabbnak.⁷⁵

A platina(II)ion peptidkomplexeiről a fémion meglehetősen inert természete miatt klasszikus egyensúlyi adatok nem állnak rendelkezésre az irodalomban, ellenben számos szilárd fázisú eredménnyel találkozhatunk. Ezek alapján elmondható, hogy a Pt(II)-ion nagyon hasonlóan viselkedik a Pd(II)-ionhoz, így a kétféle fémion szinte minden esetben azonos kötésmódú komplexeket képez.⁷⁶⁻⁷⁹ Ezek alapján szintén megállapítható, hogy a Pd(II)-ion jól modellezi az attól sokkal lassabb ligandumcsere reakciókkal jellemezhető Pt(II)-t.

2.6 Rákellenes hatású platinafémkomplexek

Az első klinikumban alkalmazott fémtartalmú kemoterápiás szer a cisz-diamminodiklorido-platina(II), azaz a ciszplatin volt, mely elsősorban a nemiszervek daganatai, fej- nyaki- és nem kissejtes tüdőrák ellen bizonyult hatásosnak.⁸⁰ Ezen készítmény sikerességét mi sem bizonyítja jobban, hogy napjainkban a hererák kezelésében 95 %-ban a ciszplatint alkalmazzák.⁸¹⁻⁸² A nagyszámú vizsgálatnak köszönhetően hatásmechanizmusa mára jól ismert: a sejtbe kerülve a labilis klorid ligandumok víz molekulára cserélődnek az intracelluláris térben lévő kisebb kloridkoncentráció hatására és az így kialakult, reaktívabb részecske kötődik a DNS bázisaihoz (jellemzően a guanin 7-es számú nitrogénjéhez), így konformációs változást létrehozva a DNS szerkezetében, ami megakadályozza a transzkripció folyamatokat.⁸²⁻⁸⁸ A ciszplatin ligandumjainak módosításával állították elő az ún. második generációs platinatartalmú komplexeket, mint például a karboplatint, oxaliplatint melyek hasonló elven fejtik ki hatásukat.⁸⁷ Ezek a klinikailag alkalmazott

szerek használatának hátránya, hogy velük szemben sejtrezisztencia alakulhat ki, továbbá egyáltalán nem szelektívek a rákos sejtekre, így az egészséges sejteket is elpusztítják, ami súlyos mellékhatások kialakulásához vezet.^{85, 89-90} Éppen ezért a mai napig is intenzív kutatások folynak egyéb (platina)fém komplexek kifejlesztésére, melyek várhatóan kevesebb mellékhatással érik el a kívánt hatást.

Az új síknégyzetes platina(II)-komplexek egyik típusa az interkaláción alapuló szerek, amelyekben a Pt(II)-ion koordinációs szféráját aromás N-donor ligandumok telítik. Ezek a pozitív töltésű részecskék aktív transzporttal jutnak a sejtbe, ahol az aromás ligandumok π - π *stacking* kölcsönhatást alakítanak ki a DNS bázisaival, ennek következtében a komplex beékelődik a bázisok közé.^{4, 87, 91-92}

A Pt(II)- és Pd(II)-ionok nagyon hasonló kémiai tulajdonsága okán történtek vizsgálatok a klinikailag alkalmazott platinakomplexek Pd(II)-analógjaira vonatkozóan is, viszont azok nem bizonyultak hatásosnak.⁹³ Ez annak köszönhető, hogy a Pd(II) nagyobb labilitása miatt kölcsönhatásba léphet fehérjékkel és más biomolekulákkal, így nem éri el a rákos sejtet.⁹⁴ Ugyanakkor kellően erősen kötődő ligandummal képzett inert Pd(II)-komplexek is alkalmas jelöltek lehetnek potenciális rákellenes szereként. Ilyen, aromás N-donor ligandumú komplexek elsősorban szintén interkaláció útján fejtik ki hatásukat, és egyes komplexek bizonyos sejtvonalakon a ciszplatinnál is nagyobb aktivitást mutattak *in vitro* és *in vivo*.^{4, 95-97}

A ruténiumvörös citotoxikus hatásának felismerése óta újabb eredmények bizonyították, hogy egyéb Ru(III)-komplexek, mint a *fac*-[RuCl₃(NH₃)₃] és a *cisz*-[RuCl₂(NH₃)₄]Cl is mutatnak rákellenes hatást.⁹⁸ További kutatások eredményeképp születtek meg az első Ru(III)-komplexek, melyek elértek a klinikai tesztelésig, nevezetesen a NAMI-A ([HIm]*transz*-[RuCl₄(Im)(DMSO)]); Im = imidazol) és a KP1019 ([HInd]*transz*-[RuCl₄(Ind)₂]; Ind = indazol).^{4, 99-101} Klinikai tesztek ugyancsak folynak a KP1019 nátrium só analógjával a BOLD-100 kódnevű komplexszel is,¹⁰² ami a GRP78 immunoglobint célozva antivirális hatást is mutat.¹⁰³ Kimutatták, hogy a szervezetbe kerülve ezen rákellenes hatású Ru(III)-komplexek redukálódnak, és a labilisabb Ru(II)-tartalmú forma lesz az aktív,¹⁰⁴⁻¹⁰⁵ így a kutatások előterébe kerültek félszendvics szerkezetű Ru(II)-komplexek, mely vegyületsaládról először Sadler és Dyson közölt eredményeket.¹⁰⁶⁻¹⁰⁷ Néhány általuk vizsgált [(η^6 -

arén)Ru(en)Cl]⁺ és vízoldható [(η⁶-arén)Ru(PTA)Cl₂] RAPTA (Ru-Arén-PTA, PTA = 1,3,5-triaza-7-foszfaadamantán) típusú komplex ígéretes *in vitro* és *in vivo* rákellenes hatást mutatnak.¹⁰⁸ Vizsgálták ezen komplexek kapcsán a szerkezet-hatás kapcsolatát és azt találták, hogy a [(η⁶-arén)Ru(en)Cl]⁺ (arén = benzol, *p*-cimol, bifenil, antracén, DHA, THA) komplexek elsősorban a DNS-hez kötődnek az egyfogú kloridion cseréje után, ugyanakkor π-π *stacking* kölcsönhatás is kialakul az aromás ligandum és a nukleinbázis között.¹⁰⁹ Ezzel szemben a RAPTA komplexek áttétképződés gátló hatása azok cisztein proteáz inhibitor hatásán alapszik, ahol a fémion az enzim aktív centrumában lévő cisztein oldalláncokhoz kötődik.¹¹⁰

2.7 A rákellenes fémkomplexek szelektivitásának növelése

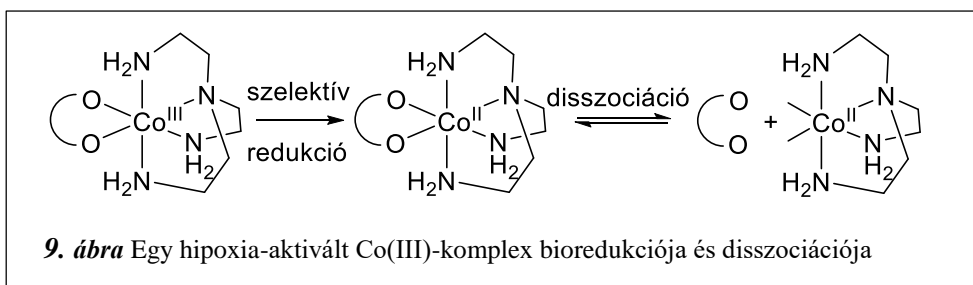
Az előző fejezetben bemutatott potenciálisan daganatellenes hatású szerek legnagyobb hátránya, hogy a ráksejteken kívül a normál sejteket is képesek elpusztítani, így (lehetséges) mellékhatásuk elsősorban a szelektivitás hiányából adódik. A szelektivitás növelésére több stratégia is alkalmazható, melyek mindegyike azon alapszik, hogy ráksejtek normál sejtekhez viszonyított fiziológiás eltéréseit célozzuk meg. Ilyen különbségek lehetnek a szelektíven a tumorsejtek által kifejezett gének és enzimek, a ráksejt felszínén kifejeződött transzmembrán proteinek, a daganatban fennálló hipoxiás állapot, valamint az ebből adódó kisebb extracelluláris pH.¹¹¹

A szelektivitás elérésére két fő útvonal használható. Az egyik lehetőség az ún. prodrug stratégia, mikor egy önmagában inaktív készítményt juttatunk be a szervezetbe, ami a rákos sejtekre jellemző körülmények között képes csak aktiválódni, így kizárólag a tumorban fejtvé ki hatását. A másik alternatíva lehet az, ha a molekula olyan egységet tartalmaz, ami elősegíti, hogy a rákos sejt nagyobb mennyiségben vegye fel a készítményt a normál sejtekhez képest, ezt a módszert nevezzük célzott sejtbe juttatásnak.¹¹²

Prodrug készítmények kiváló képviselői lehetnek egyes fémkomplexek, melyeknek tulajdonságai finomhangolhatók a fémion, valamint a ligandum helyes megválasztásával. A hatóanyag fémkomplexbe vitelének széleskörben vizsgált módja

az, amikor a fémion egyfajta „chaperon” azaz dajka szerepet tölt be, jelenlétével a hatóanyag anélkül jut el a sejtbe, hogy az közben más biomolekulával, vagy egyéb létfontosságú fémionnal kölcsönhatásba lépve inaktiválódna. E célra alkalmasak lehetnek kobalt- és platinatartalmú komplexek, ahol mindkét fémnek van két stabil oxidációs állapota (Co(II)/(III), Pt(II)/(IV)) és az egyes oxidációs állapotok eltérő kémiai tulajdonságokat mutatnak.

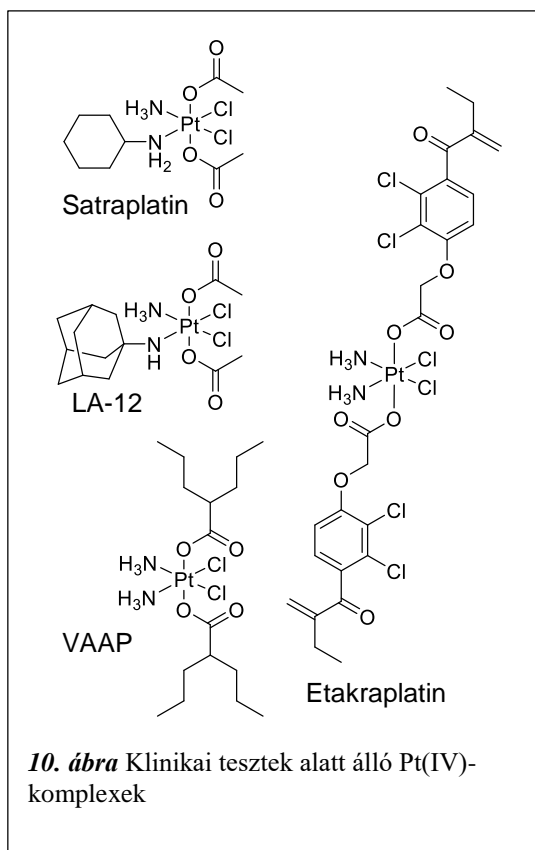
Hambley és munkatársai dolgoztak részletesen olyan Co(III)-komplexek előállításán, amelyek a biológiai hatásért felelős molekulát inaktív formában képes célbajuttatni.¹¹³⁻¹¹⁶ A Co(III), mint hordozó fémion azért lehet ígéretes jelölt erre a célra, mert nagymértékben eltér egymástól a Co(III)- és Co(II)-komplexek kinetikai tulajdonsága, nevezetesen, míg a Co(III)-ion inert komplexeket képez, addig a Co(II)-komplexek labilisak. Ebből adódóan Co(III)-tartalmú komplexekkel lehet a tumorsejtben fennálló hipoxiás, azaz oxigénhiányos redukzív környezetet megcélózni, ahol az inert Co(III)-komplex irreverzibilisen redukálódhat Co(II)-vé, így disszociálhat róla a biológiailag aktív ligandum, mely folyamat a **9. ábrán** látható.



Noha jelenleg még nem ismert a hipoxiás tumorokban fennálló pontos redoxpotenciál, egy tanulmány szerint annak -200 és -400 mV között kell lennie a sejtben található redoxi aktív molekulák redoxpotenciál értékei alapján.¹¹⁷ A $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}/[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ redoxi rendszer redoxpotenciálja N-donor ligandumokkal csökkenthető, így egy olyan oktaéderes komplex előállításával, ahol a fémion hat koordinációs helyéből négyet egy tripodális amin N-atomjai, míg kettőt a bejuttatni kívánt (O,O)-donorokkal rendelkező molekula foglal el. Részletes elektrokémiai vizsgálatok azt mutatták, hogy az így létrejött komplex redukciós potenciálja mind a 4N-donor, mind pedig az (O,O)-donor ligandum változtatásával finomhangolható.

Ezek alapján biológiai szempontból leginkább a tren és tpa 4N donor ligandumot tartalmazó Co(III)-komplexek lehetnek ígéretesek.¹¹⁸

Tumor hipoxia indukált redukciónal nemcsak egy antitumor hatású ligandum, hanem maga a rákellenes platinakomplex is felszabadítható a megfelelő Pt(IV)-komplexből. Ezek az inert, d^6 vegyértékelektronszerkezetű, oktaéderes komplexek a szervezetbe kerülve inertségüknél fogva nem lépnek kölcsönhatásba biomolekulákkal, azonban a rákos sejtekbe kerülve bioredukció révén átalakulnak síknégyzetes Pt(II)-komplexszé. Az oxidált forma ekvatoriális ligandumainak megfelelő megválasztásával kontrollálható a felszabaduló Pt(II)-komplex szerkezete, így az lehet ciszplatin vagy azzal analóg vegyületek, melyek elsősorban a ráksejt DNS-ét célozzák meg. A hipoxia-aktivált platina(IV)-komplexek redukcója irreverzibilis, a redukciónak potenciál leginkább az axiális ligandumoktól függ. Ennek következtében olyan származékok lehetnek esélyes jelöltek, melyek axiális pozícióban acetát ligandumot tartalmaznak, ugyanis CV vizsgálatok szerint ezek katódos csúcspotenciálja az $E_{pc} = -250$ – $(-350$



mV) tartományba esik.^{82, 119} Mivel a különböző Pt(IV)-komplexek, mint lehetséges rákellenes szerek felé az utóbbi időben igen nagy az érdeklődés, így nagyszámú közlemény található az irodalomban, ezért a következőkben néhány példát mutatok be a legígéretesebb vegyületekről.^{82, 120-122} Az egyik legígéretesebb Pt(IV)-vegyület a satraplatin, (**10. ábra**) mely a klinikai tesztek során hatásosnak bizonyult a nem kissejtes tüdőrákkal és néhány fej-nyaki daganattal szemben. Ugyanakkor ez a készítmény nem jutott túl a klinikai tesztek harmadik fázisán, mivel összességében nem

bizonyult hatásosabbnak a ciszplatinnál. Ezen vegyület egyik származéka, az LA-12, (**10. ábra**) amiben a ciklohexilamin ligandum adamantilaminnal van helyettesítve, szintén átesett a klinikai tesztek első fázisán.¹²³ A potenciálisan rákellenes hatású platina(IV)-komplexek hatása növelhető lehet, ha az axiális ligandumoknak is van valamilyen daganatellenes hatása. Az ilyen készítményeket hívják ún. kettős hatású platinakomplexeknek, amelyekben a bioredukció eredményeképp előáll a DNS károsító hatású Pt(II)-komplex, valamint az oxidált komplex axiális koordinációs helyeiről felszabadulnak a bioaktív ligandumok. Ez utóbbiaknak a keresztrezisztencia elkerülése érdekében nem a ráksejt DNS-e lesz a célpontja, hanem egyéb úton fejtik ki hatásukat. Ilyen komplexekre lehet példa a **10. ábrán** látható etakraplatin, mely az axiális pozícióban etakrinsavat tartalmaz, valamint a VAAP, ami valproinsav-tartalmú ciszplatín-analóg Pt(IV) komplex. Mindkét készítmény megnövekedett aktivitást mutat bizonyos ráksejteken a ciszplatínéhoz képest, előbbi glutation-S transzferáz inhibícióon keresztül akadályozza meg a ciszplatín kiáramlást a sejtből, míg az utóbbi HDAC inhibíció révén fejt ki hatását.¹²⁴⁻¹²⁵ A rákellenes szerek szelektivitása a prodrug stratégián túl olyan hatóanyagokkal is növelhető, melyek a molekuláris felismerés segítségével képesek megcélozni a daganatos sejtet, így célzottan a tumorba juttatva a készítményt.

2.8 Peptidkonjugátumok, mint a szelektív célbajuttatás eszközei

Egy várhatóan rákellenes hatású fémkomplex tervezése során egy peptid egység beépítése a ligandumba nemcsak egy másik potenciális donorkészletként szolgálhat egy fémionnak, hanem nagyban befolyásolja a készítmény biológiai hatását is.

A sejtbe való nagyobb akkumulálódást az ún. penetráló peptidok (Cell Penetrating Peptide, CPP) biztosíthatják, melyek olyan maximum 30 tagú peptidok, melyek a sejtmembránon átjutva hatékonyan képesek különböző gyógyszerhatóanyagokat eljuttatni a sejt belsejébe.¹²⁶⁻¹²⁸ Ilyenek lehetnek a kationos, argininban gazdag peptidok, mint a HIV-1 TAT fehérje 48-60 fragmense (GRKKRRQRRRPPQ)¹²⁶ vagy annak modellje az oktaarginin,¹²⁹ valamint egyéb amfifil peptidok¹³⁰. Más peptidok képesek célzottan olyan receptorokhoz kötődni, melyek a rákos sejtekben fejeződnek

ki nagyobb mértékben, ezáltal a peptid egység egyfajta szelektor szerepet tölt be. Ilyenek lehetnek például a 12 tagú ANHP, vagy a 21 tagú DIV1 peptidek, melyek közül az előbbi a mell-, petefészek- és vastagbélrák szöveteket, míg utóbbi a rákos nyirokcsomósejteket célozza meg.¹³¹ A legelőnyösebb hatás azonban a fenti két típusú vegyületcsalád ötvözetének tekinthető vegyületekhez köthető, melyek nemcsak szelektíven juttatják el a készítményt a ráksejtekhez, hanem segítik is annak átjutását a sejtmembránon.¹²⁷ Ezek többnyire valamilyen specifikus szekvenciát tartalmaznak, ami segíti a sejtfelszíni receptorokhoz történő szelektív kötődést. Ilyenek lehetnek például az $\alpha_v\beta_3$ és $\alpha_v\beta_5$ interginekhez kötődő ArgGlyAsp (RGD) és AsnGlyArg (NGR) szekvenciát tartalmazó peptidek,^{128, 131} illetve a HisAlaVal (HAV) motívumú peptidek, melyek a kadherin transzmembrán molekulákhoz kötődnek.¹³²

Ahhoz, hogy a peptidekhez valamilyen gyógyszerhatóanyagot – legyen az szerves molekula, vagy fémkomplex – kapcsolhassunk, kémiaiag funkcionalizálni kell azokat. Ez történhet a peptid N- és/vagy C-terminálisán, valamint az oldallánc funkciós csoportjain keresztül. Ezekre az átalakításokra a legáltalánosabb módszer a módosított gyantával kivitelezett szilárd fázisú peptidszintézis, ugyanakkor kisebb tagszámú peptidek származékképzésére a klasszikus oldatfázisú szintézis is használható.^{127, 133} A fémkomplexek peptidkonjugátumainak előállítását történhet amidkötés kialakításával, elsősorban az N- és C- terminuson, mely úttörőjeként Metzler-Nolte és kutatócsoportja számít, ugyanakkor szintén gyakran alkalmazott eljárás az 1,2,3-triazolgyűrűn keresztüli kapcsolás is.^{127, 134} Ezekon kívül egy másik, széles távlatokat kínáló módszer lehet fémorganikus (fél)szendvics komplexek kapcsolása valamilyen specifikus peptidszekvenciához, vagy teljes szendvics komplexek kialakítása a peptid aromás oldalláncain (pl. Tyr) keresztül.¹³⁵⁻¹³⁶

Mivel a CPP-k jelentősen megnövelik a rákellenes fémkomplex sejtfelvételét, számos tanulmány jelent meg ilyen peptidek platinakomplexeiről. Az első platina tartalmú peptidkonjugátumokat Kelland és munkatársai közölték 1996-ban, melyek képesek voltak a DNS adeninben gazdag részeihez kötődni.¹³⁷ Később több publikáció is megjelent olyan peptidkonjugátum komplexek előállításáról ahol oktaargininnal konjugálták a rákellenes hatású platinafémkomplexeiket. Ezek esetén noha nagyobb sejtfelvételt értek el, nem tapasztaltak nagyobb citotoxicitást a peptidrész nem

tartalmazó komplexekhez képest.¹²⁸⁻¹²⁹ Néhány alifás (N,N) keláton keresztül kapcsolt Pt(II)-tartalmú peptidkonjugátum esetén kismértékben megnövekedett hatást mutattak ki.¹³⁸ Ugyanakkor ismert egy igen biztató példa is, az $R(F_xR)_3$ szekvenciát tartalmazó peptid (ahol $R = D$ -arginin, $F_x = L$ -ciklohexilalalin) N-terminális β -diketon konjugátuma, amelyben az (O,O) donor egység egy *cis*-diamminoplatina(II) kationt koordinál. Ez a komplex a peptid kationos, és lipofil tulajdonságánál fogva képes behatolni a mitokondriumba, ahol apoptózist indukál.¹³⁹ Hasonlóan ígéretes jelölt lehet a buforin IIb *cis*-diamminoplatina(II)-komplexe, így ez is alkalmas további biológiai vizsgálatokra.¹⁴⁰

A szelektivitás növelése érdekében az első specifikus RGD és NGR szekvenciákat tartalmazó ciszplatin analóg Pt(IV)-komplexeket Lippard és munkatársai állították elő 2008-ban. Megállapították, hogy a RGD-szekvenciával konjugált komplex nagyobb citotoxicitást mutat a peptidet nem tartalmazó Pt(IV)-komplexhez képest.¹²¹

Sadler és munkatársai olyan $[(\eta^6-p\text{-cimol})Ru]^{2+}$ komplexeket állítottak elő, melyben a fémion két koordinációs helyét egy aromás (N,N)-donor ligandum foglalja el, míg a harmadik helyre egy RGD-konjugált piridinszármazék kötődik egyfogú koordinációval. Ezek a komplexek a $\alpha_v\beta_3$ receptorkötő peptidréznek köszönhetően szelektíven bejutottak a rákos sejtbe, majd látható fény besugárzásával nemcsak a $Ru-N_{py}$ kötés hasítása történt meg, hanem a komplex az aromás ligandumot is elvesztette, így a létrejött Ru(II)-komplex két guanin egységhez is képes volt kötődni.¹⁴¹

3 CÉLKITŰZÉS

A fenti irodalmi előzmények alapján célul tűztük ki olyan ambidentát ligandumok platinafém komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálatát, melyek alkalmasak lehetnek egy várhatóan hipoxia-aktivált, potenciálisan rákellenes hatású, kétfémes komplex előállítására. A vizsgált fémionok körébe a várhatóan rákellenes hatású, félszendvics szerkezetű $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ illetve $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ mellett a síknégyzetes komplexek kialakítására képes Pt(II) modelljeként szolgáló Pd(II)-ion tartozott.

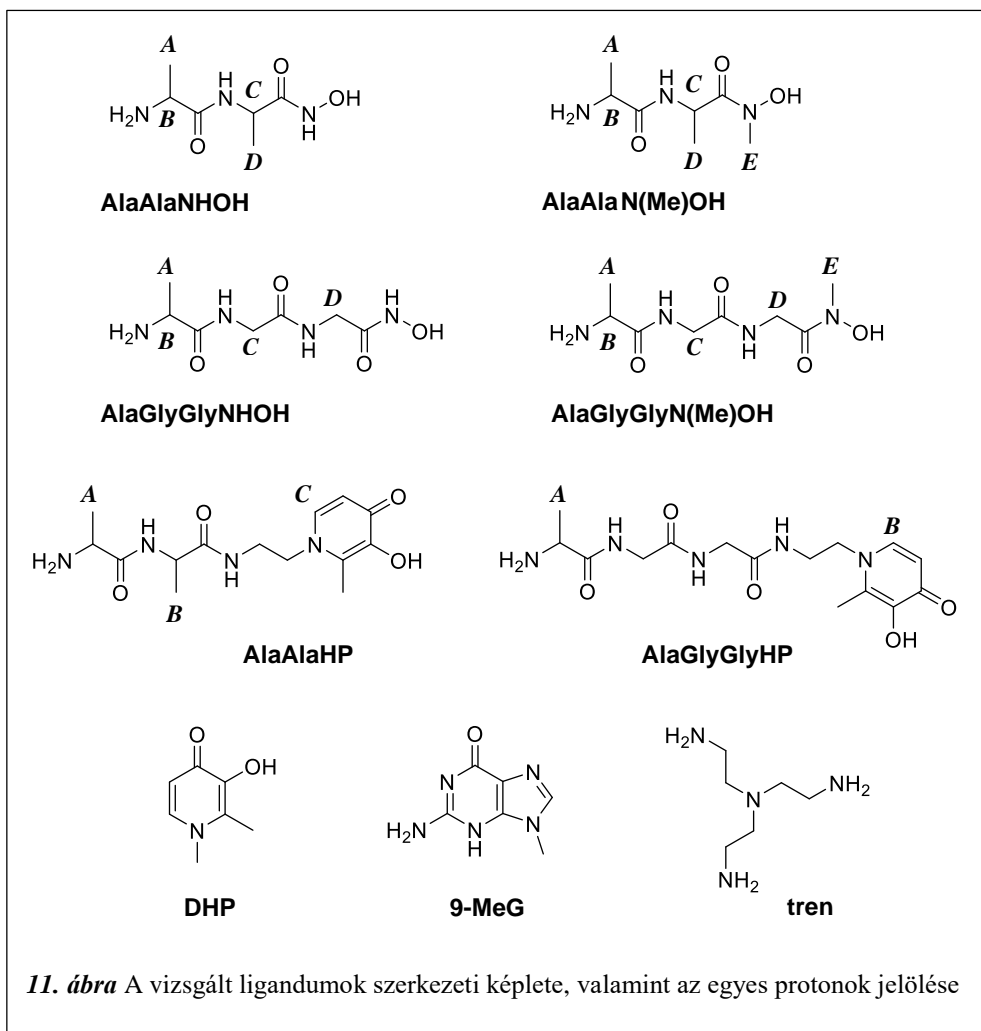
A vizsgálni kívánt ligandumok olyan peptidkonjugátumok voltak, melyek az oldalláncban donoratomot nem tartalmazó peptidváz mellett egy (O,O)-donor kelátképző hidroxámsavcsoportot, vagy hidroxipiridinon egységet is tartalmaztak. Kíváncsiak voltunk a vizsgált fémionok ezen ambidentát ligandumokkal szembeni donoratom preferenciáira, valamint a peptidlánc aminosav tagszámának változtatásával kívántuk felderíteni a molekulában rendelkezésre álló N-donorok számának hatását a képződő platinafém-komplexek összetételére és stabilitására vonatkozóan.

Az egyensúlyi vizsgálatokba a $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ iont is bevontuk, és vizsgáltuk a $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ - és Pd(II)-tartalmú rendszerekben kialakuló komplexek szerkezetét, stabilitását. Az így kapott eredmények birtokában lehetőségünk nyílt felderíteni azt, hogy egy majdani kétfémes Co/Pt(Pd) komplex milyen átalakulásokon mehet keresztül a szervezetbe kerülve, ezáltal lehetővé téve az esetleges biológiai hatásának megértését.

4 KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

4.1 Felhasznált vegyszerek

Valamennyi ligandum előállítását klasszikus, oldatfázisú szintézisekkel végeztük. A vizsgált ligandumok szerkezeti képlete az egyes hidrogének jelöléseivel együtt a **II. ábrán** láthatók. Az AlaAlaNH₂ dipeptidhidroxámsavat, valamint a piridinonkonjugátumok szintéziséhez szükséges 3-benziloxi-2-metil-4-piránt (Mal-OBn), és az 1-(2-aminoetil)-3-benziloxi-2-metil-piridin-4(1H)-on-dihidrokloridot (NH₂-Et-HP-OBn·2HCl) irodalmi receptek alapján állítottuk elő.^{42, 142-143} A szintézisekhez használt oldószereket a Molar szállította, melyeket irodalmi eljárások alapján tisztítottunk és vízmentesítettünk.¹⁴⁴ A peptidszármazékok előállításához használt Z-AlaAlaOMe-t, Z-AlaAlaOH-t és Z-AlaGlyGlyOH-t a Bachemtől (Svájc) szereztük be. A hidroxilamin-hidroklorid, N-metil-hidroxilamin-hidroklorid, nátrium-metoxid, N-metil-morfolin, klórhangyasav-etilészter, benzil-klorid, maltol és 1,2-diamino-etán a Sigma-Aldrich (Merck) termékei voltak. A katalitikus hidrogénezéshez használt Pd/C (10 %) katalizátort, valamint a Pd(II)-törzsoldatok elkészítésénél alkalmazott K₂[PdCl₄]-ot a Merck-től vásároltuk. A [(η⁶-p-cimol)Ru(μ²-Cl)Cl]₂ előállítását irodalmi recept alapján végeztük, Aldrich gyártmányú RuCl₃·xH₂O és Acros Organics-től vásárolt α-terpinén reakciójával.¹⁴⁵ A [(η⁵-Cp*)Rh(μ²-Cl)Cl]₂ dimert a Strem Chemicalstól szereztük be. A félszendvics-szerkezetű platinafémionok törzsoldatainak elkészítéséhez a kloridhidas dimereket sztöchiometrikus mennyiségű szilárd ezüst-nitráttal kloridmentesítettük, valamint a fémionok hidrolízisének visszaszorítása végett az oldatokhoz salétromsavat adtunk. A törzsoldatok pontos hatóanyag- és savtartalmát pH-potenciometriás titrálással határoztuk meg. A pH-potenciometriás mérésekhez mérőoldatként KOH-oldatot, az ionerősség beállításához pedig KNO₃- illetve KCl-oldatokat használtunk. Ezen oldatok elkészítését Molar gyártmányú szilárd sókból végeztük.



4.2 A ligandumok előállítása

4.2.1 Z-AlaAlaN(Me)OH (1)

Előzetesen vákuumban szárított *N*-metil-hidroxilamin-hidrokloridot (472 mg, 5,65 mmol) N₂ atmoszféra alatt feloldottam 0 °C-ra hűtött 10 ml *absz.* metanolban. Az oldathoz NaOMe-oldatot adtam (3,7 ml, 2,58 M), majd az így kapott csapadékos elegyhez hozzáadtam a Z-AlaAla-OMe-t (1,50 g, 4,86 mmol). A reakcióelegyet öt órán keresztül 0 °C-on kevertetem. A reakció végeztével a reakcióelegyet 8 ml 1 M sósavoldattal átsavanyítottam (pH ~ 2), majd a tiszta oldatot extraháltam 3×20 ml CH₂Cl₂-al. Az összegyűjtött szerves fázisok 0,05 M KOH-dal való extrakciója után (3×20 ml) az összegyűjtött vizes fázisokat 4 ml 1M sósavoldattal gyorsan átsavanyítva (pH ~ 2) extraháltam 3×20 ml CH₂Cl₂-al. Az összegyűjtött szerves fázisokat egy éjszakán át MgSO₄-on szárítottam, majd a szárítószer kiszűrése után az oldószert eltávolítva olajszerű anyagot kaptam, amit CH₂Cl₂ - Et₂O elegyből átkristályosítottam. A végtermék fehér színű, porszerű. Kitermelés: 0,64 g (41 %).

¹H NMR (360 MHz, DMSO-d₆/D₂O (δ_{TMS} = 0 ppm)) δ (ppm): 7,35 (5H, m, C₆H₅); 5,01 (2H, s, Ph-CH₂); 4,81 (1H, q, CH); 4,07 (1H, q, CH); 3,10 (3H, s, N-CH₃); 1,19 (6H, d, CH₃).

4.2.2 AlaAlaN(Me)OH·TFA (2)

1 (427 mg, 1,32 mmol) *absz.* metanolos oldatához (20 ml) hozzáadtam 131 mg Pd/C katalizátort (10 % (m/m)), majd 120 μl TFA-t (1,56 mmol). A reakcióelegyet 4 órán keresztül kb. 2 atm H₂ túlnyomás alatt, szobahőmérsékleten kevertetem. A redukció végeztével a katalizátort kiszűrtük, a szűrletet vákuumban bepároltam, majd a kapott olajszerű anyagot éterrel eldörzsölve szilárd anyaghoz jutottam. Kitermelés: 0,36 g (89 %).

¹H NMR (400 MHz, D₂O (δ_{D₂O} = 4,79 ppm)) δ (ppm): 4,97 (1H, q, CH); 4,11 (1H, q, CH); 3,27 (3H, s, N-CH₃); 1,55 (3H, d, CH₃); 1,38 (3H, d, CH₃).

4.2.3 Z-AlaGlyGlyNHOH (3)

Hidroxilamin-hidrokloridot (1,92 g; 27,62 mmol) feloldottam 20 ml *absz.* metanolban N₂ atmoszféra alatt, majd 0 °C-ra hűtöttem. Ehhez az oldathoz 1,55 g (27,62 mmol)

KOH pasztillát adtam, majd az elegyet 0 °C-on kevertetem 15 percig, mialatt fehér színű szilárd anyag (KCl) vált ki az oldatból. Egy másik lombikban feloldottam 3,11 g (9,22 mmol) Z-AlaGlyGly-OH-t 150 ml *absz.* THF-ben, majd az oldatot 0 °C-ra hűtöttem. Hozzáadtam 2,11 ml (22,17 mmol) klórhangyasav-etilésztert, majd 2,65 ml (24,10 mmol) N-metil-morfolint, és az elegyet 30 percig N₂ alatt 0 °C-on tartva kevertetem, mialatt az N-metil-morfolínium-klorid fehér csapadék formájában kivált az oldatból. A szabad hidroxilamint tartalmazó oldatot Schlenk-technikával egy háromnyakú lombikba szűrtem, míg a vegyes-savanhidridet tartalmazó oldatot egy csepegtetőölcsérbe szűrtem. Ezt az oldatot kb. 5 perc alatt csepegtetem a hidroxilamin-oldathoz, majd az opálos reakcióelegyet egy éjszakán át kevertetem, miközben az szobahőmérsékletűre melegedett. A reakció végeztével az oldószert rotációs vákuumbepárlással eltávolítottam, majd a visszamaradt sárgás olajat vízzel rázóttölésérbe mosva, etil-acetáttal extraháltam (5 x 100 ml). Az összegyűjtött szerves fázisokat MgSO₄-on szárítottam, majd kb. harmadára párolva, majd -20 °C-ra hűtve pelyhes, fehér anyag vált ki, melyet kiszűrtem az oldatból. Tiszta terméket acetonitrilből való átkristályosítással nyertem. Kitermelés: 0,72 g (22 %)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ_{TMS} = 0 ppm)) δ (ppm): 10,46 (1H, s, CONHOH), 8,84 (1H, s, CONHOH), 8,04 (1H, t, NH), 8,02 (1H, t, NH), 7,55 (1H, d, NH), 7,36 (5H, m, C₆H₅), 5,02 (2H, q, C₆H₅-CH₂), 4,06 (1H, q, CH), 3,73 (2H, d, CH₂), 3,63 (2H, d, CH₂), 1,21 (2H, d, CH₃).

4.2.4 Z-AlaGlyGlyN(Me)OH (4)

A terméket a Z-AlaGlyGlyNHOH szintézisének leírt lépéseken keresztül állítottam elő 2,31 g (27,66 mmol) N-metil-hidroxilamin-hidroklorid felhasználásával. Tiszta terméket etil-acetátból történő átkristályosítással kaptam. Kitermelés: 1,16 g (34 %)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆ (δ_{TMS} = 0 ppm)) δ (ppm): 9,95 (1H, s, OH), 8,15 (1H, t, NH), 7,81 (1H, t, NH), 7,50 (1H, d, NH), 7,35 (5H, m, C₆H₅), 5,02 (2H, q, C₆H₅-CH₂), 4,06 (1H, q, CH), 3,98 (2H, s, CH₂), 3,75 (2H, d, CH₂), 3,10 (3H, s, N-CH₃), 1,22 (2H, d, CH₃).

4.2.5 AlaGlyGlyNHOH·TFA (5)

3 380 mg-ját (1,08 mmol) feloldottam 20 ml *absz.* MeOH-ban, majd hozzáadtam 110 mg Pd/C katalizátort (10 % (m/m)), valamint 100 µl (1,3 mmol) TFA-t, majd kb. 2 atm nyomású H₂ alatt kevertettem négy órán keresztül szobahőmérsékleten. A reakció végeztével a katalizátort kiszűrtem, majd az oldószert bepároltam. Olajat kaptam, amit *absz.* dietil-éterrel eldörzsöltem. A végtermék higroszkópos szilárd anyag, kitermelés: 0,33 g (92 %)

¹H NMR (400 MHz, D₂O (δ_{D₂O} = 4,79 ppm)) δ (ppm): 4,11 (1H, q, CH), 3,99 (2H, q, CH₂), 3,87 (2H, s, CH₂), 1,51 (3H, d, CH₃).

4.2.6 AlaGlyGlyN(Me)OH·TFA (6)

A terméket az AlaGlyGlyNHOH·TFA szintézisének leírt lépéseken keresztül állítottam elő 500 mg (1,36 mmol) Z-AlaGlyGlyN(Me)OH-ból kiindulva. A végtermék szilárd, higroszkópos. Kitermelés: 0,44 g (94 %).

¹H NMR (400 MHz, D₂O (δ_{D₂O} = 4,79 ppm)) δ (ppm): 4,23 (2H, s, CH₂), 4,17 (1H, q, CH), 4,07 (2H q, CH₂), 3,25 (3H, s, N-CH₃), 1,57 (3H, d, CH₃).

4.2.7 Z-AlaGlyGlyHP-OBn (7)

Nitrogén atmoszféra alatt feloldottam 1,08 g (3,26 mmol) NH₂-Et-HP-OBn·2HCl-ot 10 ml, 0 °C-ra hűtött *absz.* metanolban, majd hozzáadtam 0,37 g (6,52 mmol) KOH pasztillát. A reakcióelegyet 15 percig kevertettem 0 °C-on tartva, miközben kivált a KCl az oldatból. Egy másik lombikban 1,00 g (2,69 mmol) Z-AlaGlyGly-OH 0°C-ra hűtött *absz.* THF-es oldatához klórhangyasav-etilésztert (440 µl; 4,62 mmol) és *N*-metil-morfolint (375 µl; 3,41 mmol) adtam. Az elegyet 15 percig kevertettem, miközben kivált az oldatból az *N*-metil-morfolínium-klorid. Az első lombik tartalmát Schlenk-technikával egy háromnyakú lombikba szűrtem, majd a második lombikban lévő oldatot egy csepegtető tölcésérbe szűrtem. A vegyes savanhidrid oldatot kb. 3 perc alatt a 0 °C-os szabad NH₂-Et-HP-OBn oldathoz csepegtettem, majd a reakcióelegyet egy éjszakán át kevertettem, miközben hagytam szobahőmérsékletűre melegedni azt. A reakció végeztével a terméket flash-kromatográfiával izoláltam (eluens: CHCl₃-

MeOH = 4:1), majd a megfelelő frakciót vákuumon bepároltam. A végtermék halvány sárga színű szilárd anyag. Kitermelés: 0,67 g (39 %)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ($\delta_{\text{TMS}} = 0$ ppm)) δ (ppm): 8,21 (1H, t, NH); 8,11 (1H, t, NH); 8,01 (1H, t, NH); 7,57 (1H, d, NH); 7,45 (1H, d, Ar-H); 7,36 (10H, m, C₆H₅); 7,34 (1H, d, Ar-H); 5,01 (2H, q, Ph-CH₂-OCO-); 5,00 (2H, s, Ph-CH₂-); 4,08 (1H, m, CH); 3,90 (2H, t, CH₂); 3,73 (2H, d, CH₂); 3,65 (2H, d, CH₂); 3,30 (2H, q, CH₂); 2,18 (3H, s, CH₃); 1,22 (3H, d, CH₃).

4.2.8 AlaGlyGlyHP·TFA (8)

7 (0,67g; 1,16 mmol) 30 ml *absz.* metanolban készült oldatához hozzáadtam 230 mg Pd/C (10 % (m/m)) katalizátort és 98,6 μl (1,39 mmol) TFA-t. A reakcióelegyet H₂ nyomás alatt (kb. 2 atm) kevertettem 4 órán keresztül. A reakció végeztével a katalizátort kiszűrtem az oldatból, majd a szűrletet bepároltam. A kapott halványsárga színű olajat *absz.* dietil-éterrel eldörzsölve fehér színű szilárd anyaghoz jutottam. Kitermelés: 0,48 g (89 %)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D₂O ($\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 4,79$ ppm)) δ (ppm): 7,66 (1H, d, Ar-H); 6,69 (1H, d, Ar-H); 4,31 (2H, t, CH₂); 4,17 (1H, q, CH); 4,02 (2H, q, CH₂); 3,85 (2H, s, CH₂); 3,65 (2H, t, CH₂); 2,52 (3H, s, CH₃); 1,57 (3H, d, CH₃).

ESI-MS $m/z = 354,177$ ([M+H]⁺), számolt $m/z = 354,178$ ([M+H]⁺).

4.2.9 Z-AlaAlaHP-OBn (9)

A terméket a Z-AlaGlyGlyHP-OBn szintézisének leírt lépéseken keresztül állítottam elő, 1,20 g (3,62 mmol) NH₂-Et-HP-OBn·2HCl és 0,96 g (3,26 mmol) Z-AlaAlaOH reakciójával. A reakció végeztével a terméket flash-kromatográfiával izoláltam (eluens: CHCl₃:MeOH = 9:1). A nyersterméket EtOAc-ból történő átkristályosítással tisztítottam. A végtermék halványsárga színű szilárd anyag. Kitermelés: 0,52 g (30 %)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 ($\delta_{\text{TMS}} = 0$ ppm)) δ (ppm): 8,07 (1H, t, NH); 7,98 (1H, d, NH); 7,48 (1H, d, NH); 7,44 (1H, d, Ar-H); 7,35 (10H, m, C₆H₅); 6,12 (1H, d, Ar-H); 5,01 (2H, q, Ph-CH₂-OCO-); 4,99 (2H, s, Ph-CH₂-); 4,17 (1H, m, CH); 4,05 (1H, m, CH); 3,91 (2H, m, CH₂); 3,29 (2H, m, CH₂); 2,18 (3H, s, CH₃); 1,19 (3H, d, CH₃); 1,16 (3H, d, CH₃).

4.2.10 AlaAlaHP·TFA (10)

A terméket az AlaGlyGlyHP-OH·TFA szintézisének leírt módon állítottam elő, 502 mg (0,94 mmol) Z-AlaAlaHP-OBn-ből kiindulva. A végtermék fehér színű szilárd anyag. Kitermelés: 0,39 g (98 %)

^1H NMR (400 MHz, D_2O ($\delta_{\text{D}_2\text{O}} = 4,79$ ppm)) δ (ppm): 7,66 (1H, d, Ar-H); 6,64 (1H, d, Ar-H); 4,30 (2H, m, CH_2); 4,23 (1H, q, CH); 4,04 (1H, q, CH); 3,65 (2H, m, CH_2); 2,50 (3H, s, CH_3); 1,47 (3H, d, CH_3); 1,27 (3H, d, CH_3).

4.3 A $[\text{Pd}(\text{H}_2\text{LH}_{-1})\text{Cl}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ előállítás (11)

AlaGlyGlyHP·TFA (49,5 mg; 0,106 mmol) 10 ml vízzel készült oldatához hozzáadtam 31,1 mg szilárd $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ -ot (0,0966 mmol) és 74,6 mg KCl-ot (1,0 mmol). Az oldat pH-ját egy órán át tartó kevertetés közben 2,6-on tartottam 0,20 M koncentrációjú KOH-oldat folyamatos adagolásával. Az így elkészült oldatot egy hétig szobahőmérsékleten állni hagytam, miközben narancssárga színű, röntgenkristallográfiás szerkezetmeghatározásra alkalmas kristályok váltak ki. A kivált szilárd anyagot kiszűrtem, kevés jéghideg vízzel mostam, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 42,7 mg (78 %).

^1H NMR (400 MHz, D_2O ($\delta_{\text{TSP}} = 0,00$ ppm)) δ (ppm): 7,94 (1H, d, Ar-H); 7,15 (1H, d, Ar-H); 4,50 (2H, t, CH_2); 3,87 (2H, q, CH_2); 3,73 (2H, s, CH_2); 3,72 (2H, t, CH_2); 3,59 (1H, q, CH); 2,63 (3H, s, CH_3); 1,39 (3H, d, CH_3).

Elemanalízis: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_5\text{Pd}$ összetételre számolt (%): C: 31,79; H: 4,80; N: 12,36; mért: C: 32,01; H: 5,03; N: 12,36.

4.4 pH-potenciometria

A pH-potenciometria általánosan használt módszer az oldatban történő komplexképződési folyamatok vizsgálatára. Alkalmazásának feltétele, hogy a komplexképződés hatással legyen a ligandum protonálódási folyamataira, azaz a folyamat pH-effektussal járjon. Mivel a deprotonált ligandum egy gyenge sav konjugált bázisa, így a fémion és a proton között kompetíció áll fenn. Amennyiben a fémion a protonált ligandummal lép kölcsönhatásba, a folyamat az alábbi egyensúllyal jellemezhető:



A H^+ -ionok felszabadulásának eredményeképp pH-méréssel következtethetünk a képződő komplex(ek) összetételére és képződési állandóira. Amennyiben a rendszer csak fémiont (M), hidrogéniont (H) és ligandumot (L) tartalmaz, az háromkomponensűnek tekinthető, így a komplexképződés az alábbi (2. számú) általános egyenlettel adható meg (a töltéseket elhagyva):



A fenti egyensúlyi folyamat szerint képződött komplex β_{pqr} bruttó képződési állandója a 3. egyenlettel adható meg:

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

A titrálási adatokból a keletkező komplexek stabilitási szorzatát a Tanszéken kifejlesztett PSEQUAD¹⁴⁶ programmal számoltuk. A számoláshoz bemenő adatként meg kell adni a kiindulási mintatérfogatot, a három komponens, L, M és H kiindulási analitikai koncentrációját, a titrálás során kapott mérőoldat térfogat – pH adatpárokat, illetve a feltételezett modellben szereplő részecskék összetételét, és közelítő stabilitási szorzatait. Állandókként meg kell még adni a mérőoldat koncentrációját, az Irving-féle korrekciós faktort,¹⁴⁷ és a vízion-szorzatot. A szoftver ezután megoldja a három komponensre felírt anyagmérlegeket (4-6. egyenletek).

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

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

$$C_L = [L] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [H]_i^q [L]_i^r \quad (6)$$

A program Newton-Raphson iterációval finomítja a kiindulási adatként megadott stabilitási szorzatokat, mindaddig, míg a $\Sigma(V_{\text{mért}} - V_{\text{számított}})^2$ minimum értéket nem ad (V a mérőoldat térfogata). A számítás végeztével megkapjuk valamennyi pH-n az egyes részecskék egyensúlyi koncentrációját, valamint minden pontra a standard deviáció értékeket, illetve az illesztés jóságát kifejező $|V_{\text{mért}} - V_{\text{számított}}|$ illesztési paramétert. A különböző protonáltsági fokú komplexek deprotonálódásának folyamata a 7. számú egyensúllyal írható le (a töltéseket elhagyva):



és ezen folyamat egyensúlyi állandója az alábbi módon adható meg:

$$K_{M_p H_q L_r} = \frac{[M_p H_{q-1} L_r][H]}{[M_p H_q L_r]} = \frac{\beta_{M_p H_{q-1} L_r}}{\beta_{M_p H_q L_r}} \quad (8)$$

A ligandumok protonálódási állandóit a SUPERQUAD¹⁴⁸ programmal számoltuk, amely a finomított állandókon kívül megadja a pontos ligandum-, illetve proton anyagmennyiségeket is. A pH-metriás adatokból kapott részecskék koncentráció-eloszlását MEDUSA program segítségével szerkesztettük meg¹⁴⁹.

A pH-potenciometriás titrálásokat Mettler Toledo T50, DL50 valamint T5 típusú titrátorokkal végeztük, melyek Metrohm 6.0255.100 szériaszámú double junction, (KNO₃ ionerősség esetén) vagy Mettler Toledo DGi 114-SC típusú (KCl-ot is tartalmazó ionerősség esetén) kombinált üvegelektroddal voltak felszerelve. A titrálásokat 25,0 ± 0,1 °C-on végeztük, I = 0,20 M KNO₃ ionerősség mellett (a félszendvics-szerkezetű platinafémionokat tartalmazó minták esetén). A Pd(II)-ion pH-metriás vizsgálata során minden esetben korábbi eredmények alapján I = 0,10 M KCl-ionerősséget alkalmaztunk, amit KNO₃ hozzáadásával 0,20 M-ra egészítettünk ki (I_{tot} = 0,20 M).⁷⁴ A háttérelektrolit KCl tartalmát az indokolja, hogy Cl⁻ ionok távollétében a Pd(II) komplexképződési folyamatai már az erősen savas (mérhető pH-tartomány alatti) tartományban lejátszódnak, míg kloridionok, mint kompetitor

ligandum jelenlétében ezen folyamatok a nagyobb, mérhető pH-tartományba tolódnak. Ugyanakkor kizárólag KCl-ot használva a komplexképződés olyannyira lassúvá válna, hogy az lehetetlenné tenné a rendszerek oldategyensúlyi vizsgálatát pH-metriás módszerrel.⁷⁴ A kloridion tartalmú háttélelektrolit alkalmazása miatt Pd(II)-tartalmú rendszerek kiértékelése során a fémion kloridokomplexeinek képződési állandóit is figyelembe vettük (melyek rendre $\lg\beta_1 = 4,47$; $\lg\beta_2 = 7,76$; $\lg\beta_3 = 10,17$; $\lg\beta_4 = 11,54$ értékek a $[\text{PdCl}]^+$, $[\text{PdCl}_2]$, $[\text{PdCl}_3]^-$ és $[\text{PdCl}_4]^{2-}$ részecskékre vonatkozóan). Szintén a kloridion jelenlétéből adódóan a komplexbe kötött fémion szabad koordinációs helyein pH-tól függően kloridion, víz vagy hidroxidion lehet, ebből adódóan a kapott stabilitási állandók látszólagos értékek. A mérések előtt az elektródot Irving és munkatársai által javasolt módszer szerint kalibráltuk 0,05000 M koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát oldatra (pH = 4,008), valamint meghatároztuk az Irving-féle korrekciós faktort, és a vízion-szorzatot ($\text{p}K_w = 13,76 \pm 0,01$).¹⁴⁷ Mérőoldatként előzőleg kálium-hidrogén-ftalátra meghatározott $\sim 0,2$ M pontosan ismert koncentrációjú, karbonátmentes KOH-oldatot használtunk, a titrálási görbéket Gran-féle linearizálással értékeltük ki.¹⁵⁰ A titrált minták térfogata minden esetben 15,00 ml volt, a minták kevertetését és oxigénmentesítését argon gáz mintán történő átbuborékolatásával végeztük. Az oldatok koncentrációja a ligandumokra nézve az 1,25-2,88 mM koncentráció tartományban változott, a fémiontartalmú rendszerek közelítőleg 1:2, 1:1, 1,5:1, illetve 2:1 fémion-ligandum arányúak voltak. A fémiontartalmú rendszerek titrálása során a pH-egyensúly beállásáig, vagy legfeljebb 30 percig vártunk két mérési pont felvétele között, ahol a pH-egyensúlyt a következőképpen definiáltuk az egyes mérőrendszerek esetén: a mért potenciál változása legyen kisebb, mint 0,01 mV 11 másodpercen belül (Mettler Toledo DL50 titrátor esetén), 0,10 mV 90 másodpercen belül (Mettler Toledo T5 és T50 titrátorok esetén). A regisztrált titrálási görbéken a mért pH értékeket a lúgekvivalens függvényében ábrázoltuk, ahol a lúgekvivalens a mintában lévő ligandum anyagmennyiségével egyenértékű mérőoldat mennyiséget fejezi ki, negatív értéke a mintában lévő savfelesleget jelöli.

4.5 *Mágneses-magrezonancia spektroszkópia (NMR)*

Az NMR spektroszkópia segítségével nemcsak szerves molekulák szerkezetét határozhatjuk meg, hanem a módszer egyebek mellett lehetőséget biztosít például a ligandumok protonálódási folyamatainak követésére is. Mivel az általunk vizsgált d^6 elektronszerkezetű Ru(II)- és Rh(III)-ionok, valamint d^8 elektronszerkezetű Pd(II)-ionok kis spinszámú, diamágneses komplexeket képeznek, lehetőségünk van a fent említett fémionok komplexképződési folyamatainak tanulmányozására is ezen technikával. A fémion koordinációja által a komplexbe kötött ligandum megfelelő jelének kémiai eltolódása megváltozik és mivel a vizsgált fémionok komplexképződési folyamatai az NMR időskálán mérve többnyire lassúak, így a legtöbb esetben el is különül a szabad ligandum jelétől. Ez lehetőséget biztosít arra, hogy az egyes jelek eltolódásából következtetni tudjunk az adott komplex kötémódjára. Az NMR spektroszkópia egy fémion tartalmú rendszer speciációjára vonatkozóan nemcsak minőségi, hanem mennyiségi információt is szolgáltathat. Ezt a minta fémion-ligandum arányának, valamint az egyes komplexek összetételének ismeretében a részecskék egymásba alakulásának sebességétől függően kétféleképpen kaphatjuk meg. Lassú csere esetén, ahol az egyes részecskék jelei elkülönülnek egymástól a megfelelő jelek integrálaránya mutatja meg az egyes részecskék egymáshoz viszonyított mennyiségét. Gyors csere esetén, az egyes részecskék jelei nem különülnek el egymástól, hanem mindössze egyetlen jelet látunk, amelynek kémiai eltolódása ($\delta_{obs.}$) az egymással cserélő két részecske (A és B) kémiai eltolódásainak móltört szerinti súlyozott átlaga, így a mért kémiai eltolódásból tudunk következtetni az egyes részecskék arányára:

$$\delta_{obs} = x_A \delta_B + x_B \delta_A \quad (9)$$

Ugyancsak gyors csere figyelhető meg a ligandum protonált és deprotonált formája között. Ebben az esetben az adott funkcióscsoport deprotonálódási folyamatára érzékeny jel kémiai eltolódásának pH-függését az alábbi egyenlet írja le:¹⁵¹

$$\delta_{obs.} = \sum_{i=0}^n \delta_{H_iL} \frac{\beta_i [H^+]^i}{\sum_{j=0}^n \beta_j [H^+]^j} \quad (10)$$

A fenti egyenlet alapján a δ_{HIL} , azaz a különböző protonáltsági fokú részecskék kémiai eltolódásának ismeretében a ligandum bruttó protonálódási állandói (β_i) meghatározhatók.

Az NMR-méréseket Bruker AM 360 MHz FT-NMR, illetve Bruker Avance DRX 400 MHz FT-NMR berendezésen végeztük, a minták készítéséhez Euroisotop gyártmányú 99,8 % izotóptisztaságú deuterált oldószereket használtunk. A jelek kémiai eltolódását ppm-ben adtuk meg, melyeket az alkalmazott oldószer jeléhez,¹⁵² vagy trimetil-szilil-propánsav (TSP) nátrium sójához, mint belső sztenderdhez viszonyítva adtuk meg. Az NMR titrálásokhoz a mintákat D₂O-ban készítettük el, melyek ligandum koncentrációja 5,0-10,0 mM volt, a fémion-ligandum arány 1:2, 1:1 és 2:1 volt. Az ionerősséget 0,20 M-ra állítottuk KNO₃-tal (a szabad ligandumok, valamint a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ fémionokat tartalmazó minták esetén), valamint KCl és KNO₃ 1:1 arányú keverékével (a Pd(II)-ion tartalmú minták esetén). A minták pH* értékeit (a vizes pufferre kalibrált pH-mérő által nehézvízes közegben mért érték) DNO₃ és NaOD oldatokkal állítottuk be. A mért pH* értékeket az alábbi egyenlet segítségével konvertáltuk pH-értékekké.¹⁵³

$$pH = pH^* \cdot 0,936 + 0,412 \quad (11)$$

Az elkészített minták a mérés előtt egy órát álltak, majd 3-5 nap elteltével a spektrumokat újra felvettük. Néhány esetben az egyes rendszerek időbeli változásának részletes feltérképezése érdekében a méréseket a mintakészítéstől számított 15 perctől 7-9 napig terjedő intervallumban követtük. A rögzített spektrumok kiértékeléséhez MestReNova 9.0 szoftvert használtunk.

4.6 Elektroporlasztásos ionizációjú tömegspektrometria (ESI-MS)

A tömegspektrometria (Mass Spectrometry, MS) egy elterjedten alkalmazott, nagy hatékonyságú analitikai módszer, melynek segítségével szerves és szervetlen vegyületek összetételéről kaphatunk információt. A módszer lényege, hogy a mintát gázfázisban ionizáljuk, majd a keletkezett ionokat tömeg/töltés értékei alapján detektáljuk. Az elektroporlasztásos ionizáció (Electrospray ionisation, ESI) egy lágy ionizációs technika, melynek eredményeképp a mintában lévő molekulákból képződött molekulaionokat detektálhatunk. A módszer nagy érzékenységének

köszönhetően lehetőségünk van a molekulaiont alkotó atomok természetes izotóparánynak megfelelő eloszlású izotópjainak kimutatására, valamint az így kapott izotópeloszlás által a molekulaion pontos összetételének megadására is. Ennélfogva a módszer tökéletesen használható mind az előállított ligandumok minőségi jellemzésére, mind az oldatban jelenlévő komplexek összetételének azonosítására. Az ESI-MS mérésekhez készült minták ligandumra nézve 0,1-1,0 mM koncentrációjú vizes oldatok voltak. A vizsgálat tárgyától függően a különböző pH-jú mintákban a fémion-ligandum arány 1:1, 2:1 és 1:2 volt, a méréseket az adott rendszerben képződő komplexek töltésétől függően pozitív és/vagy negatív módban végeztük. A kísérletekhez *Bruker Biotof II ESI-TOF* készüléket, Cole Palmer 74900 pumpát használtunk és 2 $\mu\text{l}/\text{min}$ áramlási sebességnél mértünk. A szárító gáz (N_2) hőmérsékletét 100 °C-on tartottuk, a porlasztógáz (N_2) nyomása 207 kPa, míg a kapillárisra kapcsolt feszültség 4500 V, 120 V, 40 V és 30 V volt. Az adatgyűjtést BioTOF v 2.2, míg az adatfeldolgozást XmassBioTOF v 6.0.0 szoftver végezte.

4.7 Röntgenkristallográfias szerkezetvizsgálat

Egy komplexet sikerült röntgendiffrakciós vizsgálatra alkalmas egykristály formájában előállítani. A röntgenkristallográfiai szerkezetmeghatározást Dr. Bényei Attila (Debreceni Egyetem, Fizikai Kémiai Tanszék) végezte. A mérést Bruker-D8 Venture készüléken kivitelezte, 0,71073 Å hullámhosszúságú $\text{Mo K}\alpha$ röntgensugár besugárzásával 100 K hőmérsékleten. A reflexiókból nyert adatokból a szerkezet megoldásához APEX 3 szoftvert használt, és az F^2 értékek finomítását a SHELIX program végezte.

5 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTELMEZÉSÜK

5.1 A vizsgált peptidhidroxámsavak szintézise

Az általunk vizsgált dipeptidhidroxámsavak szintézise már ismert az irodalomban, így azokat a már közölt eljárások alapján állítottuk elő.^{142, 154} Noha az AlaGlyGlyNHOH és AlaGlyGlyN(Me)OH tripeptidhidroxámsavakat a Kutatócsoportban korábban már előállították az N-terminálison védett peptid N-hidroxi-szukcinimiddel képződő észtere hidroxilaminnal történő reakciójával,¹⁵⁵ ezen kétlépéses szintézis kiváltására egy másik eljárást alkalmaztunk. Az N-terminálison Z-védett tripeptid karboxilcsoportját klórhangyasav-etilészterrel aktiváltuk, és az így *in situ* képződő vegyes savanhidriden keresztül alakítottuk ki a hidroxámsavcsoportot a megfelelő hidroxilaminnal lejátszódó reakcióban.¹⁵⁶ Ezzel a módszerrel egy lépésben, a korábbi eljáráshoz képest valamivel jobb hozammal tudtuk előállítani a tripeptidhidroxámsavakat. A védett termékekről a védőcsoportot katalitikus hidrogénezéssel 10 % Pd/C katalizátor jelenlétében, miközben kialakítottuk a vegyületek trifluoracetát sóját.

5.2 A peptidhidroxámsavak sav-bázis tulajdonságai

Az általunk vizsgált, teljesen protonált di- illetve tripeptidhidroxámsavak két disszociábilis protont tartalmaznak, a ligandum ammónium és hidroxámsav csoportján. A pH-potenciometriás titrálásokból kapott lépcsőzetes deprotonálódási állandók az **2. táblázatban** láthatók.

2. táblázat A vizsgált peptidhidroxámsavak savi disszociációs állandóinak tízes alapú negatív logaritmusai (pK), $t = 25,0$ °C, különböző, 0,20 M ionerősség mellett*

ionerősség	pK_1	pK_2	pK_1	pK_2
	KNO ₃		KCl + KNO ₃	
AlaAlaNH ₂ OH	7,77(1)	8,89(1)	7,70(1)	8,80(1)
AlaAlaN(Me)OH	7,77(1)	8,70(1)	7,78(1)	8,74(1)
AlaGlyGlyNH ₂ OH	7,74(1)	8,82(1)	7,70(1)	8,80(1)
AlaGlyGlyN(Me)OH	7,69(1)	8,57(1)	7,73(1)	8,55(1)

*Zárójelben a 3σ standard deviáció értékek szerepelnek

A ligandumok deprotonálódása két, egymással átfedő lépésben történik pH 7-10 között. Az erősen átfedő folyamatok miatt az egyes csoportok savasságában csak a mikroállandók ismeretében tudunk egyértelmű különbséget tenni. Kutatócsoportunkban korábban már vizsgálták a primer dipeptidhidroxámsavak deprotonálódására vonatkozó mikrofolyamatokat, és azt találták, hogy az ammóniumcsoport valamivel kisebb bázicitást mutat a hidroxámsavcsoporthoz képest.¹⁴²

Az **2. táblázat** adataiból az is látható, hogy a szekunder peptidhidroxámsavak hidroxámsavcsoportjai kissé nagyobb savassággal rendelkeznek a primer származékhoz képest. Ez azzal magyarázható, hogy a hidroxámsavcsoport nitrogénjén található, elektronküldő sajátságú metilcsoport képes növelni az elektronsűrűséget a hidroxamát anionban, így növelve annak stabilitását, azaz csökkentve bázicitását. Ugyanakkor a különböző ionerősség mellett meghatározott deprotonálódási állandókban nem mutatkozik nagy különbség, tehát az alkalmazott háttérelkrolit minőségének nincs jelentős hatása a deprotonálódási folyamatokra.

5.3 *A* [(η^6 -*p*-cimol)Ru]²⁺ és [(η^5 -Cp*)Rh]²⁺ kölcsönhatása dipeptidhidroxámsavakkal

A peptidhidroxámsavak az (O,O) donor hidroxámsavcsoporton kívül nitrogén donoratomokat, mint potenciális fémionmegkötő egységet is tartalmaznak; a primer származék esetén a peptidszerű nitrogénatomokon kívül a hidroxámsavcsoport N-atomja is lehetséges koordinálódó egység lehet, míg a szekunder analóg esetében a hidroxamát nitrogén nem vehet részt a fémion megkötésében. A félszendvics szerkezetű platinafémionok ezen ambidentát tulajdonságú ligandummal való kölcsönhatásának feltérképezése érdekében részletes pH-potenciometriás, ¹H NMR spektroszkópiás és ESI-MS vizsgálatokat végeztünk. A primer származék két fémionnal kapott titrálási görbéi nagyon hasonló lefutásúak voltak, ezekben a rendszerekben képződött részecskék összetétele és stabilitási állandója a **3. táblázatban** láthatók.

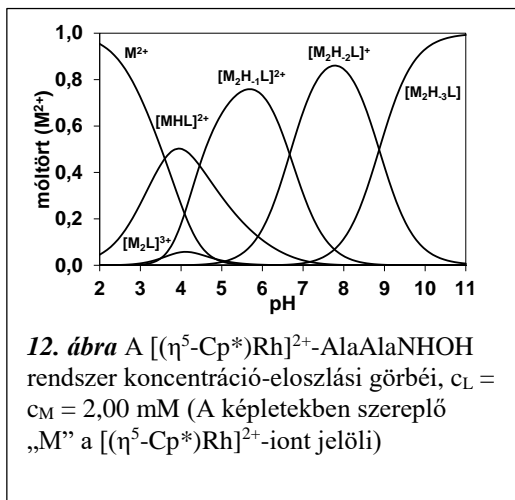
3. táblázat A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ dipeptidhidroxámsavakkal képződő komplexek összetétele és stabilitási állandóinak tízes alapú logaritmusa ($\lg\beta$), és az egyes komplexek deprotonálódási állandójának tízes alapú negatív logaritmusa ($\text{p}K$) 25,0 °C-on, $I = 0,20 \text{ M KNO}_3^*$

Részecske	AlaAlaNHOH		AlaAlaN(Me)OH	
	$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$	$[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$	$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$	$[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$
$[\text{MHL}]^{2+}$	16,09(2)	15,54(1)	17,53(2)	15,89(1)
$[\text{ML}]^+$	–	–	11,61(3)	9,48(3)
$[\text{MH}_1\text{L}]$	–	–	2,50(5)	2,62(2)
$[\text{M}_2\text{L}]^{3+}$	14,95(10)	13,57(8)	–	14,16(2)
$[\text{M}_2\text{H}_1\text{L}]^{2+}$	11,16(5)	10,07(1)	–	–
$[\text{M}_2\text{H}_2\text{L}]^+$	4,63(6)	3,40(3)	–	–
$[\text{M}_2\text{H}_3\text{L}]$	–4,79(9)	–5,47(4)	–	–
Illesztés (ml)	0,00683	0,00417	0,00707	0,00575
Pontok száma	302	183	201	244
$\text{p}K_{\text{MHL}}$	–	–	5,92	6,41
$\text{p}K_{\text{ML}}$	–	–	9,11	6,86

* Zárójelben a 3σ standard deviáció értékek szerepelnek

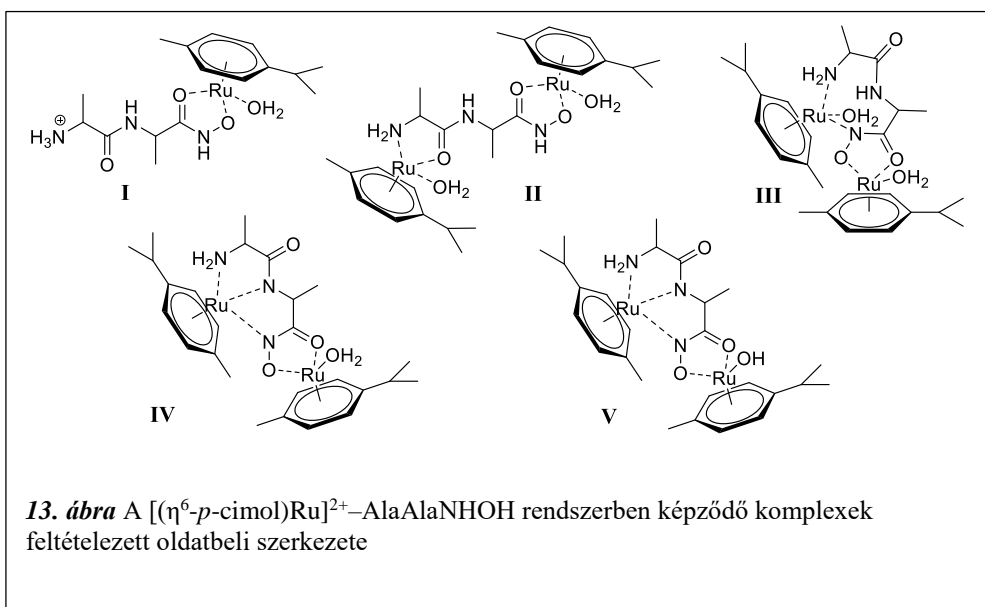
Ahogy az a **3. táblázat** adataiban is megmutatkozik, a két rendszer egyensúlyi modellje szinte teljesen megegyezik, az egyetlen különbség a két fémion komplexei között, hogy a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ valamivel nagyobb stabilitású komplexeket képez, mint a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$. Ennek kapcsán azonban fontos megemlíteni, hogy noha a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ -komplexek stabilitási állandóinak számértéke kisebb a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ -komplexekéhez képest, a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ hidrolitikus folyamatai alárendeltek, így

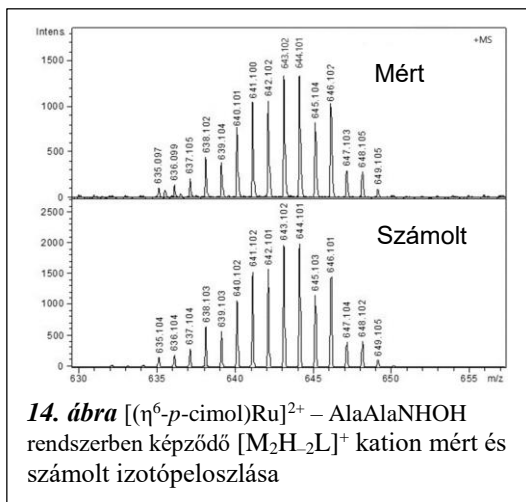
az összességében nem köti gyengébben a ligandumot, mint a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$. Reprezentatív példaként a **12. ábrán** a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ - AlaAlaNHOH rendszer 1:1 arányra számolt koncentráció-eloszlási görbéi láthatók. Amint az a **3. táblázatból**, valamint a **12. ábrából** látható, az $[\text{MHL}]^{2+}$ részecskén kívül kizárólag kétmagvú komplexek képződnek már



ekvimoláris oldatban is. A ^1H NMR spektroszkópiás eredményeket is figyelembe véve megállapítható, hogy az $[\text{MHL}]^{2+}$ komplexben a fémion hidroxamát keláton keresztül kötődik a ligandumhoz, és a fémion harmadik koordinációs helyét vízmolekula foglalja el, míg a terminális aminocsoport protonált marad (**13. ábra I.** szerkezet).

A hidroxamátcsoport ezen fémion koordinációs szférájában marad a teljes vizsgált pH-tartományban, míg a szintén erős fémionmegkötő képességű N-donoratomok szabadon maradnak. Ezzel lehet magyarázható az, hogy a pH további növelésére egy második fémion peptidvázon keresztüli megkötése történik majd a peptidcsoportok deprotonálódása és koordinációja révén $[\text{M}_2\text{L}]^{3+}$ (**II**), $[\text{M}_2\text{H}_1\text{L}]^{2+}$ (**III**) és $[\text{M}_2\text{H}_2\text{L}]^{+}$ (**IV**) komplexek keletkeznek, melyek szerkezetei rendre a **13. ábrán** láthatók. Mind a félszendvics szerkezetű Ru(II)- mind a Rh(III)-kation tartalmú rendszerek ^1H NMR spektrumaiban a *p*-cimol valamint a Cp* ligandumok jeleiben nagymértékű összetettség figyelhető meg, emiatt a spektrumok nehezen értelmezhetők, ám ez közvetetten alátámasztja a kétmagvú komplexek dominanciáját az oldatban. Az ESI-MS mérések azonban közvetlenül is bizonyították kétmagvú komplexek





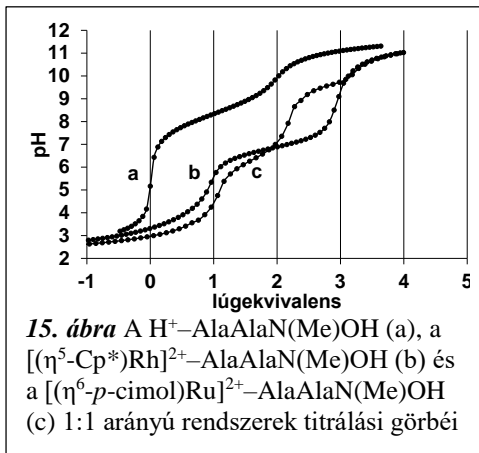
hidroxidokomplex képződik (**13/V. ábra**).

A szekunder származék esetében a hidroxamát-N szubsztituáltsága miatt nincs lehetőség a peptidváz felőli (NH_2 , N_{amid} , $\text{N}_{\text{hidr.}}$) kötőmód kialakulására, ezért ahogy a **3. táblázat** adatai is mutatják, eltérő részecskék képződnek a primer ligandummal alkotott komplexekhez képest. Az AlaAlaN(Me)OH tartalmú rendszerekben a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ -al képződő $[\text{M}_2\text{L}]^{3+}$ komplexen kívül csak egymagvú részecskék képződtek, melyek összetételét ESI-MS vizsgálatokkal is igazoltuk (**4. táblázat**). A majdnem megegyező egyensúlyi modell ellenére a két fémmel képződő komplexek kötőmódja nem lehet minden részecske esetén azonos, mivel az 1:1 arány mellett regisztrált titrálási görbék jelentős különbségeket mutattak, amit a **15. ábra** illusztrál. Ahogy a **3. táblázatban** látható, az $[\text{MHL}]^{2+}$ komplexek stabilitási állandója hasonló, mint a primer származék esetén, ami alapján ezek a komplexek is hidroxamát

4. táblázat Az AlaAlaN(Me)OH félszendvics szerkezetű platinafém-komplexeinek mért és számolt m/z értékei

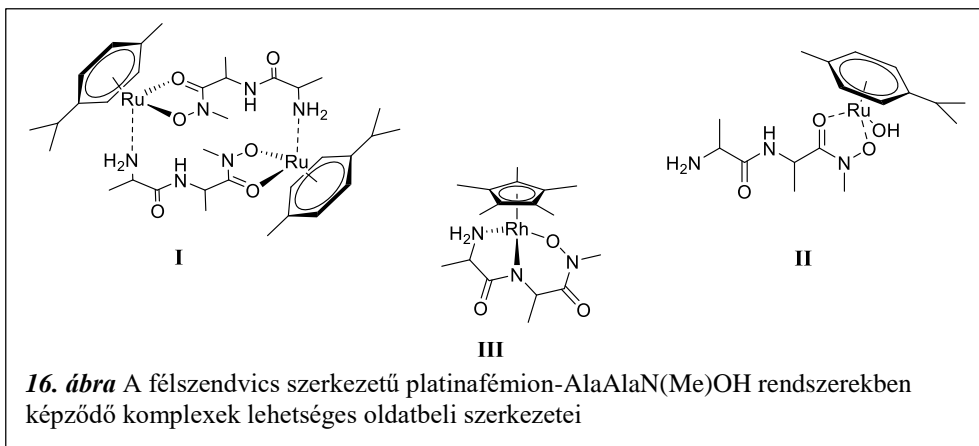
Rendszer	pH-tartomány	Részecske	Mért m/z	Számolt m/z
$[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$	2,46 – 6,28	$[\text{ML}]^+$	424,115	424,117
	6,28 – 10,00	$[\text{MH}_{-1}\text{L} + \text{K}]^+$	462,071	462,073
	5,11 – 6,49	$[\text{ML}]^+$	426,128	426,126
$[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$	6,49 – 8,16	$[\text{MH}_{-1}\text{L} + \text{K}]^+$	464,082	464,082
	5,97	$[\text{M}_2\text{LC}_2]^+$	734,084	734,086

kötésmódúak. pH~5 fölött mindkét rendszerben $[ML]^+$ komplex keletkezik mind a $[(\eta^6-p\text{-cimol})Ru]^{2+}$ mind a $[(\eta^5-Cp^*)Rh]^{2+}$ - tartalmú rendszerekben, melyek képződésére jellemző pK értékek rendre 5,92-nek és 6,41-nek adódtak. Mivel ezen értékek jóval kisebbek, mint a szabad ligandumok ammóniumcsoportjának pK értékei (2.



táblázat), így az $[ML]^+$ komplexekben a terminális aminocsoport koordinációja is feltételezhető. Az aminocsoport hidroxamát kelát melletti kötődése a félszendvics kationok harmadik koordinációs helyére szterikus okok miatt egy monomer részecskében nem lehetséges, így legvalószínűbben egy oligomer $[M_xL_x]^{x+}$ összetételű komplex keletkezhet. Példaként a **16/I. ábrán** a $[M_2L_2]^{2+}$ összetételű részecske lehetséges oldatszerkezetét láthatjuk.

Nagy különbségek lehetnek ugyanakkor az $[MH_{-1}L]$ összetételű részecskék kötésmódjában a két fémion között. A **3. táblázat** pK_{ML} értékeit, valamint a **15. ábrát** megvizsgálva látható, hogy míg az $[ML]^+$ és $[MH_{-1}L]$ komplexek képződése jelentősen átfed egymással a $[(\eta^5-Cp^*)Rh]^{2+}$ kation esetében, addig a $[(\eta^6-p\text{-cimol})Ru]^{2+}$ kationnal ezen folyamatok jól elkülönülnek egymástól. Ez a különbség a két fémion eltérő hidrolitikus sajátságaiából adódhat, mivel a $[(\eta^6-p\text{-cimol})Ru]^{2+}$ sokkal inkább hajlamos a hidrolízisre, mint a $[(\eta^5-Cp^*)Rh]^{2+}$. Ebből adódóan az $[MH_{-1}L]$



részecske az előbbi fémion esetén feltehetően vegyes hidroxidokomplex (**16/II. ábra**), míg az utóbbi fémion esetén megtörténhet a ligandum amidcsoportjának deprotonálódása és koordinációja, (NH₂, N_{amid}, O_{hidr.}) kötésmódú, 5,6-tagú csatolt kelátrendszer kialakulása közben (**16/III. ábra**).

5.4 A $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ kölcsönhatása tripeptidhidroxámsavakkal

Mindkét tripeptidhidroxámsav esetén a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ -ionnal való komplexképződés csak pH ~ 6-ig volt követhető pH-potenciometriásan, mivel ezen pH fölött a folyamatok oly mértékben lelassultak, hogy a rendszerben nem állt be az egyensúly a titrálás időtartama alatt. Emiatt a titrálási görbéket csak eddig a pH-értékig tudtuk kiértékelni. A képződő komplexek összetételét és stabilitási állandóit az **5. táblázat** mutatja. A pH-metriás eredmények alapján a két ligandum ezzel a fémionnal szemben még ebben a szűk pH-tartományban is jelentős különbséget

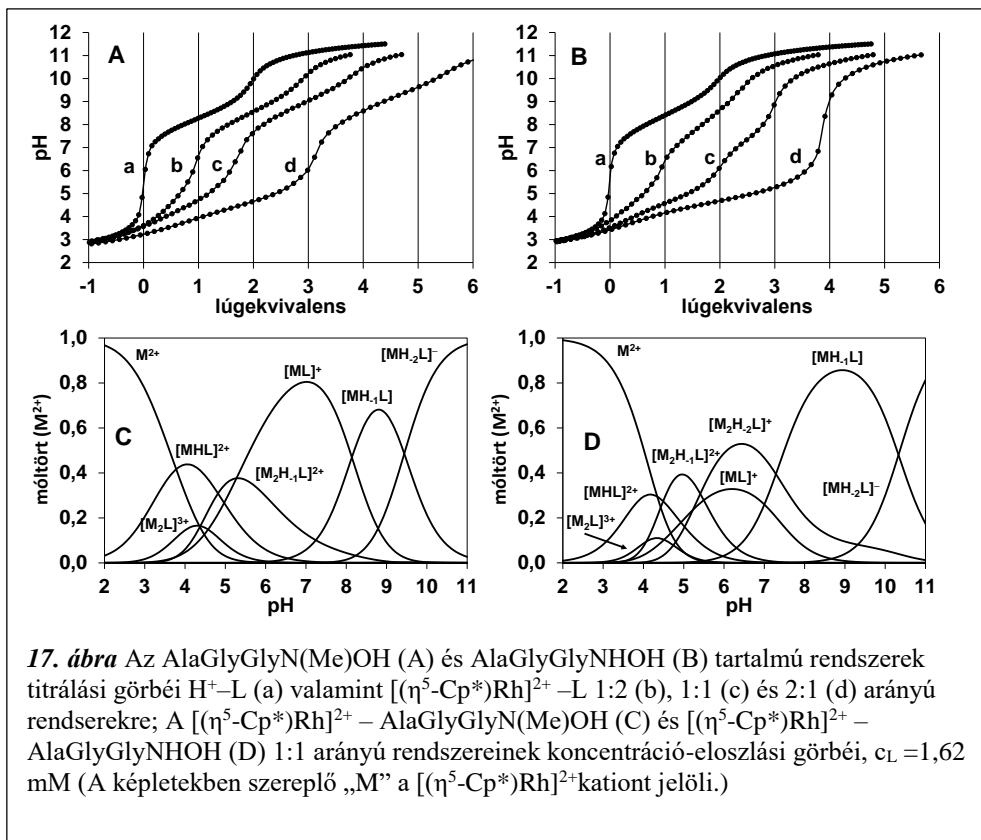
5. táblázat A vizsgált tripeptidhidroxámsavak $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ -komplexeinek összetétele és stabilitási állandóinak tíses alapú logaritmusai ($\lg\beta$) 25,0 °C-on, I = 0,20 M KNO₃*

	AlaGlyGlyNHOH	AlaGlyGlyN(Me)OH
$[\text{MHL}]^{2+}$	17,19(2)	17,14(2)
$[\text{ML}]^+$	13,33(3)	–
Illesztés (ml)	0,00671	0,00707
Pontok száma	165	73

* Zárójelben a 3σ standard deviáció értékek szerepelnek

mutatott. Míg a primer származékot tartalmazó mintára 1:1 aránynál két ekvivalens lúg fogyott a vizsgált pH-tartományban, addig a szekunder ligandumra pH ~ 6-ig csak egy. ¹H NMR spektroszkópiás vizsgálatok is történtek ezen rendszerek pH- és időfüggésére vonatkozóan a pH ~ 2-11 tartományban. A ¹H NMR spektrumok időfüggési vizsgálataiból az volt megállapítható, hogy a pH ~ 2-6 tartományban a komplexképződési egyensúlyok közel egy óra alatt beálltak, ugyanakkor a pH > 6 tartományban rögzített NMR spektrumok több nap után is változást mutattak, azaz a rendszer ebben a pH-tartományban nem tekinthető egyensúlyinak. A ¹H NMR spektroszkópiás eredményeket figyelembe véve az egy ekvivalens lúg a hidroxamát kelát kialakulására fordítódik, míg a primer származéknál tapasztalt második folyamat

a terminális aminosoport egyfogú koordinációjára utal. Ez utóbbi folyamat a szekunder származék esetén valószínűleg az *N*-metilcsoport szterikus hatása miatt nem játszódik le. A $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ tartalmú rendszerek esetén a komplexképződés elég gyors volt ahhoz, hogy a titrálás időtartama alatt beálljon az egyensúly, így a kapott titrálási görbéket a teljes mért pH-tartományban ki tudtuk értékelni. A titrálási görbék és az 1:1 fémion-ligandum arányú rendszerek koncentráció-eloszlási görbéi a **17. ábrán** láthatók, míg a képződött komplexek összetétele, stabilitási állandója, valamint kötésmódja a **6. táblázatban** található. A két rendszer titrálási görbéinek lefutása a közel azonos egyensúlyi modell ellenére nagyban eltér egymástól, valamint a koncentráció-eloszlási görbékben is jelentős különbségek mutatkoznak a pH ~5-8 tartományban. A képződő komplexek szerkezetének igazolásához így ^1H NMR méréseket is végeztünk. A $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ - AlaGlyGlyN(Me)OH rendszer 1:1 és 2:1 arányánál rögzített ^1H NMR spektrumai a **18. ábrán** láthatók. Az ekvimoláris minta ^1H NMR spektrumában megfigyelhető, hogy pH = 2,52-nél a szabad ligandum jelei

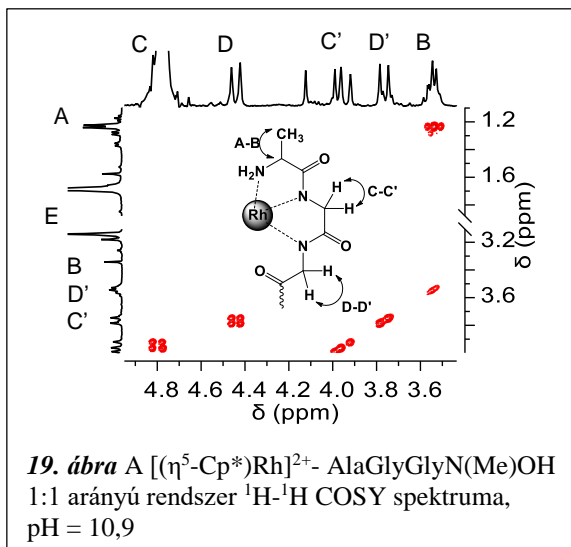


6. táblázat A $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ -tripeptidhidroxámsav rendszerekben képződő komplexek összetétele és stabilitási állandóinak tízes alapú logaritmusa ($\lg\beta$) és az egyes komplexek deprotonálódási állandójának tízes alapú negatív logaritmusa (pK) 25,0 °C-on, $I = 0,20 \text{ M KNO}_3^*$

Részecske	AlaGlyGlyN(Me)OH		AlaGlyGlyNHOH	
	$\lg\beta$	Koordinálódó donoratomok	$\lg\beta$	Koordinálódó donoratomok
$[\text{MHL}]^{2+}$	15,53(4)	(O,O) _{hidr.}	15,35(4)	(O,O) _{hidr.}
$[\text{ML}]^+$	10,56(7)	(NH ₂ , N _{amid})	10,42(6)	(NH ₂ , N _{amid})
$[\text{MH}_{-1}\text{L}]$	2,42(6)	(NH ₂ , N _{amid})	3,42(4)	(NH ₂ , N _{amid} , N _{hidr.})
$[\text{MH}_{-2}\text{L}]^-$	-7,02(7)	(NH ₂ , N _{amid} , N _{amide})	-6,91(3)	(NH ₂ , N _{amid} , N _{amid})
$[\text{M}_2\text{L}]^{3+}$	14,0(1)	(O,O) _{hidr.} + (NH ₂ , CO)	13,6(1)	(O,O) _{hidr.} + (NH ₂ , CO)
$[\text{M}_2\text{H}_{-1}\text{L}]^{2+}$	9,62(5)	(O,O) _{hidr.} + (NH ₂ , N _{amid})	9,53(3)	(O,O) _{hidr.} + (NH ₂ , N _{amid})
$[\text{M}_2\text{H}_{-2}\text{L}]^+$	–		4,12(3)	(O,O) _{hidr.} + (NH ₂ , N _{amid} , N _{hidr.})
Illesztés (ml)	0,0123		0,00599	
pontok száma	265		256	
pK_{MHL}	4,97		4,93	
pK_{ML}	8,14		7,00	
$pK_{\text{MH}_{-1}\text{L}}$	9,44		10,33	
$pK_{\text{M}_2\text{L}}$	4,4		4,1	
$pK_{\text{M}_2\text{H}_{-1}\text{L}}$	–		5,41	

* Zárójelben a 3 σ standard deviáció értékek szerepelnek

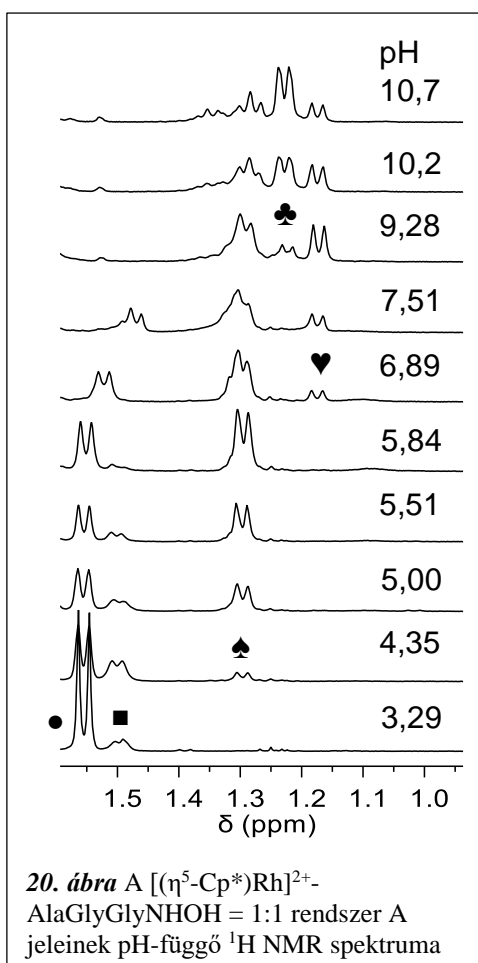
mellett (●) új jelek is láthatók (▲) melyben az E protonok jele a kisebb térerősségnél jelentkezik, mint a szabad ligandumban. Ez egyértelműen hidroxamát koordinációra utal. A pH növelésével látható egy újabb jelsoport megjelenése (♠), amelyikben az A protonok nagyobb térerősségnél jelentkeznek, valamint az előző részecske E protonjainak (▲) jelintenzitása csökken, ugyanakkor a ♠ jelek intenzitása a szabad ligandum E protonjaihoz közeli δ értéknél újra növekedni kezd. Ebből arra következtethetünk, hogy a hidroxamát kelát kiszorul a fémion koordinációs szférájából és az protonálódik, majd a ligandum (NH₂, N_{amid}) keláttal koordinálódik a fémionhoz, és az így kialakult részecske lesz meghatározó az oldatban pH = 7,73-nál. Eddig a pH-ig közel két ekvivalens lúg fogyott a mintára a pH-potenciometriás titrálás során, így ez is megerősíti az $[\text{ML}]^+$ komplex képződését. A pH további növelése az



révén eltérő kémiai környezetbe kerülnek, így azok egymással geminális csatolást adnak. Mindezen megfigyelések egyértelműen bizonyítják a fémion peptidvázhoz történő kizárólagos koordinációját. A fémionfelesleg mellett regisztrált ^1H NMR spektrumban megfigyelhető néhány különbség az 1:1 arányéhoz képest. Az egyik ilyen, hogy a pH = 2,5-6,5 tartományban a szabad ligandum (●) és az $[\text{MHL}]^+$ komplex jelein (▲) kívül egy újabb jelcsoport is megjelenik (■), melyben az A protonok kissé jobban eltolódnak a nagyobb térerősség felé, mint a szabad ligandum ugyanezen jelei. Ezek a jelek az $[\text{M}_2\text{L}]^{3+}$ komplexhez tartozhatnak, mely jelek 1:1 aránynál is megjelennek ugyan, ám sokkal kisebb intenzitással. A pH növelésével egy újabb jelcsoport tűnik fel a spektrumban (◆), mely intenzitása a pH-val növekszik és pH = 6,57-re ez a részecske lesz meghatározó az oldatban. Ezen komplex jeleiben a ligandum egyféle jelcsoportot ad, ahol az A protonok a nagyobb térerőnél jelentkeznek, jelezvén az N-terminus részvételét a koordinációban. Ugyanakkor az is megfigyelhető, hogy az E protonok kémiai eltolódása szinte alig mutat változást a hidroxamát kötés módú $[\text{MHL}]^{2+}$ komplexéhez képest (18. ábra, jobb oldal), ami azt jelenti, hogy a hidroxamát kelátban is található fémion. A fémion Cp^* ligandumának metiljeleiből ugyanakkor kettő is látható a spektrumban, és egyik sem rendelhető a szabad fémionhoz, vagy annak hidroxidokomplexéhez. Ezen megállapítások összességéből az következik, hogy ezen a pH-n egy olyan kétmagvú komplex van jelentős mennyiségben az oldatban, amelyben az egyik fémion hidroxamát, míg a másik (NH_2 , N_{amid}) keláton keresztül kötődik a ligandumhoz. A pH növelésével az E protonok szinglettje újra a szabad ligandumhoz közeli ppm értéknél jelenik meg, majd a pH növelésével intenzitása nő, közben folyamatosan a nagyobb térerő irányába tolódik. Ezzel párhuzamosan, a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]_2(\mu^2\text{-OH})_3^+$ komplex jelei is

megjelennek (#), és a lúgos pH-tartományban a spektrumban ugyanazon jelek láthatók, mint az ekvimoláris minta esetében. Ez egyértelműen mutatja az egyik fémion hidroxamát kelátból történő kiszorulását és hidrolízisét, miközben az $[MH_2L]^-$ komplex keletkezik, tehát a hidroxamát kelát még fémionfelesleg esetén sem képes ilyen körülmények között komplexben tartani a fémiont.

Az AlaGlyGlyNHOH esetén egy hidroxamát-N is rendelkezésre áll a fémion megkötésére a szekunder származékhoz képest, így összességében a rendelkezésre álló N-donorok száma több, mint a félszendvics fémion szabad koordinációs helyei. Noha emiatt nagy különbségek várhatók a primer származék fémionmegkötésében, a **6. táblázat** adatai szerint mindkét ligandummal a megfelelő $[MHL]^{2+}$ és $[ML]^+$ komplexek bruttó képződési állandói nagyon hasonlóak. Mivel a primer és szekunder ligandum megfelelő csoportjainak bázicitásában nincs nagy különbség, így ezek a képződési állandók közvetlenül összevethetőek, és ezen adatok hasonlósága hasonló kötémódokat is jelent. Ezek alapján $[MHL]^{2+}$ komplex (O,O), míg a $[ML]^+$ összetételű részecske (NH_2 , N_{amid}) kötémóddal rendelkezik. Nagy eltérés adódik azonban az egyes ligandumok $[MH_1L]$ komplexének stabilitásában, nevezetesen a primer származék egy nagyságrenddel nagyobb stabilitású komplexet képez a szekunder analógnál. Az 1:1 arány mellett rögzített 1H NMR spektrumokban megfigyelhetjük (**20. ábra**), hogy az $[MH_1L]$ komplex képződésének pH-tartományában egy új, A protonokhoz tartozó, különálló dublett jelenik meg (♥), ami nem figyelhető meg a szekunder származék esetén. Mivel ezen jel nagy térerőnél jelentkezik, és csak a



primer származéknál detektálható, ezért az feltételezhető, hogy a primer tripeptidhidroxámsav $[MH_1L]$ komplexében a fémion harmadik koordinációs helyét a hidroxamát nitrogén foglalja el. A pH növelésével megjelenő újabb jel hasonló kémiai eltolódásnál jelentkezik, mint a szekunder származék esetén, így a keletkező $[MH_2L]^-$ részecske képződése során a koordinációs mód átrendeződik (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) kötésmódra. Összehasonlítva a pK_{MH-1L} értékeket a primer és a szekunder származék esetén megállapítható, hogy a primer ligandummal az $[MH_2L]^-$ komplex képződése gátoltabb, mint a szekunder ligandum esetén, ami egyértelműen a hidroxamát-N konkuráló hatásával magyarázható. A fémionfelesleget tartalmazó oldatban a szekunder származékhoz képest egy új részecskét, az $[M_2H_2L]^+$ -t is ki lehetett mutatni. Ezen részecske képződése pH ~ 5,4-en történik, és csak a primer ligandummal, így ebben a komplexben a két fémion (O,O) + (NH_2 , N_{amid} , $N_{hidr.}$) kelátokkal kötődik a ligandumhoz, ami nagy stabilitású hidroximáto kelát kialakulását eredményezi.

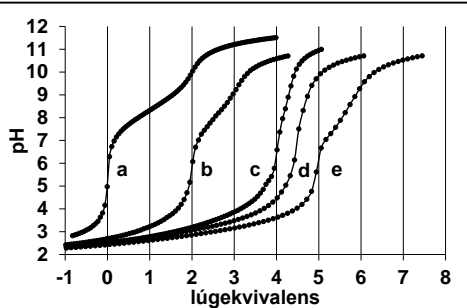
5.5 Pd(II)-ionok kölcsönhatása peptidhidroxámsavakkal

Az oldatban képződő részecskék speciációjának feltérképezése érdekében egyensúlyi vizsgálatokat végeztünk a Pd(II)-peptidhidroxámsav rendszereken pH-potenciometriás és ^1H NMR spektroszkópiás módszerek segítségével. Eredményeink rámutattak, hogy az AlaGlyGlyNHOH tartalmú rendszer kivételével nemcsak komplexképződési, hanem egyéb irreverzibilis folyamatok, nevezetesen a ligandumok Pd(II)-indukált hidrolízise és a Pd(II)-ionok redukciója is lejátszódnak. Ezen mellékreakciók ligandumtól függően eltérő sebességgel játszódnak le, tapasztalataink szerint a szekunder származékokkal gyorsabban mennek végbe, mint a primer peptidhidroxámsavakkal. Mindezek miatt a továbbiakban szerepeltetett egyensúlyi eredmények csak a frissen készített mintákra érvényesek. Az egyetlen reverzibilisnek tekinthető rendszer a Pd(II)-AlaGlyGlyNHOH volt, ám ebben az esetben az egyensúly lassú beállása nehezítette az egyensúlyi vizsgálatokat.

5.5.1 Pd(II)-AlaGlyGlyNHOH rendszer

Az egyensúlyi vizsgálatokat pH-potenciometriás titrálással kezdtük, a kapott titrálási görbék a **21. ábrán** láthatók. A titrálási görbéken megfigyelhető, hogy a komplexképződési folyamatok már az erősen savas tartományban elkezdődnek, és a ligandum fémion-indukált deprotonálódása erősen átfedő folyamatokban történik meg. A képződő komplexek összetétele és stabilitási állandója az **7. táblázatban** található. Ahogy az a **21. ábrán** látható, ekvimoláris oldatban (**c görbe**) kb. négy

ekvivalens lúg fogy a mintára pH ~ 6-ig, ami $[\text{PdH}_2\text{L}]^-$ összetételű komplex kialakulását eredményezi. Az 1:1 arányra elkészített koncentráció-eloszlási diagram (**22. ábra**) szerint a komplexképződés a $[\text{PdL}]^+$ részecske kialakulásával indul, majd a pH növelésével, átfedő folyamatokban képződnek a $[\text{PdH}_1\text{L}]$ és $[\text{PdH}_2\text{L}]^-$



21. ábra A H^+ -AlaGlyGlyNHOH (a) és Pd(II)-AlaGlyGlyNHOH 1:2 (b), 1:1 (c), 1,5:1 (d) és 2:1 (e) fémion-ligandum arányú rendszerek titrálási görbéi

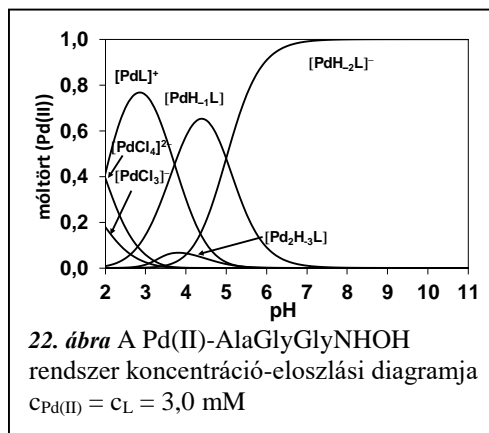
komplexek, és pH ~ 6-ra ez utóbbi lesz a meghatározó az oldatban. A kb. négy

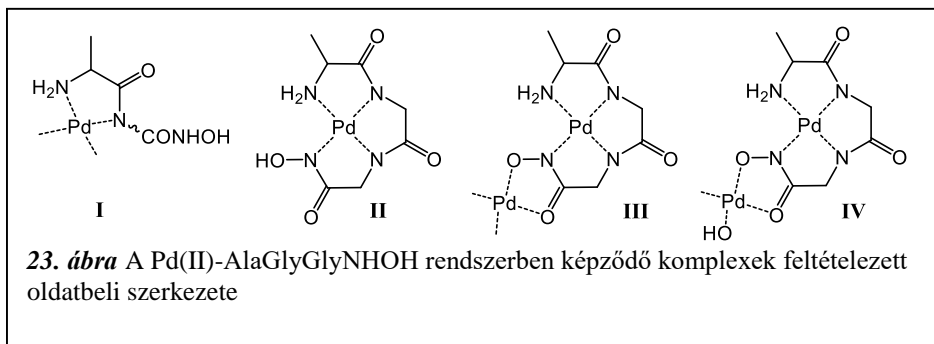
7. táblázat A peptidhidroxámsavak Pd(II)-komplexeinek stabilitási állandójának tízes alapú logaritmusa ($\lg\beta$) és az egyes komplexek deprotonálódási állandójának tízes alapú negatív logaritmusa (pK) 0,10 M KCl és 0,10 M KNO₃ ($I = 0,20$ M) jelenlétében, 25 °C-on*

Részecske	AlaGlyGlyNHOH	AlaGlyGlyN(Me)OH	AlaAlaNHOOH
[PdL] ⁺	22,70(1)	22,60(2)	22,84(3)
[PdH ₋₁ L]	18,98(3)	18,69(2)	20,25(2)
[PdH ₋₂ L] ⁻	13,98(6)	12,2(1)	11,5(1)
[Pd ₂ H ₋₃ L]	22,96(5)	–	–
[Pd ₂ H ₋₄ L] ⁻	13,9(2)	–	–
[Pd ₃ H ₋₄ L ₂]	–	–	44,4(3)
[PdL ₂]	–	–	33,4(3)
[PdH ₋₁ L ₂]	–	–	24,8(3)
Illesztés (ml)	0,0165	0,0250	0,0284
Pontok száma	597	214	283
pK_{PdL}	3,72	3,92	2,59
pK_{PdLH-1}	5,00	6,50	8,8

* Zárójelben a 3 σ standard deviációk szerepelnek

ekvivalens lúgfogyasztás az ammóniumcsoport, a két amidcsoport, valamint a hidroxámsav-N fémion-indukált deprotonálódásához rendelhető, tehát a [PdH₋₂L]⁻ komplexben egy négynitrogénes, (NH₂, N_{amid}, N_{amid}, N_{hidr.}) kötőmód alakul ki, a **23. ábrán** bemutatott **II** szerkezet szerint. Ezen komplex szerkezetéből az is látható, hogy a ligandum képes lehet fémionfelesleget is megkötni a szabadon maradt hidroxamátcsoportján keresztül. Ezt alátámasztja a 2:1 fémion-ligandum aránynál regisztrált titrálási görbe is, ahol megfigyelhető, hogy további egy ekvivalens Pd(II) hatására egy újabb ekvivalens proton szorul le a ligandumról pH ~ 6-ig [Pd₂H₋₃L] összetételű komplex képződése közben (**23. ábra**, **III.** szerkezet). A pH további növelésére újabb deprotonálódás játszódik le a pH ~ 6 és 10 közötti tartományban, mely a hidroximát kelátban tartott fémion szabad koordinációs helyén található





vízmolekula deprotonálódásához, vagy klorid-hidroxid ligandumcsere folyamathoz rendelhető, ami $[Pd_2H_4L]^-$ összetételű vegyes hidroxidokomplex képződését eredményezi, melynek feltételezett oldatbeli szerkezete a **23/IV. ábrán** látható. A ligandumfelesleg mellett kapott titrálási görbék nem mutatnak olyan extra lúgfogyasztó folyamatot, ami biszkomplexek keletkezésére engedne következtetni. A képződő komplexek szerkezetének felderítése érdekében 1H NMR vizsgálatokat is végeztünk. A spektrumokat a minták elkészítésétől számítva 1 óra elteltével vettük fel, ezzel elősegítve, hogy a komplexképződési egyensúly lehetőleg beálljon, valamint ez az időintervallum még összehasonlítható a pH-potenciometriás titrálás időtartományával. A szabad ligandum, valamint a különböző fémion-ligandum arányú rendszerekben különböző pH értékeknél megjelenő jelek kémiai eltolódásait a **8. táblázatban** foglaltam össze, míg reprezentatív példaképp a fiziológiai pH-értékhez közeli pH-kon, különböző fémion-ligandum arány mellett rögzített 1H NMR spektrumok a **24. ábrán** láthatók.

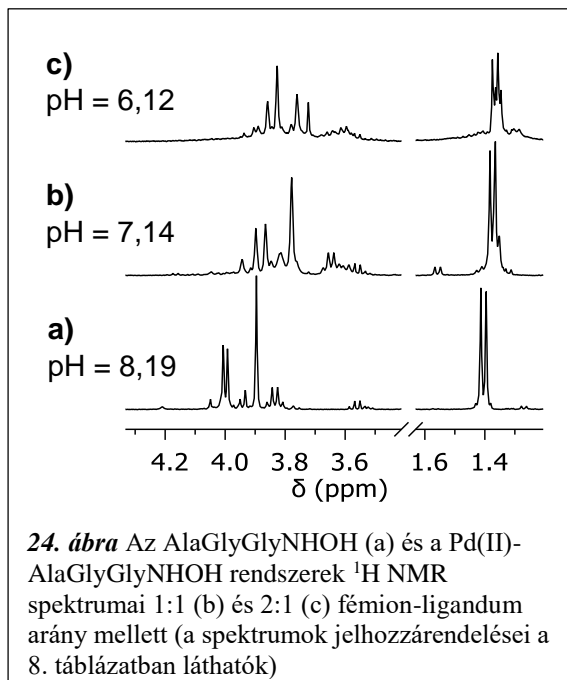
A **8. táblázat** adatai alapján az 1:1 aránynál rögzített 1H NMR spektrumokban a szabad ligandum jelein kívül a pH emelésével összesen három új részecskéhez tartozó jelcsoport van jelen. Ezen részecskék különálló jeleket adnak a spektrumokban, tehát lassú cserében állnak egymással, ami megerősíti a ligandum N-atomjainak részvételét a fémion megkötésében. A pH = 2,36-nál felvett spektrumban a B kvartett, valamint az A dublett jelentős mértékben a nagyobb térerősség felé tolódik fémion jelenlétében a szabad ligandum ugyanezen jeleihez képest, ami egyértelműen bizonyítja, hogy a koordináció az N-terminuson indul, (NH_2, N_{amid}) kötésmóddal (**23. ábra, I. szerkezet**). Ez a megállapítás összhangban van a Pd(II)-oligopeptid kölcsönhatások vizsgálata során kapott eredményekkel.⁷⁴ A pH növelésével további újabb két jelet figyelhetünk

8. táblázat A ligandum nem disszociálós protonjainak kémiai eltolódásai (ppm) a Pd(II)-AlaGlyGlyNHOH rendszer különböző fémion-ligandum arányú és pH-jú mintáiban

Arány (C _{Pd(II)} :C _L)	pH	A	B	C	D	Részecske
0:1	3,11	1,559	4,168	4,036	3,914	H ₂ L ⁺
	6,63	1,548	4,142	4,033	3,914	H ₂ L ⁺ /HL
	8,19	1,405	3,835	3,999	3,897	HL
	9,44	1,290	3,585	3,963	3,828	HL/L ⁻
	10,22	1,278	3,557	3,956	3,800	L ⁻
1:1	2,36	1,559	4,168	4,036	3,914	H ₂ L ⁺
		1,398	3,582	3,977	3,838	[PdL] ⁺
	3,18	1,559	4,168	4,036	3,914	H ₂ L ⁺
		1,398	3,582	3,977	3,838	[PdL] ⁺
	4,98	1,360	3,600	3,832	3,814	[PdH ₋₁ L]
		1,360	3,600	3,832	3,814	[PdH ₋₁ L]
		1,374	3,651	3,876	3,779	[PdH ₋₂ L] ⁻
7,14	1,374	3,651	3,876	3,779	[PdH ₋₂ L] ⁻	
1,5:1	2,47	1,559	4,168	4,036	3,914	H ₂ L ⁺
		1,398	3,582	3,977	3,838	[PdL] ⁺
	4,00	1,398	3,582	3,977	3,838	[PdL] ⁺
		1,360	3,600	3,832	3,814	[PdH ₋₁ L]
		1,365	3,602	3,841	3,723	[Pd ₂ H ₋₃ L]
2:1	2,47	1,559	4,168	4,036	3,914	H ₂ L ⁺
		1,398	3,582	3,977	3,838	[PdL] ⁺
	6,12	1,360	3,600	3,832	3,814	[PdH ₋₁ L]
		1,365	3,602	3,841	3,723	[Pd ₂ H ₋₃ L]
	8,53	1,365	3,602	3,841	3,723	[Pd ₂ H ₋₃ L]
		1,363	3,651	3,886	3,752	[Pd ₂ H ₋₄ L] ⁻
10,84	1,363	3,651	3,886	3,752	[Pd ₂ H ₋₄ L] ⁻	

meg a spektrumban, melyek a 3N koordinált [PdH₋₁L] és 4N koordinált [PdH₋₂L]⁻ komplexekhez rendelhető. A spektrumon az is látható, hogy ez utóbbi részecske lesz az uralkodó kb. 7-es pH-n. A fémionfelesleg alkalmazása mellett rögzített NMR spektrumokban pH ~ 4 fölött egy új jelcsoport figyelhető meg, ami a kétmagvú [Pd₂H₋₃L] komplexhez rendelhető. A pH 8,5 felett megfigyelhető, kissé kiszélesedett jelek vegyes hidroxidokomplex képződését igazolják.

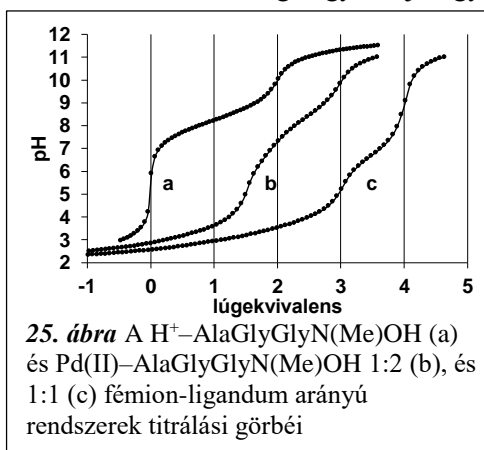
A komplexképződés időbeli lefolyásának vizsgálatához az NMR méréseket hét napon keresztül naponta ismételtük. A minták pH-ja és a kapott spektrumok változtak ugyan az idő előrehaladtával, ám ez a változás a komplexképződési egyensúlyok teljes



beállta miatti pH-változás és így a speciációbeli különbségekből adódott. Ez azt mutatja, hogy a komplexképződés ezen rendszer esetén reverzibilis.

5.5.2 Pd(II)-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszer

A szekunder származék esetében a hidroxamát nitrogén nem képes koordinálni a fémionhoz, így ezen ligandum összesen három nitrogén donálására képes, ezért az előző ligandummal ellentétben a Pd(II) koordinációs szférája nem telítődhet kizárólag N-donoratomokkal. Az ekvimoláris minta titrálási görbéjén látható (**25. ábra, c görbe**), hogy a pH ~ 2,5 – 4,5 tartományban három ekvivalens lúg fogy, majd egy elváló folyamatban történik meg egy negyedik proton fémion általi leszorítása. Ez utóbbi folyamat a primer származékhoz képest a nagyobb pH-tartományban játszódik le. A ligandumfelesleg mellett regisztrált titrálási görbe nem mutat olyan lúgfogyasztó folyamatot, mely biszkomplexek képződésére engedne következtetni. A képződő komplexek



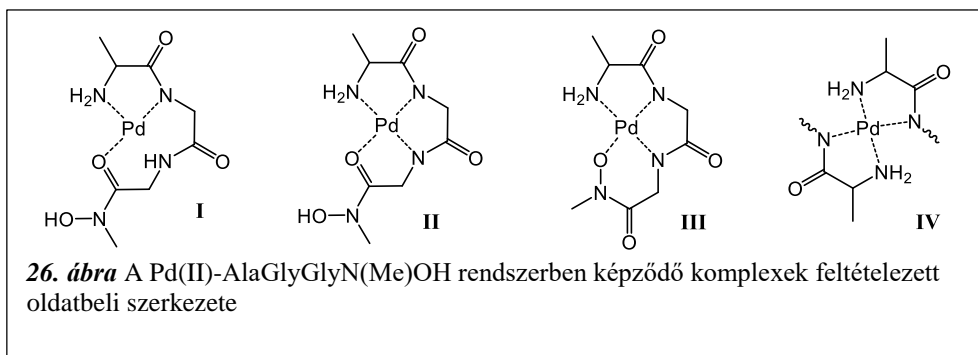
összetételét és stabilitási állandóit a **7. táblázatban** foglaltam össze. Ahogyan a **7. táblázat** adataiból látható, a rendszerben kizárólag egymagvú részecskék képződnek. Mivel a szekunder és primer tripeptidhidroxámsavak bázicitásában nincs nagy különbség, a stabilitási állandók összehasonlításával közvetlenül következtetni tudunk a komplexek kötémódjára is. A két tripeptidszármazék megfelelő $[PdL]^+$ és $[PdH_{-1}L]$ komplexeinek képződési állandói nagyon hasonlóak egymáshoz, ami arra enged következtetni, hogy ezekben a komplexekben rendre (NH_2, N_{amid}) és $(NH_2, N_{amid}, N_{amid})$ kelátok alakulnak ki. Ugyanakkor nagy különbséget mutatnak a $[PdH_{-2}L]^-$ részecskék stabilitási állandói, ami eltérő koordinációs módra utal. Míg a primer származék ezen komplexében egy 4N-es koordinációs környezet volt kimutatható a fémion körül, addig a szekunder származék esetén a fémion negyedik koordinációs helyét a hidroxamát-O foglalhatja el, így egy $(NH_2, N_{amid}, N_{amid}, O_{hidr.})$ donorú, 5,5,6-tagú csatolt kelátrendszer kialakítva. A hidroxamát oxigén részvétele az egymagvú komplex kialakításában arra is magyarázatot ad, hogy ezen ligandum miért nem képes fémionfelesleget megkötni. Hasonló $(NH_2, N_{amid}, N_{amid}, O_{hidr.})$ kötémódot írtak le korábban ezen ligandum Cu(II)-komplexeiben is.¹⁵⁵ Elvégeztük a rendszerbeli folyamatok pH- és időfüggésének vizsgálatát 1H NMR módszer segítségével. A különböző pH-jú és fémion-ligandum arányú mintákban detektált jelek kémiai eltolódásai a **9. táblázatban** láthatók. A kapott eredmények alátámasztották a pH-metriás modell alapján feltételezett részecskék képződését, ráadásul újabb információkat is szolgáltatottak azok szerkezetéről. A mintakészítéstől számított egy óra elteltével felvett spektrumokban a pH ~ 1,93-2,53 tartományban a szabad ligandum jelei mellett egy újabb jelcsoport jelent meg, melyben az A és B protonok jelei jelentősen a nagyobb térerősség felé tolódtak, ami alátámasztja az (NH_2, N_{amid}) kelát kialakulását. Ugyanakkor ugyanezen részecskében az E proton jele a szabad liganduméhoz képest a kisebb térerősség felé tolódott, ami felveti annak a lehetőségét, hogy a hidroxámsavcsoport karbonil oxigénje is részt vesz a fémion megkötésében a **26. ábrán** látható **I.** szerkezet szerint. A pH ~ 6,46-7,20 tartományban egy új jelcsoport látható, ami az $(NH_2, N_{amid}, N_{amid}, O_{karb.})$ koordinált $[PdH_{-1}L]$ komplexhez rendelhető (**26/II. ábra**). Tovább növelve a pH-t, újabb részecskék jelei mutatkoznak a spektrumokban, egyre növekvő intenzitással. Ezen új részecske

9. táblázat A ligandum nem disszociálabilis protonjainak kémiai eltolódása (ppm) a Pd(II)-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszer különböző fémion-ligandum arányú és pH-jú mintáiban

Arány (C _{Pd(II)} :C _L)	pH	A	B	C	D	E	Részecske
0:1	3,02	1,557	4,164	4,050	4,215	3,238	H ₂ L ⁺
	7,11	1,536	4,111	4,047	4,211	3,234	H ₂ L ⁺ /HL
	8,36	1,379	3,772	4,012	4,178	3,215	HL
	9,48	1,293	3,580	3,991	4,134	3,188	HL/L ⁻
	11,60	1,281	3,550	3,989	4,123	3,178	L ⁻
1:1	2,53	1,557	4,164	4,050	4,215	3,238	H ₂ L ⁺
		1,428	3,564	4,232	4,029	3,260	[PdL] ⁺
	4,05	1,428	3,564	4,232	4,029	3,260	[PdL] ⁺
		1,359	3,592	4,049	3,839	3,208	[PdH ₋₁ L]
	6,51	1,359	3,592	4,049	3,839	3,208	[PdH ₋₁ L]
8,10	1,348	3,576	3,884	3,863	3,178	[PdH ₋₂ L] ⁻	
	1,348	3,576	3,884	3,863	3,178	[PdH ₋₂ L] ⁻	
	1,348	3,576	3,884	3,863	3,178	[PdH ₋₂ L] ⁻	
1:2	2,74	1,557	4,164	4,050	4,215	3,238	H ₂ L ⁺
		1,428	3,564	4,232	4,029	3,260	[PdL] ⁺
	6,00	1,557	4,164	4,050	4,215	3,238	H ₂ L ⁺
		1,359	3,592	4,049	3,839	3,208	[PdH ₋₁ L]
		1,407	3,600	3,742	4,239	3,258	[PdL ₂]
	7,91	1,550	4,143	4,038	4,212	3,238	H ₂ L ⁺ /HL
		1,407	3,600	3,742	4,239	3,258	[PdL ₂]
	1,348	3,576	3,884	3,863	3,178	[PdH ₋₂ L] ⁻	

spektrumában az E jel a nagyobb térerősség felé tolódik, alátámasztva a hidroxamát oxigén koordinációját a fémionhoz az **26. ábra III.** szerkezete szerint.

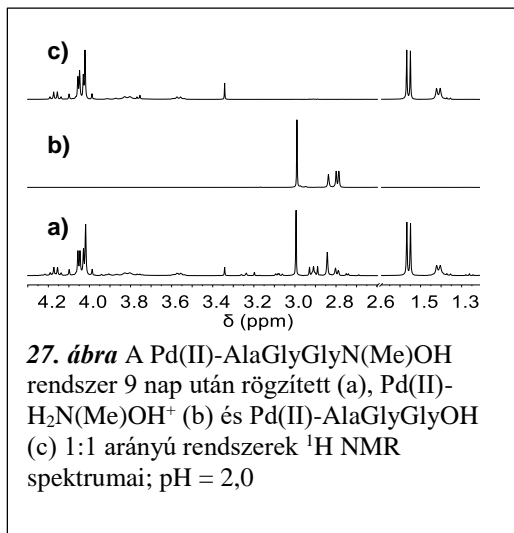
Noha a pH-metria nem mutatta biszkomplexek képződését, az 1:2 arány mellett rögzített ¹H NMR spektrumokban a pH ~ 6-9 tartományban az 1:1 komplexek jelei mellett újabb kis intenzitású jelek is láthatók. Ezeknek az új jeleknek a nagysága az idő előrehaladtával folyamatosan nő, majd öt nap után ebben a pH-tartományban ez a részecske lesz a meghatározó. Ez azt mutatja, hogy ligandumfelesleg mellett



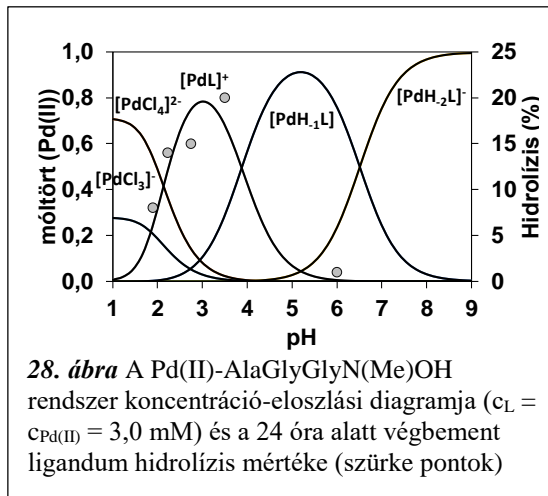
biszkomplex képződik, melynek teljes kialakulásához 5 nap szükséges, így ez egy meglehetősen lassú folyamat. Ehhez a részecskéhez mindössze egy jelcsoport tartozik, tehát a biszkomplex szimmetrikus, így legvalószínűbb szerkezete két (NH_2 , N_{amid}) kelát kialakulásával írható le, ahogy az a **26/IV. ábrán** látható.

A fenti időfüggési vizsgálatok azt is megmutatták, hogy a spektrumokban további változások történtek a $\text{pH} \sim 5$ alatti tartományban nemcsak 1:2, hanem 1:1 arány mellett is. A spektrumokban megjelenő új jelek intenzitása a vizsgált kilenc napos időintervallumban folyamatosan nőtt, mialatt a többi jelé csökkent, és végül kizárólag az új jelek voltak detektálhatók a spektrumokban. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy ez idő alatt valamilyen irreverzibilis átalakulás történt a ligandummal. Tekintve, hogy korábban a Pt(II)-glicinhidroxamát kölcsönhatások vizsgálata során a ligandum fémion indukált hidrolízisét tapasztalták,¹⁵⁷ aminek eredményeképp glicin és annak Pt(II)-komplexe, valamint hidroxilamin keletkezett, feltehetően jelen rendszerben is hasonló folyamat játszódik le. Összehasonlítva a kilenc nap után regisztrált spektrumot a Pd(II)-HN(Me)OH és Pd(II)-AlaGlyGly rendszerek spektrumaival (**27. ábra**) látható, hogy a Pd(II)-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszerben is a Pd(II) tripeptid komplexe és *N*-metil-hidroxilamin keletkezik. Vizsgáltuk ennek a folyamatnak a pH-függését is, aminek eredményeképp azt kaptuk, hogy a hidrolízis sebessége pH függést mutat. Ennek illusztrálására a különböző pH-jú mintákban 24 óra elteltével keletkezett

N-metil-hidroxilamin jelének százalékos integrálarányát a ligandumhoz tartozó E jelek integráljaihoz képest ábrázoltam az 1:1 arányú koncentráció-eloszlási diagramon (**28. ábra**). Az ábrán látható, hogy az ez idő alatt bekövetkezett hidrolízis mértéke korrelál a $[\text{PdL}]^+$ komplex mennyiségével. Noha a ligandum hidrolízis pontos mechanizmusának



felderítése túlmutatott a jelen értekezés célkitűzésein, a fenti megállapítás arra enged következtetni, hogy ennek az (NH_2 , N_{amid} , $\text{O}_{\text{karb.}}$) kötőmódú részecskének kulcsszerepe lehet a reakció lejátszódásának elősegítésében. Ezt a feltételezést a fentebb idézett munka is megerősíti,¹⁵⁷ amiben a

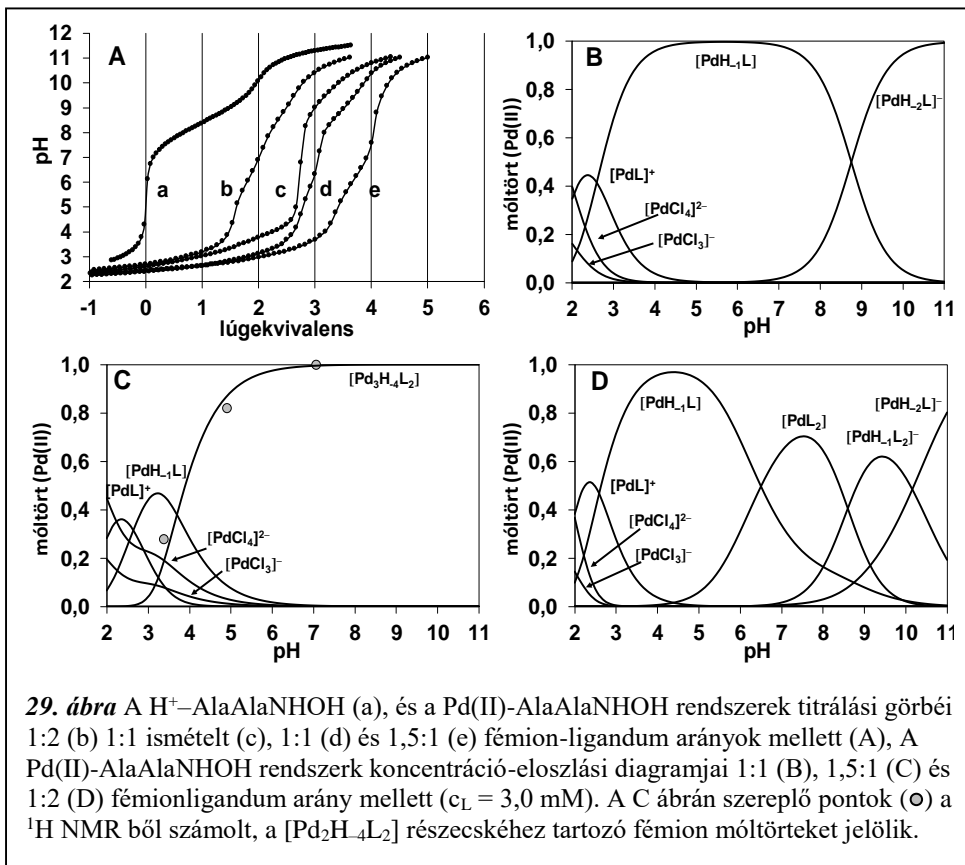


glicinhidroxámsav Pt(II)-indukált hidrolízise feltételezett mechanizmusának kulcslépése az (NH_2 , $\text{N}_{\text{hydr.}}$) kötőmódú $[\text{PtL}]^+$ komplex protonálódása (NH_2 , $\text{O}_{\text{karb.}}$) koordinációs módú $[\text{PtHL}]^{2+}$ komplexszé. Az így kialakult részecske erősen parciális pozitív töltésű szénatomján egy oldószer vízmolekula nukleofil támadásával a hidroxámsavcsoport hidrolízise történhet meg hidroxilamin kilépése közben.¹⁵⁷

5.5.3 Pd(II)-dipeptidhidroxámsav rendszerek

Az AlaAlaNH₂OH ligandumban az összesen három N-donoratom mellett két oxigén donoratom áll rendelkezésre a Pd(II) megkötésére, de szterikus okok miatt a fémion négy koordinációs helye nem telítődhet csak egy ligandum donoratomjaival.

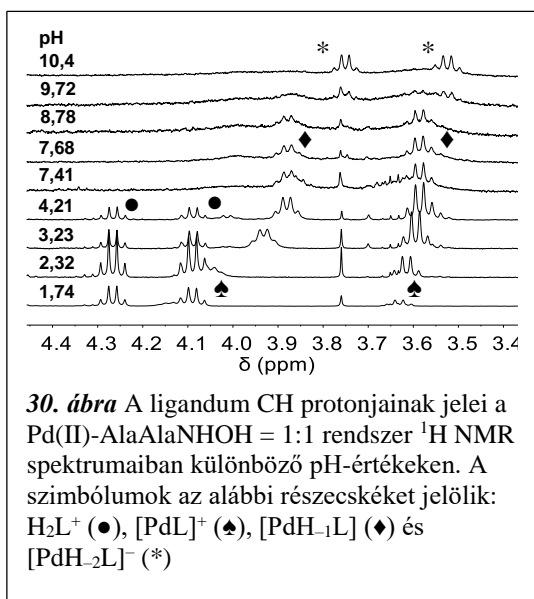
A 29. ábrán szereplő titrálási görbék rögzítése során az egyensúly nem állt be a titrálás időtartama alatt, ami nem csak a lassú komplexképződéssel magyarázható, hanem a ligandum fémion-indukált hidrolízisének megjelenését is mutathatja a rendszerben. Ekvimoláris oldatban pH ~ 5-ig három ekvivalens lúg fogy, majd egy jól elkülönülő lépésben pH ~ 7 fölött egy újabb lúgfogyasztó folyamat játszódik le. A savas tartományban lejátszódó folyamatok a $[\text{PdH}_1\text{L}]$ összetételű, feltehetően (NH_2 , N_{amid} , $\text{N}_{\text{hydr.}}$) kötőmódú komplex képződését eredményezik, ami a pH növelésével tovább deprotonálódik, a $[\text{PdH}_2\text{L}]^-$ részecskét kialakítva. Ez utóbbi folyamat tartozhat a



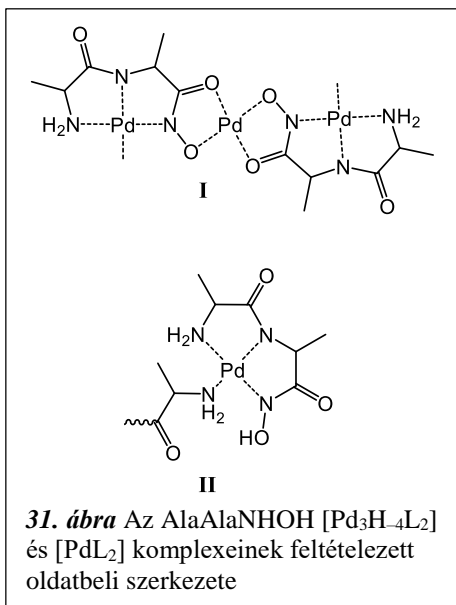
hidroxamátcsoport deprotonálódásához, vagy vegyes hidroxidokomplex képződéséhez. Az 1:1 arányú mintát titrálás után visszasavanyítva, majd azt négy nap elteltével újra megtitrálva a kapott titrálási görbén ez az utolsó folyamat nem látható, ami egyrészt bizonyítja a ligandum Pd(II)-asszisztált hidrolízisét, valamint megmutatja, hogy a $[\text{PdH}_2\text{L}]^-$ részecskében a hidroxamátcsoport deprotonált. A ligandum képes fémionfelesleg megkötésére, ám a tripeptidszármazékkal ellentétben, a dipeptidhidroxámsav 1,5 ekvivalens fémiont képes fogadni, amit egy hárommagvú, $[\text{Pd}_3\text{H}_4\text{L}_2]$ összetételű részecske képződésével értelmezhetünk. Ligandumfelesleg mellett a titrálási görbén $\text{pH} = 5$ fölött egy extra lúgfogyasztó folyamat látható, ami biszkomplexek képződésére utal. A képződő részecskék összetétele és stabilitási állandói az 7. táblázatban láthatók. Ahogy az a koncentráció-eloszlási görbéken látható, a komplexképződés már $\text{pH} = 2$ alatt, a $[\text{PdL}]^+$ komplex kialakulásával indul, melynek képződési állandója közel azonos a tripeptidhidroxámsavak ezen összetételű

komplexével, így ez esetben is (NH_2 , N_{amid}) kelát kialakulása feltételezhető. A pH növelésével egy újabb deprotonálódást követően $[\text{PdH}_{-1}\text{L}]$ összetételű részecske képződik. Ezen folyamat több mint egy egységgel kisebb pH-n játszódik le a tripeptidszármazékokhoz képest; a $[\text{PdL}]^+ \rightleftharpoons [\text{PdH}_{-1}\text{L}] + \text{H}^+$ folyamat egyensúlyi állandója $\text{p}K_{[\text{PdL}]} = 2,59$, ami nagyfokú kooperativitásra utal. Ennek oka az lehet, hogy míg a tripeptidhidroxámsavakban a második amidcsoport deprotonálódása és koordinációja eredményezi a $[\text{PdH}_{-1}\text{L}]$ összetételű komplex kialakulását, addig ez esetben a kisebb bázicitású hidroxámsav-N fémion-indukált deprotonálódása történik meg. Tovább növelve a pH-t egy újabb folyamat játszódik le, ami a szabadon maradt hidroxamát-OH deprotonálódásához rendelhető.

A képződő komplexek szerkezetét ^1H NMR módszerrel is sikeresen igazoltuk. Ahogy az 1:1 arányú minta pH függő NMR spektrumain látható (30. ábra), már $\text{pH} = 2$ alatt új jeleket (\spadesuit) figyelhetünk meg a szabad ligandum jelein (\bullet) kívül, melyek nagymértékű eltolódást mutatnak a nagyobb térerősség irányába. Ez szintén alátámasztja, hogy a $[\text{PdL}]^+$ komplex (NH_2 , N_{amid}) kötésmóddal rendelkezik. Fontos észrevenni, hogy



a pH növelésével ezen új jelek intenzitása növekszik, miközben folyamatosan a nagyobb térerősség irányába tolódnak, majd $\text{pH} = 7,41$ -re csak ezek a jelek (\blacklozenge) láthatók a spektrumban. A jelek folyamatos tolódásából – a tripeptidhidroxámsav komplexekkel ellentétben – gyors cserére következtethetünk a $[\text{PdL}]^+$ és $[\text{PdH}_{-1}\text{L}]$ részecskék között. A $\text{pH} \sim 9,7$ fölött megjelenő új jelek (*) a deprotonált hidroxamátcsoporttal rendelkező $[\text{PdH}_{-2}\text{L}]^-$ komplexhez rendelhetők. A fémionfelesleget tartalmazó minták ^1H NMR spektrumában a 3,38-as pH-jú mintában egy új különálló jelcsoport jelenik meg, melynek intenzitása a pH-val nő, majd $\text{pH} = 7$ -re csak ezen jelek láthatók a spektrumban. Ezek a jelek a hárommagvú, $[\text{Pd}_3\text{H}_{-4}\text{L}_2]$

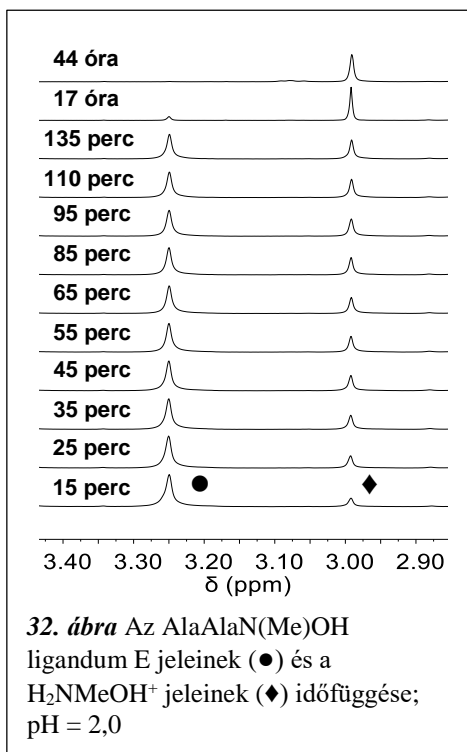


összetételű komplexhez rendelhetők. Mivel ehhez a részecskéhez mindössze egy jelcsoport tartozik, a komplexhez szimmetrikus szerkezet rendelhető, mely a **31/I. ábrán** látható. Hasonló összetételű és szerkezetű komplex képződését tapasztalták korábban ezen ligandum Cu(II)-tartalmú rendszerében is.¹⁴² Ezen hárommagvú részecske jeleinek integrálja alapján számolt Pd(II)-móltört értékeket az 1,5:1 arányú koncentráció-eloszlási diagramra vetítve látható a jó egyezés a pH-metriás és NMR

eredmények között. Az eddig tárgyalt Pd(II)-tartalmú rendszerektől eltérően ebben az esetben biszkomplexek képződését is ki tudtuk mutatni pH-metriásan, melyek [PdL₂] és [PdH₋₁L₂]⁻ összetétellel rendelkeznek. Mivel ezen részecskék kialakulása pH ~ 5, azaz a [PdH₋₁L] képződésének pH-tartománya fölött indul, valószínűleg mindkét biszkomplex tartalmaz egy (NH₂, N_{amid}, N_{amid}) kötés módú egységet, amelyben a fémion negyedik koordinációs helyéhez kötődik a második ligandum a terminális aminosocsoportjával (**31. ábra II.** szerkezet), miközben annak hidroxámsavcsoportja protonált, vagy deprotonált lehet. Ezt a ¹H NMR spektrumok is megerősítik, hiszen 1:2 aránynál 5-ös pH fölött két új jelcsoport figyelhető meg, melyek csak ligandum feleslegnél léteznek, és kémiai eltolódásuk folyamatosan a nagyobb térerősség felé változik a pH növelésével. Ez egyértelműen bizonyítja, hogy a biszkomplexben lévő ligandumok eltérő kémiai környezetben vannak, valamint a folyamatos tolődás jelzi a szabadon maradt hidroxámsavcsoport deprotonálódását. Hasonló szerkezetű biszkomplexeket mutattak ki korábban a Pd(II)-tripeptid rendszerekben, ahol az egyik ligandum (NH₂, N_{amid}, N_{amid}) kötés móddal, míg a másik, egyfogú ligandumként, a terminális aminosocsoportján keresztül koordinálódott a fémionhoz.⁷⁴

Az AlaGlyGlyN(Me)OH rendszerénél tapasztalt fémion-indukált ligandum hidrolízis ebben a rendszerben is megjelent; a savas pH-tartományban már két nap elteltével

jelentős változások voltak detektálhatók a spektrumokban, melyek alanilalanin, illetve annak Pd(II)-komplexei keletkezését mutatták.



Az AlaAlaN(Me)OH rendszer pH-metriás titrálása során pH ~ 4 felett fém palládium képződését tapasztaltuk, és ugyanez történt az NMR mérések során is, ahol Pd-tükör vált ki az NMR cső falára. A fenti okokból kifolyólag egyensúlyi vizsgálatokat nem tudtunk végezni ebben a rendszerben. A regisztrált ¹H NMR spektrumokban a szabad ligandum jelei mellett láthatóak ugyan új jelcsoportok, melyek az idővel egyre markánsabbá válnak, ám ezen jelek nem csupán komplexképződésre engednek következtetni. A 32. ábrán látható a pH = 2,0-n rögzített NMR spektrumok időbeli változása, ahol megfigyelhető, hogy a

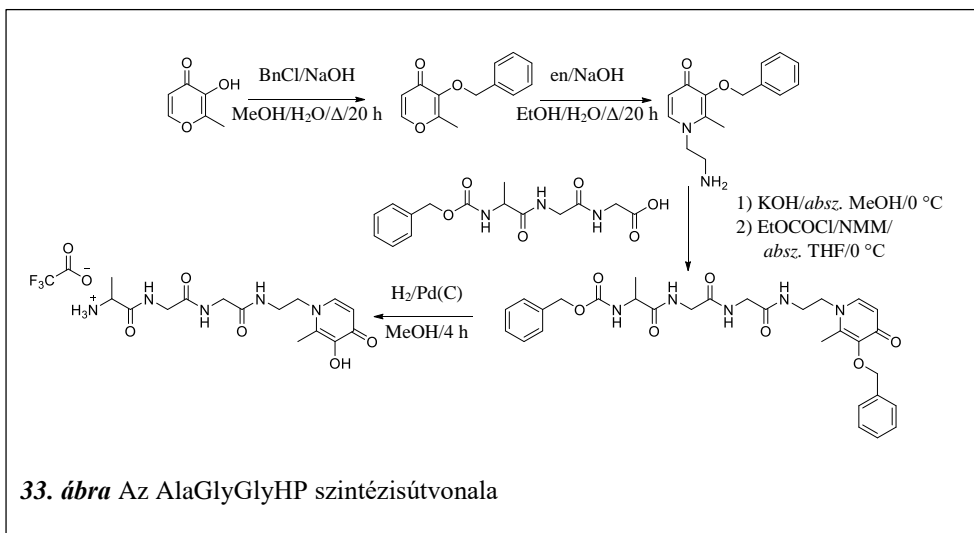
ligandum E protonjának jele mellett (●) megjelent új szinglett (◆) – amely a H₂NMeOH⁺-hoz tartozik – intenzitása az idő elteltével folyamatosan növekszik, majd 44 óra elteltével már csak ez utóbbi jel látható a spektrumban. Ez egyértelműen alátámasztja a ligandum hidroxámsavcsoportjának hidrolízisét. A fent szemléltetett példán kívül a spektrumokban további változások is történtek, melyek a Pd(II)-AlaAla rendszer részecskéinek képződését mutatták, ugyanakkor AlaAlaN(Me)OH tartalmú Pd(II)-komplexhez tartozó részecskét nem tudtunk kimutatni. Mindezen tapasztalatok összessége alapján elmondható, hogy ebben a rendszerben a ligandum hidrolízise nagyon gyorsan bekövetkezik. A hidrolitikus reakcióban keletkezett N-metil-hidroxilamin képes redukálni a Pd(II)-ionokat, így feltehetően ez okozta a fém palládium kiválását az oldatból.

5.6 Peptid-hidroxipiridinon konjugátumok vizsgálata

5.6.1 A ligandumok szintézise

A vizsgált AlaAlaHP és AlaGlyGlyHP konjugátumok előállításának első lépése a maltol benzilezése volt Williamson típusú éterszintézisen keresztül. Ezután az így kapott benzilmaltol reagáltatva 1,2-diaminoetánnal, megkaptuk az $\text{NH}_2\text{-Et-HP-OBn}\cdot 2\text{HCl}$ -t. Ezen vegyületet a szabad aminocsoportján keresztül kapcsoltuk az N-terminálison Z-védett di- ill. tripeptid karboxilcsoportjához egy amidkötés kialakításával. A karboxilcsoport aktiválása *in situ* vegyes savanhidridképzéssel történt klórhangyasav-etilészter segítségével N-metil-morfolin bázis jelenlétében. A védett termékek izolálását flash-kromatográfiásan végeztük szilikagél állófázison, a dipeptid származék esetén ezen műveletet egy további átkristályosítás is követte. A benziloxikarbonil-, valamint benzilcsoportok eltávolítása egy lépésben, katalitikus hidrogénezéssel történt, mellyel egyidőben kialakítottuk a termék trifluoracetát sóját.

A **33. ábrán** az AlaGlyGlyHP szintézisének reakciólépései láthatók.



5.6.2 A Pd(II)-ionok kölcsönhatása DHP-vel

Ahogy az már az irodalmi bevezetőből kiderült, a Pd(II) nagy affinitást mutat a peptidváz nitrogénjei felé, ugyanakkor a vizsgálni kívánt peptidkonjugátum (O,O)-donor egységét modellező DHP-vel (melynek szerkezete a **11. ábrán** látható) való

kölcsönhatásra vonatkozóan nem találhatók adatok az irodalomban. Éppen ezért a peptidkonjugátumok Pd(II)-komplexeinek tanulmányozása előtt vizsgáltuk ezen fémion kölcsönhatását az (O,O)-donor DHP-vel. Noha a ligandum protonálódási folyamatait korábban már részletesen vizsgálták,³⁹ a kapott eredmények nem az általunk használt kísérleti körülményekre vonatkoznak, így a ligandum deprotonálódási állandóit mi is meghatároztuk, melyek a **10. táblázatban** találhatóak.

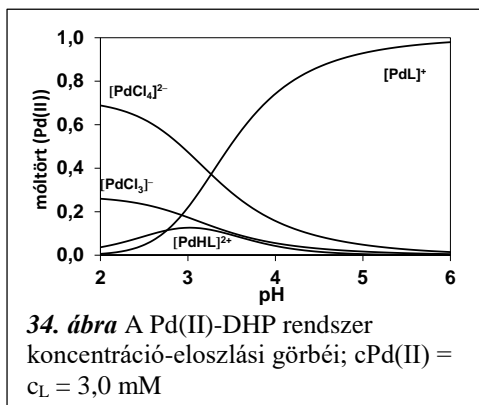
10. táblázat A DHP deprotonálódási állandóinak tízes alapú negatív logaritmusa (pK) és a képződő Pd(II)-komplekxek stabilitási állandóinak tízes alapú logaritmusa ($\lg\beta$) 25,0 °C-on, I = 0,10 M KCl + 0,10 M KNO₃*

pK_1	3,61(1)
pK_2	9,76(1)
Részecske	$\lg\beta$
$[\text{PdHL}]^{2+}$	20,42(5)
$[\text{PdL}]^+$	17,66(1)
Illesztés (ml)	0,00820
Pontok száma	93
pK_{PdHL}	2,76

* Zárójelben a 3σ standard deviáció értékek szerepelnek

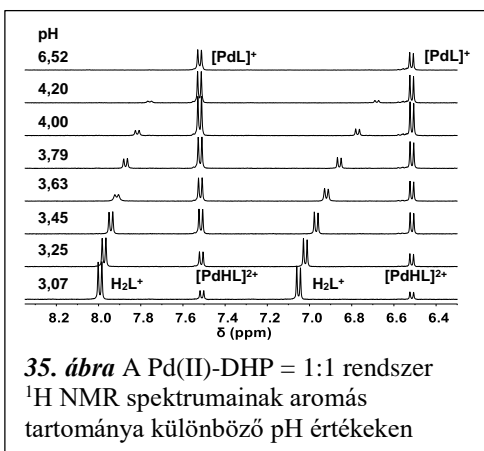
A teljesen protonált ligandum két disszociábilis protont tartalmaz. Tekintve, hogy a molekulában erős delokalizáció áll fenn, a különböző protonáltsági fokú vegyülethez eltérő határszerkezeti formák tartoznak. A korábbi eredmények alapján a piridinongyűrű 4-es C-atomján található hidroxilcsoport rendelkezik kisebb bázicitással, mint a 3-as C-atomon lévő. Az általunk kapott eredmények jó egyezést mutatnak a korábbiakkal.³⁹

A Pd(II)-ionokkal való kölcsönhatás vizsgálatát pH-potenciometriás titrálással kezdtük. A titrálás során mind 1:1 mind 1:2 fémion-ligandum arány mellett a pH ~ 5-6 fölötti tartományban csapadék képződött, így az adatokat csak eddig a pH-tartományig értékeltük. A képződő részecskék összetétele és stabilitási állandója a **10. táblázatban** látható, míg az ekvimoláris mintára számolt koncentráció-eloszlást a **34. ábra** szemlélteti. Ahogy az a **34. ábrán** látható,



a komplexképződés már pH ~ 2-n elkezdődik a $[\text{PdHL}]^{2+}$ összetételű részecske képződésével, majd a pH növelésével egy újabb deprotonálódási folyamat a $[\text{PdL}]^+$ komplex képződését eredményezi, és ez lesz a fő részecske pH 5 fölött. A $[\text{PdHL}]^{2+} \rightleftharpoons [\text{PdL}]^+ + \text{H}^+$ folyamatra jellemző egyensúlyi állandó értékéből ($\text{p}K[\text{PdHL}]^{2+} = 2,76$) nagyfokú kooperativitásra következtethetünk a nagy stabilitású $[\text{PdL}]^+$ részecske képződésére vonatkozóan.

A komplexképződést ^1H NMR módszer segítségével is követtük. A különböző pH-értékeken regisztrált NMR spektrumok a **35. ábrán** láthatók. Ekvimoláris oldatban a szabad ligandum jelei mellett pH ~ 3 felett egy új jelcsoport jelenik meg, melynek intenzitása a pH emelésével folyamatosan növekszik. Ezen jelek igen



kismértékű tolódást is mutatnak a kisebb térerősség irányába, ($\Delta\delta = 0,01$ ppm) ami két részecske, a $[\text{PdHL}]^{2+}$ és $[\text{PdL}]^+$ közötti gyors cserére utal. pH = 6,5-nél mindössze a $[\text{PdL}]^+$ komplexhez tartozó jelcsoport látható, így ezen a pH-n ez az uralkodó részecske. Ligandumfelesleg esetén hasonló komplexképződési folyamatokat találtunk, mint az ekvimoláris oldatnál. Mind az 1:1 mind az 1:2 fémion-ligandum arányú mintákban 4-es pH fölött csapadékképződés volt tapasztalható, valamint a pH = 8 fölött rögzített spektrumokban nem található szabad ligandumhoz, vagy fémkomplexhez tartozó jelek. Ezen megfigyelések egy igen kis oldhatóságú komplex képződését mutatják. A kapott csapadékot MALDI-MS vizsgálatnak, valamint elemanalízisnek vetettük alá. A MALDI-MS spektrumban két jel volt detektálható, $m/z = 405,005$ és $m/z = 420,984$ értékeknél, melyek rendre a $[\text{PdL}_2 + \text{Na}]^+$ (számolt $m/z = 405,004$) és $[\text{PdL}_2 + \text{K}]^+$ (számolt $m/z = 420,978$) ionoknak feleltethetők meg. A csapadékra kapott elemanalízis eredmények (C: 41,92 %, H: 4,37 %, N: 6,95 %) a $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{Pd} = [\text{PdL}_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ összetételnek felelnek meg (számolt: C: 41,96 %, H: 4,53 %, N: 6,99 %). A fenti eredmények alapján megállapítható, hogy 1:2 valamint 1:1 aránynál is a nagyon kis oldhatóságú biszkomplex vált ki az oldatból.

5.6.3 A peptid-hidroxi-piridinon konjugátumok sav-bázis tulajdonságai

Az új peptidkonjugátumokban a hidroxi-piridinon egység egy peptidlánc C-terminusához van kapcsolva amidkötésen keresztül, így ezen ligandumoknak három disszociálható protonja van. A ligandumok disszociációs állandói az **11. táblázatban** láthatók, melyben összehasonlításként az AlaGlyGly tripeptid megfelelő értékeit is felüntetem.

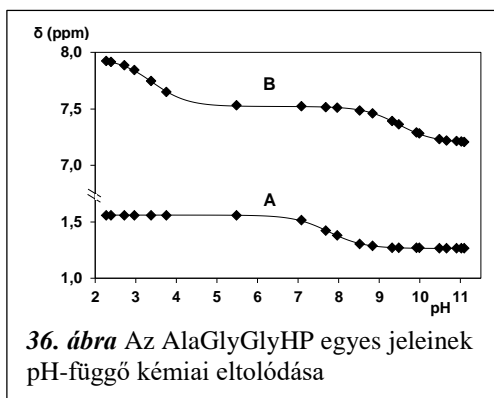
11. táblázat A vizsgált peptid-piridinon konjugátumok disszociációs állandóinak tízes alapú negatív logaritmusai (pK) 25,0 °C-on, I = 0,10 M KCl + 0,10 M KNO₃*

	AlaGlyGlyHP		AlaAlaHP		AlaGlyGly ⁷⁴
pK_{COOH}	–	–	–	–	3,28
$pK_{OH(4)}$	3,32(4)	3,41(2) ^a	3,22(3)	3,46(5) ^a	–
$pK_{NH_3^+}$	7,74(2)	7,76(1) ^a	7,88(2)	7,70(2) ^a	7,94
$pK_{OH(3)}$	9,46(1)	9,48(2) ^a	9,64(1)	9,56(4) ^a	–

* Zárójelben a 3σ standard deviáció értékek szerepelnek, a: ¹H NMR-ből

Az egyes proton-disszociációs folyamatok megfelelő csoportokhoz történő hozzárendelése érdekében az új ligandumok deprotonálódási folyamatait ¹H NMR spektroszkópiás módszerrel is követtük. Reprezentatív példaképp a **36. ábrán** az AlaGlyGlyHP két kiválasztott jelének kémiai eltolódása látható a pH függvényében.

A **11. táblázat** adataiból látható, hogy mindkét vegyületnek közel azonosak a savi disszociációs állandói, így az egyes folyamatok mindkét ligandumban ugyanazon csoportok deprotonálódásához tartozhatnak. A **36. ábrából** látható, hogy a pH ~ 2-5 tartományban a hidroxi-piridinon



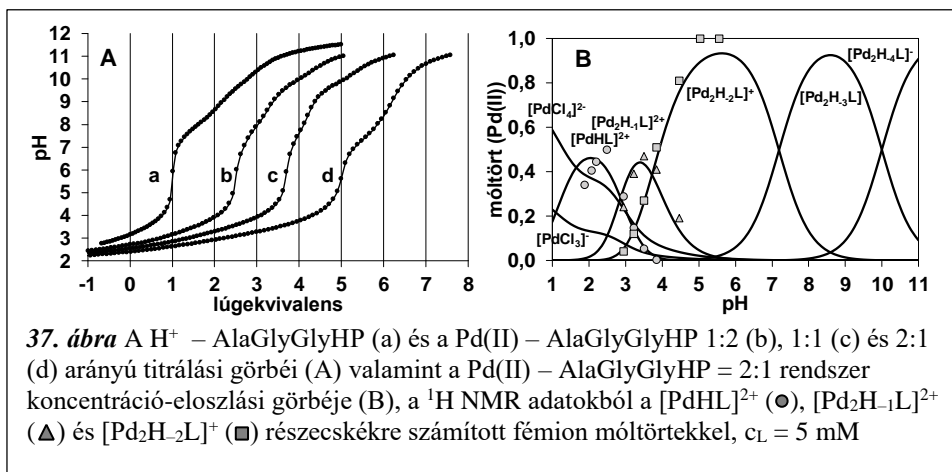
36. ábra Az AlaGlyGlyHP egyes jeleinek pH-függő kémiai eltolódása

gyűrűprotonjainak kémiai eltolódása változik a nagyobb térerősség felé, ezért az első deprotonálódási folyamat a gyűrű 4-es helyzetű hidroxilcsoportjához (OH(4)) rendelhető. A pH-t növelve, a pH ~ 7-9 tartományban az N-terminális alanin metilcsoportjának (A protonok) kémiai eltolódása változik a nagyobb térerősség irányába, így a második protonvesztés a terminális ammóniumcsoportozhoz rendelhető. Egy újabb, ezzel kismértékben átfedő folyamat eredményeképpen, újra a piridinon gyűrűprotonok kémiai eltolódása változik a pH ~ 8,5-10,5 tartományban,

következésképpen a legnagyobb pK érték a gyűrű 3-as helyzetben található hidroxilcsoportjához (OH(3)) rendelhető. A ^1H NMR adatokból számított pK értékek szintén a **11. táblázatban** találhatóak, melyek jó egyezést mutatnak a pH-potenciometriás eredményekkel. A ligandumok megfelelő csoportjainak pK értékét összehasonlítva az önálló peptid- vagy hidroxipiridinon egység megfelelő értékeivel, megállapítható, hogy a peptidkonjugátum megfelelő pK -értékei 0,2-0,4 egységgel kisebbek.

5.6.4 A tripeptid-hidroxipiridinon konjugátumok kölcsönhatása Pd(II)-ionnal

A Pd(II)-peptidkonjugátum kölcsönhatások feltérképezése érdekében az egyensúlyi vizsgálatokat pH-potenciometriás és ^1H NMR spektroszkópai módszerekkel végeztük, valamint eredményeinket ESI-MS vizsgálatokkal is kiegészítettük. A Pd(II)-peptidhidroxámsav rendszerekhez hasonlóan, jelen rendszerben is lassú komplexképződési folyamatok játszódtak le, ahol az egyensúly nem állt be teljesen a pH-potenciometriás titrálások időtartama alatt. Ebből adódóan ezen rendszerekre meghatározott képződési állandók csak közelítő jellegűek. A Pd(II)-AlaGlyGlyHP rendszer 2:1 fémion-ligandum arányú titrálási görbéjén látható (**37/A. ábra, d görbe**), hogy a komplexképződés már az erősen savas pH-tartományban elkezdődik, ahol a fémion tartalmú minta titrálási görbéje elválk a szabad ligandumétól. A titrálás során pH ~ 5 -ig öt ekvivalens lúg fogy, majd pH ~ 6 fölött újabb lúgfogyasztó folyamatok láthatók. Ez az NMR információkkal együtt (lásd lejjebb) nagy stabilitású, kétmagvú



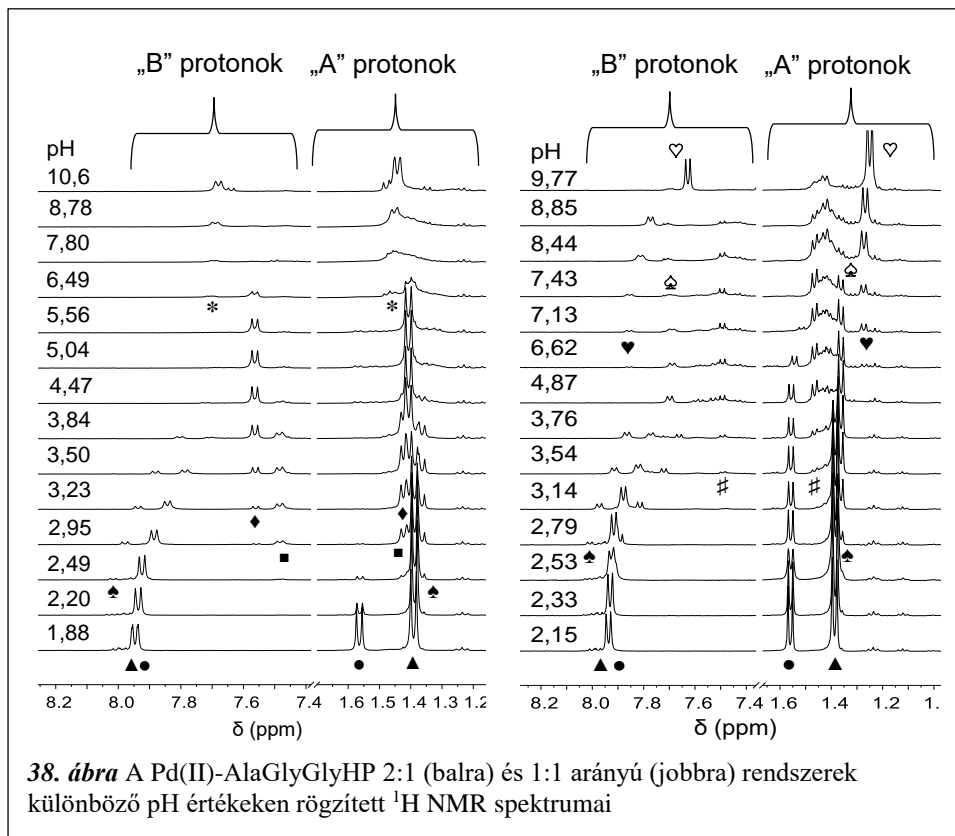
komplex képződését támasztja alá. Az ekvimoláris minta titrálási görbéje kevésbé jól strukturált, ami egyrészt a lassan beálló egyensúlyoknak köszönhető, másrészt több részecske együttes jelenlétére is utalhat. A ligandumfelesleg mellett regisztrált titrálási görbe nem mutat biszkomplexek képződésére utaló extra lúgfogyasztó folyamatot. Noha a titrálások során az egyensúly lassan állt be, a görbék illesztéséből kaptunk egy közelítő egyensúlyi modellt. A képződő részecskék összetétele, és képződési állandója a **12. táblázatban** látható.

12. táblázat Az AlaGlyGlyHPd(II)-komplexeinek összetétele és stabilitási állandójának tízes alapú logaritmsa ($\lg\beta$), valamint az egyes komplexek deprotonálódási állandójának tízes alapú negatív logaritmsa (pK) 25,0 °C-on, I = 0,10 M KCl + 0,10 M KNO₃*

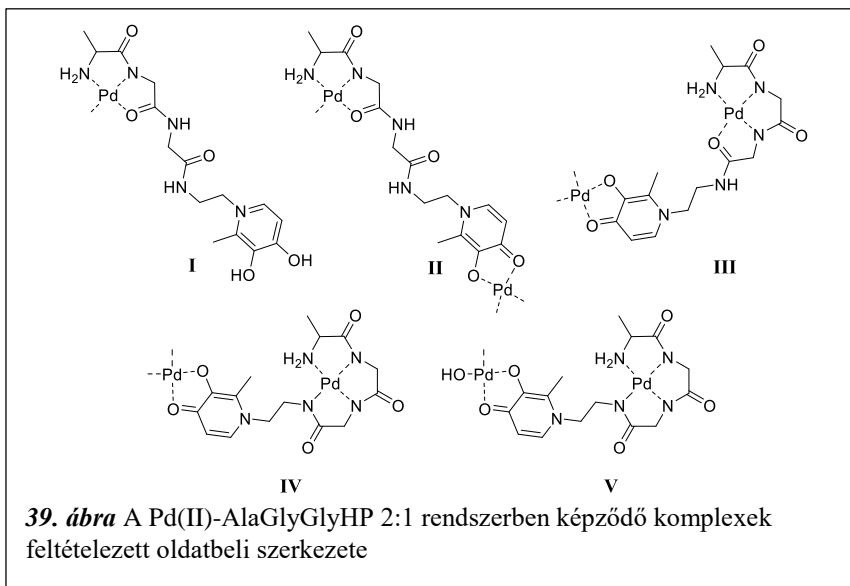
Részecske	$\lg\beta$
[PdHL] ²⁺	28,18(4)
[PdL] ⁺	24,54(9)
[PdH ₋₁ L]	21,01(6)
[PdH ₋₂ L] ⁻	12,7(1)
[PdH ₋₃ L] ²⁻	2,4(1)
[Pd ₂ H ₋₁ L] ²⁺	32,71(8)
[Pd ₂ H ₋₂ L] ⁺	28,99(7)
[Pd ₂ H ₋₃ L]	21,8(1)
[Pd ₂ H ₋₄ L] ⁻	11,8(1)
Illesztés (ml)	0,0249
Pontok száma	254
pK_{PdHL}	3,64
pK_{PdL}	3,53
pK_{PdH-1L}	8,31
pK_{PdH-2L}	10,3
$pK_{Pd2H-1L}$	3,72
$pK_{Pd2H-2L}$	7,2
$pK_{Pd2H-3L}$	10,0

* Zárójelben a 3 σ standard deviáció értékek szerepelnek

A táblázat adataiból látható, hogy néhány képződési állandó bizonytalansága nagy a lassan beálló egyensúlyok miatt, így ahhoz, hogy teljesebb képet kapjunk a rendszerről részletes NMR és ESI-MS vizsgálatokat is végeztünk. A 2:1 arány mellett, különböző pH-értéken rögzített ¹H NMR spektrumok a **38. ábrán** láthatók.



Ahogy az a **38. ábra** baloldali spektrumsorozatán látható, a szabad ligandum jelei (●) mellett már 2-es pH alatt egy új jelcsoport (▲) látható, mely Pd(II)-tartalmú részecskéhez rendelhető. Ezen jelcsoport intenzitása a pH emelésével növekszik, és pH = 2,49-en éri el a maximumot. Ezen részecske spektrumában az A dublett nagymértékben a nagyobb térerő felé van eltolódva a szabad ligandum jeléhez képest, míg a B-jelű gyűrűproton jelének kémiai eltolódása csak igen kismértékben változik a szabad liganduméhoz képest. Mindezekből arra lehet következtetni, hogy a komplexképződés az N-terminus felől kezdődik (NH₂, N_{amid}) kelát kialakulásával, miközben a hidroxipiridion egység teljesen protonált marad (**39. ábra I.** szerkezet). A fentiekből következően a komplexképződés a [PdH₁LH₂]²⁺ = [PdHL]²⁺ összetételű részecske képződésével indul, ami összhangban van a pH-potenciometriás eredményekkel. A pH további növelésével ezen komplex gyűrűprotonjainak jelei a nagyobb térerősség felé tolódnak, miközben intenzitásuk csökken, ez a szabadon maradt hidroxipiridion egység deprotonálódását támasztja alá. Ezzel párhuzamosan,



pH = 2,49 fölött új jelek láthatók a spektrumokban (■), melyekben a B protonok nagy kémiai eltolódás változást mutatnak a nagyobb térerősség irányába, míg az A jelek kémiai eltolódása csak kis mértékben változik. Ebből egy második fémion (O,O) keláton keresztüli koordinációjára következtethetünk, melynek eredményeképpen $[Pd_2H_1L]^{2+}$ összetételű kétmagvú komplex keletkezik (39./II. ábra). Ezen részecske képződésével átfedő folyamatban egy új komplex képződik a pH növelésével, mely a különálló jelei (◆) alapján lassú cserében van az előző részecskével, amiből egy újabb N-atom belépése feltételezhető a fémion koordinációs szférájába. Ez alapján ezek a jelek egy olyan kétmagvú részecskéhez tartozhatnak, melyben az egyik fémion a hidroxipiridinon egység által (O,O) kelátban helyezkedik el, míg a másik a peptidvázhoz (NH₂, N_{amid}, N_{amid}) donoratomon keresztül kötődik a 39. ábra III. szerkezete szerint. Ez a $[Pd_2H_2L]^+$ komplex széles pH-tartományban uralkodó részecske az oldatban. Ezen kétmagvú komplexek jelenlétét ESI-MS vizsgálatok is egyértelműen megerősítették. A különböző pH-értékeken regisztrált tömegspektrumokban azonosított részecskék mért és számolt m/z értékeit a 13. táblázatban foglaltam össze. Kb. pH ~ 6,5-nél kissé kiszélesedett jelek tűnnek fel a ¹H NMR spektrumban (*), melyek intenzitása a pH-val nő, és közben a jelek kismértékben a nagyobb térerősség irányába tolódnak. Mivel ezen új jelcsoport az

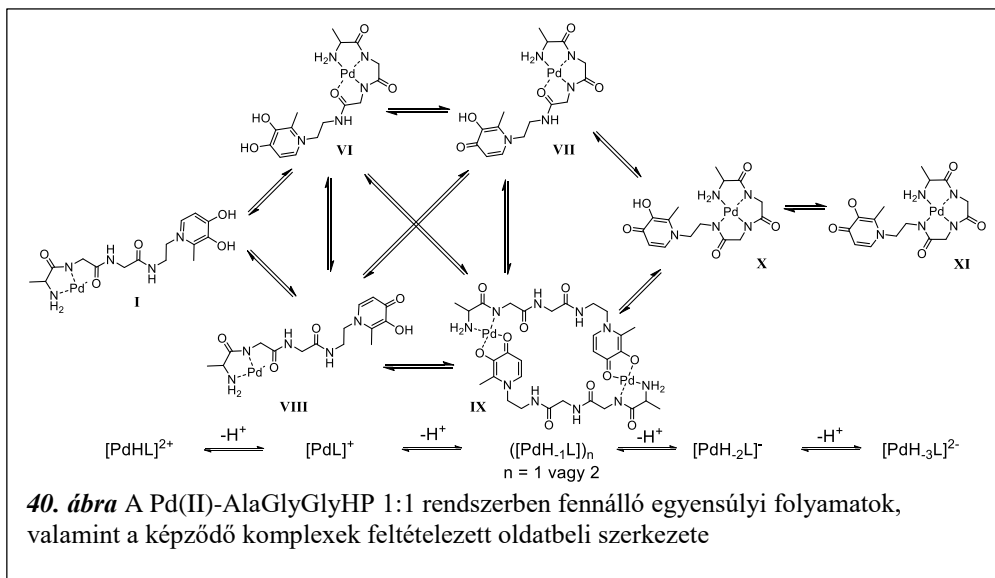
13. táblázat A Pd(II)-AlaGlyGlyHP rendszer ESI-MS spektrumaiban azonosított részecskék mért és számolt m/z értékei

Részecske	pH-tartomány	m/z	
		Mért	Számolt
[PdL] ⁺	2,7	458,0655	458,0657
[PdH ₁ L + Cl] ⁻	2,7-5,5	494,0259	494,0257
[PdH ₁ L + K] ⁺	2,7-5,5	496,0217	496,0209
[PdH ₁ L + 2K + Cl] ⁺	2,7-5,5	571,9531	571,9529
[Pd ₂ H ₂ L ₂ + K] ⁺	5,5	955,0795	955,0792
[Pd ₂ H ₃ L + K] ⁺	5,5-9,7	601,9097	691,9093
[PdL ₂ + K] ⁺	9,7	849,1916	849,1919

előzőtől elkülönülten jelenik meg, ezért a keletkező új részecske lassú cserében van a [Pd₂H₂L]⁺-el így egy újabb N kötődése feltételezhető. Ennek következtében egy olyan kétmagvú komplex keletkezik ebben a pH-tartományban, ahol a peptidváz által koordinált fémion 4N-es környezetben található. A jelszélesedés, valamint a pH-növelésre bekövetkező enyhe tolődás az (O,O) kelátban tartott fémion szabad koordinációs helyein levő vízmolekula deprotonálódásával, vagy klorid-hidroxid cserével, azaz vegyes hidroxidokomplex képződésével magyarázható. Az egyes részecskék ¹H NMR jeleinek integrálértékéből számított fémion móltörtüket a koncentráció-eloszlással együtt ábrázolva látható, hogy a két módszerrel kapott eredmények jó egyezést mutatnak egymással (**37/B. ábra**).

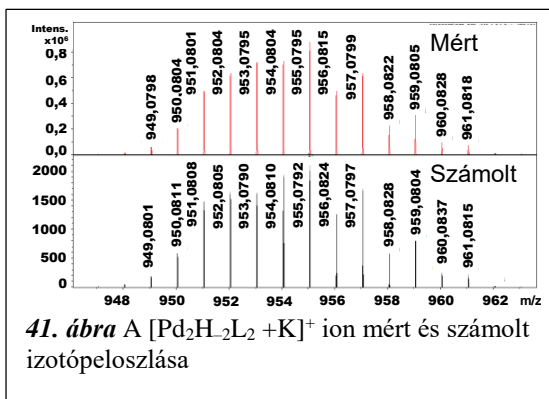
Az ekvimoláris oldatban rögzített ¹H NMR spektrumokban (**38. ábra**) a legszembetűnőbb eltérés a 2:1 arányúakkal szemben, hogy kb. pH ~ 2,8 felett többféle jel is látható az egyes mintákban. Ez többféle részecske, vagy kötési izomerek együttes jelenlétére utal, ami magyarázatul szolgálhat a titrálási görbe lefutására is. A spektrumok elemzése arra is rámutat, hogy mindössze egyetlen olyan részecske mutatható ki, amely mind 1:1 mind 2:1 aránynál is jelen van, ez pedig az (NH₂, N_{amid}) kötésmódú [PdHL]²⁺ (▲). Az NMR spektrumok jelgazdagságából egy meglehetősen összetett egyensúlyi rendszerre következtethetünk, ezért a spektrumok értelmezésének megkönnyítése érdekében a lejátszódó egyensúlyi folyamatokat, valamint a képződő komplexek lehetséges oldatszerkezeteit a **40. ábrán** tüntettem fel.

Ahogy az a **38. ábra** jobboldali spektrumán látható, pH = 2,8 fölött egy új jelcsoport jelenik meg (♠), melyben a B protonok jelei a kisebb, míg az A protonok jelei a nagyobb térerősség irányába tolódnak a $[\text{PdHL}]^{2+}$ részecske jeleihez képest, ami a peptidváz harmadik N-atomjának deprotonálódását és koordinációját mutatja, (**40. ábra**/VI). A pH további növelésére ezen $[\text{PdL}]^+$ összetételű részecske B protonjainak jelei folyamatos tolódást szenvednek a nagyobb térerősség irányába, ami a piridinon egység OH(4) csoportjának deprotonálódását támasztja alá, a széles pH-tartományban jelenlévő $[\text{PdH}_{-1}\text{L}]$ komplex képződését eredményezve (♠, **40. ábra**, VII). A fenti folyamatokkal párhuzamosan, pH = 2,79 fölött a $[\text{PdHL}]^{2+}$ komplex (▲) szabadon maradt piridinon csoportjának deprotonálódása játszódik le szintén egy $[\text{PdL}]^+$ összetételű, **40/VIII. ábrán** látható feltételezett oldatszerkezetű komplex képződése közben, ami a B protonok jelének folyamatos tolódását eredményezi a nagyobb térerősség irányába. pH = 3,54-nél egy új jelcsoport jelenik meg a spektrumokban (♯), ami egy másik részecske képződését mutatja, mely egészen pH = 8,85-ig jelen van az oldatban. Mivel az A és B protonok jelei is mutatnak kémiai eltolódás változást az előző részecskékhez képest, mind a N-donor peptidváz, mind az (O,O)-donor piridinon egység egyidejű részvétele feltételezhető a fémion megkötésében. Figyelembe véve, hogy ez a részecske 1:1 aránynál jelenik meg, valamint, hogy szabad ligandumhoz tartozó jel nem látható a spektrumban, ez a jelcsoport olyan



részecskéhez tartozhat, mely 1:1 arányban tartalmaz fémiont és ligandumot, ugyanakkor sztérikus okok miatt az N- és C-terminus együttes kötődése legvalószínűbben egy dimer szerkezetű komplexben következhet be. A dimer részecske kialakulását ESI-MS vizsgálatok is alátámasztották; az 1:1 arány mellett, pH = 5,50-on rögzített tömegspektrumban egyértelműen detektálható volt a $[\text{Pd}_2\text{H}_2\text{L}_2]$ komplex K-addukt ionja, melynek mért és számolt izotópeloszlása a **41. ábrán** látható.

További információ ezen részecskével kapcsolatban, hogy a ^1H NMR spektrumban csak egyetlen jelcsoport tartozik hozzá, így a ligandumok azonos kémiai környezetben helyezkednek el, ami szimmetrikus szerkezetre utal. Mindezen megállapításokat

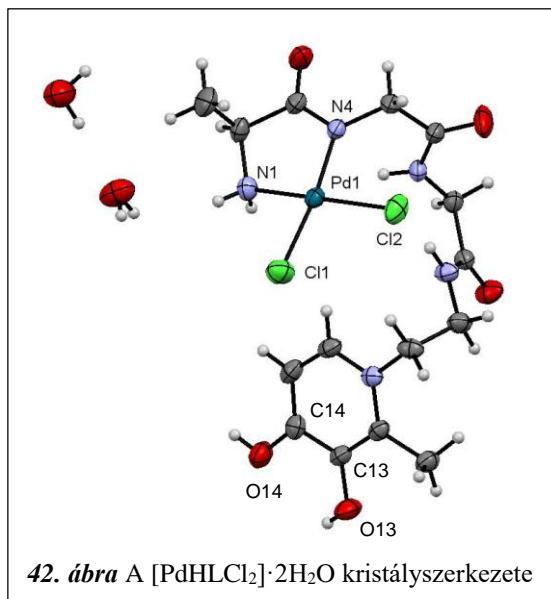


41. ábra A $[\text{Pd}_2\text{H}_2\text{L}_2 + \text{K}]^+$ ion mért és számolt izotópeloszlása

figyelembe véve a $[\text{Pd}_2\text{H}_2\text{L}_2]$ komplex lehetséges oldatszerkezete a **39/IX. ábrán** látható. A pH ~ 7 fölött felvett ^1H NMR spektrumokban újabb jelek tűnnek fel (♥), melyekben a B protonok dublettjei kisebb térerősségnél jelentkeznek, mint az előző részecskékben, ami a peptidváz negyedik N-atomjának koordinációját mutatja $[\text{PdH}_2\text{L}]^-$ összetételű részecske képződését eredményezve. A pH-növelésével ezen komplex B protonjainak jelei folyamatos tolodást mutatnak a nagyobb térerősség felé, ami a szabadon maradt piridinon egység OH(3) csoportja deprotonálódásának eredménye, így erősen lúgos pH-n ez a $[\text{PdH}_3\text{L}]^{2-}$ részecske (♡) lesz az uralkodó az oldatban. Ez utóbbi két komplex rendre a **40. ábrán** látható **X.** és **XI.** feltételezett szerkezettel jellemezhetők.

Az oldategyensúlyi eredmények felhasználásával kísérleteket végeztünk a komplexek szilárd fázisban való előállítására is. Ehhez a ligandum vizes oldatához $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ -ot adtunk, és az így nyert elegy pH-ját úgy állítottuk be, hogy az előállítani kívánt komplex képződésének kedvezünk. A reakcióelegyek 0,10 M KCl-ot is tartalmaztak annak érdekében, hogy a fémion hidrolízisét visszaszorítsuk. Ennek eredményeképpen a 2,6-os pH-jú reakcióelegyből izoláltuk a $[\text{PdHLC}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

komplexet, melynek összetételét elemanalízissel igazoltuk. A kinyert kristályok alkalmasak voltak egykristály röntgendiffrakciós vizsgálatra, a kapott röntgenszerkezet a **42. ábrán** látható, a krisztallográfiai paramétereket a **14. táblázatban**, míg a legfontosabb kötésszög és kötéstávolság adatokat a **15. táblázatban** foglaltam össze.



Ahogy az a **42. ábrán** látható, a kristályszerkezet alátámasztja a korábbi feltételezéseket a [PdHL]²⁺ komplex szerkezetével kapcsolatban, nevezetesen, hogy a fémion (NH₂, N_{amid}) keláttal kapcsolódik a ligandumhoz, valamint a fémion síknégyszetes koordinációs szféráját kloridionok telítik, miközben a hidroxipiridinon egység teljesen protonált marad. A Pd–N kötéstávolságok nagyon hasonlók azokhoz, amiket korábban a Pd(II)-oligopeptid komplexeknél tapasztaltak.¹⁵⁸⁻¹⁵⁹ A kristályszerkezet azt is alátámasztja, hogy a protonált piridinon két hidroxilcsoporttal rendelkezik, melyeknek C–OH kötéstávolsága fenolos jellegű C–OH kötésre utal. Érdeemes megjegyezni, hogy a peptid nitrogének kooperatív koordinációjának ellenére, ezen 2N + 2Cl kötésmódú komplexet sikerült kinyerni, melynek koordinációs módja nagyon hasonló a ciszplatinéhoz. Éppen ezért, a komplex Pt-analógja a ciszplatin egy lehetséges analógja lehet, továbbá a szabadon maradt piridinon rész lehetővé teszi egy második fémion, pl. Co(III)-megkötését, és így várhatóan a hipoxia-aktiválást is a rákos sejtekben.

14. táblázat A kapott egykristály krisztallográfiai adatai

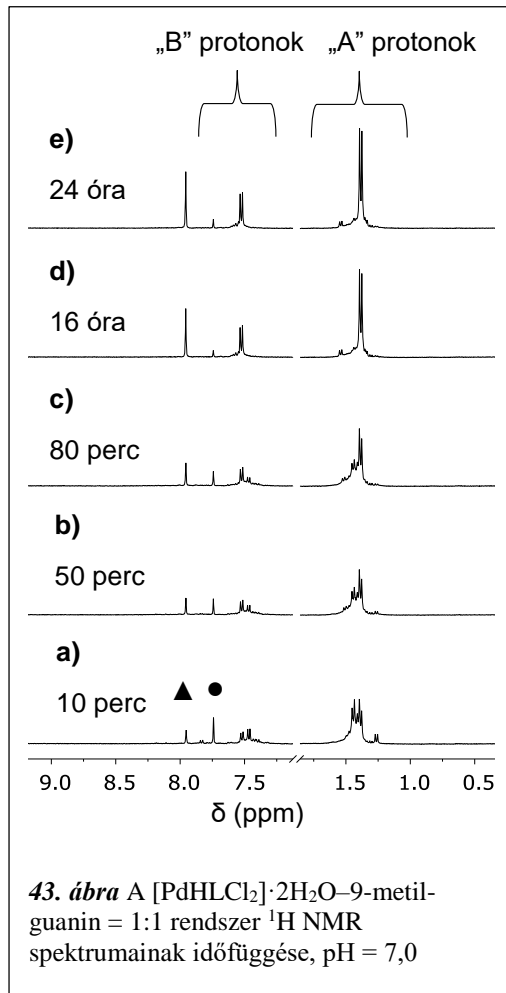
Összegképlet	$C_{15}H_{23}Cl_2N_5O_5Pd \cdot 2(H_2O)$
M_r	566,71
Kristályrendszer, tércsoport	Monoklin, $P2_1$
Hőmérséklet (K)	102
Elemi cella dimenziók	
a, b, c (Å)	5,7219 (2), 15,7524 (5), 12,0932 (4)
β (°)	97,513 (1)
V (Å ³)	1080,65 (6)
Z	2
Besugárzási hullámhossz	Mo $K\alpha$
μ (mm ⁻¹)	1,15
Kristály méretei (mm)	0,37 × 0,13 × 0,10
T_{\min}, T_{\max}	0,79, 0,89
Gyűjtött reflexiók	18516
Független reflexiók	4595
Megfigyelt [$I > 2\sigma(I)$] reflexiók	4368
R_{int}	0,033
$(\sin \theta/\lambda)_{\text{max}}$ (Å ⁻¹)	0,634
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0,021, 0,047, 1,05
Finomított paraméterek száma	298
$\Delta)_{\text{max}}, \Delta)_{\text{min}}$ (e Å ⁻³)	0,28, -0,29

15. táblázat A [PdHClCl₂] \cdot 2H₂O komplexben mért legfontosabb kötéstávolság és kötésszög értékek

Atompár	Kötéstávolság (Å)	Kötés	Kötésszög (°)
N(1)–Pd(1)	2,019(3)	N(1)–Pd(1)–Cl(2)	94,12(9)
N(4)–Pd(1)	2,002(3)	N(1)–Pd(1)–N(4)	81,33(12)
Cl(1)–Pd(1)	2,2920(10)	N(4)–Pd(1)–Cl(1)	96,01(9)
Cl(2)–Pd(1)	2,3004(11)	Cl(2)–Pd(1)–Cl(1)	88,99 (5)
C(13)–O(13)	1,351(4)		
C(14)–O(14)	1,316(5)		

A fenti komplex DNS-sel való kölcsönhatásának modellezése érdekében ^1H NMR módszerrel vizsgáltuk az előállított vegyület 9-metil-guanin megkötő képességét. A komplexet és 9-MeG-t 1:1 arányban tartalmazó, 7-es pH-jú minták időfüggő ^1H NMR spektrumai a **43. ábrán** láthatók.

Ahogy a **43. ábrán** látható, a szabad 9-MeG aromás protonjainak jelei mellett (●) egy új szinglet is megjelenik (▲), melynek intenzitása az idő előrehaladtával növekszik, majd 24 óra elteltével szinte teljesen csak ez a jel lesz látható. Ez egyértelműen alátámasztja a 9-MeG koordinációját a komplexbe kötött fémion szabad koordinációs helyéhez. A vizsgálatokat megismételtük 9-MeG felesleget

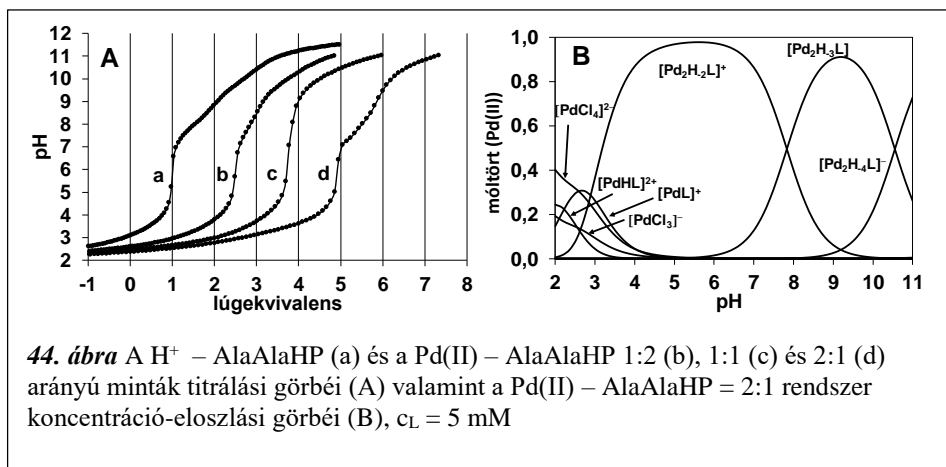


tartalmazó mintákon is, és azt találtuk, hogy a komplex nem képes megkötni egy ekvivalensnél több 9-metil-guanint. Egy másik jelenség is megfigyelhető az NMR spektrumokon, nevezetesen, hogy a komplex feloldása és 9-MeG hozzáadása után 10 perccel regisztrált spektrum meglehetősen jelgazdag, mely jelek részben a komplexhez, részben egyéb Pd(II)-tartalmú komplexekhez rendelhetők. Ezek a jelek nagyon hasonlóak azokhoz, amiket a Pd(II)-AlaGlyGlyHP 1:1 arányú rendszerében regisztráltunk pH ~ 7-en, ami arra enged következtetni, hogy a komplex feloldás után disszociál a körülményeknek megfelelő speciációt kialakítva. Az idő előrehaladtával azonban megfigyelhető, hogy a ligandumhoz tartozó jelek folyamatos változáson mennek keresztül, és 24 óra elteltével mindössze egyetlen ligandumhoz tartozó jelsoport látható. Megvizsgálva ezeket a jeleket megállapítható, hogy az A protonok

jelei ugyanolyan kémiai eltolódás értéknél jelentkeznek, mint a $[\text{PdHL}]^{2+}$ komplexben, amiből arra következtethetünk, hogy az ez idő alatt kialakult részecskében a fémion (NH_2 , N_{amid}) keláttal kapcsolódik a ligandumhoz. Ugyanakkor a B protonok a $[\text{PdHL}]^{2+}$ komplex megfelelő jeléhez képest kisebb kémiai eltolódásnál láthatók, aminek oka az lehet, hogy $\text{pH} \sim 7$ -en a kialakult részecskében a hidroxipiridion gyűrű OH(4) csoportja deprotonált, szemben a $[\text{PdHL}]^{2+}$ komplexszel. A fenti tapasztalatok alapján tehát megállapítható, hogy a 9-metil-guanin jelenlétében kialakult részecskében a Pd(II) az AlaGlyGlyHP-hoz (NH_2 , N_{amid}) keláton keresztül kötődik, valamint a fémionhoz egy 9-metil-guanin is koordinálódik annak N(7)-atomján keresztül, míg a szabadon maradt negyedik koordinációs helyet kloridion, vízmolekula, vagy a peptidkonjugátum karbonil oxigénje foglalhatja el.

5.6.5 A dipeptid-hidroxipiridinon konjugátumok kölcsönhatása Pd(II)-ionnal

Az eggyel kevesebb aminosavat tartalmazó AlaAlaHP dipeptidkonjugátumban összesen három N és két O-donoratom áll rendelkezésre a Pd(II) megkötésére, így annak fémionmegkötő képessége eltérhet a tripeptidszármazékétól. A különböző fémion-ligandum arányok mellett regisztrált titrálási görbék a **44. ábrán** láthatók. A fémionfelesleg mellett regisztrált titrálási görbe lefutása hasonlít a tripeptidkonjugátuméhoz, ebben az esetben is $\text{pH} \sim 5$ -ig öt ekvivalens lúg fogy a mintára, majd a pH -t növelve újabb lúgfogyasztó folyamatok láthatók. Ezekből szintén kétmagvú komplexek képződésére lehet következtetni. Az ekvimoláris oldat titrálási görbéje ezen ligandum esetén is tört ekvivalens lúgfogyást mutat $\text{pH} \sim 6$ -ig,



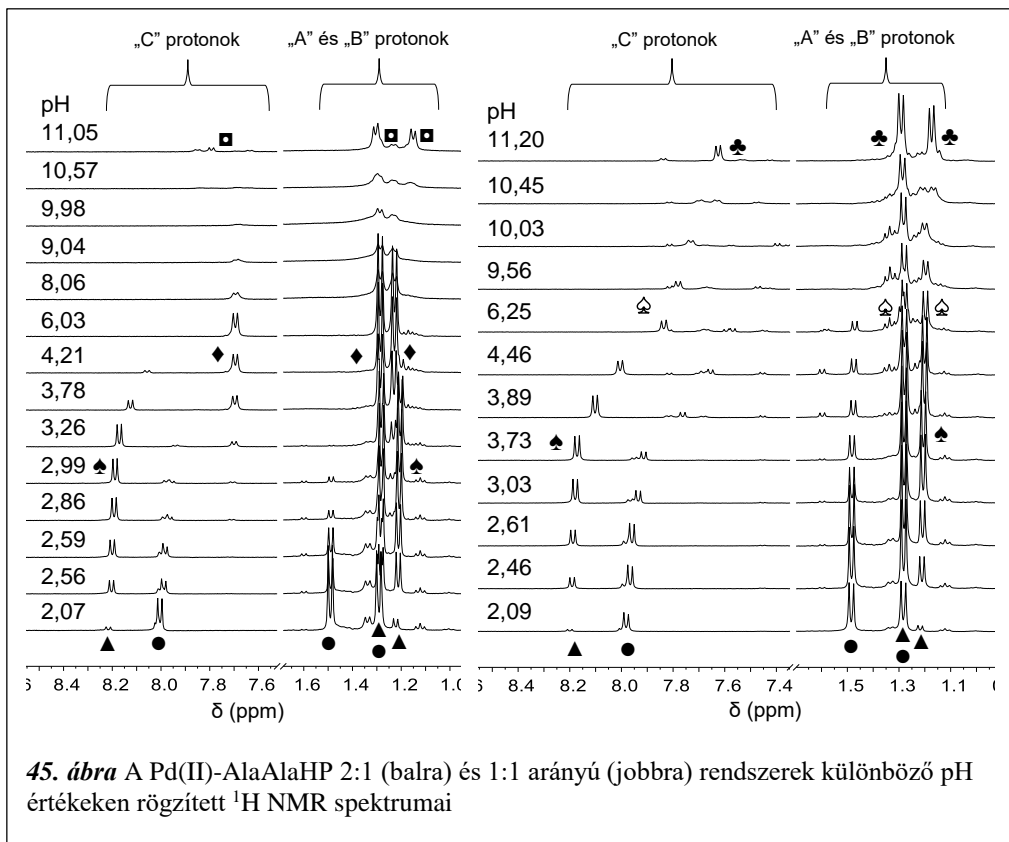
ami a lassan beálló egyensúlyok, vagy többféle részecske együttes képződésének eredménye lehet. A ligandumfelesleget tartalmazó mintában nem láthatók extra, biszkomplex képződését indikáló lúgfogyasztó folyamatok. A jelen rendszerben képződő komplexek összetétele és stabilitási állandói a **16. táblázatban**, míg a 2:1 arányra számolt koncentráció-eloszlási görbék a **44. ábrán** láthatók.

16. táblázat Az AlaAlaHP Pd(II)-komplexeinek összetétele és stabilitási állandójának tízes alapú logaritmus ($\lg\beta$), valamint az egyes komplexek deprotonálódási állandójának tízes alapú negatív logaritmus (pK) 25,0 °C-on, $I = 0,10 \text{ M KCl} + 0,10 \text{ M KNO}_3^*$

Részecske	$\lg\beta$
$[\text{PdHL}]^{2+}$	26,84(1)
$[\text{PdL}]^+$	24,62(1)
$[\text{PdH}_{-1}\text{L}]$	20,35(3)
$[\text{PdH}_{-2}\text{L}]^-$	10,39(5)
$[\text{PdH}_{-3}\text{L}]^{2-}$	-0,71(5)
$[\text{Pd}_2\text{H}_{-2}\text{L}]^+$	28,66(2)
$[\text{Pd}_2\text{H}_{-3}\text{L}]$	20,82(4)
$[\text{Pd}_2\text{H}_{-4}\text{L}]^-$	10,27(5)
Illesztés (ml)	0,0101
Pontok száma	377
pK_{PdHL}	2,22
pK_{PdL}	4,27
$pK_{\text{PdH}_{-1}\text{L}}$	9,96
$pK_{\text{PdH}_{-2}\text{L}}$	11,10
$pK_{\text{Pd}_2\text{H}_{-2}\text{L}}$	7,84
$pK_{\text{Pd}_2\text{H}_{-3}\text{L}}$	10,55

* Zárójelben a 3σ standard deviáció értékek szerepelnek

A **44. ábrán** látható, hogy a komplexképződés ez esetben is $[\text{PdHL}]^{2+}$ komplex képződésével indul, majd a pH növelésével egy erősen átfedő folyamatban újabb deprotonálódás játszódik le, a $[\text{PdL}]^+$ összetételű részecskét eredményezve. Ugyanakkor $\text{pH} \sim 2$ fölött már megkezdődik egy kétmagvú komplex képződése is, és tovább növelve a pH-t az oldatban már csak kétmagvú részecskék lesznek jelen. Ahhoz, hogy a fenti folyamatokban képződő komplexek szerkezetét megállapítsuk ^1H NMR vizsgálatokat is végeztünk. A 2:1 illetve 1:1 arányú minták különböző pH-n rögzített ^1H NMR spektrumait a **45. ábra** szemlélteti.



A fémion felesleg mellett regisztrált spektrumokon megfigyelhető, hogy pH ~ 2 fölött új jelcsoport jelenik meg a spektrumban (\blacktriangle), melyben az A és a B protonokhoz tartozó jelek nagymértékben eltolódtak a nagyobb térerősség irányába a szabad ligandum ugyanezen jeleihez képest (\bullet), ami egyértelműen mutatja, hogy a fémion az N-terminálison kötődik a ligandumhoz, (NH_2 , N_{amid}) keláton keresztül. Ugyanakkor ebben az új jelcsoportban a C protonok jelében megfigyelhető egy jelentős eltolódás a kisebb térerősség irányába, így nem zárható ki a piridinon egység kölcsönhatása sem a fémionnal. Tekintve, hogy ebben a pH-tartományban $[\text{PdHL}]^{2+}$ komplex keletkezik, az (NH_2 , N_{amid}) kelát mellett ilyen összetételnél a piridinon gyűrűnek teljesen protonálnak kell lennie, így valamilyen másodrendű, intramolekuláris kölcsönhatás feltételezhető a fémion és az (O,O)-donor egység között, melynek pontos értelmezése még további vizsgálatokat igényel. A pH-t növelve ezen új jelcsoport intenzitása növekszik, és eközben az A és B protonok folyamatos, kismértékű tololódást mutatnak

a nagyobb térerősség felé a pH ~ 2-2,8 tartományban. Ez egy új, (NH₂, N_{amid}, N_{amid}) kötésmódú részecske képződésére enged következtetni, ami gyors cserében áll az előző, 2N koordinált komplexszel. Mivel ezen pH tartományban a C protonok kémiai eltolódása nem változik, mindössze a jelek intenzitása növekszik, feltételezhető, hogy a piridinon rész továbbra is protonált marad ebben a részecskében. Körülbelül 3-as pH-nál ismét újabb jelek tűnnek fel a spektrumban (◆), amelyekben a C-protonok nagymértékben a nagyobb térerősség felé tolódtak, ami alátámasztja egy második fémion megkötését a ligandum (O,O) donorain keresztül, ami a [Pd₂H₋₂L]⁺ képződését eredményezi. A pH további növelésével a pH ~ 8 fölött a jelek kiszélesednek, ami cserefolyamatra utal a fenti kétmagvú komplex és egy új részecske között. Tovább lúgosítva az oldatot, az NMR időskálán mérve valamivel lassabb folyamatban egy újabb részecske képződik (■), melynek jelei erősen lúgos oldatban válnak dominánssá. Ezekben a folyamatokban a ligandumhoz koordinálódott két fémion részleges hidrolízise játszódhat le, melynek eredményeképp olyan vegyes hidroxidokomplexek képződnek, melyben mind az (NH₂, N_{amid}, N_{amid}), mind az (O,O) kelátban lévő fémion szabad koordinációs helyét hidroxidion foglalja el.

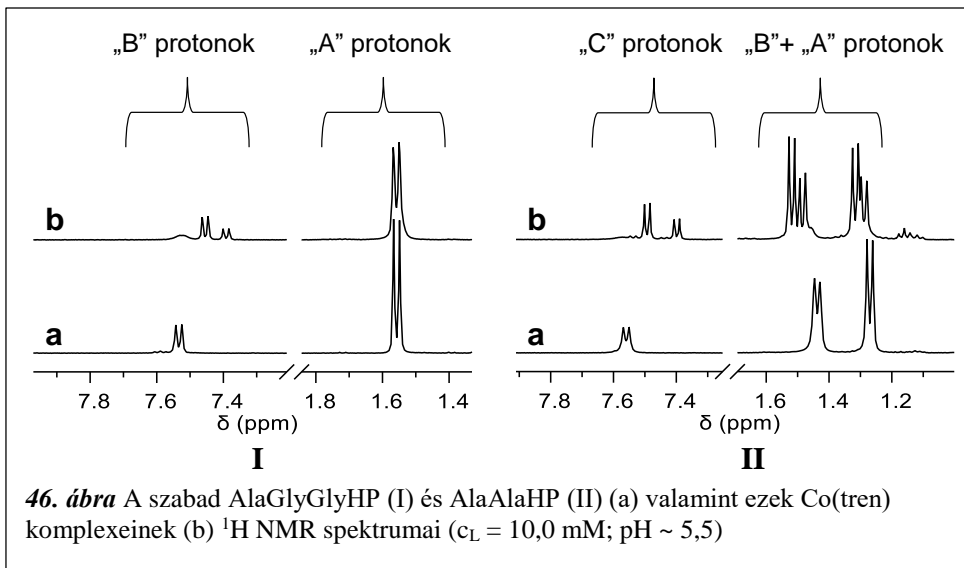
Az ekvimoláris oldatban regisztrált spektrumsorozatról megállapítható, hogy az kevésbé jelgazdag, mint a tripeptidszármazéké, így ez esetben valamivel egyszerűbb egyensúlyi modell feltételezhető. A komplexképződés 1:1 aránynál is (NH₂, N_{amid}), majd ezzel átfedő folyamatban (NH₂, N_{amid}, N_{amid}) csatolt kelát kialakulásával indul, ez a részecske 3,73-as pH-n éri el a maximumát (♠). Tovább növelve a pH-t, a C-protonok jelei folyamatosan a nagyobb térerősség felé tolódnak, ami a piridinon egység OH(4) csoportjának deprotonálódására utal. Így a [PdH₋₁L] összetételű komplex képződik (♠), ami széles pH-tartományban meghatározó részecske az oldatban. Érdemes megjegyezni, hogy ez a folyamat nagyobb pH-tartományban játszódik le, mint a szabad ligandum esetén, ami feltehetően a már korábban említett fémionnal kialakuló másodrendű kölcsönhatással lehet magyarázható. A lúgos pH-tartományban, pH ~ 9 fölött a piridinon gyűrű 3-as helyzetben lévő hidroxilcsoportja deprotonálódásának eredményeképpen a C protonok jele a nagyobb térerősség irányába tolódik, majd pH ~ 10 fölött egy új, kismértékben kiszélesedett jelcsoport jelenik meg (♣), ami a vegyes hidroxidokomplex kialakulását mutatja.

Összehasonlítva az AlaGlyGlyHP és az AlaAlaHP Pd(II)-kötő képességét, megállapítható, hogy mindkét ligandum esetében a peptidváz N-atomjai az elsődleges donoratomok a fémion számára, valamint fémion felesleg megkötésére is képesek az oxigén donoratomokon keresztül. Noha a 6. és 9. táblázatban szereplő pK_{PdHL} és pK_{PdL} értékek a tripeptidkonjugátumnál tapasztalt kötési izomerek képződése miatt közvetlenül nem összehasonlíthatók, az NMR adatokkal együtt ezen származtatott állandók fontos különbségekre mutatnak rá a di- és tripeptid származékok Pd(II)-megkötő képességére vonatkozóan. Ezekből az összevetésekből látható, hogy az AlaAlaHP ligandummal a második amidcsoport koordinációja savasabb pH-tartományban következik be, mint a tripeptid származéknál. Ennek oka az lehet, hogy míg az AlaGlyGlyHP második amidcsoportja a C-terminális glicinnel van amidkötésben, addig a dipeptid származék esetén a hidroxipiridionhoz kapcsolódó etilláncsal, így ez utóbbi amidcsoport valamivel kisebb bázicitású lehet. Az AlaAlaHP (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) kelátú komplexének nagy stabilitásával függhet össze az is, hogy ebben a rendszerben 1:1 arány mellett nem volt tapasztalható dimer szerkezetű $[\text{Pd}_2\text{H}_2\text{L}_2]$ összetételű komplex képződése. Mivel a fenti 3N-es komplex már kisebb pH-n kialakul, mint ahogy az (O,O) kelát koordinációja kedvezményezetté válna, szterikus okokból lehet akadályozott a dimer részecske képződése, és szintén ezzel lehet magyarázható az is, hogy fémionfelesleg jelenlétében nem tudunk kimutatni $[\text{Pd}_2\text{H}_1\text{L}]^{2+}$ összetételű részecskét a dipeptid származékkal.

5.6.6 A peptid-hidroxipiridinon konjugátumok Co(III)- és Pd(II)-tartalmú, kétmagvú komplexei

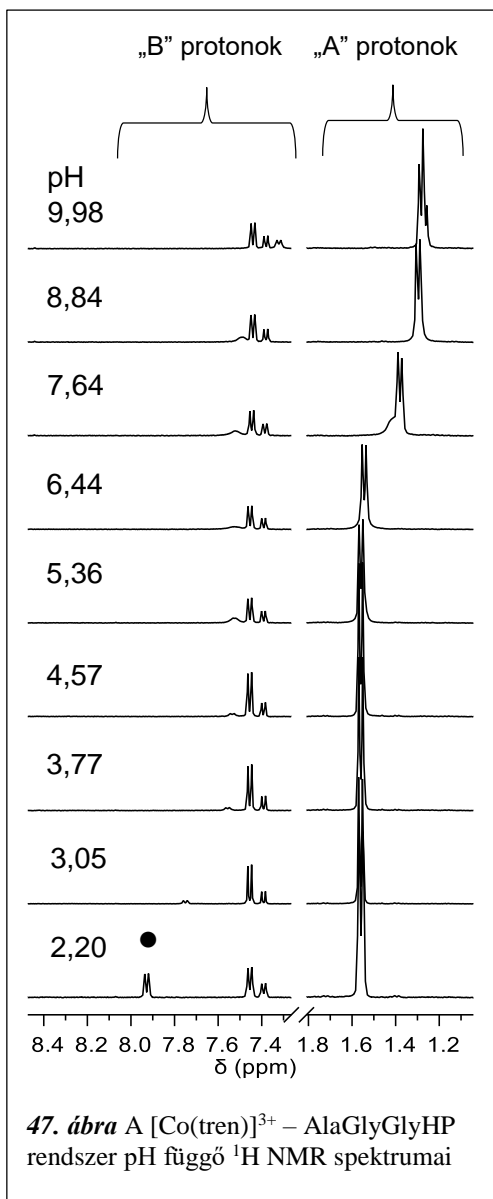
A munkám távlati céljaként olyan kétfémes komplex előállítását tervezzük, ahol a Co(III)-egység az ambidentát peptidkonjugátum (O,O) donoraihoz, míg a Pd(II) vagy Pt(II)-ion a peptidváz N-donoratomjaihoz koordinálódik, ezért vizsgáltuk a $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ és Pd(II)-ionok donoratom preferenciáját a peptid-piridinon konjugátumokkal szemben. Ehhez először a ligandumokat reagáltattuk $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ -dal egy ekvivalens bázis jelenlétében, majd regisztráltuk a

reakcióelegyek ^1H NMR spektrumait. A reakcióelegyek és a szabad ligandumok spektrumai a **46. ábrán** láthatók.



A spektrumokon megfigyelhető, hogy a szabad ligandum jeleihez képest a piridinon gyűrű protonjai a nagyobb térerő irányába tolódtak, míg a tripeptidszármazék esetén az N-terminális Ala-CH₃ dublett jelének kémiai eltolódása nem változott, valamint a dipeptid konjugátum Ala dubletjei kissé eltolódtak a kisebb térerő irányába. Ezekből arra lehet következtetni, hogy a [Co(tren)]³⁺ mindkét ligandum esetén az oxigén donoratomokhoz koordinálódik. Az is megfigyelhető a spektrumokban, hogy a Co(III) koordinációjának hatására bizonyos jelek megduplázódnak, így a Co(III)-komplexekben két jelcsoport látható, melyek intenzitás aránya egymáshoz képest kb. 2:1, ami egyértelműen izomerek jelenlétére utal.

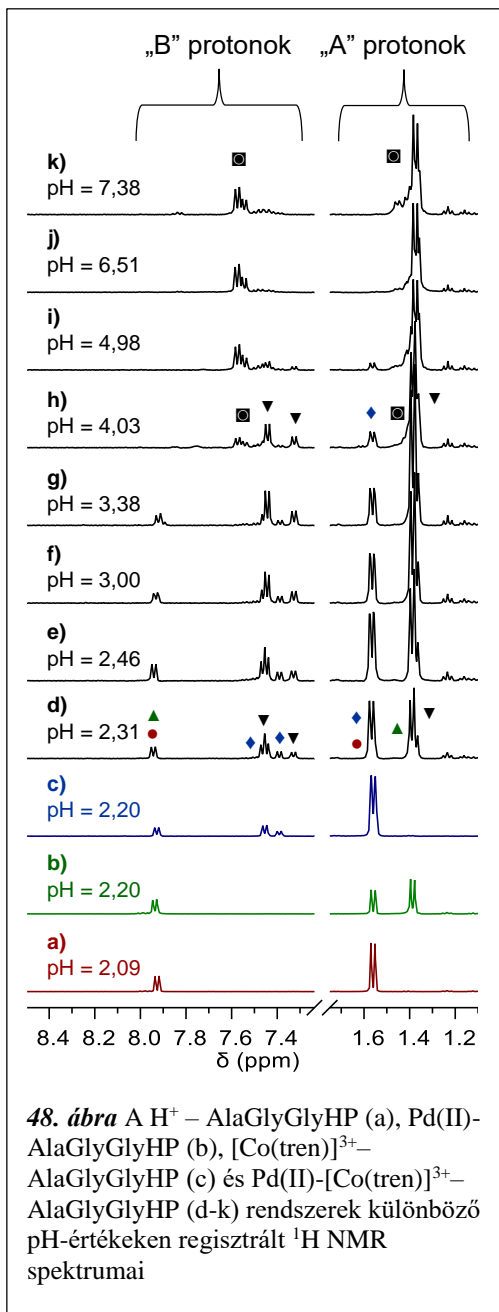
Vizsgáltuk a kapott Co(III)-komplex oldat ^1H NMR spektrumainak pH-függését is mindkét ligandum esetén. Reprezentatív példaképp a **47. ábrán** a [Co(tren)]³⁺ – AlaGlyGlyHP rendszer pH-függő ^1H NMR spektrumai láthatók.



Amint az a **47. ábrán** látható, a pH növelésével a B protonok kémiai eltolódása nem változik, míg az A protonok jele a pH \sim 6,4-8,8 tartományban a nagyobb térerő irányába tolódik jelezve a peptidkonjugátum terminális ammóniumcsoportjának deprotonálódását. Az A protonok jeleinek pH függő kémiai eltolódásaiból számított $\text{pK} = 7,39(2)$ érték közel esik a szabad ligandum terminális ammóniumcsoportjára jellemző pK értékhez, ami szintén megerősíti a $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ (O,O) keláton keresztüli koordinációját. Az is megfigyelhető a spektrumban, hogy pH \sim 3 alatt a Co(III)-komplex jelei mellett egyéb jel is látható (●), amely a szabad ligandumhoz tartozik. Ez felveti annak a lehetőségét, hogy a Co(III)-komplex savas körülmények között részlegesen disszociálhat. Tekintve, hogy a Co(III) inert komplexeket képez, nem zárható ki, hogy ez a folyamat valamilyen

savkatalizált úton keresztül játszódhat le, ám a disszociáció pontos mechanizmusának felderítése további vizsgálatokat igényel. A dipeptid származék esetén rögzített ^1H NMR spektrumok a fentiekhez hasonlóan megerősítették, hogy a ligandum terminális ammóniumcsoportja szabadon marad a Co(III) megkötése után, és ez esetben is megfigyelhető volt részleges disszociáció erősen savas oldatban.

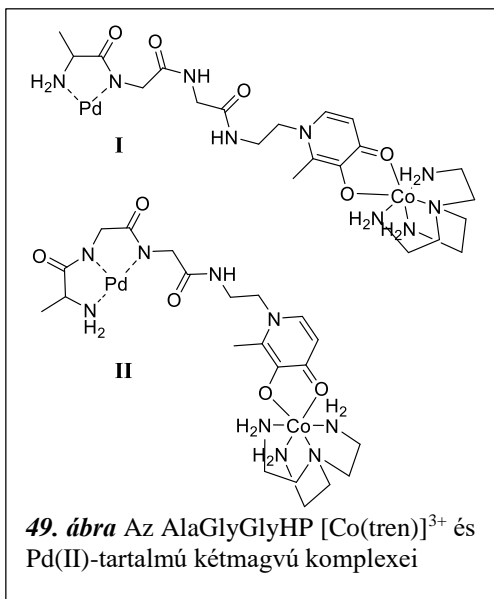
A fenti eredmények rámutattak, hogy a Co(III) szelektíven az O-donor egységhez kapcsolódik, szabadon hagyva a peptidváz donoratomjait, ami lehetőséget teremt a



Pd(II) egyidejű megkötésére is. E célból vizsgáltuk a $[Co(tren)]^{3+}$ tartalmú komplexek Pd(II)-megkötő képességét. A **48. ábrán** a Pd(II)– $[Co(tren)]^{3+}$ –AlaGlyGlyHP rendszer különböző pH-értékeken rögzített 1H NMR spektrumai láthatók.

A pH = 2,31-en kapott 1H NMR spektrum (d) meglehetősen jelgazdag, azonban összehasonlítva ezt a **48. ábra a–c** spektrumaival, megfigyelhető, hogy az oldat a Co(III)-komplexen (◆) kívül a Co(III)-komplex részleges disszociációja révén tartalmaz kevés szabad ligandumot (●), és annak $[PdHL]^{2+}$ (▲) komplexét is. Ezen három részecske jelein kívül további két dublett figyelhető meg a spektrum aromás tartományában (▼), melyek intenzitása pH = 3,38-ig növekszik, majd afölötti pH-n csökken. Ezeknek a dubletteknek az egymáshoz képesti integrál aránya végig kb. 2:1 marad, így arra következtethetünk, hogy ezek egy $[Co(tren)]^{3+}$ -tartalmú részecske két izomeréhez tartoznak. Ezen részecske

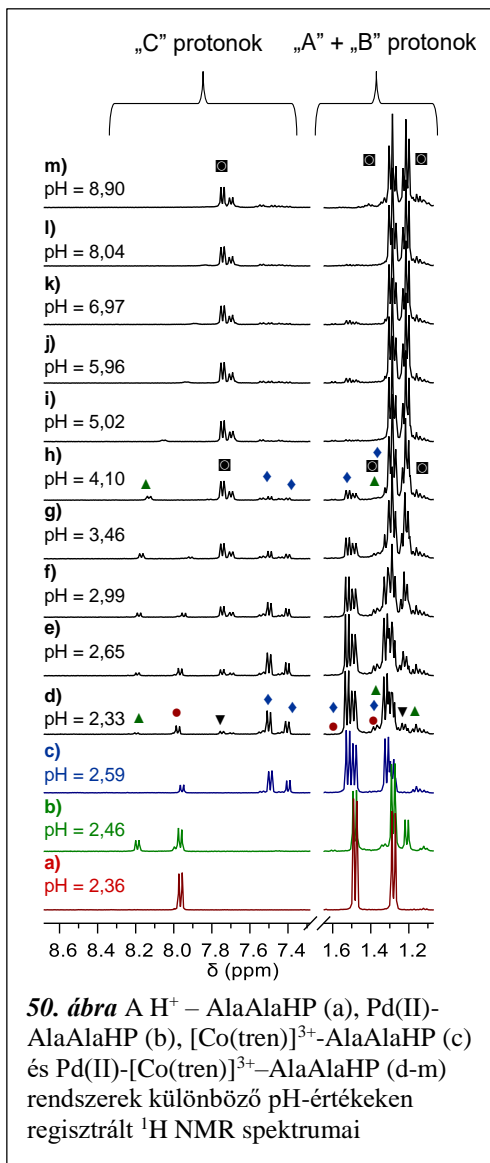
képződésének pH tartományában az A protonok közül a nagyobb térerősségnél jelentkező dublettek intenzitása növekszik a pH-val, ami alapján feltételezhető, hogy ehhez az új, $[Co(tren)]^{3+}$ -tartalmú komplexhez (NH_2 , N_{amid}) keláton keresztül egy Pd(II)-ion is koordinálódik (**49. ábra I.** szerkezet). A pH további növelésére újabb jelek detektálhatók a spektrumokban (■), melyek intenzitása a pH-val nő, majd pH =



7,38-ra egyeduralzkodóvá válnak az oldatban. Ezen jelek integrálaránya alapján ezek is [Co(tren)]³⁺-tartalmú részecskék izomereikhez tartoznak. Ez a részecske lassú cserében áll az előző kétmagvú komplexszel, valamint a gyűrű protonjainak jele kisebb térerőnél jelentkezik, míg A protonjainak jele csak kismértékben változnak. Ezek a peptidváz egy újabb N-atomjának deprotonálódását és koordinációját sugallják (**49. ábra II.** szerkezet).

Vizsgáltuk a dipeptid származék [Co(tren)]³⁺ komplexének Pd(II)-megkötő képességét is, melynek ¹H NMR spektrumai a **50. ábrán** láthatók.

A két fémiot tartalmazó rendszer pH = 2,33-as spektrumában – a tripeptid származéknál tapasztaltak szerint – ez esetben is megfigyelhetjük a Co(III)-komplex (◆), a szabad ligandum (●), valamint a [PdHL]²⁺ komplex jeleit (▲). Ezen jeleken felül két új jelcsoport látható (▼), melyek az egymáshoz viszonyított integráljai alapján egy újabb [Co(tren)]³⁺ tartalmú komplex izomereit. Ezen részecske jeleinek intenzitása a pH-val nő, továbbá az is megfigyelhető, hogy a pH = 2,33-2,99 tartományban az A és B protonok jelei folyamatosan a nagyobb térerő felé tolnak. Ez arra utal, hogy valójában két részecske képződik, amik egymással gyors cserében állnak. Figyelembe véve, hogy a Pd(II)-AlaAlaHP rendszerben a [PdHL]²⁺ és [PdL]⁺ részecskék hasonló pH-tartományban képződtek, melyek szintén gyors cserében álltak egymással, arra következtethetünk, hogy a jelen rendszerben olyan [Co(tren)]³⁺



és Pd(II)-tartalmú kétmagvú komplexek képződnek, melyekben a Pd(II) (NH_2 , N_{amid}) majd (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) kelátokon keresztül koordinálódik a peptidvázhoz. Ez utóbbi részecske széles pH-tartományban egyeduralkodó az oldatban.

A fentiek eredményekből látható, hogy mind a di- mind a tripeptid-hidroxi-pyridinon konjugátumok esetén kimutathatók oldatban Co(III)- és Pd(II)-tartalmú kétmagvú komplexek. Ezekben a rendszerekben fiziológiás pH-tartományban kizárólag olyan részecskék találhatóak, melyekben a Co(III)-ion a ligandum O-donoraihoz, míg a Pd(II) annak (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) atomjaihoz kötődik, így ezek alapján a vizsgált peptid-hidroxi-pyridinon konjugátumok alkalmas jelöltek lehetnek Co/Pd(Pt)-tartalmú, heterodinukleáris komplexek előállítására.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

A mai rákterápiában évtizedek óta alkalmazzák a ciszplatint és egyéb második generációs Pt-alapú kemoterápiás szereket, melyek jól használhatók egyes daganattípusok kezelésében. Ezen készítmények azonban nemcsak a ráksejtek, hanem az egészségeseket is elpusztítják, így a szelektivitás hiányából adódóan számos komoly mellékhatásaik vannak. A szelektivitás növelhető lehet, ha a Pt-centrumot valamilyen másik platinafémionra (pl.: Ru(II), Rh(III)) cseréljük, illetve ha a megcélozzuk a normál és a ráksejtek között fennálló fiziológiás különbségeket. Az egyik ilyen különbség a tumor belsejében fennálló oxigénhiányos (hipoxiás) környezet, ami Co(III)-tartalmú, várhatóan hipoxia-aktivált komplexek alkalmazásával lehet kihasználható, melyek hatása egy potenciálisan rákellenes hatású fémion beépítésével tovább növelhető. Az ilyen kétfémes komplexek előállításához olyan ambidentát peptidkonjugátumok lehetnek alkalmas ligandumok, melyekben a platinafémion a peptidváz N-donoratomjaihoz, míg a Co(III)-ion valamilyen O-donor kelátképző egységhez (pl.: hidroxámsav vagy hidroxipiridinon egység) kötődik. A fentiek alapján doktori munkám során egyszerű di- és tripeptidhidroxámsavakat és hidroxipiridinon konjugátumokat állítottam elő és vizsgáltam ezen ligandumok kölcsönhatását a félszendvics szerkezetű $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ - és $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ - ionokkal, valamint a Pt(II) modelljeként szolgáló Pd(II)-ionnal oldat- és szilárd fázisban. A vizsgálatokba a $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ -iont is bevontuk az egyes fémionok donoratom preferenciáinak feltérképezése érdekében.

A félszendvics szerkezetű platinafémionok peptidhidroxámsavakkal való kölcsönhatására vonatkozó eredmények rámutattak, hogy az AlaAlaNH₂OH mind a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ mind a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ -ionnal azonos összetételű és szerkezetű komplexeket képez, ahol a komplexképződés pH ~ 3 alatt, hidroxamát kelát kialakulásával indul, majd a pH növelése kétmagvú részecskék kialakulását eredményezi, melyekben a második fémion a peptidváz (NH₂, N_{amid}, N_{hidr.}) csoportjaihoz kötődik. Ezzel szemben ugyanezen ligandum szekunder származékával szinte kizárólag egymagvú részecskék képződnek, mely folyamatok eredményeképpen lúgos pH-ra a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ hidroxamát kötésmódú vegyes

hidroxidkompleket képez a ligandummal, míg a $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ esetén egy (NH_2 , N_{amid} , $\text{O}_{\text{hidr.}}$) kötésmódú részecske keletkezik. A tripeptidhidroxámsavakkal a $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimol})\text{Ru}]^{2+}$ pH ~ 6 alatt (O,O) kötésmóddal képez komplexeket, míg ezen pH fölött a folyamatok nagyértékben lelassulnak, így megakadályozva a további egyensúlyi vizsgálatokat. A $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ esetén ugyanakkor a komplexképződés a teljes pH-tartományban vizsgálható volt, ami során az AlaGlyGlyN(Me)OH ligandummal ekvimoláris oldatban a komplexképződés (O,O) kelát kialakulásával indul, majd a pH-növelésével a koordinációs mód átrendeződése (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) donorú csatolt kelátrendszer kialakulását eredményezi. Ezen ligandum egy második fémiont is képes megkötni (O,O) és (NH_2 , N_{amid}) kelátok kialakulása révén. A primer származék esetén megállapítottuk, hogy a hidroxamát-N is fontos szerepet játszik a fémion megkötésben, mivel a pH $\sim 7\text{-}10$ tartományban (NH_2 , N_{amid} , $\text{N}_{\text{hidr.}}$) kötésmódú $[\text{MH}_{-1}\text{L}]$ komplex alakul ki.

A félszendvics szerkezetű platinafémionokkal szemben a Pd(II)-ionok esetében a di- és tripeptid hidroxámsavak elsődleges fémionmegkötő helye a peptidváz amino- és amidcsoportjai. Az AlaGlyGlyNHOH ligandum 1:1 fémion-ligandum arány mellett kizárólag a N-donoratomjain keresztül köti a fémiont, míg fémionfelesleg esetén kétmagvú komplexek képződnek. Ezzel szemben a szekunder származékkal csak egymagvú komplexek képződnek, és lúgos pH-tartományban a fémion koordinációs szférája (NH_2 , N_{amid} , N_{amid} , $\text{O}_{\text{hidr.}}$) donoratomokkal telítődik. A primer dipeptidhidroxámsav esetén szintén a ligandum N-donorai a preferált kötőhelyek a Pd(II) számára, ám ezen ligandummal a fémion feleslegének megkötése nem kétmagvú, hanem hárommagvú, $[\text{Pd}_3\text{H}_4\text{L}_2]$ összetételű komplex kialakulásán keresztül történik. Eredményeink rámutattak, hogy a komplexképződés mellett a ligandumok hidroxámsavcsoportjának Pd(II)-indukált hidrolízise is bekövetkezik, mely folyamat mértéke a koordinálódó N-donoratomok számának csökkenésével növekszik.

A munka folytatásaként előállítottam és jellemeztem egy-egy új, di- és tripeptiddel kapcsolt hidroxipiridinon származékot, és feltérképeztem ezen ligandumok sav-bázis tulajdonságait, valamint jellemeztem az oldatban keletkező Pd(II)-komplexeit. A pH-potenciometriás, NMR és MS eredmények rámutattak, hogy ezen ligandumok

esetében is a Pd(II)-ionnal való kölcsönhatás a peptidváz (NH_2 , N_{amid}) csoportjainak koordinációjával indul. A tripeptid származék esetén ekvimoláris oldatban a pH növelésével izomerek megjelenését tapasztaltuk: a pH $\sim 3,5$ - $8,5$ tartományban az (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) koordinált $[\text{PdH}_{-1}\text{L}]$ komplex mellett egy (NH_2 , N_{amid})+(O,O) kötémódú $[\text{Pd}_2\text{H}_{-2}\text{L}_2]$ összetételű dimer részecske is megjelenik. Ezzel szemben a dipeptidszármazék jóval egyszerűbb egyensúlyi modellt mutatott 1:1 fémion-ligandum aránynál, ahol csakis egymagvú komplexek képződtek, melyekben kizárólag a peptidváz N-donorainak koordinációja valósult meg. Megállapítottuk továbbá, hogy mind a tripeptid, mind a dipeptid származékok képesek fémionfelesleget megkötni, aminek eredményeképp pH ~ 3 fölött kétmagvú komplexek mutathatók ki az oldatban. A szilárd fázisban előállított komplex szerkezete ciszplatin-szerű $2\text{N}+2\text{Cl}$ koordinációs módot mutatott, továbbá megállapítottuk, hogy a komplexben kötött fémion az egyik kloridion cseréje révén egy ekvivalens 9-metil-guanint is képes fogadni, annak N7-es nitrogénatomján történő koordinációja révén.

A peptid-hidroxipiridinon konjugátumok $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ -ionnal való kölcsönhatásának vizsgálata során megállapítottuk, hogy mindkét származék esetében a Co(III) szelektíven az O-donorokhoz kötődik, továbbá a peptidváz N-atomjainak részvételével Pd(II)-ion koordinációját is kimutattuk. Az így kapott kétmagvú komplexek széles pH-tartományban detektálhatók oldatban, és fiziológias pH-tartományban a Pd(II)-ion (NH_2 , N_{amid} , N_{amid}) koordinációs környezetben helyezkedik el. Ezen eredmények alapján tehát elmondható, hogy a peptid-hidroxipiridinon konjugátumok alkalmas jelöltek lehetnek heterodinukleáris Co(III)/Pt(II)/Pd(II) tartalmú komplexek előállítására. Ennek megfelelően, már folyamatban van a fenti kétmagvú komplexek szilárd formában történő előállítása, jellemzése továbbá biológiai tesztje is.

7 SUMMARY

Cisplatin and other second generation Pt(II)-based metallodrugs are used for decades in the chemotherapy and they are effective against certain tumour types. Unfortunately these compounds can damage not only the cancer cells but also the healthy ones therefore they cause serious side-effects due to the lack of selectivity. The selectivity can be increased if the Pt-core is replaced by another platinum-group metal ion (e.g.: Ru(II), Rh(III)) as well as by targeting the physiological differences between the normal and cancer cells. One of these differences is the hypoxic therefore more reductive environment existing inside the tumour tissues that may allow the use of Co(III) complexes with likely hypoxia-activation. Their effectiveness can further be enhanced by adding another metal ion to the complex with anticancer potential. For the preparation of such heterodinuclear complexes ambidentate peptide conjugates can be suitable ligands in which the platinum-group metal ion could bind to the N-donors of the peptide framework while Co(III) is chelated by O-donors such as hydroxamate or hydroxypyridinone units of the ligands. Based on the above, during my doctoral work, I have synthesized simple di- and tripeptide hydroxamic acids and peptide-hydroxypyridinone conjugates and the interaction of these ligands with the half-sandwich type $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Ru}]^{2+}$ and $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ ions, as well as with Pd(II) (as a Pt(II)-model) was studied both in solution and in the solid state. $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ was also involved in the work to explore the donor atom preferences of the metal ions towards the ligands.

The results of the study on the interaction of half-sandwich type metal ions with peptide hydroxamic acids showed that AlaAlaNH₂ forms stable complexes with both $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Ru}]^{2+}$ and $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ ions with identical stoichiometry and structure. In particular, the complexation starts below pH ~ 3 with the formation of a hydroxamate chelated species then increasing the pH results in the formation of the dinuclear species in which the second metal ion is bound to the (NH₂, N_{amide}, N_{hydr.}) donors of the peptide backbone. On the contrary, with the secondary derivative, almost exclusively mononuclear species were formed. While under basic conditions with $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Ru}]^{2+}$ hydroxamate coordinated mixed hydroxo complex was

proven with $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$ an $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}}, \text{O}_{\text{hydr.}})$ coordinated species was detected. With the tripeptide hydroxamic acids $[(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Ru}]^{2+}$ was found to form (O,O) chelated complexes below $\text{pH} \sim 6$. At higher pH very slow complexation processes were detected hindering subsequent equilibrium studies. At the same time, for $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Rh}]^{2+}$, the complexation could be investigated in the whole studied pH-range. It was found that with AlaGlyGlyN(Me)OH the complexation starts with the formation of an (O,O) chelate and, on increasing the pH, rearrangement of the coordination mode results in the formation of $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}}, \text{N}_{\text{amide}})$ fused chelates. This ligand is also capable of binding a second metal ion to form (O,O) and $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}})$ chelates. For the primary derivative the crucial role of the hydroxamate-N in the metal ion binding was proven as in the range of $\text{pH} \sim 7\text{-}10$ an $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}}, \text{N}_{\text{hydr.}})$ coordinated $[\text{MH}_{-1}\text{L}]$ being a predominating complex was identified.

Unlike the half-sandwich type platinum-group ions for Pd(II) the major binding sites of the di- and tripeptide hydroxamic acids are the amino- and amide functions of the peptide backbone. At 1:1 metal ion to ligand ratio, AlaGlyGlyNHOH binds Pd(II) via its N-donors exclusively, while in the case of metal ion excess, dinuclear complexes are formed. On the contrary, for the secondary derivative, the formation of mononuclear complexes was only detected and under basic conditions the coordination sphere of the metal ion was saturated by $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}}, \text{N}_{\text{amide}}, \text{O}_{\text{hydr.}})$ donors. For the primary dipeptide hydroxamic acid the N-donors of the ligand are the preferred binding sites for Pd(II) too, however, binding of metal ion excess results in the formation of a trinuclear species with the composition of $[\text{Pd}_3\text{H}_{-4}\text{L}_2]$ instead of dinuclear complexes. Our results also revealed that beside the complexation Pd(II)-induced hydrolysis of the hydroxamic function of the ligands also occurred; the extent of these processes increases with decreasing number of the coordinating N-donors.

As a continuation of my work, I have synthesized new di- and tripeptide conjugated hydroxypyridinone derivatives and the acid-base properties, as well as the Pd(II)-complexation processes of these ligands were explored in solution. Detailed pH-potentiometric, NMR and MS studies revealed that the Pd(II) binding also starts with the coordination of the $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}})$ functions of the peptide framework. For the tripeptide derivative formation of binding isomers was observed in the range of $\text{pH} \sim$

3.5–8.5. Beside $[\text{PdH}_1\text{L}]$ with $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}}, \text{N}_{\text{amide}})$ binding mode a dimeric complex with $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}})+(\text{O}, \text{O})$ coordination of the ligand was also identified with $[\text{Pd}_2\text{H}_2\text{L}_2]$ stoichiometry. On the contrary, the dipeptide derivative showed a much simpler equilibrium model at 1:1 metal ion to ligand ratio where mononuclear species with the exclusive coordination of the peptide framework were only detected. Furthermore, we have shown that both the tripeptide and dipeptide derivatives are capable of binding metal ion excess resulting in the formation of dinuclear complexes above $\text{pH} \sim 3$. The molecular structure of the complex prepared in solid state showed a cisplatin-like $2\text{N}+2\text{Cl}$ coordination mode. It was also demonstrated that to the metal ion in this complex one equivalent of 9-methylguanine can bind via its N7 donor after replacing one of the chloride ligands.

During the study of the interaction of the peptide-hydroxypyridinone conjugates with $[\text{Co}(\text{tren})]^{3+}$ we have shown that $\text{Co}(\text{III})$ binds selectively to the O-donors of both ligands. Subsequent coordination of $\text{Pd}(\text{II})$ to the nitrogens of the peptide backbone resulted in the formation of heterodinuclear complexes over a wide pH-range in which, under physiological conditions, $\text{Pd}(\text{II})$ exists in an $(\text{NH}_2, \text{N}_{\text{amide}}, \text{N}_{\text{amide}})$ coordination environment in both cases. Based on the above results, it can be concluded, that the peptide-hydroxypyridinone conjugates can be suitable candidates for the preparation of $\text{Co}(\text{III})/\text{Pt}(\text{II})/\text{Pd}(\text{II})$ heterodinuclear complexes. Accordingly, synthesis and characterization of the above heterodinuclear complexes in the solid state together with their biological assays are currently in progress in our laboratory.

8 IRODALOMJEGYZÉK

1. 25 - Iron, Ruthenium and Osmium. In *Chemistry of the Elements (Second Edition)*, Greenwood, N. N.; Earnshaw, A., Eds. Butterworth-Heinemann: Oxford, 1997; pp 1070-1112.
2. 26 - Cobalt, Rhodium and Iridium. In *Chemistry of the Elements (Second Edition)*, Greenwood, N. N.; Earnshaw, A., Eds. Butterworth-Heinemann: Oxford, 1997; pp 1113-1143.
3. 27 - Nickel, Palladium and Platinum. In *Chemistry of the Elements (Second Edition)*, Greenwood, N. N.; Earnshaw, A., Eds. Butterworth-Heinemann: Oxford, 1997; pp 1144-1172.
4. Lazarević, T.; Rilak, A.; Bugarčić, Ž. D., Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *142*, 8-31.
5. Coskun, M. D.; Ari, F.; Oral, A. Y.; Sarimahmut, M.; Kutlu, H. M.; Yilmaz, V. T.; Ulukaya, E., Promising anti-growth effects of palladium(II) saccharinate complex of terpyridine by inducing apoptosis on transformed fibroblasts in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21* (15), 4698-4705.
6. Koelle, U., Organometallic aqua ions of the transition metals. *Coordination Chemistry Reviews* **1994**, *135-136*, 623-650.
7. Stebler-Roethlisberger, M.; Hummel, W.; Pittet, P. A.; Buerger, H. B.; Ludi, A.; Merbach, A. E., Triaqua(benzene)ruthenium(II) and triaqua(benzene)osmium(II): synthesis, molecular structure, and water-exchange kinetics. *Inorganic Chemistry* **1988**, *27* (8), 1358-1363.
8. Dömötör, O.; Aicher, S.; Schmidlehner, M.; Novak, M. S.; Roller, A.; Jakupec, M. A.; Kandioller, W.; Hartinger, C. G.; Keppler, B. K.; Enyedy, É. A., Antitumor pentamethylcyclopentadienyl rhodium complexes of maltol and allomaltol: Synthesis, solution speciation and bioactivity. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2014**, *134*, 57-65.
9. Bíró, L.; Farkas, E.; Buglyó, P., Hydrolytic behaviour and chloride ion binding capability of $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cym})(\text{H}_2\text{O})_3]^{2+}$: a solution equilibrium study. *Dalton Transactions* **2012**, *41* (1), 285-291.
10. Bíró, L.; Godó, A. J.; Bihari, Z.; Garribba, E.; Buglyó, P., Tuning the Hydrolytic Properties of Half-Sandwich-Type Organometallic Cations in Aqueous Solution. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2013**, *2013* (17), 3090-3100.
11. Nutton, A.; Bailey, P. M.; Maitlis, P. M., Pentamethylcyclopentadienyl-rhodium and -iridium complexes. Part 29. Syntheses and X-ray structure determinations of $[\{\text{Rh}(\text{C}_5\text{Me}_5)\}_2(\text{OH})_3]\text{OH}\cdot 11\text{H}_2\text{O}$ and $[\{\text{Ir}(\text{C}_5\text{Me}_5)\}_2(\text{OH})_3]\text{O}_2\text{CMe}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ and related complexes. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1981**, (9), 1997-2002.
12. Dadci, L.; Elias, H.; Frey, U.; Hoernig, A.; Koelle, U.; Merbach, A. E.; Paulus, H.; Schneider, J. S., π -Arene Aqua Complexes of Cobalt, Rhodium, Iridium, and Ruthenium: Preparation, Structure, and Kinetics of Water Exchange and Water Substitution. *Inorganic Chemistry* **1995**, *34* (1), 306-315.

13. Robertson, D. R.; Stephenson, T. A., Cationic and anionic complexes of ruthenium(ii) containing η^6 -arene ligands. *Journal of Organometallic Chemistry* **1976**, *116* (2), C29-C30.
14. Codd, R., Traversing the coordination chemistry and chemical biology of hydroxamic acids. *Coordination Chemistry Reviews* **2008**, *252* (12), 1387-1408.
15. Gupta, S. P.; Sharma, A., The Chemistry of Hydroxamic Acids. In *Hydroxamic Acids: A Unique Family of Chemicals with Multiple Biological Activities*, Gupta, S. P., Ed. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2013; pp 1-17.
16. Fazary, A. E., Thermodynamic Studies on the Protonation Equilibria of Some Hydroxamic Acids in NaNO₃ Solutions in Water and in Mixtures of Water and Dioxane. *Journal of Chemical & Engineering Data* **2005**, *50* (3), 888-895.
17. Farkas, E.; Enyedy, É. A.; Csóka, H., Some factors affecting metal ion–monohydroxamate interactions in aqueous solution. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2000**, *79* (1), 205-211.
18. Kurzak, B.; Kozłowski, H.; Farkas, E., Hydroxamic and aminohydroxamic acids and their complexes with metal ions. *Coordination Chemistry Reviews* **1992**, *114* (2), 169-200.
19. Farkas, E.; Csóka, H.; Tóth, I., New insights into the solution equilibrium of molybdenum(vi)–hydroxamate systems: ¹H and ¹⁷O NMR spectroscopic study of Mo(vi)–desferrioxamine B and Mo(vi)–monohydroxamic acid systems. *Dalton Transactions* **2003**, (8), 1645-1652.
20. Buglyó, P.; Lénárt, K.; Kozsup, M.; Bényei, A. C.; Kováts, É.; Sóvágó, I.; Farkas, E., [Pd(en)(H₂O)₂]²⁺ and [Pd(pic)(H₂O)₂]²⁺ complexation by monohydroxamic acids: A solution equilibrium and solid state approach. *Polyhedron* **2015**, *100*, 392-399.
21. Munson, J. W., *1. Chemistry and Biologic Activity of Hydroxamic Acids—An Overview*.
22. Winkelmann, G., *CRC handbook of microbial iron chelates*. CRC Press: Boca Raton, 1991.
23. Kalinowski, D. S.; Richardson, D. R., The Evolution of Iron Chelators for the Treatment of Iron Overload Disease and Cancer. *Pharmacological Reviews* **2005**, *57* (4), 547-583.
24. Desroches, S.; Biron, F.; Berthon, G., Aluminum speciation studies in biological fluids Part 5. A quantitative investigation of Al(III) complex equilibria with desferrioxamine, 2,3-dihydroxybenzoic acid, Tiron, CP20 (L1), and CP94 under physiological conditions, and computer-aided assessment of the aluminum-mobilizing capacities of these ligands in vivo. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1999**, *75* (1), 27-35.
25. Marmion, C. J.; Parker, J. P.; Nolan, K. B., 3.23 - Hydroxamic Acids: An Important Class of Metalloenzyme Inhibitors. In *Comprehensive Inorganic Chemistry II (Second Edition)*, Reedijk, J.; Poeppelemeier, K., Eds. Elsevier: Amsterdam, 2013; pp 683-708.
26. Mobley, H. L.; Hausinger, R. P., Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological Reviews* **1989**, *53* (1), 85-108.
27. Follmer, C., Ureases as a target for the treatment of gastric and urinary infections. *Journal of Clinical Pathology* **2010**, *63* (5), 424-430.

28. Mannello, F.; Tonti, G.; Papa, S., Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Anticancer Therapeutics. *Current Cancer Drug Targets* **2005**, *5* (4), 285-298.
29. Hu, J.; Van den Steen, P. E.; Sang, Q.-X. A.; Opdenakker, G., Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. *Nature Reviews Drug Discovery* **2007**, *6* (6), 480-498.
30. Barneda-Zahonero, B.; Parra, M., Histone deacetylases and cancer. *Molecular Oncology* **2012**, *6* (6), 579-589.
31. Moradei, O.; Maroun, C. R.; Paquin, I.; Vaisburg, A., Histone Deacetylase Inhibitors: Latest Developments, Trends and Prospects. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents* **2005**, *5* (5), 529-560.
32. Miller, T. A.; Witter, D. J.; Belvedere, S., Histone Deacetylase Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2003**, *46* (24), 5097-5116.
33. Datta, J.; Islam, M.; Dutta, S.; Roy, S.; Pan, Q.; Teknos, T. N., Suberoylanilide hydroxamic acid inhibits growth of head and neck cancer cell lines by reactivation of tumor suppressor microRNAs. *Oral Oncology* **2016**, *56*, 32-39.
34. Buglyó, P.; Farkas, E., Novel half-sandwich Ru(II)-hydroxamate complexes: synthesis, characterization and equilibrium study in aqueous solution. *Dalton Transactions* **2009**, (38), 8063-8070.
35. Griffith, D. M.; Bíró, L.; Platts, J. A.; Müller-Bunz, H.; Farkas, E.; Buglyó, P., Synthesis and solution behaviour of stable mono-, di- and trinuclear Pd(II) complexes of 2,5-pyridinedihydroxamic acid: X-ray crystal structure of a novel Pd(II) hydroxamato complex. *Inorganica Chimica Acta* **2012**, *380*, 291-300.
36. Zhang, Y.-Y.; Gao, W.-X.; Lin, L.; Jin, G.-X., Recent advances in the construction and applications of heterometallic macrocycles and cages. *Coordination Chemistry Reviews* **2017**, *344*, 323-344.
37. Zhang, L.; Lin, Y.-J.; Li, Z.-H.; Jin, G.-X., Rational Design of Polynuclear Organometallic Assemblies from a Simple Heteromultifunctional Ligand. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137* (42), 13670-13678.
38. Zhang, Y.-Y.; Gao, W.-X.; Lin, Y.-J.; Mi, L.-W.; Jin, G.-X., Syntheses, Structures, and Solution Studies of Multicomponent Macrocycles and Cages Based on Versatile Ligands. *Chemistry – A European Journal* **2017**, *23* (46), 11133-11140.
39. Buglyó, P.; Kiss, T.; Kiss, E.; Sanna, D.; Garribba, E.; Micera, G., Interaction between the low molecular mass components of blood serum and the VO(IV)–DHP system (DHP = 1,2-dimethyl-3-hydroxy-4(1H)-pyridinone). *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **2002**, (11), 2275-2282.
40. Chaves, S.; Marques, S. M.; Matos, A. M. F.; Nunes, A.; Gano, L.; Tuccinardi, T.; Martinelli, A.; Santos, M. A., New Tris(hydroxypyridinones) as Iron and Aluminium Sequestering Agents: Synthesis, Complexation and In Vivo Studies. *Chemistry – A European Journal* **2010**, *16* (34), 10535-10545.
41. Amélia Santos, M.; Gama, S.; Gano, L.; Cantinho, G.; Farkas, E., A new bis(3-hydroxy-4-pyridinone)-IDA derivative as a potential therapeutic chelating agent. Synthesis, metal-complexation and biological assays. *Dalton Transactions* **2004**, (21), 3772-3781.
42. Minhua, F.; Van Der Does, L.; Bantjes, A., Iron(III) chelating resins II. 3-Hydroxy-4(1H)-pyridinones-Sepharose gels. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **1993**, *4* (2), 145-154.

43. Storr, T.; Mitchell, D.; Buglyó, P.; Thompson, K. H.; Yuen, V. G.; McNeill, J. H.; Orvig, C., Vanadyl–Thiazolidinedione Combination Agents for Diabetes Therapy. *Bioconjugate Chemistry* **2003**, *14* (1), 212-221.
44. Santos, M. A.; Marques, S. M.; Chaves, S., Hydroxypyridinones as “privileged” chelating structures for the design of medicinal drugs. *Coordination Chemistry Reviews* **2012**, *256* (1), 240-259.
45. Kontoghiorghes, G. J.; Pattichis, K.; Neocleous, K.; Kolnagou, A., The Design and Development of Deferiprone (L1) and Other Iron Chelators for Clinical Use: Targeting Methods and Application Prospects. *Current Medicinal Chemistry* **2004**, *11* (16), 2161-2183.
46. Liu, Z. D.; Hider, R. C., Design of iron chelators with therapeutic application. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, *232* (1), 151-171.
47. Motekaitis, R. J.; Martell, A. E., Stabilities of the iron(III) chelates of 1,2-dimethyl-3-hydroxy-4-pyridinone and related ligands. *Inorganica Chimica Acta* **1991**, *183* (1), 71-80.
48. Hileti, D.; Panayiotidis, P.; Hoffbrand, A. V., Iron chelators induce apoptosis in proliferating cells. *British Journal of Haematology* **1995**, *89* (1), 181-187.
49. Yasumoto, E.; Nakano, K.; Nakayachi, T.; Morshed, S. R.; Kashimoto, K.; Kikuchi, H.; Nishikawa, H.; Kawase, M.; Sakagami, H., Cytotoxic Activity of Deferiprone, Maltol and Related Hydroxyketones against Human Tumor Cell Lines. *Anticancer Research* **2004**, *24* (2B), 755-762.
50. Hoyes, K. P.; Hider, R. C.; Porter, J. B., Cell Cycle Synchronization and Growth Inhibition by 3-Hydroxypyridin-4-one Iron Chelators in Leukemia Cell Lines. *Cancer Research* **1992**, *52* (17), 4591-4599.
51. Khodaverdian, V.; Tapadar, S.; MacDonald, I. A.; Xu, Y.; Ho, P.-Y.; Bridges, A.; Rajpurohit, P.; Sanghani, B. A.; Fan, Y.; Thangaraju, M.; Hathaway, N. A.; Oyelere, A. K., Deferiprone: Pan-selective Histone Lysine Demethylase Inhibition Activity and Structure Activity Relationship Study. *Scientific Reports* **2019**, *9* (1), 4802.
52. Patil, V.; Sodji, Q. H.; Kornacki, J. R.; Mrksich, M.; Oyelere, A. K., 3-Hydroxypyridin-2-thione as Novel Zinc Binding Group for Selective Histone Deacetylase Inhibition. *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56* (9), 3492-3506.
53. Hartinger, C. G., *Medicinal Chemistry: Bioorganometallic Anticancer Agents and Their Biomolecular Target Interactions*. Elsevier Science Bv: Amsterdam, 2019; p 157-172.
54. Kandioller, W.; Kurzwernhart, A.; Hanif, M.; Meier, S. M.; Henke, H.; Keppler, B. K.; Hartinger, C. G., Pyrone derivatives and metals: From natural products to metal-based drugs. *Journal of Organometallic Chemistry* **2011**, *696* (5), 999-1010.
55. Bíró, L.; Farkas, E.; Buglyó, P., Complex formation between Ru(η^6 -p-cym)(H₂O)₃]²⁺ and (O,O) donor ligands with biological relevance in aqueous solution. *Dalton Transactions* **2010**, *39* (42), 10272-10278.
56. Hanif, M.; Henke, H.; Meier, S. M.; Martic, S.; Labib, M.; Kandioller, W.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Kraatz, H.-B.; Keppler, B. K.; Hartinger, C. G., Is the Reactivity of M(II)–Arene Complexes of 3-Hydroxy-2(1H)-pyridones to

- Biomolecules the Anticancer Activity Determining Parameter? *Inorganic Chemistry* **2010**, 49 (17), 7953-7963.
57. Mendoza-Ferri, M. G.; Hartinger, C. G.; Nazarov, A. A.; Eichinger, R. E.; Jakupec, M. A.; Severin, K.; Keppler, B. K., Influence of the Arene Ligand, the Number and Type of Metal Centers, and the Leaving Group on the in Vitro Antitumor Activity of Polynuclear Organometallic Compounds. *Organometallics* **2009**, 28 (21), 6260-6265.
58. Sóvágó, I.; Várnagy, K.; Lihi, N.; Grenács, Á., Coordinating properties of peptides containing histidyl residues. *Coordination Chemistry Reviews* **2016**, 327-328, 43-54.
59. Sóvágó, I.; Ósz, K., Metal ion selectivity of oligopeptides. *Dalton Transactions* **2006**, (32), 3841-3854.
60. Sóvágó, I.; Kállay, C.; Várnagy, K., Peptides as complexing agents: Factors influencing the structure and thermodynamic stability of peptide complexes. *Coordination Chemistry Reviews* **2012**, 256 (19), 2225-2233.
61. Sigel, H.; Martin, R. B., Coordinating properties of the amide bond. Stability and structure of metal ion complexes of peptides and related ligands. *Chemical Reviews* **1982**, 82 (4), 385-426.
62. Kozłowski, H.; Bal, W.; Dyba, M.; Kowalik-Jankowska, T., Specific structure–stability relations in metallopeptides. *Coordination Chemistry Reviews* **1999**, 184 (1), 319-346.
63. Kiss, T.; Sovago, I.; Gergely, A., Critical survey of stability constants of complexes of glycine. In *Pure and Applied Chemistry*, 1991; Vol. 63, p 597.
64. Appleton, D. W.; Kruck, T. P. A.; Sarkar, B., A comparative study of Zn(II) and Co(II) binding to glycy-l-tyrosine, a pseudosubstrate for carboxypeptidase A. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1979**, 10 (1), 1-8.
65. Severin, K.; Bergs, R.; Beck, W., Bioorganometallic Chemistry - Transition Metal Complexes with α -Amino Acids and Peptides. *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, 37 (12), 1634-1654.
66. Krämer, R.; Polborn, K.; Wanjek, H.; Zahn, I.; Beck, W., Chirale Halbsandwich-Komplexe von Rhodium(III), Iridium(III), Iridium(I) und Ruthenium(II) mit α -Aminosäure-Anionen. *Chemische Berichte* **1990**, 123 (4), 767-778.
67. Egbewande, F. A.; Paul, L. E. H.; Therrien, B.; Furrer, J., Synthesis, Characterization and Cytotoxicity of (η^6 -p-cymene)ruthenium(II) Complexes of α -Amino Acids. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2014**, 2014 (7), 1174-1184.
68. Bihari, Z.; Nagy, Z.; Buglyó, P., [$(\eta^6$ -p-cym)Ru(H₂O)₃]²⁺ binding capability of N-methylimidazole to model the interaction between the metal ion and surface histidine residues of peptides. *Journal of Organometallic Chemistry* **2015**, 782, 82-88.
69. Bihari, Z.; Ugone, V.; Garribba, E.; Lihi, N.; Buglyó, P., Complex formation between [$(\eta^6$ -p-cym)Ru(H₂O)₃]²⁺ and oligopeptides containing three histidyl moieties. *Journal of Organometallic Chemistry* **2016**, 823, 116-125.
70. Balogh, B. D.; Bihari, Z.; Buglyó, P.; Csire, G.; Kerekes, Z.; Lukács, M.; Sóvágó, I.; Várnagy, K., Metal binding selectivity of an N-terminally free

- multihistidine peptide HAVAHHH-NH₂. *New Journal of Chemistry* **2019**, *43* (2), 907-916.
71. Pitner, T. P.; Wilson, E. W.; Martin, R. B., Properties of palladium(II) complexes of peptides and histidine in basic solutions. *Inorganic Chemistry* **1972**, *11* (4), 738-742.
72. Martin, R. B.; Wilson, E. W., Circular dichroism of copper(II) and palladium(II) complexes of N-methyl-L-amino acids and dipeptides. *Inorganic Chemistry* **1971**, *10* (6), 1197-1202.
73. Wilson, E. W.; Martin, R. B., Circular dichroism of palladium(II) complexes of amino acids and peptides. *Inorganic Chemistry* **1970**, *9* (3), 528-532.
74. Gábor Ágoston, C.; Kowalik Jankowska, T.; Sóvágó, I., Potentiometric and NMR studies on palladium(II) complexes of oligoglycines and related ligands with non-co-ordinating side chains. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1999**, (18), 3295-3302.
75. Gábor Ágoston, C.; Miskolczy, Z.; Nagy, Z.; Sóvágó, I., The effect of ring size of fused chelates on the stability constants and spectroscopic properties of nickel(II) and palladium(II) complexes of peptides. *Polyhedron* **2003**, *22* (18), 2607-2615.
76. Nagao, N.; Kobayashi, T.; Takayama, T.; Koike, Y.; Ono, Y.; Watanabe, T.; Mikami, T.; Suzuki, M.; Matumoto, T.; Watabe, M., Platinum(II) Complexes with Diglycine: X-ray Crystal Structure, ¹⁵N NMR Spectra, and Growth-Inhibitory Activity against Mouse Meth A Solid Tumor in Vivo. *Inorganic Chemistry* **1997**, *36* (19), 4195-4201.
77. Watabe, M.; Kai, M.; Hayashi, M.; Kamiyama, K.; Okada, H.; Takayama, T., Preparation, X-ray crystal structure, and ¹⁹⁵Pt NMR spectra of platinum(II) with dipeptides and dipeptide methyl esters. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2000**, *81* (1), 49-55.
78. Shi, D.; Hambley, T. W.; Freeman, H. C., Three new platinum(II)—dipeptide complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry* **1999**, *73* (3), 173-186.
79. Freeman, H. C.; Golomb, M. L., Model compounds for metal–protein interaction: crystal structure of three platinum(II) complexes of L- and DL-methionine and glycyl-L-methionine. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications* **1970**, (22), 1523-1524.
80. Amable, L., Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacological Research* **2016**, *106*, 27-36.
81. Noone, A.-M.; Cronin, K. A.; Altekruze, S. F.; Howlader, N.; Lewis, D. R.; Petkov, V. I.; Penberthy, L., Cancer Incidence and Survival Trends by Subtype Using Data from the Surveillance Epidemiology and End Results Program, 1992-2013. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2017**, *26* (4), 632-641.
82. Johnstone, T. C.; Suntharalingam, K.; Lippard, S. J., The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. *Chemical Reviews* **2016**, *116* (5), 3436-3486.
83. Wexselblatt, E.; Yavin, E.; Gibson, D., Cellular interactions of platinum drugs. *Inorganica Chimica Acta* **2012**, *393*, 75-83.

84. Reedijk, J., Platinum Anticancer Coordination Compounds: Study of DNA Binding Inspires New Drug Design. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2009**, 2009 (10), 1303-1312.
85. Kelland, L., The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer* **2007**, 7 (8), 573-584.
86. Kartalou, M.; Essigmann, J. M., Recognition of cisplatin adducts by cellular proteins. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **2001**, 478 (1), 1-21.
87. Brabec, V.; Hrabina, O.; Kasparikova, J., Cytotoxic platinum coordination compounds. DNA binding agents. *Coordination Chemistry Reviews* **2017**, 351, 2-31.
88. Makovec, T., Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. *Radiology and Oncology* **2019**, 53 (2), 148-158.
89. Yao, X.; Panichpisal, K.; Kurtzman, N.; Nugent, K., Cisplatin Nephrotoxicity: A Review. *The American Journal of the Medical Sciences* **2007**, 334 (2), 115-124.
90. Stewart, D. J., Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **2007**, 63 (1), 12-31.
91. Cusumano, M.; Di Pietro, M. L.; Giannetto, A.; Vainiglia, P. A., The intercalation to DNA of bipyridyl complexes of platinum(II) with thioureas. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2005**, 99 (2), 560-565.
92. Mohammadi, R.; Yousefi, R.; Dadkhah Aseman, M.; Masoud Nabavizadeh, S.; Rashidi, M., DNA Binding and Anticancer Activity of Novel Cyclometalated Platinum (II) Complexes. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry- Anti-Cancer Agents* **2015**, 15 (1), 107-114.
93. Butour, J. L.; Wimmer, S.; Wimmer, F.; Castan, P., Palladium(II) compounds with potential antitumour properties and their platinum analogues: A comparative study of the reaction of some erotic acid derivatives with DNA in vitro. *Chemico-Biological Interactions* **1997**, 104 (2-3), 165-178.
94. Abu-Surrah, A. S.; Kettunen, M., Platinum Group Antitumor Chemistry: Design and development of New Anticancer Drugs Complementary to Cisplatin. *Current Medicinal Chemistry* **2006**, 13 (11), 1337-1357.
95. Darabi, F.; Hadadzadeh, H.; Simpson, J.; Shahpiri, A., A water-soluble Pd(ii) complex with a terpyridine ligand: experimental and molecular modeling studies of the interaction with DNA and BSA; and in vitro cytotoxicity investigations against five human cancer cell lines. *New Journal of Chemistry* **2016**, 40 (11), 9081-9097.
96. Ulukaya, E.; Ari, F.; Dimas, K.; Sarimahmut, M.; Guney, E.; Sakellaridis, N.; Yilmaz, V. T., Cell death-inducing effect of novel palladium(II) and platinum(II) complexes on non-small cell lung cancer cells in vitro. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **2011**, 137 (10), 1425-1434.
97. Ulukaya, E.; Ari, F.; Dimas, K.; Ikitimur, E. I.; Guney, E.; Yilmaz, V. T., Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells in vitro and in vivo. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 46 (10), 4957-4963.
98. Clarke, M. J., Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coordination Chemistry Reviews* **2002**, 232 (1), 69-93.

99. Hartinger, C. G.; Zorbas-Seifried, S.; Jakupec, M. A.; Kynast, B.; Zorbas, H.; Keppler, B. K., From bench to bedside – preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). *Journal of Inorganic Biochemistry* **2006**, *100* (5), 891-904.
100. Galanski, M.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K., Recent developments in the field of tumor-inhibiting metal complexes. *Current pharmaceutical design* **2003**, *9* (25), 2078-89.
101. Sava, G.; Alessio, E.; Bergamo, A.; Mestroni, G., Sulfoxide Ruthenium Complexes: Non-Toxic Tools for the Selective Treatment of Solid Tumour Metastases. In *Metallopharmaceuticals I: DNA Interactions*, Clarke, M. J.; Sadler, P. J., Eds. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 1999; pp 143-169.
102. BOLD-100 in Combination With FOLFOX for the Treatment of Advanced, Solid Tumours. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04421820> (megtekintve: 2020. 10. 04.).
103. Bold Therapeutics Potential to Fight COVID-19. . <https://www.bold-therapeutics.com/COVID-19> (megtekintve: 2020. 10. 04.).
104. Merlino, A., Interactions between proteins and Ru compounds of medicinal interest: A structural perspective. *Coordination Chemistry Reviews* **2016**, *326*, 111-134.
105. Reisner, E.; Arion, V. B.; Keppler, B. K.; Pombeiro, A. J. L., Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs. *Inorganica Chimica Acta* **2008**, *361* (6), 1569-1583.
106. Dyson, P. J., Systematic Design of a Targeted Organometallic Antitumour Drug in Pre-clinical Development. *CHIMIA International Journal for Chemistry* **2007**, *61* (11), 698-703.
107. Dougan, S. J.; Sadler, P. J., The Design of Organometallic Ruthenium Arene Anticancer Agents. *CHIMIA International Journal for Chemistry* **2007**, *61* (11), 704-715.
108. Aird, R. E.; Cummings, J.; Ritchie, A. A.; Muir, M.; Jodrell, D. I.; Morris, R. E.; Chen, H.; Sadler, P. J., In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. *British Journal of Cancer* **2002**, *86* (10), 1652-1657.
109. Chen, H.; Parkinson, J. A.; Parsons, S.; Coxall, R. A.; Gould, R. O.; Sadler, P. J., Organometallic ruthenium(II) diamine anticancer complexes: Arene-nucleobase stacking and stereospecific hydrogen-bonding in guanine adducts. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (12), 3064-3082.
110. Casini, A.; Gabbiani, C.; Sorrentino, F.; Rigobello, M. P.; Bindoli, A.; Geldbach, T. J.; Marrone, A.; Re, N.; Hartinger, C. G.; Dyson, P. J.; Messori, L., Emerging Protein Targets for Anticancer Metallodrugs: Inhibition of Thioredoxin Reductase and Cathepsin B by Antitumor Ruthenium(II)–Arene Compounds. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51* (21), 6773-6781.
111. Denny, W. A., Prodrug strategies in cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *36* (7), 577-595.
112. Jaracz, S.; Chen, J.; Kuznetsova, L. V.; Ojima, I., Recent advances in tumor-targeting anticancer drug conjugates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13* (17), 5043-5054.

113. Hall, M. D.; Failes, T. W.; Yamamoto, N.; Hambley, T. W., Bioreductive activation and drug chaperoning in cobalt pharmaceuticals. *Dalton Transactions* **2007**, (36), 3983-3990.
114. Bonnitcha, P. D.; Kim, B. J.; Hocking, R. K.; Clegg, J. K.; Turner, P.; Neville, S. M.; Hambley, T. W., Cobalt complexes with tripodal ligands: implications for the design of drug chaperones. *Dalton Transactions* **2012**, 41 (37), 11293-11304.
115. Failes, T. W.; Hambley, T. W., Models of hypoxia activated prodrugs: Co(III) complexes of hydroxamic acids. *Dalton Transactions* **2006**, (15), 1895-1901.
116. Failes, T. W.; Cullinane, C.; Diakos, C. I.; Yamamoto, N.; Lyons, J. G.; Hambley, T. W., Studies of a Cobalt(III) Complex of the MMP Inhibitor Marimastat: A Potential Hypoxia-Activated Prodrug. *Chemistry – A European Journal* **2007**, 13 (10), 2974-2982.
117. Mallikarjun, V.; Clarke, D. J.; Campbell, C. J., Cellular redox potential and the biomolecular electrochemical series: A systems hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine* **2012**, 53 (2), 280-288.
118. Buglyó, P.; Kacsir, I.; Kozsup, M.; Nagy, I.; Nagy, S.; Bényei, A. C.; Kováts, É.; Farkas, E., Tuning the redox potentials of ternary cobalt(III) complexes containing various hydroxamates. *Inorganica Chimica Acta* **2018**, 472, 234-242.
119. Choi, S.; Filotto, C.; Bisanzo, M.; Delaney, S.; Lagasee, D.; Whitworth, J. L.; Jusko, A.; Li, C.; Wood, N. A.; Willingham, J.; Schwenker, A.; Spaulding, K., Reduction and Anticancer Activity of Platinum(IV) Complexes. *Inorganic Chemistry* **1998**, 37 (10), 2500-2504.
120. Shi, H.; Imberti, C.; Sadler, P. J., Diazido platinum(IV) complexes for photoactivated anticancer chemotherapy. *Inorganic Chemistry Frontiers* **2019**, 6 (7), 1623-1638.
121. Mukhopadhyay, S.; Barnés, C. M.; Haskel, A.; Short, S. M.; Barnes, K. R.; Lippard, S. J., Conjugated Platinum(IV)–Peptide Complexes for Targeting Angiogenic Tumor Vasculature. *Bioconjugate Chemistry* **2008**, 19 (1), 39-49.
122. Ravera, M.; Gabano, E.; McGlinchey, M. J.; Osella, D., A view on multi-action Pt(IV) antitumor prodrugs. *Inorganica Chimica Acta* **2019**, 492, 32-47.
123. Bouchal, P.; Jarkovsky, J.; Hrazdilova, K.; Dvorakova, M.; Struharova, I.; Hernychova, L.; Damborsky, J.; Sova, P.; Vojtesek, B., The new platinum-based anticancer agent LA-12 induces retinol binding protein 4 in vivo. *Proteome Science* **2011**, 9 (1), 68.
124. Townsend, D. M.; Tew, K. D., The role of glutathione-S-transferase in anticancer drug resistance. *Oncogene* **2003**, 22 (47), 7369-7375.
125. Yang, J.; Sun, X.; Mao, W.; Sui, M.; Tang, J.; Shen, Y., Conjugate of Pt(IV)-histone deacetylase inhibitor as a prodrug for cancer chemotherapy. *Molecular pharmaceuticals* **2012**, 9 (10), 2793-800.
126. Copolovici, D. M.; Langel, K.; Eriste, E.; Langel, Ü., Cell-Penetrating Peptides: Design, Synthesis, and Applications. *ACS Nano* **2014**, 8 (3), 1972-1994.
127. Soler, M.; Feliu, L.; Planas, M.; Ribas, X.; Costas, M., Peptide-mediated vectorization of metal complexes: conjugation strategies and biomedical applications. *Dalton Transactions* **2016**, 45 (33), 12970-12982.

128. Dissanayake, S.; Denny, W. A.; Gamage, S.; Sarojini, V., Recent developments in anticancer drug delivery using cell penetrating and tumor targeting peptides. *Journal of Controlled Release* **2017**, *250*, 62-76.
129. Rijt, S. H. v.; Kostrhunova, H.; Brabec, V.; Sadler, P. J., Functionalization of Osmium Arene Anticancer Complexes with (Poly)arginine: Effect on Cellular Uptake, Internalization, and Cytotoxicity. *Bioconjugate Chemistry* **2011**, *22* (2), 218-226.
130. Hoskin, D. W.; Ramamoorthy, A., Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2008**, *1778* (2), 357-375.
131. Svensen, N.; Walton, J. G. A.; Bradley, M., Peptides for cell-selective drug delivery. *Trends in Pharmacological Sciences* **2012**, *33* (4), 186-192.
132. Williams, E.; Williams, G.; Gour, B. J.; Blaschuk, O. W.; Doherty, P., A Novel Family of Cyclic Peptide Antagonists Suggests That N-cadherin Specificity Is Determined by Amino Acids That Flank the HAV Motif. *Journal of Biological Chemistry* **2000**, *275* (6), 4007-4012.
133. Dirscherl, G.; König, B., The Use of Solid-Phase Synthesis Techniques for the Preparation of Peptide–Metal Complex Conjugates. *European Journal of Organic Chemistry* **2008**, *2008* (4), 597-634.
134. Yu, M.; Price, J. R.; Jensen, P.; Lovitt, C. J.; Shelper, T.; Duffy, S.; Windus, L. C.; Avery, V. M.; Rutledge, P. J.; Todd, M. H., Copper, Nickel, and Zinc Cyclam–Amino Acid and Cyclam–Peptide Complexes May Be Synthesized with “Click” Chemistry and Are Noncytotoxic. *Inorganic Chemistry* **2011**, *50* (24), 12823-12835.
135. Albada, B.; Metzler-Nolte, N., Organometallic–Peptide Bioconjugates: Synthetic Strategies and Medicinal Applications. *Chemical Reviews* **2016**, *116* (19), 11797-11839.
136. Bihari, Z.; Vultos, F.; Fernandes, C.; Gano, L.; Santos, I.; Correia, J. D. G.; Buglyó, P., Synthesis, characterization and biological evaluation of a ⁶⁷Ga-labeled (η⁶-Tyr)Ru(η⁵-Cp) peptide complex with the HAV motif. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2016**, *160*, 189-197.
137. Lee, M.; Simpson, J. E.; Burns, A. J.; Kupchinsky, S.; Brooks, N.; Hartley, J. A.; Kelland, L. R., Novel platinum(II) derivatives of analogues of netropsin and distamycin: Synthesis, DNA binding and cytotoxic properties. *Med Chem Res* **1996**, *6* (6), 365-371.
138. Parker, J. P.; Devocelle, M.; Marmion, C. J., Derivatisation of an Anti-Cancer Cationic Antimicrobial Peptide and its Complexation to Platinum(II). *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie* **2013**, *639* (8-9), 1628-1635.
139. Wisnovsky, Simon P.; Wilson, Justin J.; Radford, Robert J.; Pereira, Mark P.; Chan, Maria R.; Laposa, Rebecca R.; Lippard, Stephen J.; Kelley, Shana O., Targeting Mitochondrial DNA with a Platinum-Based Anticancer Agent. *Chemistry & Biology* **2013**, *20* (11), 1323-1328.
140. Parker, J. P.; Devocelle, M.; Morgan, M. P.; Marmion, C. J., Derivatisation of buforin IIb, a cationic henicosapeptide, to afford its complexation to platinum(ii) resulting in a novel platinum(ii)–buforin IIb conjugate with anti-cancer activity. *Dalton Transactions* **2016**, *45* (33), 13038-13041.

141. Barragán, F.; López-Senín, P.; Salassa, L.; Betanzos-Lara, S.; Habtemariam, A.; Moreno, V.; Sadler, P. J.; Marchán, V., Photocontrolled DNA Binding of a Receptor-Targeted Organometallic Ruthenium(II) Complex. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, *133* (35), 14098-14108.
142. Buglyó, P.; Nagy, E. M.; Farkas, E.; Sóvágó, I.; Sanna, D.; Micera, G., New insights into the metal ion–peptide hydroxamate interactions: Metal complexes of primary hydroxamic acid derivatives of common dipeptides in aqueous solution. *Polyhedron* **2007**, *26* (8), 1625-1633.
143. Irto, A.; Cardiano, P.; Chand, K.; Cigala, R. M.; Crea, F.; De Stefano, C.; Gano, L.; Sammartano, S.; Santos, M. A., Bifunctional 3-hydroxy-4-pyridinones as effective aluminium chelators: synthesis, solution equilibrium studies and in vivo evaluation. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2018**, *186*, 116-129.
144. Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L., Chapter 4 - Purification of Organic Chemicals. In *Purification of Laboratory Chemicals (Sixth Edition)*, Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L., Eds. Butterworth-Heinemann: Oxford, 2009; pp 88-444.
145. Bennett, M. A.; Smith, A. K., Arene ruthenium(II) complexes formed by dehydrogenation of cyclohexadienes with ruthenium(III) trichloride. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1974**, (2), 233-241.
146. Zékány, L.; Nagypál, I., PSEQUAD. In *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, Leggett, D. J., Ed. Springer US: Boston, MA, 1985; pp 291-353.
147. Irving, H. M.; Miles, M. G.; Pettit, L. D., A study of some problems in determining the stoichiometric proton dissociation constants of complexes by potentiometric titrations using a glass electrode. *Analytica Chimica Acta* **1967**, *38*, 475-488.
148. Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A., SUPERQUAD: an improved general program for computation of formation constants from potentiometric data. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1985**, (6), 1195-1200.
149. Eriksson, G., An algorithm for the computation of aqueous multi-component, multiphase equilibria. *Analytica Chimica Acta* **1979**, *112* (4), 375-383.
150. Gran, G., Determination of the Equivalent Point in Potentiometric Titrations. *Acta Chemica Scandinavica* **1950**, *4*, 559-577.
151. Szakacs, Z.; Kraszni, M.; Noszal, B., Determination of microscopic acid-base parameters from NMR-pH titrations. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2004**, *378* (6), 1428-1448.
152. Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A., NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, *62* (21), 7512-7515.
153. Krezel, A.; Bal, W., A formula for correlating pKa values determined in D2O and H2O. *Journal of inorganic biochemistry* **2004**, *98* (1), 161-166.
154. Buglyó, P.; Nagy, E. M.; Sóvágó, I.; Ozsváth, A.; Sanna, D.; Farkas, E., Metal ion binding capability of secondary (N-methyl) versus primary (N-H) dipeptide hydroxamic acids. *Polyhedron* **2016**, *110*, 172-181.
155. Nagy, E. M., PhD értekezés. *Debreceni Egyetem* **2006**.
156. Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V., Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron* **2005**, *61* (46), 10827-10852.

157. Davies, H. O.; Brown, D. A.; Yanovsky, A. I.; Nolan, K. B., Synthesis of trans-bis (glycinehydroxamato) platinum (II) hydrate trans-dichlorobis (glycylglycine) platinum (II) dihydrate and the crystal and molecular structures of trans-dichlorobis (glycine) platinum (II) dihydrate and trans, trans-dichlorobis (glycinato) platinum (IV), hydrolysis products formed in reactions of the former complexes. *Inorganica Chimica Acta* **1995**, 237 (1), 71-77.
158. Wienken, M.; Zangrando, E.; Randaccio, L.; Menzer, S.; Lippert, B., Structural and solution study on binary peptide and ternary peptide–nucleobase complexes of palladium(II). *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1993**, (22), 3349-3357.
159. U. Milinković, S.; N. Parac, T.; I. Djuran, M.; M. Kostić, N., Dependence of hydrolytic cleavage of histidine-containing peptides by palladium(II) aqua complexes on the co-ordination modes of the peptides. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1997**, (16), 2771-2776.

9 FÜGGELÉK

Az értekezés alapját képző közlemények (articles related to the dissertation) (3)

1. *András Ozsváth*, Róbert Diószegi, Attila Csaba Bényei, Péter Buglyó
Pd(II)-complexes of a novel piridinone based tripeptide conjugate: Solution and solid state studies
Dalton Trans., **49** (2020) 9254 - 9267
IF: 4,174 (2019)
2. *András Ozsváth*, Linda Bíró, Eszter Márta Nagy, Péter Buglyó, Daniele Sanna, Etelka Farkas
Trends and Exceptions in the Interaction of Hydroxamic Acid Derivatives of Common Di- and Tripeptides with Some 3d and 4d Metal Ions in Aqueous Solution
Molecules, **24** (2019) 3941
IF: 3,267
3. *András Ozsváth*, Etelka Farkas, Róbert Diószegi, Péter Buglyó
Versatility and trends in the interaction between Pd(II)-ions and peptide hydroxamic acids
New Journal of Chemistry, **43** (2019) 8239-8249
IF: 3,288

Az értekezésben nem tárgyalt közlemények (articles not related to the dissertation) (2)

1. Aisling L. Ryan, Marie-Claire Fitzgerald, *András Ozsváth*, Brendan Twamley, Péter Buglyó, Brona M. Murphy, Darren M. Griffith
Ni(II), Pd(II), and Pt(II) Complexes of the Hedgehog Pathway Inhibitor GANT61-D
Inorg. Chem., **58**, 23 (2019) 16075-16086
IF: 4,825
2. Péter Buglyó, Eszter M. Nagy, Imre Sóvágó, *András Ozsváth*, Daniele Sanna, Etelka Farkas
Metal ion binding capability of secondary (N-methyl) versus primary (N-H) dipeptide hydroxamic acids
Polyhedron, **110** (2016) 172-181
IF: 1,926

Az értekezés alapját képző előadások (lectures related to the dissertation) (7)

András Ozsváth, Etelka Farkas, Róbert Diószegi, Péter Buglyó
Versatility in the interaction between Pd(II)-ions and peptide hydroxamic acids
International Symposium on Metal Complexes, 2019. június 11-14,
Debrecen/Hajdúszoboszló, Magyarország

Péter Buglyó, Máté Kozsup, Imre Nagy, Sándor Nagy, *András Ozsváth*, Attila Csaba Bényei, Etelka Farkas

Cobalt(III) Complexes with Likely Hypoxia-Activation to Carry Biomolecules
15th International Symposium on Applied Bipinorganic Chemistry, 2019. június 2-5, Nara, Japán

Ozsváth András, Diószegi Róbert, Bényei Attila, Buglyó Péter

Peptid-hidroxipiridinon kunjugátumok szintézise és Pd(II)-komplexeinek oldatbeli vizsgálata

53. Komplexkémiai Kollokvium, Velence, 2019. május 21.

Ozsváth András, Diószegi Róbert, Bényei Attila, Buglyó Péter

Peptid-hidroxipiridinon kunjugátumok szintézise és Pd(II)-komplexeinek oldatbeli vizsgálata

I. Fiatal Kémikusok Fóruma Szimpózium, Debrecen, 2019. április 4.

Péter Buglyó, *András Ozsváth*, Máté Kozsup, Imre Nagy, Sándor Nagy, Attila Csaba Bényei, Etelka Farkas

Pd(II)-peptidehidroxamate interactions to develop potentially hypoxia-activated bimetallic complexes

European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2018. augusztus 26-30, Birmingham, UK

Ozsváth András, Diószegi Róbert, Farkas Etelka, Buglyó Péter

Pd(II)-ionok oldatbeli kölcsönhatásának vizsgálata peptidhidroxámsavakkal

52. Komplexkémiai Kollokvium, Balatonvilágos, 2018. május 24.

Ozsváth András, Diószegi Róbert, Buglyó Péter

Peptidhidroxámsavak és Pd(II)-ionok közötti kölcsönhatás vizsgálata

51. Komplexkémiai Kollokvium, Balatonvilágos, 2017. május 29-31.

Az értekezésben nem tárgyalt előadások (lectures not related to the dissertation)

(3)

Ozsváth András, Aisling Ryan, Darren Griffith, Brendan Twamley, Buglyó Péter

d^8 átmenetifémionok szilárd- és oldatfázisú kölcsönhatása biomolekulákkal

III. Debreceni Röntgendiffrakciós Kerekasztal, Debrecen, 2019. január 24.

Ozsváth András, Kapitány Réka, Diószegi Róbert, Farkas Etelka, Buglyó Péter

Várhatóan hipoxia-aktivált, fluoreszcens Co(III)-komplexelek szintézise és vizsgálata

Koordinációs Kémiai és Reakciókinetikai Munkabizottságok tudományos ülése, Veszprém, 2018. november 9.

Ozsváth András

Az ólom(II)ionok kölcsönhatásának vizsgálata peptidhidroxámsavakkal

XXXII. OTDK, Kémiai és Vegyipari Szekció, Veszprém, 2015. április 9-11.

Az értekezés alapját képző posztterek (posters related to the dissertation) (2)

Linda Bíró, András Ozsváth, Péter Buglyó, Etelka Farkas

Interaction of hydroxamic acid derivatives of common di- and tripeptides with half-sandwich type organometallic cations

1st Workshop on Metals in Medicine, 2019. November 14-15., Párizs, Franciaország

András Ozsváth, Róbert Diószegi, Péter Buglyó

Characterization of the interaction of Pd(II) or Pt(II) ions and peptide hydroxamic acids in solution

International Symposium on Metal Complexes, 2017. Június 11-15., Dijon, Franciaország

Az értekezésben nem tárgyalt posztterek (posters not related to the dissertation) (1)

B. Szócs, A. Godó, *A. Ozsváth*, L. Bíró, E. Farkas, P. Buglyó

Peptide Hydroxamates and their Sulfur-containing Analogs as Selective Metal Ion Binders

XII. International Symposium on Inorganic Biochemistry, 2013. Augusztus 28. - Szeptember 1., Wrocław, Lengyelország