



1949

Gyógyászati jelentőségű ligandumok és származékaik szelektivitásának és hatékonyságának fokozása Co(III)-komplexeik révén

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

Kozsup Máté

Témavezető: Prof. Dr. Farkas Etelka, professor emerita

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.....

a jelölt aláírása

Tanúsítom, hogy Kozsup Máté 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 javaslom.
Debrecen, 2020.....

a témavezető aláírása

Gyógyászati jelentőségű ligandumok és származékaik szelektivitásának és hatékonyságának fokozása Co(III)-komplexeik révén

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a Kémia tudományágban

Írta: **Kozsup Máté**, okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem Kémiai Tudományok doktori iskolája
(Koordinációs és Analitikai Kémia programja) keretében

Témavezető: **Prof. Dr. Farkas Etelka**

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2021.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni *Dr. Gáspár Attila* tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette a doktori értekezésem elkészítését a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén.

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, *Prof. Dr. Farkas Etelka* professor emeritanak és korábbi témavezetőmnek, *Dr. Buglyó Péter* egyetemi docensnek, a munkám során nyújtott útmutatásukért, fontos tanácsaikért és nélkülözhetetlen segítségükért.

Köszönöm *Dr. Bényei Attilának* a röntgenkristallográfiás, *Dr. Kiss Attilának* az IR és elemanalízis, illetve *Dr. Gáspár Attilának* az ESI-MS mérésekben nyújtott segítségét.

Köszönettel tartozom a *Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport* minden jelenlegi és volt tagjának a munkám során nyújtott hasznos tanácsaikért és a mindennapi baráti légkör és jó hangulat megteremtéséért. Külön köszönet illeti *Dr. Csire Gizellát* a kutatómunkám és az értekezés elkészítése során nyújtott hasznos tanácsaiért és segítségéért. Kiemelten szeretném megköszönni *Nagy Imrének*, *Nagy Sándornak* és *Ozsváth Andrásnak* a munkám során nyújtott segítségét.

Köszönettel tartozom *Dr. Enyedy Éva Annának* és *Dr. Dömötör Orsolyának* a fluoreszcenciás és fotometriás mérések során nyújtott segítségükért és hasznos tanácsaikért.

Szeretném megköszönni *Dr. Darren Griffith-nek* és *Dr. Sylvestre Bonnet-nak*, hogy lehetőséget biztosítottak számomra az RCSI dublini egyetemen, illetve a Universiteit Leiden leideni egyetemen külföldi szakmai gyakorlat végzésére és, hogy kutatómunkámat témavezetőként irányították. Köszönöm továbbá *Prof. Jana Kasparkova-nak* és kutatócsoportjának a számos biológiai mérés elvégzését.

Köszönöm *Dr. Kónya Krisztinának* a munkámhoz szükséges flavonol bioligandumok biztosítását.

Köszönetet szeretnék mondani *Szabó Csenge* és *Katonka Gábor* hallgatóimnak, hogy segítségemre voltak a munkám során.

Szeretném megköszönni *családomnak* és *barátaimnak* az évek során nyújtott támogatásukat és biztatásukat.

Tartalomjegyzék

A dolgozatban előforduló rövidítések magyarázata	1
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	6
2.1. Az antibiotikum-rezisztencia jelensége	6
2.2. Rákos megbetegedések és kezelésük	8
2.3. Fémkomplexek alkalmazása a gyógyászatban	10
2.3.1. Antibakteriális hatású fémkomplexek	11
2.3.2. Rákellenes hatású fémkomplexek	13
2.4. Prodrug típusú készítmények	15
2.5. A kobalt koordinációs kémiai sajátosságai	16
2.6. Négyfogú tripodális aminok	17
2.7. Rákellenes hatású biomolekulák	19
2.7.1. Flavonoidok.....	19
2.7.2. Antraciklinek	21
2.8. Antibakteriális hatású biomolekulák	22
2.8.1. Kinolonok.....	22
2.8.2. GSK1322322	24
2.9. [Co(4N)]³⁺ típusú komplexek vizsgálata	25
3. Célkitűzések	30
4. Kísérleti körülmények és alkalmazott módszerek	33
4.1. Felhasznált vegyszerek	33
4.2. Ligandumok és fémkomplexek előállítása	33
4.2.1. Ligandumok előállítása	33
4.2.2. Fémkomplexek előállítása	35
4.2.2.1. <i>Flavonol tartalmú komplexek előállítása</i>	35
4.2.2.2. <i>Quinizarin tartalmú komplexek előállítása</i>	42
4.2.2.3. <i>Kinolon tartalmú komplexek előállítása</i>	44
4.2.2.4. <i>Retrohidroxámsav tartalmú komplexek előállítása</i>	48
4.3. Alkalmazott kísérleti módszerek	50
4.3.1. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)	50
4.3.2. Infravörös spektroszkópia (IR).....	50
4.3.3. Elemanalízis	51
4.3.4. Tömegspektrometria (MS)	51
4.3.5. Röntgendiffrakció.....	51
4.3.6. Ciklikus voltammetria (CV)	52
4.3.7. Biológiai vizsgálatok	53

4.3.7.1. Lipofilitás mérés	53
4.3.7.2. Humán szérum albuminhoz (HSA) való kötődés	53
4.3.7.3. Antibakteriális aktivitás	54
4.3.7.4. DNS-hez való kötődés	55
4.3.7.5. DNS hasítás	55
4.3.7.6. Enzim inhibíció	55
4.3.7.7. Antitumor aktivitás	56
5. Eredmények és értelmezésük.....	57
5.1. A ligandumok és komplexek szintézise.....	57
5.1.1. Ligandumok szintézise	57
5.1.2. Komplexek szintézise	58
5.2. Az előállított anyagok analitikai jellemzése	60
5.2.1. NMR spektroszkópiás eredmények	60
5.2.2. IR spektroszkópiás eredmények	68
5.2.3. ESI-MS tömegspektrometriás eredmények	70
5.2.4. Elemanalízis mérések eredményei.....	71
5.2.5. Röntgendiffrakciós eredmények.....	72
5.3. Az előállított anyagok CV vizsgálatának eredményei	76
5.3.1. Egymagvú komplexek redoxi sajátságai	76
5.3.2. Kétmagvú komplexek redoxi sajátságai	80
5.4. Biológiai vizsgálatok eredményei	83
5.4.1. Potenciálisan antibakteriális hatású komplexek	83
5.4.2. Potenciálisan antitumor hatású komplexek	90
5.4.2.1. Kétmagvú komplexek.....	90
5.4.2.2. Egymagvú komplexek	98
6. Összefoglalás	103
7. Summary	108
8. Melléklet	112
Irodalomjegyzék	118

A dolgozatban előforduló rövidítések magyarázata

(O,O): O-donor atomokkal rendelkező kétfogú bioligandum

μM : mikromol/dm³ koncentráció

4N: N-donor atomokkal rendelkező négyfogú ligandum

6-APA: 6-aminopenicillinsav

7-ACA: 7-kefalosporinsav

acacH: acetilaceton

ahaH: acetohidroxámsav

AQ2CH: antrakinon-2-karbonsav

bhaH: benzohidroxámsav

Br-flavH: 6-bróm-3-hidroxiflavon

bzacH: 1-fenil-1,3-butándion

C343H: kumarin-343

C343haH₂: kumarin-343-hidroxámsav

catH₂: 2,3-naftildiol

ciklám: 1,4,8,11-tetraazaciklotetradekán

ciklén: 1,4,7,10-tetraazaciklododekán

cipH: ciprofloxacín

ClacacH: 3-klór-2,4-pentándion

Cl-OMe-flavH: 6-klór-4'-metoxi-3-hidroxiflavon

COSY: korrelációs spektroszkópia

CQ: klorokin

ct-DNS: borjú csecsemőmirigy DNS

curH: kurkumin

CV: ciklikus voltammetria

D: megoszlási hányados

DG: danzil glicin

DMSO: dimetil-szulfoxid

E_{pa}: anódos csúcspotenciál

E_{pc}: katódos csúcspotenciál

ESI-MS: elektroporlasztásos ionizációjú tömegspektrometria

EtBr: etídium-bromid

flavH: 3-hidroxiflavon

FQ: ferrokin

GSH: glutation

GSKH: *N*-((*R*)-2-(ciklopentilmetil)-3-(2-(5-fluoro-6-((*S*)hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il)-2-metilpirimidin-4-il)hidrazinil)-3-oxopropil)-*N*-hidroxilformamid (GSK1322322)

GSSG: glutation diszulfid

HFAH: *N*-hidroxi-*N*-fenilformamid

HSA: humán szérum albumin

IC₅₀: a vegyület azon koncentrációja, amely hatására az aktivitás mértéke 50 %-al csökken

ICP-MS: induktív csatolású plazma tömegspektrometria

iPr-flavH: 4'-izopropil-3-hidroxiflavon

IR: infravörös spektroszkópia

izo: izoniazid

K: kötési állandó

kinH: kinolon

krizH: krizin

levH: levofloxacin

lgD: a megoszlási hányados logaritmus

m/z: tömeg/töltés

M: mol/dm³ koncentráció

Me-flavH: 4'-metil-3-hidroxiflavon

MIC: a vegyület azon legkisebb koncentrációja, ami még hatásosan gátolja az adott baktérium törzs növekedését

mM: millimol/dm³ koncentráció

mmstH: marimastat

MP: metalloproteináz

MS: tömegspektrometria

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromid

naacH: 1-metil-3-(2-naftil)-propán-1,3-dion

nalH: nalidixisav

narH: naringenin

nhaH: naftilhidroxámsav

NHE: normál hidrogénelektrod

NMR: mágneses magrezonancia spektroszkópia

NO₂-F-flavH: 6-fluor-3'-nitro-3-hidroxiflavon

NO₂-flavH: 3'-nitro-3-hidroxiflavon

norH: norfloxacin

PBS: foszfát-pufferelt sóoldat

PDF: peptid deformiláz

phaH: propionhidroxámsav

pK: savi disszociációs állandó negatív logaritmusa

PKC: protein kináz C

quinH₂: 1,4-dihidroxi-9,10-antrakinon (quinizarin)

quinSH₂: 1,4-dihidroxi-9,10-antrakinon-2-szulfonát (quinizarin-2-szulfonát anion),

ROS: reaktív oxigén tartalmú részecskék

SOD: szuperoxid dizmutáz

spaH: sparfloxacin

SRB: szulforodamin B

TCA: triklórecetsav

T_m: olvadási hőmérséklet

tpa: trisz(2-piridilmetil)amin

tren: trisz(2-aminoetil)amin

Trp 214: a HSA fehérjében található triptofán aminosav

UV-Vis: UV-látható spektrofotometria

W: warfarin

η⁶: hexahapto kötés mód

1. Bevezetés

Az antibiotikum-rezisztencia visszaszorítása és a rákos megbetegedések kezelése korunk orvostudományának legfontosabb kérdései közé tartoznak. A rezisztens baktérium törzsek megjelenése már az 1900-as évek közepe óta fennálló probléma, amire azonban a mai napig sem sikerült hatékony megoldást találni. Egy új típusú antibiotikum kifejlesztését követően rövid időn belül az adott készítménnyel szemben ellenálló baktériumok is megjelentek. A probléma napjainkra olyan méreteket öltött, hogy a közeljövőben a rezisztens baktériumok okozta fertőzések jelentik az egyik legnagyobb egészségügyi fenyegetést. A rákos megbetegedések kezelése szintén korunk legsúlyosabb problémái közé sorolható, aminek elsődleges oka a kemoterápiában alkalmazott készítmények szelektivitásának hiánya. Ennek következtében ugyanis a daganatellenes hatású gyógyszerek a rákos sejtek mellett az egészséges szöveteket is károsítják, így számos súlyos mellékhatással rendelkeznek.

Az adott gyógyszermolekula hatékonyságának és szelektivitásának növelése, illetve a rezisztencia visszaszorítása céljából, mind az antibakteriális, mind az antitumor hatású készítmények esetén megoldást jelenthet a biológiailag aktív vegyületek megfelelő fémkomplexeinek használata. A Co(III)-komplexek jól alkalmazhatóak lehetnek prodrug típusú vegyületként, a rákellenes hatású biomolekulákat célzottan a daganatos szövetekhez juttatni. Ennek oka, hogy a Co(III)-komplexek rendkívül inerteek, így csak a tumorban jelenlévő oxigénhiányos (hipoxiás) állapot okozta reduktívabb környezet hatására redukálódnának Co(II)-vé. A Co(II)-komplexek azonban labilisak, így a komplexek szelektív redukcióját és disszociációját követően azonnal bekövetkezne a biológiailag aktív molekula felszabadulása. Annak érdekében, hogy elkerüljük, hogy a komplex redukciója már az egészséges szövetekben is végbemenjen, a fémion négy koordinációs helyét erősen koordinálódó N-donor atomokat tartalmazó ligandumokkal (4N) foglaljuk el. A maradék két helyet pedig elsősorban O-donor atomokkal rendelkező biomolekulák (O,O) kelát segítségével foglalhatják el, amelyek szelektíven a rákos szövetekben felszabadulva fejthetik ki hatásukat. Az antitumor hatású biomolekulák szelektivitásának és hatékonyságának növelése mellett az antibakteriális hatású bioligandumok esetében is kedvező lehet azok Co(III)-komplekként való alkalmazása. Ez egyrészt megoldást jelenthet az antibiotikummal szemben kialakult rezisztencia leküzdésére, másrészt pedig a bioligandum célzott eljuttatása a kemoterápia hatására legyengült kezelt területre növelheti az adott antibiotikum hatékonyságát.

Ezen okból kifolyólag munkánk során $[\text{Co}(4\text{N})(\text{O},\text{O})]^{n+}$ összetételű komplexek előállításával foglalkoztunk, 4N ligandumként különböző tripodális aminokat, (O,O) bioligandumként pedig bizonyítottan antitumor, illetve antibakteriális aktivitással rendelkező flavonoid, antraciklin, kinolon, illetve retrohidroxámsav típusú biomolekulákat alkalmazva. Különböző analitikai technikák segítségével igazoltuk a komplexek összetételét és több esetben röntgendiffrakciós mérésekkel vizsgáltuk a komplexek szerkezetét. Ciklikus voltammetriás mérések segítségével derítettük fel az előállított vegyületek redoxi sajátságait, illetve a különböző típusú ligandumoknak és funkciós csoportoknak a komplexek redukciós potenciál értékére gyakorolt hatását. Emellett több hazai és nemzetközi együttműködés keretében lehetőségünk nyílt a komplexek biológiai tesztelésére is. Különböző típusú vizsgálatokkal igyekeztük azt feltérképezni, hogy az előállított komplexek közül melyek rendelkeznek biológiai aktivitással, és ez az aktivitás milyen tulajdonságukhoz rendelhető. A kapott eredmények alapján következtetni lehet a komplexek szerkezete és biológiai sajátságai közötti összefüggésekre.

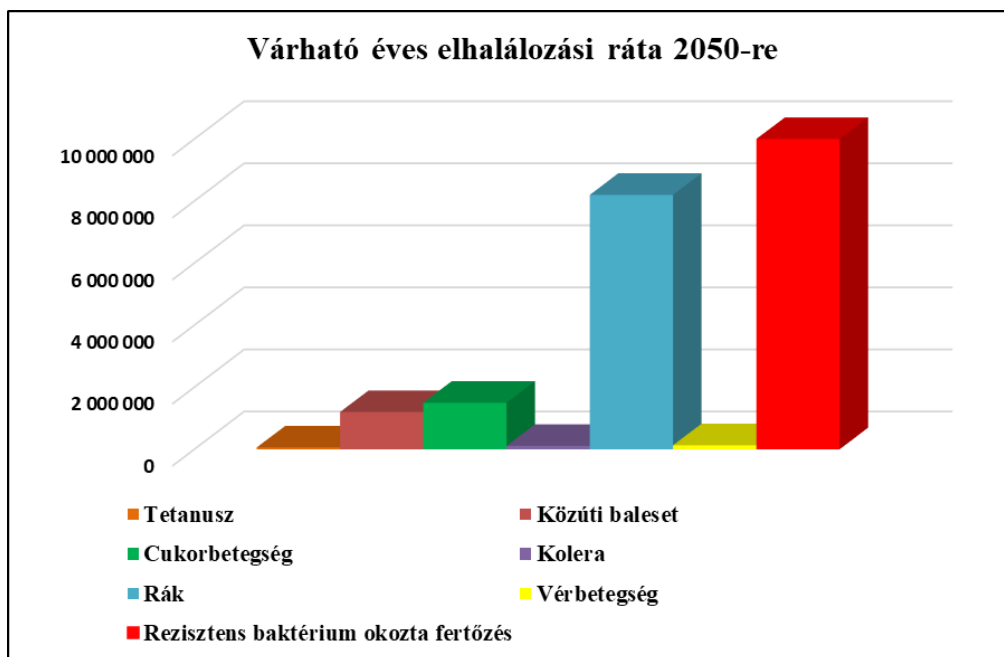
2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az antibiotikum-rezisztencia jelensége

Napjaink egyik legjelentősebb megoldatlan világméretű egészségügyi problémája az antibiotikum-rezisztencia kialakulásának elterjedése.¹ Ezen fogalom alatt a baktériumok antibiotikumokkal szembeni ellenálló tulajdonságát értjük. Két típusát különböztetjük meg, a természetes és a szerzett rezisztenciát. Előbbi az adott baktériumra jellemző állandó, örökletes tulajdonság, míg utóbbi a baktériumok alkalmazkodó képessége nyomán kialakult rezisztencia, amelynek következtében az antibiotikum részben vagy akár teljesen elveszíti kezdeti hatékonyságát az adott baktériummal szemben.²

A szerzett rezisztencia alapvetően kétféle molekuláris mechanizmus szerint alakulhat ki. Az egyik lehetőség az antibiotikum sejten belüli felhalmozódásának akadályozása, míg a másik az antibiotikum célpontjának módosítása vagy az adott sejtbeli folyamat másik útvonalra történő terelése.³ A mechanizmusok kifejlesztéséhez szükséges génekre a baktérium vagy horizontális géntranszferrel vagy genomi mutációk révén jut hozzá.¹

A problémát a szerzett rezisztencia jelenti, mivel a baktérium törzsek nagyon gyorsan képesek fejlődni és ellenállóvá válni az antibiotikumokkal szemben. A penicillin 1928-as felfedezését követően már az 1940-es években megjelentek a penicillin-rezisztens *S. aureus* baktériumok.^{4,5} Ezt követően kezdődtek a kutatások az újabb és újabb antibiotikumok kifejlesztésére, de valamennyi esetben rövid időn belül megjelentek a megfelelő rezisztenciát kialakító baktérium törzsek is. A napjainkra kialakult helyzet súlyosságát mutatja, hogy világviszonylatban a becslések szerint évente ~700000 ember veszti életét rezisztens baktérium okozta fertőzés következtében.^{6,1} Amennyiben a rezisztencia terjedésének mértéke nem változik és nem születik megoldás a problémára, az előrejelzések szerint az évenkénti áldozatok száma 2050-re elérheti a 10 milliót, ami a legmagasabb szám minden egyéb okból bekövetkezett halálesetet figyelembe véve (1. ábra).⁶



1. ábra. A 2050-re prognosztizált éves elhalálozások száma és eloszlása.

A fenti adatok alapján egyértelműen látszik, hogy megoldást kell találni az antibiotikum-rezisztencia terjedésének megállítására. Emiatt lehetséges intézkedés az antibiotikumok alkalmazásának limitálása mind az emberi gyógyászatban, mind a mezőgazdaságban, ugyanis jelenleg túlzott mértékű használat figyelhető meg, amely elősegíti a rezisztencia kialakulását.⁷ Például a nem gyógyászati célból alkalmazott antibakteriális szereknek az állati takarmányokból való kivonásával, a szennyvíz UV kezeléssel vagy membránszűrők alkalmazásával történő tisztításával, vagy pre- és probiotikumok használatával visszaszorítható lenne a rezisztencia terjedése az élőkönyezetben.^{7,8,9,10,11}

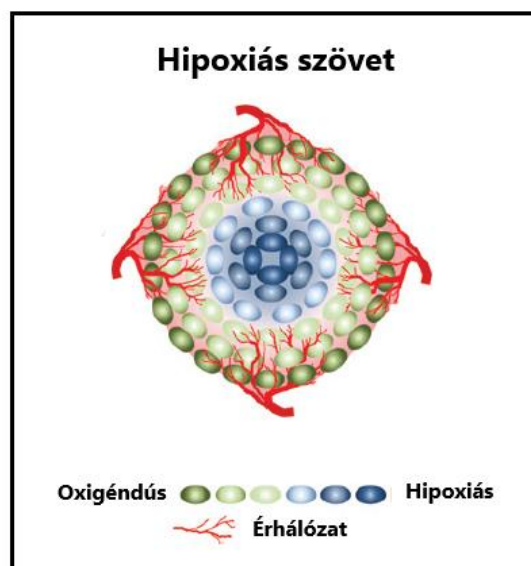
Ezen intézkedések mellett természetesen elengedhetetlen olyan új, hatásos antibiotikumok kifejlesztése is, amelyek ellenében az adott baktérium nem képes rezisztenciát kialakítani. A fentebb említett példák kapcsán is egyértelműen látszik, hogy a tisztán szerves molekulákkal szembeni ellenállás kiépítése nem jelent kihívást a baktériumok számára. Ez a folyamat egyes esetekben olyan gyorsan végbement, hogy a rezisztens baktériumot előbb felfedezték, mintsem, hogy az ellene kifejlesztett antibiotikumot kereskedelmi forgalomba hozták volna.^{12,13} Ennek értelmében a kutatások kiterjedtek más típusú antibiotikumok kifejlesztésére is, melyek közül alternatívát jelenthet az antibakteriális hatású molekulák fémkomplexeinek előállítása.

2.2. Rákos megbetegedések és kezelésük

Korunk legsúlyosabb problémái közé tartozik a rákos megbetegedések kezelése is. Mint, ahogyan az 1. ábrán feltüntetett adatokon is látszik, az antibakteriális rezisztencia mellett a daganatos megbetegedések jelentik a legnagyobb egészségügyi fenyegetést a közeljövőben.⁶

Az emberi test szöveteit felépítő egészséges sejtek, illetve a daganatos sejtek működésében alapvető különbségek vannak. A normál sejtek osztódása és növekedése, a sejtek közötti kémiai jelek útján történő kommunikáció által, precízen szabályozott folyamatok szerint történik. Emellett az egészséges sejtek fontos tulajdonsága az adhéziós képesség. Ez azt jelenti, hogy a felszínükön található molekulák segítségével a sejtek képesek egymáshoz kapcsolódni, ezáltal a szervezetben nem megfelelő helyre történő elmozdulásuk csak nehezen következhet be. Ennek eredményeképpen a normál sejtek alkalmasak a szövetek megfelelő szerkezetének formálására. Továbbá ezen sejtek önpusztításra is képesek, amennyiben sérültek, vagy biológiai funkciójuk betöltésére a szervezetnek már nincs szüksége.^{14,15,16,17}

Amennyiben viszont öröklött tényezők, vagy a szervezetbe kerülő rákkeltő anyagok hatására a sejtek genetikai torzulást szenvednek, mutáció indulhat el. A módosult gének kijavítását a szervezet immunrendszere kezdetben el tudja végezni, azonban túl nagy mennyiség esetén rosszindulatú daganat alakulhat ki. A rákgének módosulás előtti, eredeti állapotukban a sejtek helyes osztódását szabályozzák, működésük hiánya viszont kontrolálatlan szaporodáshoz, sejtburjánzáshoz vezet. A rákos sejtek vég nélküli osztódása alakítja ki a daganatos szövetet. Emellett, a ráksejtek felszínéről hiányoznak az egymáshoz való kapcsolódásért felelős molekulák, így azok elkülönülhetnek a szomszédos sejtektől és a szervezet különböző részeibe szétterjedve áttéteket képezhetnek. A sejtek közötti kommunikáció szintén nem valósul meg a ráksejtek esetén, így azok önpusztításra sem képesek.^{14,15,16,17}



2. ábra. A hipoxiás szövet oxigénellátottsága.

Ezen említett eltérések következtében a rákos szövetek sajátosságai is jelentősen különböznek az egészséges szövetekétől. Egyik ilyen fontos különbség a tumor-specifikus enzimek megjelenése, amelyek eltérő módon szabályozottak a daganatos és a normál szövetekben, így működésük sokkal fontosabb a rákos sejtek számára. További jelentős eltérések, a tumorban lévő kisebb pH érték, illetve a daganatos szövetek oxigénhiányos, azaz hipoxiás állapota.¹⁸ A szabályozatlan sejtburjánzás következtében a daganatos szövetekben az érhalózat kiépülése nem megfelelő, ami csökkent vérellátáshoz és ezáltal kisebb oxigénkoncentrációhoz vezet, mint az egészséges szövetek esetében (2. ábra).¹⁹ A rákos szövetek külső rétege még viszonylag oxigéndús (2-9 %), majd a szövet belseje felé haladva az oxigén koncentrációja egyre csökken. A középső hipoxiás részen már 2 % alatt van, míg a magban ez az érték már kevesebb, mint 0,1 %.^{14,15,16,17} Az oxigénhiányos állapot következtében a tumorban redukтивabb környezet van jelen, mint az egészséges szövetekben. Az élő szervezetekben lévő redoxi potenciál értéket a glutation (GSH), a tioredoxin, a NADH és a NADPH molekulák, valamint a reaktív oxigén tartalmú részecskék redoxi egyensúlyi folyamatai befolyásolják.^{20,21,22} Például a glutation esetében az oxidált forma a glutation diszulfid (GSSG), amely két molekula szerkezetbeli koncentrációjának egymáshoz viszonyított aránya 1:1- től akár 1:300-ig is változhat, amely a Nernst egyenlet szerint határozza meg a redoxi potenciál értéket (E):

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[GSSG]}{[GSH]^2}$$

ahol, E^0 a biokémiai folyamat standard redoxi potenciálja, ebben az esetben $E^0 = -0,24 \text{ V}$, R az egyetemes gázállandó, T a hőmérséklet, n a reakcióban történő elektronszám változás, F a Faraday állandó, míg a $[GSSG]$ és a $[GSH]$ az oxidált és a redukált forma egyensúlyi koncentrációja.²⁰

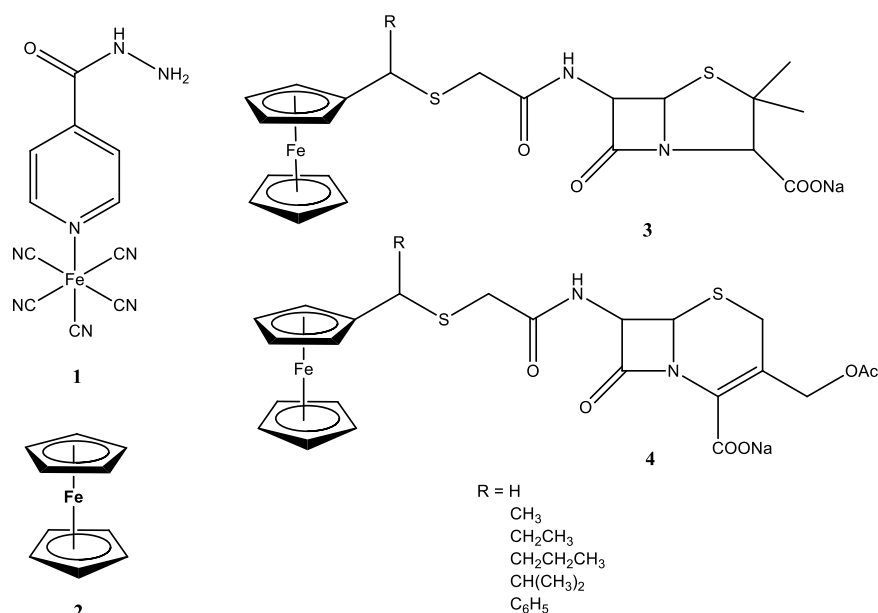
Ezek értelmében az élő szervezetekre vonatkoztatott redoxi potenciál tartomány $-200 - (-400) \text{ mV}$ közé esik.^{20,23,24,25,26} A normál szövetekhez képest lecsökkent oxigénkoncentráció eredményeképpen az egyensúlyok valamennyi esetben a redukált forma felé vannak eltolva, így a tumorban lévő redoxi potenciál a negatívabb érték felé tolódik.^{24,27}

A rák kezelésére több módszer ismeretes, de jelenleg alapvetően három módszert alkalmaznak: műtéti beavatkozás, kemoterápia, illetve sugárterápia. A kezelések elsődleges célja a tumor sebészeti úton történő eltávolítása, azonban ez sajnos nem minden esetben kivitelezhető. A sugárterápia során a beteg radioaktív izotópok bomlásából származó nagy energiájú ionizáló sugárzást kap a tumor kialakulásának helyén. A sugárzás következtében károsodik a sejtek DNS-e, ami gátolja a sejtek osztódását, így szaporodásuk mértéke és sebessége csökken. Hasonló elven működik a kemoterápia is, amely során a radioaktív sugárzás helyett gyógyszerek károsítják a daganatos sejteket. Mindkét eljárás esetén alapvető probléma a szelektivitás hiánya, vagyis nem csak a daganatos, hanem az egészséges szöveteket is károsítják. Alkalmazhatóságuk azon alapszik, hogy a rákos sejtek szaporodása sokkal gyorsabb, mint a normál sejteké, így a kezelések nagyobb mértékben hatnak a daganatos sejtekre, mint az egészségesekre. Mindkét terápiát elsősorban egymással, illetve sebészeti beavatkozással együtt, kombinálva alkalmazzák. Például a sugárkezelés következtében csökkenhet a daganatos szövet mérete, ami növeli a sikeres műtéti beavatkozás esélyét. A tumor eltávolítását követően alkalmazott kemoterápiás kezelés pedig a szervezetben maradt ráksejteket pusztíthatja el, így az optimális megoldás a három módszer együttes alkalmazása.^{14,15,16,17}

2.3. Fémkomplexek alkalmazása a gyógyászatban

A hatékonyság, valamint a szelektivitás növelése, illetve a rezisztencia visszaszorítása céljából az antibakteriális és az antitumor hatású készítmények esetén is új, ígéretes irányt jelenthet a biológiai aktivitású molekulák fémkomplexeinek alkalmazása. A továbbiakban az irodalomban ismert, ezen területeken kifejlesztett fémkomplexek vizsgálata kapcsán elért eredményeket mutatom be.

2.3.1. Antibakteriális hatású fémkomplexek



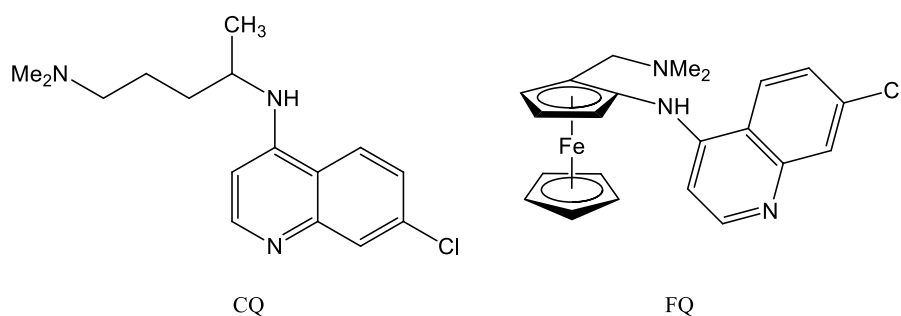
3. ábra. A $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{izo})]^{3-}$ (**1**), ferrocén (**2**), 6-APA-ferrocén származékok (**3**), 7-ACA-ferrocén származékok (**4**) szerkezeti képletei.

Biológiai aktív fémkomplexek előállítása szempontjából az egyik legjelentősebb fém a vas, amelyet többféle prekursor vegyület komponenseként is alkalmaznak az antibakteriális szerek megfelelő származékainak szintetizálására. Az ismert antibiotikum izoniazid (izo) cianoferrát(II) komplexe, $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{izo})]^{3-}$ (3. ábra 1), *in vitro* kísérletek alapján a szabad antibiotikummal megegyező aktivitást mutat a tuberkolózis kialakulásáért felelős *Mycobacterium tuberculosis* baktériummal szemben, ráadásul, ugyanezen baktérium izoniazid rezisztens mutációjával (I21V) szemben is hatékonyan bizonyult.^{12,28} A legtöbb esetben használt vastartalmú prekursor a ferrocén, (3. ábra 2), amely két aromás gyűrűjének megfelelő szubsztituálásával lehetőség nyílik a komplex előállítására az antibiotikum aktivitásáért felelős molekuláris módosítása nélkül. Továbbá ezen vegyület megfelelő kémiai stabilitása mellett nagyon kis mértékben toxikus az egészséges sejtekre nézve, így alkalmas lehet gyógyszermolekulák szintetizálására.^{29,30}

A kereskedelmi forgalomban kapható β -laktám típusú antibiotikumok esetén is állítottak elő ferrocén származékokat. A 6-aminopenicillinsav (6-APA), illetve a 7-aminokapthalaminsav (7-ACA) esetében egyaránt az aminocsoport acilezésével szintetizálták a megfelelő komplexeket, (3. ábra 3, 4), amelyek Gram(+) baktériumokkal szemben

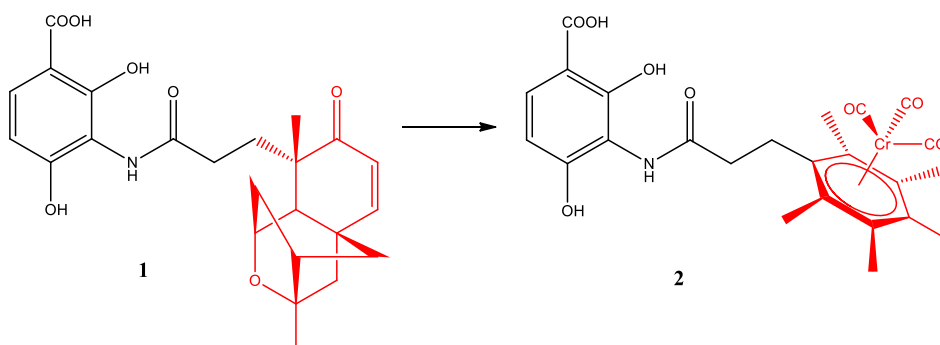
bizonyultak hatékonyak. A kapott eredmények alapján kismértékű hatékonyság csökkenés figyelhető meg a molekulában lévő R szubsztituens szénlánc tagszámának növekedésével.³¹

A malária kialakulásáért felelős *Plasmodium falciparum* parazita ellen legszélesebb körben használt antibiotikum a klorokin (CQ) (4. ábra), amelynek hatékonysága egyre inkább csökken az ellene kialakult rezisztencia elterjedésével.³² Emiatt állították elő a CQ ferrocén származékát, a ferrokint (FQ), (4. ábra), amely esetében azt tapasztalták, hogy a CQ-érzékeny *P. falciparum* sejtvonalon közel azonos aktivitással rendelkezik, mint a CQ, míg a CQ-rezisztens *P. falciparum* sejtvonalon utóbbinál egy nagyságrenddel hatékonyabb.^{12,32}



4. ábra. A klorokin (CQ) és a ferrokint (FQ) szerkezeti képlete.

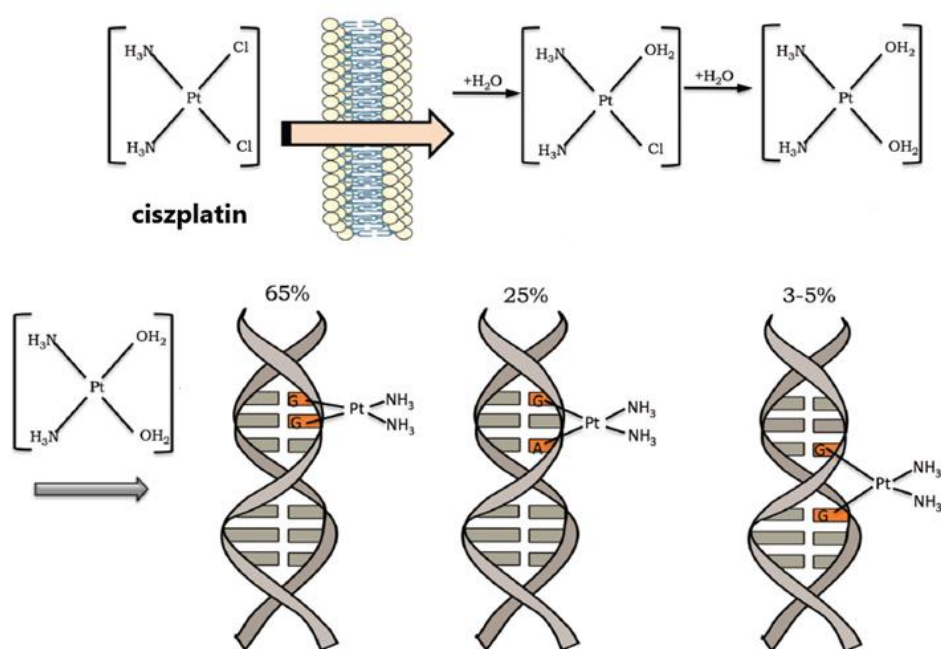
A közelmúltban felfedezett platensimycin (5. ábra 1) a baktériumok zsírsav szintézisét gátolja, így nagy aktivitással rendelkezik más antibiotikumokra rezisztens sejtvonalakon is. A rezisztencia kialakulását megelőzendő már dolgoznak a platensimycin megfelelő fémkomplexeinek előállításán, melyekkel az ugyanolyan jó biológiai aktivitás megmaradna. A vegyületeket elsősorban a biomolekula tetraciklikus molekularészének félszendvics szerkezetű fémorganikus vegyületre történő cseréjével szintetizálták. Az eddig előállított komplexek közül a $(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_5)\text{Cr}(\text{CO})_3$ egységet tartalmazó származék (5. ábra 2) esetén tapasztalták az aktivitás megmaradását, azonban a hatékonyság mértéke jelentősen csökkent, így ezideig a megfelelő fémkomplex-analóg kifejlesztése nem járt sikerrel.¹²



5. ábra. A platensimycin antibiotikum (1) és $(\eta^6\text{-C}_6\text{Me}_5)\text{Cr}(\text{CO})_3$ származékának (2) szerkezeti képletei.

2.3.2. Rákellenes hatású fémkomplexek

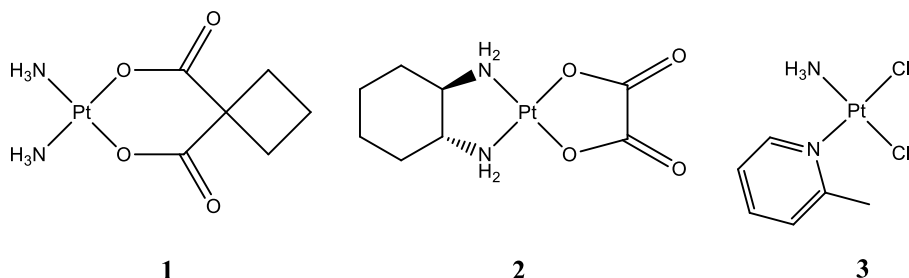
A kemoterápiában jelenleg is alkalmazott gyógyszerek egyik fontos csoportját alkotják a fémkomplexek. Ezen a területen az áttörést a ciszplatin (6. ábra) felfedezése jelentette, amit már 1978-ban kereskedelmi forgalomba helyeztek. Különösen petefészekrák, illetve hererák ellen mutatott nagy aktivitást, de egyéb rosszindulatú daganatok kezelésében is rendkívül hatékonynak bizonyult.³³ A központi Pt(II) fémionhoz két kloridion és két NH₃ molekula koordinálódik, cisz geometriájú komplexet kialakítva. A sejtbe kerülve a komplexben lévő Cl⁻ ligandumok H₂O molekulákra cserélődnek létrehozva az aktív akvakomplexet, ami képes kötődni a DNS lánc guanin, vagy adenin bázisainak N donoratomjaihoz. A folyamatot és a lehetséges kötési módokat a 6. ábra szemlélteti. A kölcsönhatás következtében a DNS lánc szerkezete megváltozik, elveszíti biológiai funkcióját, ami meggátolja a sejtosztódást és apoptózist idéz elő.^{34,35}



6. ábra. A ciszplatin aktiválódása és DNS-hez való kötődése.³⁶

A ciszplatin használata kapcsán két probléma merül fel. Az egyik, a legtöbb kemoterápiás készítménnyel megegyezően, a szelektivitás hiányából fakadó súlyos mellékhatások megjelenése, ugyanis a komplex nem csak a ráksejt, hanem az egészséges sejt DNS láncaihoz is képes kötődni. A mellékhatások között szerepelhet vesekárosodás, megsüketülés vagy akár perifériás ideggyengeség megjelenése is.³⁷ A másik jelentős probléma a ciszplatinnal kapcsolatban az ellene kifejlődött rezisztencia. Az antibakteriális

rezisztenciához hasonlóan a folyamat többféle molekuláris mechanizmus, mint a DNS bázispárjainak módosítása, a sejt molekulafelvételének megváltoztatása vagy a komplex citoszolban történő hatástalanítása alapján is végbemehet.³⁷



7. ábra. A karboplatin (1), oxaliplatin (2) és pikoplatin (3) szerkezeti képletei.

A káros mellékhatások és a rezisztencia visszaszorítása érdekében előtérbe kerültek az új Pt(II) komplexek kifejlesztésére irányuló kutatások. A ciszplatin mintájára elsősorban cisz-[PtL₂X₂] összetételű, ligandumként két erősen koordinálódó N donor atommal rendelkező molekulát (L), valamint két jó távozó csoportként funkcionáló iont (X) tartalmazó komplexeket szintetizáltak. A számos előállított komplexből körülbelül 30 származék jutott el a klinikai tesztelés fázisáig, melyek közül kiemelendő a kereskedelmi forgalomba hozott karboplatin és oxaliplatin (7. ábra 1 és 2).^{38,39} Bár az oxaliplatin esetében tapasztaltak kiemelkedő hatékonyságot olyan vastagbélrák típusokon is amelyek ciszplatin rezisztensek, összességében elmondható, hogy a komplexek kevesebb mellékhatással rendelkeznek, azonban kevésbé is aktívak, mint a ciszplatin.³⁴ Ebből adódóan a ciszplatin kiváltására vagy teljes körű helyettesítésére egyik említett származék sem alkalmas. Egy másik Pt(II) komplexet, a pikoplatint (7. ábra 3) elsősorban a rezisztencia elkerülése céljából állították elő. A ciszplatin-rezisztencia egyik lehetséges mechanizmusa szerint, a sejtbeli, tiolcsoportot tartalmazó glutation vagy metallotionein molekulák képesek hatástalanítani a komplexet.^{40,41} A pikoplatinban lévő 2-pikolilamin ligandum elég nagy térkitöltésű ahhoz, hogy sztérikusan gátolja ezen fehérjék hozzáférését a platínához, így a komplex változatlan formában, a ciszplatinnal analóg módon képes koordinálódni a DNS bázispárjaihoz kifejtve ezáltal antitumor hatását.³³

A kereskedelmi forgalomban kapható rákellenes platina komplexek mindegyikében Pt(II) a központi fémion és hatásmechanizmusok is a ciszplatinhoz hasonlóan a DNS-hez való kötődésen alapul. Valamennyi alkalmazott komplex esetében tapasztalták a káros mellékhatások megjelenését is, így a kutatások kiterjedtek más fémionok komplexeire is.³³ A legbiztatóbb eredményeket a Ru(II) és az Au(I) komplexeivel érték el, azonban ezen

vegyületek esetén is megoldandó probléma a megfelelő szelektivitás elérése és ezáltal a mellékhatások csökkentése.^{42,43,44,45,46,47}

2.4. Prodrug típusú készítmények

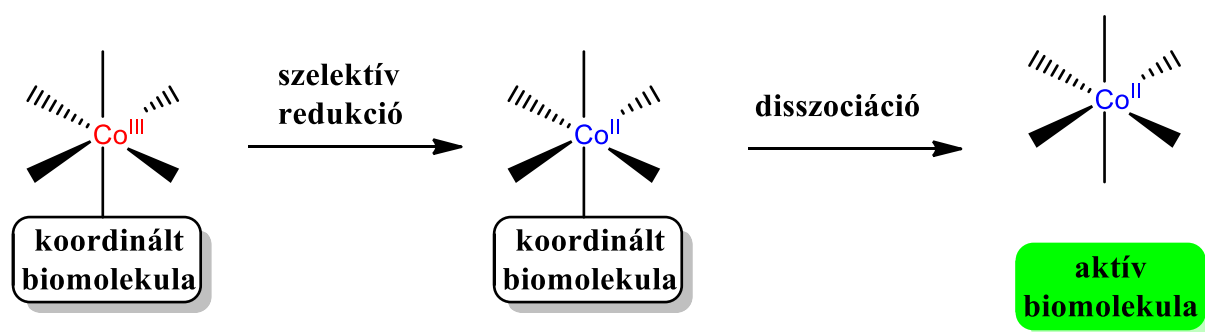
A gyógyszerhatékonyság és szelektivitás növelése, a mellékhatások csökkentése érdekében egyre inkább előtérbe kerülnek azok a prodrug típusú készítmények, amelyek inaktív formában kerülnek a szervezetbe és csak a tumor helyére érve aktiválódnak és fejtik ki rákellenes hatásukat. Alkalmazásuk elsősorban az egészséges és rákos sejtek tulajdonságai közötti jelentős különbségeken alapulhat.

A fémkomplexek prodrug típusú készítményként való alkalmazhatóságának a kritériuma, hogy a komplex az inaktív formájában ne lépjen kölcsönhatásba a szervezetben lévő biomolekulákkal, így változatlanul jusson el a daganatos szövetekhez. A tumorban lévő eltérő kémiai környezet hatására különböző fizikai kémiai, ligandumcsere vagy redoxi folyamatok játszódhatnak le, amelyek révén a komplex aktív állapotba kerülhet, így szelektíven fejtheti ki rákellenes hatását.⁴⁸

A tumorban lévő redukciósabb környezet lehetőséget teremt a prodrug típusú fémkomplex számára, hogy csak a daganatos szövetekben redukálódjon, létrehozva ezáltal a rákellenes hatású aktív formát. Az inert Pt(IV) komplexek esetén így, a szelektív aktiválódás hatására a korábban bemutatott, aktív Pt(II)-analógok keletkezhetnek. A $[Pt(\text{izopropilamin})_2(\text{OH})_2\text{Cl}_2]$ összetételű iproplatin (8. ábra 1) rákos sejtekben lejátszódó redukciója során a komplexben lévő két axiális ligandum eliminációjával alakul ki a megfelelő Pt(II) származék.^{49,50,51} A jelenleg forgalomban lévő valamennyi rákellenes hatású platina komplexet intravénásan adják be a betegeknek, gyenge gyomorbéli felszívódásuk miatt.⁵² A Pt(IV) vegyületek esetében azonban kimutatták, hogy axiális ligandumként karboxilát csoportokat alkalmazva, jelentős mértékben javul a komplexek gyomorbéli felszívódása, így a Pt(IV) származékok alkalmasak lehetnek orálisan bevehető készítmények előállítására is.³³

A vizes oldatokban kinetikailag inert, fenilazopiridin ligandumot tartalmazó félszendvics ruténium komplexek esetén is nagy aktivitást mutattak ki tüdő- és petefészekrák sejtvonalakon. Hatásmechanizmusuk alapja az, hogy a tumorban végbemenő redukciót követően a komplexek képesek reaktív oxigén tartalmú részecskéket (ROS) generálni, amelyek károsítják a sejteket. A vegyületek általános szerkezete, 2, a 8. ábrán látható.⁵³

alkalmazhatóak lehetnek prodrug típusú készítményekként. Amennyiben teljesül, hogy az inert Co(III) komplexek a szervezetbe kerülve csak a tumorban lévő redukzív környezet hatására redukálódhatnak, a képződött Co(II) komplexek kinetikai labilitása miatt a redukciót követően pedig bekövetkezik a ligandum disszociációja, a Co(III) komplexek hordozóként alkalmasak lehetnek biológiailag aktív molekulák célzott tumorba juttatására. Ahhoz, hogy a komplex ne redukálódjon már az egészséges szövetekben, erősen koordinálódó, általában N donoratomokat tartalmazó ligandumok alkalmazhatóak, amelyek stabilizálják a Co(III) formát. A fémion szabadon maradt koordinációs helyeit pedig önmagukban is biológiai aktivitással rendelkező, leginkább oxigén donor atomokkal rendelkező (O,O) ligandumok foglalhatják el, melyek a rákos sejten felszabadulva fejthetik ki hatásukat (9. ábra).^{24,55} A rákellenes hatású bioligandumok szelektivitásának növelése mellett, az antibiotikumok esetében is előnyös lehet azok prodrug típusú Co(III)-komplexxként való alkalmazása. A rákterápiás kezelések következtében legyengült szervezet ugyanis kevésbé ellenálló a fertőzésekkel szemben, így az antibakteriális hatóanyag célzott eljuttatása az érintett területre növelheti az antibiotikum hatékonyságát.^{56,57} Továbbá, az antibiotikum ezen komplexben kötött formájának alkalmazása a kialakult rezisztencia ellen is megoldást jelenthet.

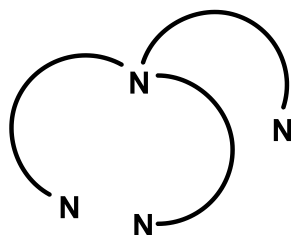


9. ábra. A hipoxia aktivált Co(III) komplexek feltételezett hatásmechanizmusának sematikus ábrája.⁵⁵

2.6. Négyfogú tripodális aminok

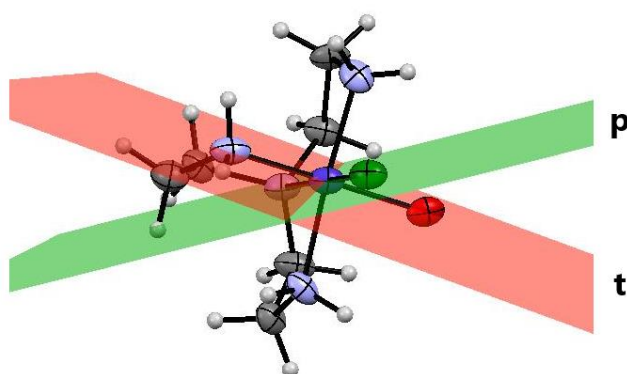
N donoratomokat tartalmazó ligandumként jól alkalmazhatóak a tripodális aminok (4N). Ezekben a vegyületekben a központi N-hez három kar kapcsolódik, melyek további N donoratomokban végződnek ezáltal négyfogú ligandumként képesek koordinálódni a fémionhoz (10. ábra). Mind a N-donor atom típusa, mind a fémionnal kialakított kelátgyűrű tagszámát meghatározó szénlánc hossza jelentősen befolyásolja a képződött komplex tulajdonságait. Amennyiben a központi N-hez kapcsolódó három kar azonos akkor

szimmetrikus, ha legalább az egyik kar különbözik, aszimmetrikus tripodális aminról beszélünk.⁵⁸



10. ábra A négyfogú tripodális aminok általános szerkezeti képlete.

Amennyiben a ligandum olyan fémionhoz koordinálódik, amelynek nincs további szabad koordinációs helye, úgy a keletkező komplex tetraéderes vagy trigonális piramisos geometriájú lehet. Mivel a Co(III) rendelkezik további két szabad koordinációs hellyel, így a $[\text{Co}^{\text{III}}(4\text{N})]^{3+}$ típusú komplexek enyhén torzult oktaéderes geometriájúak. Szimmetrikus ligandumok esetén a p-vel és t-vel jelölt két koordinációs sík kémiai nem ekvivalens, így két geometriai izomert különböztetünk meg, amelyet a 11. ábra a trisz(2-aminoetil)amin (tren) ligandum példáján keresztül szemléltet.⁵⁸



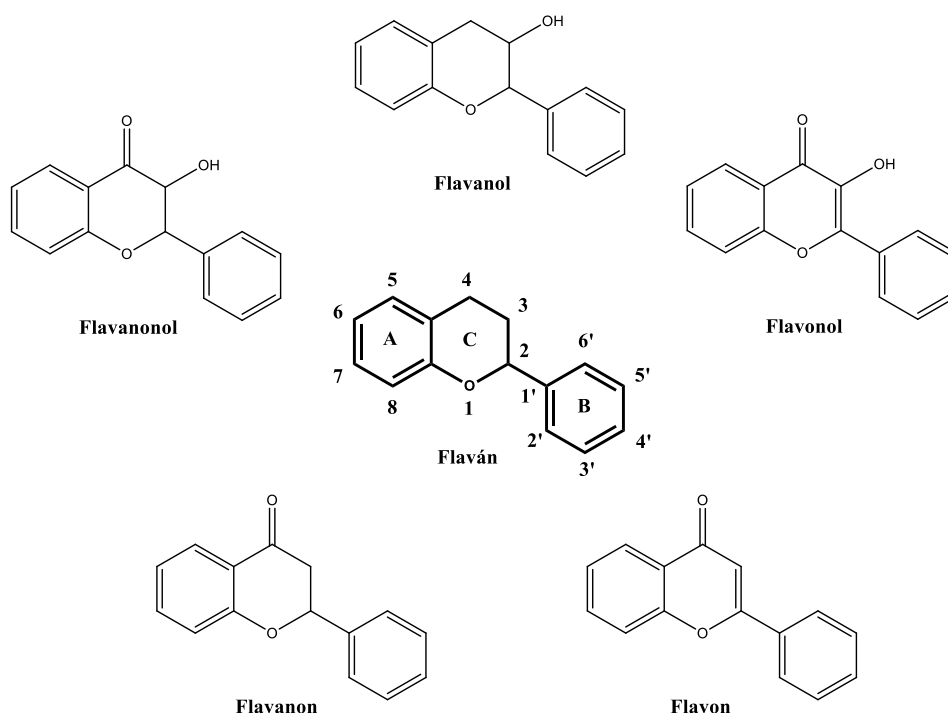
11. ábra. A p és t koordinációs síkok eltérése tripodális amin ligandumot tartalmazó oktaéderes Co komplexekben.

A kelátképző pozícióban O donoratomokat tartalmazó ligandumként (O,O) alkalmazható. Az irodalomban ismert rákellenes és antibatkeriális hatású biomolekulák közül, a következőkben, a kísérleti munkám során alkalmazott vegyületcsaládokat ismertetem röviden.

2.7. Rákellenes hatású biomolekulák

2.7.1. Flavonoidok

A flavonoidok a természetben, gyümölcsökben, zöldségekben és magvakban előforduló flavánvázas polifenol típusú vegyületek. A flavánvázat felépítő A és B gyűrűk aromásak, míg az A gyűrűvel kondenzált C gyűrű egy oxigén heteroatomot tartalmazó telített gyűrű (12. ábra). A C gyűrű szubsztituáltsága és telítettsége alapján a flavonoidokat további vegyület csoportokra lehet osztani. Attól függően, hogy a 4-es pozícióban van-e oxocsoport, a 2-es pozícióban kettőskötés, illetve tartalmaz-e a molekula hidroxilcsoportot, megkülönböztetünk flavanol, flavanon, flavon, flavanolon, valamint flavonol típusú vegyületeket (12. ábra).^{59,60}



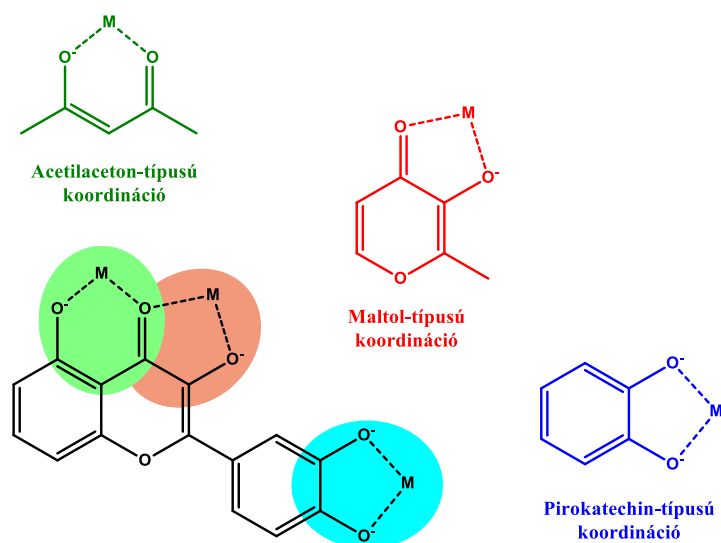
12. ábra. A különböző típusú flavánvázas vegyületek szerkezete

A flavonoidok biológiai aktivitása rendkívül sokszínű, többek között vírusellenes, antibakteriális, antioxidáns, gyulladásgátló és antitumor hatással is rendelkeznek.^{61,62,63,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73} Rákellenes aktivitásuk elsősorban különböző típusú enzimekkel szembeni inhibitor tulajdonságukra vezethető vissza. Egyik ilyen enzimtípus a protein kinázok csoportja, amelyek a rákos sejtek működésében és szaporodásában töltenek be fontos szerepet. Egyik legfontosabb képviselőjük a protein-kináz-C (PKC), amely enzim működését a flavonoidok képesek gátolni, ezáltal károsítják a rákos sejteket.^{74,75,76,77}

A flavonoidok egyes képviselői továbbá topoizomeráz enzim inhibitorok. Ezek az enzimek a DNS lánc megkettőződésének folyamatában töltnek be létfontosságú szerepet. A DNS-spirál két szálát összetartó H-hidak felbontását a helikáz enzimek végzik. A folyamatok extra csavarodást és plusz feszültséget eredményeznek a DNS spirálon, amik gátolják a replikációhoz szükséges leolvasást. Ezen feszültségeket szüntetik meg a topoizomeráz enzimek, melyek I.-es típusa csak az egyik, míg a II.-es típusa a DNS-spirál mindkét szálát hasítja. Ennek következtében lehetőség nyílik a szálak elmozdulására, ami csökkenti a feszültséget, így az újraegyesítést követően végbemehet a leolvasás folyamata. Az enzimek flavonoidok hatására bekövetkező gátlásának eredményeképpen a replikáció egy korai fázisban megáll, ráadásul egy adott feszültségi szintet elérve a DNS szál is károsodhat, ami apoptózist idézhet elő.^{78,79,80,81}

Jelenleg 4 flavonoid típusú rákellenes hatású molekula jutott el a klinikai tesztelés fázisáig, azonban egyik sem került kereskedelmi forgalomba. Ennek oka a vegyületek rossz vízoldhatósága, illetve azon hajlamuk, hogy részt vegyenek a bélrendszerben és a májban lejátszódó metilezési folyamatokban, amelynek következtében elveszítik aktivitásukat.⁸²

Ezek a kedvezőtlen tulajdonságok elvileg javíthatók a vegyületek komplexbe vitelével, különösképpen prodrug típusú vegyületek előállítása nyomán. Az oxo- és hidroxilcsoportot kelátképző pozícióban tartalmazó flavonoidok a hidroxilcsoport deprotonálódását követően képesek kétfogú (O,O) donor ligandumként koordinálódni a fémionhoz. A hidroxil szubsztituensek helyzetétől függően többféle koordinációs módon, öt-, illetve hattagú kelátgyűrűt kialakítva is képesek komplexet alkotni (13. ábra).^{83,84}

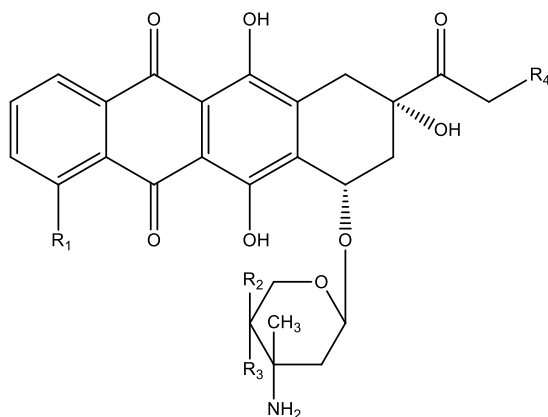


13. ábra. A flavonoid típusú ligandumok lehetséges koordinációs módjai.

Bernhard Keppler és kutatócsoportja vizsgálta, a 4' pozícióban eltérően szubsztituált 3-hidroxi-flavonol ligandumokat tartalmazó Ru(II), Os(II) és Rh(III) platinafémkomplexeket, amely során több esetben is tapasztalták a komplexek megnövekedett rákellenes aktivitását a megfelelő szabad liganduméhoz képest.⁸⁵

2.7.2. Antraciklinek

Az antraciklin vegyületek alapvázát egy többszörösen szubsztituált tetraciklikus gyűrű alkotja. Amennyiben ehhez a vázhoz egy cukor rész is kapcsolódik antraciklin-glikozidokról beszélhetünk. Az elsőként felfedezett származékokat, a doxorubicint és a daunorubicint a *Streptomyces peucetius* baktériumból izolálták, míg az eltérő szubsztituenseket tartalmazó vegyületeket, mint pl. az epirubicin vagy az idarubicin szintetikus úton állították elő.⁸⁶ Az említett vegyületek szerkezeti képlete az 14. ábrán látható.



	doxorubicin	daunorubicin	epirubicin	idarubicin
R₁	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
R₂	H	H	OH	H
R₃	OH	OH	H	OH
R₄	OH	H	OH	H

14. ábra. Az antraciklin-glikozidok szerkezeti képlete.

Ezen antraciklin-glikozidok jelentős antitumor aktivitással rendelkeznek, így a mellrák, petefészekrák, tüdőrák és leukémia kezelésére is alkalmazzák őket.^{87,88,89,90} Rákellenes hatékonyságuk abban rejlik, hogy a flavonoidokhoz hasonlóan, képesek gátolni a rákos sejtek osztódásához szükséges topoizomeráz enzimek működését.^{87,91,92} Emellett közvetlenül is képesek kötődni a DNS-hez.^{91,92,93} Az antraciklin molekulában lévő planáris tetraciklikus gyűrű a DNS bázispárjaival, míg a kapcsolódó cukor rész a negatív töltésű foszfátcsoportokkal képes kölcsönhatást kialakítani.⁹⁴ A kötődések hatására megváltozik a DNS lánc szerkezete, amely folyamat gátolja a DNS replikációját és az RNS transzkripciót.^{95,96,97,98} A vegyületek alkalmazását korlátozza, hogy nagyobb mennyiségben

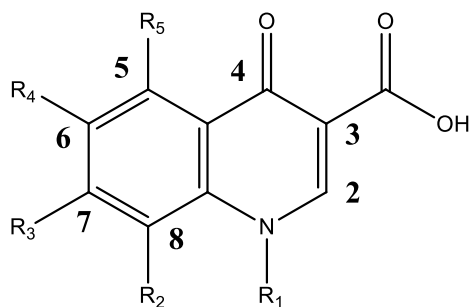
kardiotoxikus hatásúak, azaz károsak a szívre, így nem kívánt mellékhatásokkal rendelkeznek.^{91,87,99,100} Ennek oka, hogy a szervezetbe kerülve a vegyületek redukciójával reaktív szemikín gyökök, illetve különböző elektrontranszfer folyamatok következtében reaktív oxigén tartalmú részecskék (ROS) képződhetnek, amelyek az egészséges szövetekre nézve is rendkívül károsak.^{93,101,102,103,104,105,106}

A reaktív gyökök képződése és az ezáltal jelentkező káros mellékhatások visszaszorítására egy lehetséges megoldásul szolgálhat a vegyületek komplexbe vitele.^{100,107,108} A tetraciklikus gyűrűn kelátképző pozícióban lévő kinon-hidroxikinon csoport O donoratomjai lehetőséget nyújtanak a vegyület (O,O) ligandumként történő koordinációjára, így fémkomplexek előállítására. Az irodalomban számos fémion alkalmazásával vizsgálták az antraciklinek komplexképzési reakcióit elsősorban oldatfázisban.^{109,110} Guin és munkatársai előállították a doxorubicin és az azt modellező 1,4-dihidrox-9,10-antrakinon-2-szulfonát nátriumsó (quinizarin-szulfonát, quinSH₂) kétmagvú Ni(II)-komplexeit. Megállapították, hogy mindkét komplex kötődik a DNS-hez, azonban a doxorubicin komplex esetén a kötés erőssége egy nagyságrenddel nagyobb, mint a model quinS komplex esetén, amely különbség valószínűleg a model vegyületből hiányzó cukor egységhez rendelhető. Ettől függetlenül, az eredmények alapján elmondható, hogy a quinizarin vegyületek kémiai és biológiai szempontból is alkalmasak az antitumor hatású antraciklin-glikozidok modellezésére.⁹³

2.8. Antibakteriális hatású biomolekulák

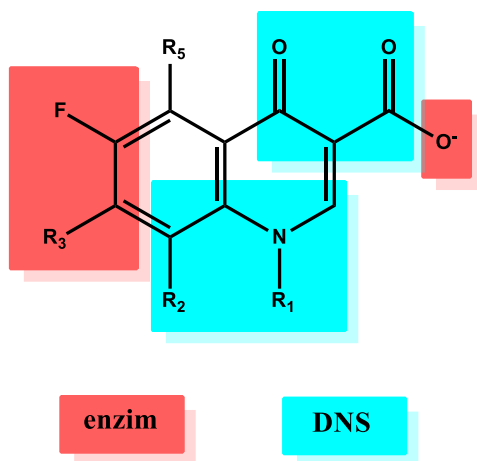
2.8.1. Kinolonok

Antibakteriális készítményként az egyik legelterjedtebben alkalmazott vegyületcsalád, a 4-oxo-1,4-dihidrokinolin alapvázat tartalmazó kinolonok (15. ábra). Az elsőként felfedezett származékok, mint pl. a nalidixisav, a Gram(-) baktériumokkal szemben bizonyultak hatékonynak. A későbbiekben olyan második, harmadik, negyedik generációs származékokat szintetizáltak, amelyekben, a 6-os pozícióban egy F szubsztituens található. Ezeket a vegyületeket nevezzük fluorokinolonoknak, amelyek hatásspektruma a Gram(-) baktériumok mellett, a Gram(+) baktériumokra is kiterjed.^{111,112,113,114,115,116} A vegyületeket széles körben alkalmazzák bőr-, húgyúti-, bélrendszeri- és légzőszervi fertőzések kezelésére.^{117,118}



15. ábra. A kinolonok alapvázának szerkezeti képlete.

A fluorokinolonok a baktériumok szaporodásához nélkülözhetetlen topoizomeráz IV. és a korábban már bemutatott topoizomeráz II. enzimeket gátolják.¹¹⁶ A fluorokinolonok enzimgátló mechanizmusa azon alapszik, hogy a szervezetbe kerülve képesek stabil komplexet képezni az enzimmel és a DNS-sel. A molekula alapvázában lévő aromás gyűrű és a N-hez kapcsolódó R_1 szubsztituens stacking kölcsönhatást alakít ki a DNS-sel, míg a karbonil- és karboxilátsoportok oxigénjei H-kötésekkel kapcsolódnak a DNS foszfátsoportjaihoz. Emellett, a karboxilátsoport, a F szubsztituens, valamint a 7-es pozícióban lévő, leggyakrabban valamilyen N-heterociklust tartalmazó szubsztituens (R_3) pedig az enzimmel létesítenek kölcsönhatást (16. ábra).^{112,119,120} Az így létrejött komplex korlátozza az enzim működését és blokkolja a bakteriális kromozómában a replikációs folyamathoz szükséges konformáció változások szabályozását.¹¹⁹



16. ábra. A fluorokinolon antibiotikumokban lévő enzimhez (piros) és DNS-hez (kék) kötődő molekulaegységek.

A vegyületek alkalmazását ebben az esetben is behatárolja az ellenük kialakult rezisztens baktériumtörzsek megjelenése.^{112,121,122,123} A fluorokinolonok passzív transzport útján, a sejtmembránban lévő általános diffúziós porin csatornákon keresztül jutnak be a sejtbe. A baktériumok ezen csatornák permeabilitásának megváltoztatásával képesek a

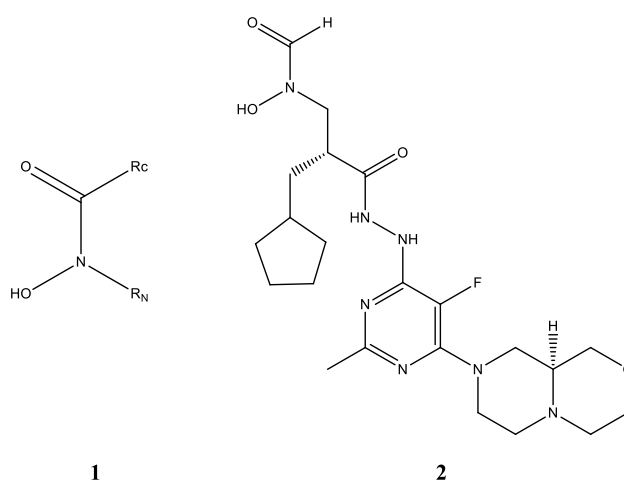
megfelelő rezisztencia kialakítására.^{124,125,126} A rezisztencia kiküszöbölésére és az antibakteriális hatékonyság növelésére ebben az esetben is alternatívaként szolgálhat a vegyületek fémkomplexeinek alkalmazása, ugyanis pozitív töltésüknek köszönhetően a komplexek sejtfelvétele más úton történik.^{127,128}

Az alapvázukban lévő oxocsoport és karboxilcsoport oxigén donoratomjainak köszönhetően a fluorokinolonok képesek (O,O) kétfogú ligandumként, hattagú kelátgyűrűt kialakítva koordinálódni a fémionhoz.^{129,130,131} Továbbá olyan komplex is ismert, amelyben a biomolekula az N heterociklusos piperazil gyűrű terminális nitrogénjével, egyfogú ligandumként koordinálódott a fémionhoz.¹³⁰

Efthimiadou és kutatócsoportja előállította a sparfloxacin (spaH) $[\text{Co}(\text{spa})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ összetételű Co(II) komplexét, amely vizsgálata során azt tapasztalták, hogy *E.coli* baktérium esetében a komplex nagyobb aktivitást mutatott a szabad ligandumhoz képest.¹³²

2.8.2. GSK1322322

A hidroxámsavak a tumor áttétek kialakulásában is szerepet játszó metalloproteináz (MP) enzimeket gátolják, ezáltal rendelkeznek rákellenes hatással. Funkciós csoportjuk összetett, egy karbonil és egy hidroxil-amin csoportból tevődik össze, így O donoratomjaikkal öttagú kelátgyűrű kialakítására képesek a fémionnal. Amennyiben az N atomhoz kapcsolódó szubsztituens (R_N) H, akkor primer, ha egyéb R csoport, akkor pedig szekunder hidroxámsavakról beszélünk. Abban az esetben, ha a karbonilcsoport szénatomjához kapcsolódó szubsztituens (R_C) H, a vegyületet retrohidroxámsavnak nevezzük (17. ábra 1).



17. ábra. A hidroxámsavak általános (1) és a GSK1322322 (2) szerkezeti képletei.

Retrohidroxámsav alapú molekula, a GlaxoSmithKline cég által kifejlesztett *N*-((*R*)-2-(ciklopentilmetil)-3-(2-(5-fluoro-6-((*S*)-hexahidropirazino[2,1-*c*][1,4]oxazin-8(1*H*)-il)-2-metilpirimidin-4-il)hidrazinil)-3-oxopropil)-*N*-hidroxilformamid (GSK1322322) (17. ábra 2) molekula, amely peptid deformiláz (PDF) enziminhibitor tulajdonsága révén rendelkezik antibakteriális hatással.¹³³ A PDF egy cink alapú metalloenzim, amely a bakteriális polipeptidek N-terminális metionin egységei formilcsoportjának lehasítását katalizálja. Az enzim létfontosságú a baktériumok számára, viszont nem szükséges a normál sejtek működéséhez, így jó célpontként szolgálhat az antibiotikumok számára.¹³⁴

A GSK1322322 *in vitro* kísérletek alapján nagy aktivitással rendelkezik bakteriális eredetű tüdőgyulladás és bőrfertőzések ellen, illetve olyan patogén sejtvonalakon is hatékonyak bizonyult, amelyek rezisztensek egyéb típusú antibiotikumokkal szemben.^{133,135,136} A molekula jelenleg már nem áll a GSK fejlesztése alatt, mivel tesztelése során, potenciálisan reaktív metabolitok megjelenését tapasztalták.¹³⁶

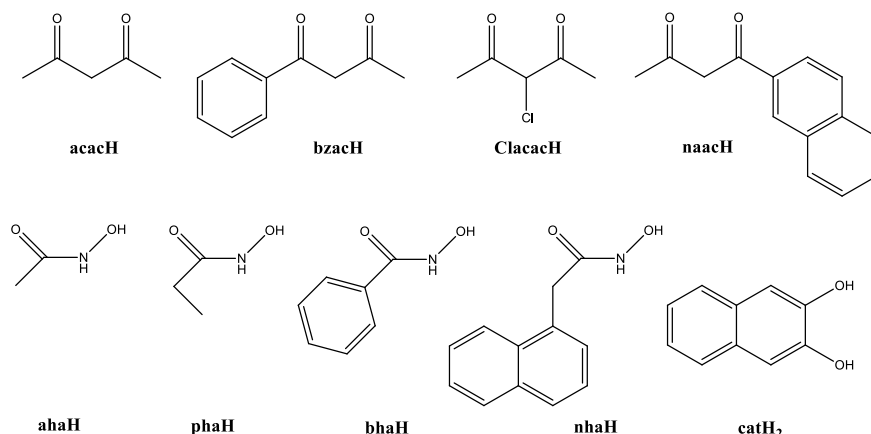
A GSK1322322 molekula komplexben kötött formájának alkalmazása megoldást jelenthet a molekula funkciós csoportjának megóvására, ezáltal a nem kívánt mellékreakciók visszaszorítására.

2.9. [Co(4N)]³⁺ típusú komplexek vizsgálata

Hambley és kutatócsoportja kiterjedten vizsgáltak potenciálisan hipoxia aktivált [Co(4N)(O,O)]ⁿ⁺ összetételű Co(III) komplexeket^{27,55} 4N donor ligandumként az aszimmetrikus tren és trisz(2-piridilmetil)amin (tpa) tripodális aminokat és a makrociklusos 1,4,8,11-tetraazaciklotetradekánt (ciklám) és 1,4,7,10-tetraazaciklododekánt (ciklén), (O,O) ligandumként pedig különböző hidroxámsavakat alkalmazva.

A vizsgálatokhoz előállították az acetohidroxámsav (ahaH), propionhidroxámsav (phaH), benzohidroxámsav (bhaH), illetve naftilhidroxámsav (nhaH) Co(III) komplexeit. Ezen ligandumok mindegyike primer hidroxámsav, így hidroxil csoportjuk deprotonálódását követően képesek hidroxamátó és hidroximátó ligandumként is koordinálódni a fémionhoz. Utóbbi esetben a hidroxamátó csoport N-je is deprotonálódik, így a hidroximátó ligandumok kétszeresen negatív töltésűek. Annak érdekében, hogy vizsgálják a különböző típusú koordinálódó O-donor atomoknak a komplexek redoxi sajátságaira gyakorolt hatását, az (O,O) ligandumok körét kibővítették pirokatechin típusú 2,3-naftildiol (catH₂), illetve a β-diketon vázú acetilaceton (acacH), 1-fenil-1,3-butándion (bzacH), 3-klór-2,4-pentándion

(ClacacH), valamint az 1-metil-3-(2-naftil)-propán-1,3-dion (naacH) vegyületekkel.^{137,138} Az alkalmazott (O,O) ligandumok szerkezete a 18. ábrán látható.

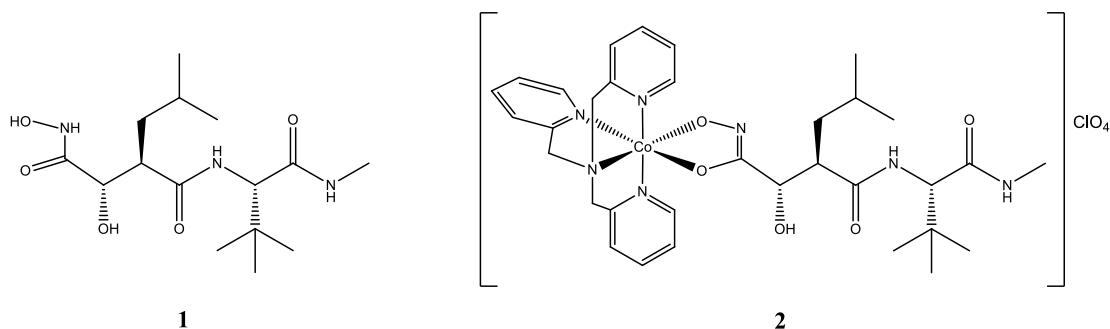


18. ábra. A Hambley és kutatócsoportja által alkalmazott (O,O) bioligandumok szerkezeti képletei.

A komplexek redoxi sajátságainak ciklikus voltammetriás (CV) vizsgálatával megállapították, hogy a komplexek redukciós potenciál értéke a β -diketon > hidroxamát > pirokatechin > hidroximát sorrend szerint változik. Ez azzal magyarázható, hogy a kétszeresen negatív töltésű hidroximát és pirokatechin ligandumok hatására jobban növekszik az elektronsűrűség a központi fémionon, ezáltal ezen ligandumok komplexeit nehezebb redukálni, mint az egyszeresen negatív ligandumokéit. Ezzel összhangban, az elektronszívó karakterű Cl szubsztituenst tartalmazó ClacacH tpa komplexének katódos csúcspotenciál értéke (E_{pc}) pozitívabb, mint az analóg acacH komplexé.¹³⁸ A hidroxámsav szubsztituáltsága csak kis mértékben befolyásolja a komplexek redukálhatóságát, azonban azt tapasztalták, hogy az aromás hidroxámsavakat tartalmazó komplexek redukciós potenciálja negatívabb, mint a megfelelő alifás származékokéi.^{23,137,138} A redukálhatóság jelentős változását a hidroxamát komplexeinél a pH növelése esetén tapasztalták, ekkor ugyanis a hidroximát komplex keletkezik, aminek hatására az adott komplex redukciós potenciál értéke akár 350 mV-tal is a negatívabb tartományba tolódik.²³ A 4N donor ligandumok szintén jelentősen befolyásolják a komplexek redoxi sajátságait, miszerint a tren és ciklén komplexek nehezebben redukálhatóak, mint a megfelelő tpa analógok.^{23,138}

A komplexek, illetve szabad ligandumok aktivitását DLD-1 vastagbélrák sejtvonalon tesztelték normoxiás és hipoxiás körülmények között egyaránt. A tpa szabad ligandum kivételével azonban egyik esetben sem tapasztaltak aktivitást. A naacH szabad ligandum és tpa komplexe ugyan mutattak kismértékű hatékonyságot, viszont egyik vegyület sem bizonyult hipoxia szelektívnek.¹³⁸

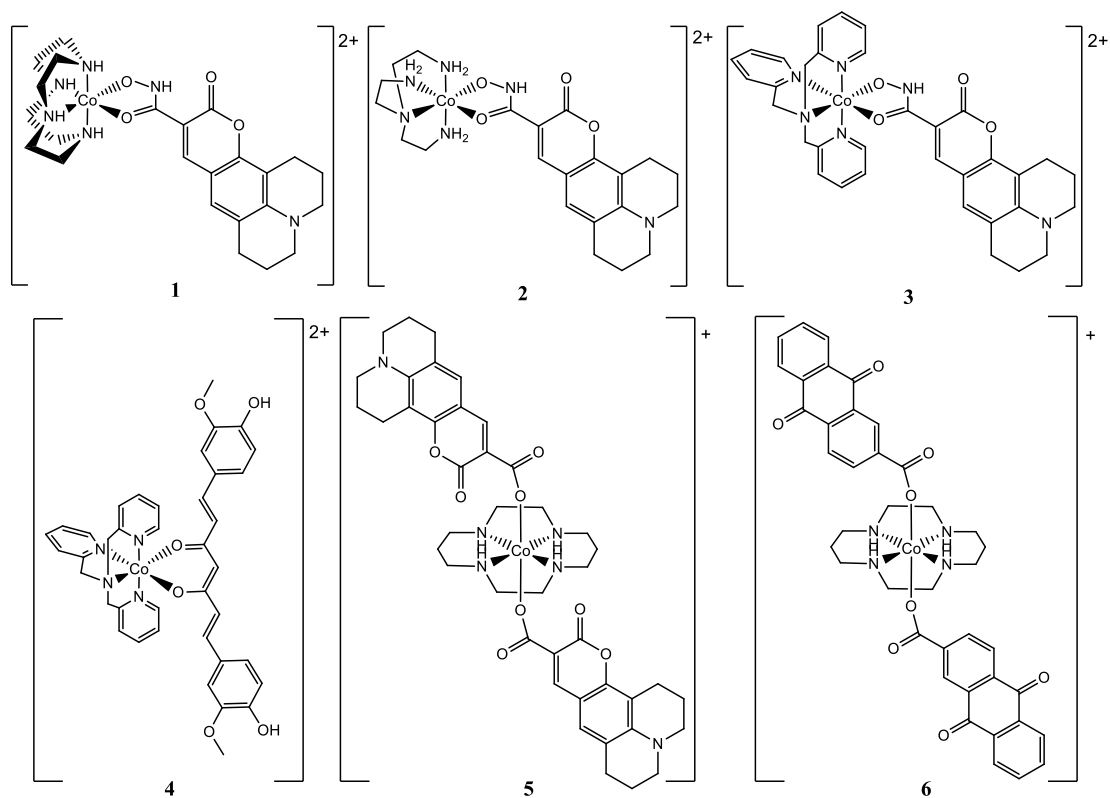
Ezen komplexek mintájára előállították a hidroxámsav alapú, bizonyítottan MP inhibitor tulajdonságú marimastat (mmstH) $[\text{Co}(4\text{N})(\text{mmst})]^{2+}$ összetételű komplexeit is a korábban alkalmazott, tren, tpa és ciklén N donor ligandumokkal, melyek közül a szabad ligandum mmstH és tpa komplexe (19. ábra) is mutatott aktivitást *in vivo* körülmények között.^{23,139}



19. ábra. A marimastat (**1**) és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{mmstH}_{-1})](\text{ClO}_4)$ (**2**) szerkezeti képletei.

A 4T1.2 tumor típus növekedését vizsgálták egerekben 25 napos periódus alatt és azt tapasztalták, hogy a kontroll csoporthoz képest a komplex és a szabad ligandum is gátolja a tumor növekedését, azonban csak a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{mmstH}_{-1})](\text{ClO}_4)$ esetén szignifikáns a különbség. Mivel a komplex korábbi vizsgálatok során nem bizonyult toxikusnak, aktivitása valószínűleg abból következik, hogy hatékonyan juttatta el a mmstH molekulát a tumor helyére.¹⁴⁰

A fluoreszcens tulajdonságú naftilcsoportot tartalmazó ligandumok (nhaH, naacH, catH₂) komplexei esetén lehetőség nyílik rá, hogy a komplexek szerkezetbeli redukcióját vizsgálni lehessen fluorimetriás mérésekkel. Amennyiben a komplex redukálódik és a ligandum disszociál, úgy megjelenik a naftilcsoport fluoreszcens aktivitása, amit komplexbe kötve blokkol a fémion. Ebből következően előállítottak további, szintén fluoreszcens sajátosságú antrakinon-2-karbonsav (AQ2CH), kurkumin (curH), kumarin-343 (C343H), illetve kumarin-343-hidroxámsav (C343haH₂) ligandumokat tartalmazó Co(III) komplexeket (20. ábra).^{23,138,141,142} Biológiai redukálószerként feleslegben hozzáadott nátrium-aszkorbát, vagy cisztein celluláris redukálószerként alkalmaztak.



20. ábra. A $[\text{Co}(\text{ciklén})(\text{C343haH})]^{2+}$ (1), $[\text{Co}(\text{tren})(\text{C343haH})]^{2+}$ (2), $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{C343haH})]^{2+}$ (3), $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cur})]^{2+}$ (4), $[\text{Co}(\text{ciklám})(\text{C343})]^{2+}$ (5), $[\text{Co}(\text{ciklám})(\text{AQ2C})]^{+}$ (6) komplexek szerkezeti képletei.

A naftilcsoportot tartalmazó ligandumok komplexei közül egyedül a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{naac})](\text{ClO}_4)_2$ esetén tapasztalták a redukálószer hozzáadását követően a fluoreszcens aktivitás megjelenését, ami a szabad ligandum megjelenésére, ezáltal a komplex redukciójára utal. Ez azzal magyarázható, hogy a többi vizsgált komplex redukciós potenciál értéke túl negatív ahhoz, hogy a redukció végbemenjen. Az eredmények összefüggésbe hozhatók azon aktivitás vizsgálatok eredményeivel is, ahol szintén csak a naacH ligandum tpa komplexe bizonyult hatékonnak.¹³⁸

A C343haH₂ komplexek esetében a hipoxiás és normoxiás körülményeket modellezve, oxigénmentes és oxigénes környezetben is követték a redukciós folyamatokat. Az alkalmazott vegyületek közül is leginkább a tpa komplex esetén ment végbe a redukció, ráadásul oxigénmentes környezetben, nagyobb mértékben, mint oxigénesben. A másik két komplex esetén kisebb mértékben tapasztalták a fluoreszcens aktivitás megjelenését, viszont ennek értéke független volt az oxigén jelenlététől. Az eredmény ezúttal is a komplexek redukciós potenciál értékeire vezethető vissza, amely a tpa származék esetében jelentősen pozitívabb, mint a tren és ciklén komplexeké, így magyarázatul szolgál arra is, hogy DLD-1 vastagbélrák sejtvonalon csak a tpa komplex mutatott aktivitást. Ugyanezen sejtvonalon vizsgálták a

komplexek sejtek által történő felvételét 4 órás inkubációs időt követően ICP-MS technika segítségével. A sejtek által felvett kobalt mennyisége valamennyi komplex esetében relatíve alacsony értéknek (25 ng/mg fehérje) adódott, így arra lehet következtetni, hogy ezt a folyamatot a 4N donor ligandum típusa jelentősen nem befolyásolja.²³

A $[\text{Co}(\text{ciklám})(\text{C343})_2]\text{Cl}$ (20. ábra 4) és $[\text{Co}(\text{ciklám})(\text{AQ2C})_2]\text{Cl}$ (20. ábra 5) esetében az eddig bemutatott komplexekkel ellentétben a bioligandumok nem egy kétfogú, hanem két egyfogú ligandumként koordinálódnak a fémion két axiális koordinációs helyére. Az AQ2CH komplex esetében is oxigénmentes és oxigénes közegben is vizsgálták a komplex redukcióját és azt tapasztalták, hogy a redukálószer hozzáadását követően oxigénmentes körülmények között a redukció szinte azonnal lejártszódott, míg oxigén jelenlétében a folyamat sokkal kisebb mértékben és lassabban ment végbe. Ez arra utal, hogy a komplex oxigén jelenlétében lehetséges visszaoxidációja kompetitív folyamatként verseng a komplex disszociációjával.

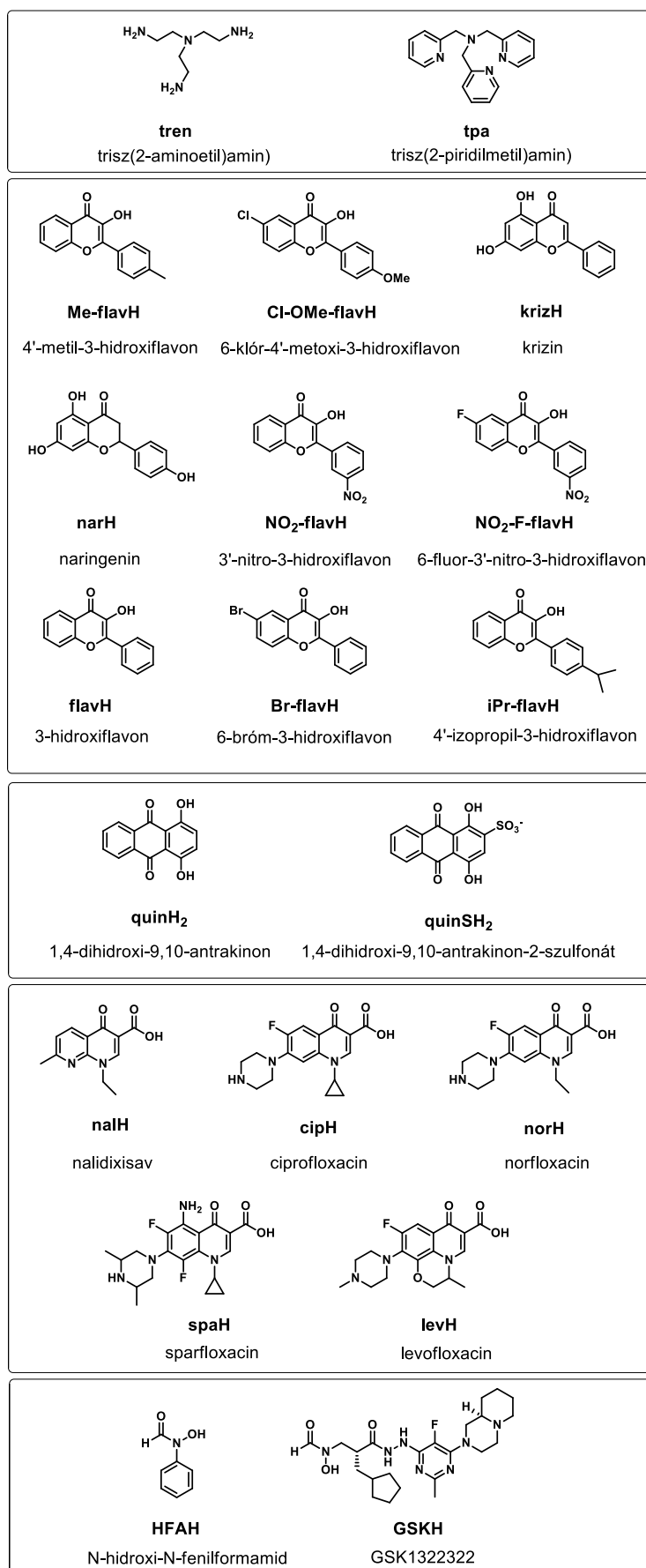
A két komplex aktivitását DLD-1 vastagbélrák sejtvonalon hipoxiás és normoxiás körülmények között is vizsgálták. Amellett, hogy mindkét komplex jelentősen aktívabbnak bizonyult a megfelelő szabad ligandumnál, a $[\text{Co}(\text{ciklám})(\text{AQ2C})_2]\text{Cl}$ hatékonyabbnak bizonyult hipoxiás, mint normoxiás körülmények között.¹⁴²

A Hambley és kutatócsoportja által elért eredmények egyértelműen bizonyítják, hogy a $[\text{Co}(4\text{N})(\text{O},\text{O})]^{n+}$ összetételű komplexek alkalmasak lehetnek hordozó molekulaként biológiailag aktív vegyületek tumorba juttatására, ezáltal prodrug típusú készítményként való alkalmazásra.

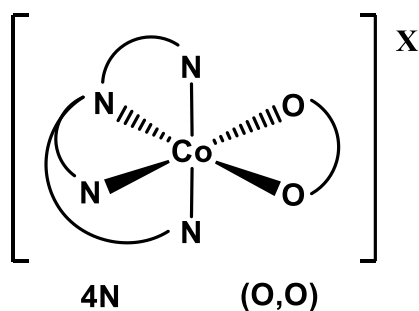
3. Célkitűzések

A bemutatott irodalmi előzmények alapján munkánk célja $[\text{Co}(\text{4N})(\text{O},\text{O})]^{n+}$ összetételű komplexek szilárd fázisú előállítása volt. 4N ligandumként tren és tpa tripodális aminokat, míg (O,O) ligandumként a bizonyítottan antitumor hatású flavonolokat és a rákellenes gyógyszerként forgalomban lévő doxorubicint modellező quinizarin típusú bioligandumokat alkalmaztunk. Antibakteriális aktivitással rendelkező (O,O) ligandumként pedig különböző kinolonokat és a retrohidroxámsav alapú GSK1322322 molekulát, illetve az ezt modellező HFA-t választottuk. A kutatás során terveztük az előállított vegyületek teljes körű analitikai vizsgálatát NMR, IR, MS, elemanalízis és röntgendiffrakciós mérések elvégzésével. Emellett célunk volt a komplexek redoxi sajátságainak ciklikus voltammetriás vizsgálata. Célul tűztük ki a különböző karakterű funkciós csoportoknak és ligandumoknak a komplexek redukciós potenciál értékeire gyakorolt hatásának vizsgálatát is, így minden vegyületcsalád esetén igyekeztünk minél több, lehetőleg eltérően szubsztituált származékot alkalmazni. Ezen felül hazai és nemzetközi együttműködések keretében terveztük vizsgálni az előállított vegyületek biológiai hatásait. A különböző típusú vizsgálatok alapján a komplexek élettani hatása és szerkezeti, biológiai vagy redoxi sajátságai közötti összefüggéseket is terveztük feltérképezni.

A kutatás során alkalmazott ligandumok szerkezetét és rövidítését a 21. ábra, míg az előállított komplexek általános szerkezetét és összetételét a 22. ábra szemlélteti.



21. ábra. A kutatás során alkalmazott ligandumok szerkezete és rövidítése.



Komplex	4N	(O,O)	X
[Co(tren)(flav)](ClO ₄) ₂	tren	flav	ClO ₄
[Co(tpa)(flav)](ClO ₄) ₂	tpa	flav	ClO ₄
[Co(tren)(Br-flav)](ClO ₄) ₂	tren	Br-flav	ClO ₄
[Co(tpa)(Br-flav)](ClO ₄) ₂	tpa	Br-flav	ClO ₄
[Co(tren)(Me-flav)](ClO ₄) ₂	tren	Me-flav	ClO ₄
[Co(tpa)(Me-flav)](ClO ₄) ₂	tpa	Me-flav	ClO ₄
[Co(tren)(NO ₂ -F-flav)](Cl) ₂	tren	NO ₂ -F-flav	Cl
[Co(tpa)(NO ₂ -F-flav)](ClO ₄) ₂	tpa	NO ₂ -F-flav	ClO ₄
[Co(tren)(NO ₂ -flav)](Cl)(ClO ₄)	tren	NO ₂ -flav	ClO ₄ , Cl
[Co(tpa)(NO ₂ -flav)](ClO ₄) ₂	tpa	NO ₂ -flav	ClO ₄
[Co(tren)(kriz)](Cl)(ClO ₄)	tren	kriz	ClO ₄ , Cl
[Co(tpa)(kriz)](ClO ₄) ₂	tpa	kriz	ClO ₄
[Co(tren)(Cl-OMe-flav)](ClO ₄) ₂	tren	Cl-OMe-flav	ClO ₄
[Co(tren)(iPr-flav)](ClO ₄) ₂	tren	iPr-flav	ClO ₄
[Co(tren)(nar)](Cl)(ClO ₄)	tren	nar	ClO ₄
[Co(tpa)(iPr-flav)](ClO ₄) ₂	tpa	iPr-flav	ClO ₄
[Co(tren) ₂ (quin)](ClO ₄) ₄	tren	quin	ClO ₄
[Co(tpa) ₂ (quin)](ClO ₄) ₄	tpa	quin	ClO ₄
[Co(tren) ₂ (quinS)](PF ₆) ₃	tren	quinS	PF ₆
[Co(tpa) ₂ (quinS)](ClO ₄) ₃	tpa	quinS	ClO ₄
[Co(tren)(lev)](PF ₆) ₂	tren	lev	PF ₆
[Co(tren)(nal)](PF ₆) ₂	tren	nal	PF ₆
[Co(tpa)(nal)](PF ₆) ₂	tpa	nal	PF ₆
[Co(tren)(cip)](PF ₆) ₂	tren	cip	PF ₆
[Co(tpa)(cip)](PF ₆) ₂	tpa	cip	PF ₆
[Co(tren)(spa)](PF ₆)(Cl)	tren	spa	PF ₆ , Cl
[Co(tpa)(norH)](BF ₄) ₃	tpa	norH	BF ₄
[Co(tren)(nor)](PF ₆) ₂	tren	nor	PF ₆
[Co(tpa)(lev)](ClO ₄) ₂	tpa	lev	ClO ₄
[Co(tren)(HFA)](PF ₆) _{1.5} Cl _{0.5}	tren	HFA	PF ₆ , Cl
[Co(tpa)(HFA)]Cl ₂	tpa	HFA	Cl
[Co(tpa)(GSK)](PF ₆) ₂	tpa	GSK	PF ₆

22. ábra Az általam előállított és vizsgált komplexek általános összetétele.

4. Kísérleti körülmények és alkalmazott módszerek

4.1. Felhasznált vegyszerek

A kobalt komplexek és a ligandumok szintéziséhez szükséges $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaNO_2 , trisz(2-aminoetil)amin (tren), NaClO_4 , NH_4PF_6 , NaBF_4 , NaOH , KOH , 3-nitrobenzaldehyd, 2'-hidroxiacetofenon, 5'-fluor-2'-hidroxiacetofenon, valamint a ligandumként alkalmazott nalidixisav (nalH), norfloxacin (norH), ciprofloxacín (cipH), levofloxacin (levH), sparfloxacin (spaH), krizin (krizH), naringenin (narH) 1,4-dihidrox-9,10-antrakinon (quinH_2), 1,4-dihidrox-9,10-antrakinon-2-szulfonát (quinSH_2), illetve valamennyi oldószer kereskedelmi termékek, amiket a Sigma Aldrich, Reanal, TCI Chemicals, Pflatz, Merck, Bauer, Scharlau és Acros Organics cégektől szereztünk be. A 3-hidroxiflavon (flavH), 4'-metil-3-hidroxiflavon (Me-flavH), 6-klór-4'-metoxi-3-hidroxiflavon (Cl-OMe-flavH), 6-bróm-3-hidroxiflavon (Br-flavH), 4'-izopropil-3-hidroxiflavon (iPr-flavH) flavonol származékokat a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén Dr. Kónya Krisztina, míg a GSK1322322 (GSKH) ligandumot a GlaxoSmithKline cég bocsátotta rendelkezésünkre. A $\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2)_2\text{Cl}$, $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$, $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{NO}_2)_2]\text{Cl}$, $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ ¹⁴³ komplexeket és az N-hidrox-N-fenilformamid (HFAH)¹⁴⁴ ligandumot irodalmi receptek alapján szintetizáltuk. A biológiai vizsgálatok során alkalmazott humán szérum albumint (HSA), warfarint (W), danzil-glicint (DG), n-oktanolt, a PBS puffer elkészítéséhez szükséges vegyszereket (KCl , NaCl , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4) a Sigma Aldrich szállította.

4.2. Ligandumok és fémkomplexek előállítása

4.2.1. Ligandumok előállítása

5- NO_2 -2'-hidroxikalkon (1)

3-nitrobenzaldehydet (1,16 g, 7,0 mmol) feloldottam 10 ml metanolban majd 2'-hidroxiacetofenont (0,83 g, 6,0 mmol) adtam hozzá. 0,90 g NaOH 0,90 ml vízzel készített oldatát hozzáadtam a reakcióelegyhez, majd a kapott oldatot egy éjszakán át kevertettem mágneses keverővel szobahőmérsékleten. Az idő leteltével kivált barna szilárd anyagot 10%-os HCl oldatban szuszpendáltam, majd üvegszűrőn szűrtem, vízzel mostam. A nyers terméket metanolból átkristályosítottam. A kapott sárga színű porszerű szilárd anyagot vízzel mostam, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 1,57 g (97 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 7.01-7.05 (m, 2H, Ar-H), 7.57-7.61 (m, 1H, Ar-H), 7.76 (t, 1H, Ar-H), 7.92-7.96 (d, 1H, -CH), 8.22-8.26 (d, 1H, -CH), 8.27-8.36 (m, 3H, Ar-H), 8.80 (m, 1H, Ar-H), 12.35 (s, 1H, -OH). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3432, 1646, 1590, 1525, 1359, 1100. Elemanalízis: $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_4$ összetételre számolt: C, 66.91, H, 4.12, N, 5.20%, mért: C, 66.75, H, 4.04, N, 5.32%.

5'-F-5-NO₂-2'-hidroxikalkon (2)

A szintézis menete megegyezett az 5-NO₂-2'-hidroxikalkon esetén alkalmazottal, 5'-F-2'-hidroxiacetofenont (0,92 g, 6,0 mmol) használva. A termék sárga színű porszerű anyag. Kitermelés: 1,48 g (86 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 7.03-7.06 (m, 1H, Ar-H), 7.44-7.49 (m, 1H, Ar-H), 7.76 (t, 1H, Ar-H), 7.92-7.96 (d, 1H, -CH), 8.11-8.14 (m, 1H, Ar-H), 8.15-8.19 (d, 1H, -CH), 8.28-8.30 (m, 1H, Ar-H), 8.35 (d, 1H, Ar-H), 8.80 (m, 1H, Ar-H), 12.05 (s, 1H, -OH). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3434, 1649, 1593, 1525, 1353, 1174. Elemanalízis: $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{FNO}_4$ összetételre számolt: C, 62.72, H, 3.51, N, 4.88%, mért: C, 62.76, H, 3.52, N, 5.02%.

3'-NO₂-3-hidroxiflavonol (3)

5-NO₂-2'-hidroxikalkont (1,00 g, 3,71 mmol) feloldottam 21 ml metanolban, majd 5 ml 8 (m/m) %-os NaOH oldatot adtam hozzá. Ezt követően állandó kevertetés közben H₂O₂ oldatot (3,4 ml, 30 %) csepegtettem a jeges fürdőben 0 °C-ra hűtött reakcióelegyhez 15 percen át. A becsepegést követően a reakcióelegyet további egy órán át kevertettem szobahőmérsékleten, majd 80 g tört jégre öntöttem. Az elegy pH értékét ezt követően 1-esre állítottam 1:1 HCl oldat segítségével. A kivált szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, vízzel mostam, majd ecetsavból átkristályosítottam. A kapott halványbarna színű porszerű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 0,36 g (35 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 7.49 (m, 1H, Ar-H), 7.81-7.90 (m, 3H, Ar-H), 8.14 (d, 1H, Ar-H), 8.33 (d, 1H, Ar-H), 8.61 (d, 1H, Ar-H), 9.07 (m, 1H, Ar-H), 10.22 (s, 1H, -OH). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3250, 1608, 1570, 1527, 1347, 1137. Elemanalízis: $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{NO}_5$ összetételre számolt: C, 63.61, H, 3.20, N, 4.95%, mért: C, 63.49, H, 3.24, N, 4.88%.

6-F-3'-NO₂-3-hidroxiflavonol (4)

A szintézis menete megegyezett a 3'-NO₂-3-hidroxiflavonol esetén alkalmazottal, 5'-F-5-NO₂-2'-hidroxikalkont (1,20 g, 4,2 mmol) használva. A termék halványbarna színű porszerű anyag. Kitermelés: 0,41 g (32 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 7.72-7.80 (m, 2H, Ar-H), 7.88 (t, 1H, Ar-H), 7.92-7.96 (m, 1H, Ar-H), 8.35 (m, 1H, Ar-H), 8.62 (d, 1H, Ar-H), 9.07 (m, 1H, Ar-H), 10.35 (s, 1H, -OH). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3343, 1626, 1581, 1522, 1349, 1083. Elemanalízis: $\text{C}_{15}\text{H}_8\text{FNO}_5 \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 57.74, H, 2.97, N, 4.49%, mért: C, 57.46, H, 2.89, N, 4.30%.

4.2.2. Fémkomplexek előállítása

4.2.2.1. Flavonol tartalmú komplexek előállítása

[Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ (5)

FlavH-t (76,43 mg, 0,32 mmol) feloldottam 1 ekvivalens NaOH 15 ml metanollal készült oldatában. Hozzáadtam a [Co(tren)Cl₂]Cl prekuzort (100,00 mg, 0,32 mmol), majd az elegyet visszafolyós hűtővel felszerelt gömblombikban mágneses keverővel 60 °C-os olajfürdőn kevertettem egy éjszakán át. Ezt követően az elegyet vattán szűrtem, majd rotációs vákuumbepárlóval szárazra pároltam. A visszamaradt szilárd anyagot 5 ml vízben visszaoldottam, majd szűrést követően az oldathoz hozzáadtam 2 ekvivalens szilárd NaClO₄ – ot. A kapott barna színű porszerű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, vízzel mostam, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 86,20 mg (42 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 2.78-2.90 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.01 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.10 (m, 2H, -CH₂ tren), 3.16 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.52 (m, 0.6H, -CH₂ tren-izomer B) 3.66 (m, 1.4H, -CH₂ tren-izomer A), 5.08 (m, 1.4H, -NH₂ tren-izomer A) 5.22 (m, 0.6H, -NH₂ tren-izomer B), 5.39 (m, 4H, -NH₂ tren), 7.59 (m, 4H, Ar-H), 7.91-8.04 (m, 2H, Ar-H), 8.10 (d, 0.3H, Ar-H-izomer A) 8.40 (d, 0.7H, Ar-H-izomer B), 8.65 (m, 2H, Ar-H). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3447, 1491, 1099, 755, 625. Elemanalízis: $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{Cl}_2\text{CoN}_4\text{O}_{11} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 38.79, H, 4.34, N, 8.62%, mért: C, 38.85, H, 4.49, N, 8.55%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 221.070 ([Co(tren)(flav)]²⁺), 541.095 ([Co(tren)(flav)](ClO₄)⁺).

[Co(tpa)(flav)](ClO₄)₂ (6)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekuzort (145,81 mg, 0,32 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 115,61 mg (46 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 5.22 (d, 1.3H, -CH₂ tpa-izomer A), 5.29 (d, 0.7H, -CH₂ tpa-izomer B) 5.32-5.34 (m, 2H, -CH₂ tpa), 5.58 (d, 1.3H, -CH₂ tpa-izomer A), 5.86 (d, 0.7H, -CH₂ tpa-izomer B) 7.44-7.50 (m, 1H, Ar-H), 7.57 (m, 4H, Ar-H), 7.79-7.89 (m, 5H, Ar-H),

7.97 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B) 8.04-8.14 (m, 4H, Ar-H), 8.36-8.44 (m, 3H, Ar-H), 8.51 (d, 0.7H, Ar-H-izomer A), 9.03 (t, 1H, Ar-H), 9.17 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B), 9.60 (m, 0.7H, Ar-H-izomer A). IR (KBr)/cm⁻¹: 3436, 1612, 1491, 1436, 1094, 766, 623. Elemanalízis: C₃₃H₂₇Cl₂CoN₄O₁₁·0.5H₂O összetételre számolt: C, 49.89, H, 3.55, N, 7.05%, mért: C, 49.89, H, 3.53, N, 7.05%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z: 293.073 ([Co(tpa)(flav)]²⁺).

[Co(tren)(Br-flav)](ClO₄)₂ (7)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tren)Cl₂]Cl prekuzort (50,00 mg, 0,16 mmol) és Br-flavH-t (49,25 mg 0,16 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 41,15 mg (36 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 2.74-2.86 (m, 3H, -CH₂ tren), 2.88-3.05 (m, 4H, -CH₂ tren), 3.08-3.19 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.50 (m, 0.6H, -CH₂ tren-izomer B), 3.76 (m, 1.4H, -CH₂ tren-izomer A), 5.09 (m, 1.4H, -NH₂ tren-izomer A), 5.24 (m, 0.6H, -NH₂ tren-izomer B), 5.40 (m, 4H, -NH₂ tren), 7.54-7.68 (m, 3H, Ar-H), 7.98-8.17 (m, 2H, Ar-H), 8.63-8.67 (m, 3H, Ar-H). IR (KBr)/cm⁻¹: 3457, 1489, 1162, 769, 625. Elemanalízis: C₂₁H₂₆BrCl₂CoN₄O₁₁·0.5H₂O összetételre számolt: C, 34.59, H, 3.73, N, 7.68%, mért: C, 34.52, H, 3.79, N, 7.64%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 260.062 ([Co(tren)(Br-flav)]²⁺).

[Co(tpa)(Br-flav)](ClO₄)₂ (8)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekuzort (65,51 mg, 0,14 mmol) és Br-flavH-t (45,50 mg 0,14 mmol) használva. A termék halványbarnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 53,17 mg (44 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 5.19 (d, 0.7H, -CH₂ tpa-izomer B), 5.21 (d, 1.3H, -CH₂ tpa-izomer A), 5.32-5.33 (m, 2H, -CH₂ tpa), 5.59 (d, 0.7H, -CH₂ tpa-izomer B), 5.95 (d, 1.3H, -CH₂ tpa-izomer A), 7.45 (m, 1H, Ar-H), 7.54-7.60 (m, 3H, Ar-H), 7.72-7.89 (m, 5H, Ar-H), 7.95-8.19 (m, 5H, Ar-H), 8.43-8.49 (m, 3H, Ar-H), 8.65 (d, 0.7H, Ar-H-izomer A), 9.00 (m, 1H, Ar-H) 9.14 (d, 0.7H, Ar-H-izomer A) 9.25 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B) 9.64 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B). IR (KBr)/cm⁻¹: 3425, 1493, 1442, 1094, 769, 624. Elemanalízis: C₃₃H₂₆BrCl₂CoN₄O₁₁·1.2H₂O összetételre számolt: C, 44.74, H, 3.23, N, 6.32%, mért: C, 44.79, H, 3.15, N, 6.24%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z: 332.026 ([Co(tpa)(Br-flav)]²⁺).

[Co(tren)(Me-flav)](ClO₄)₂ (**9**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tren)Cl₂]Cl prekursorral (61,78 mg, 0,20 mmol) és Me-flavH-t (50,00 mg 0,20 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 64,32 mg (49 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/ppm = 2.43$ (m, 3H, -CH₃), 2.76-2.92 (m, 3H, -CH₂ tren), 2.99-3.02 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.06-3.11 (m, 2H, -CH₂ tren), 3.14-3.18 (m, 2H, -CH₂ tren), 3.50 (m, 0.7H, -CH₂ tren-izomer B), 3.64 (m, 1.3H, -CH₂ tren-izomer A), 5.09 (m, 1.3H, -NH₂ tren-izomer A), 5.23 (m, 0.7H, -NH₂ tren-izomer B), 5.35-5.49 (m, 4H, -NH₂ tren), 7.40 (d, 1.3H, Ar-H-izomer A), 7.47 (d, 0.7H, Ar-H-izomer B), 7.60 (m, 1H, Ar-H), 7.92 (m, 1H, Ar-H), 7.98-8.03 (m, 1H, Ar-H), 8.10 (m, 0.3H, Ar-H-izomer B), 8.38 (m, 0.7H, Ar-H-izomer A), 8.56 (m, 2H, Ar-H). IR (KBr)/cm⁻¹: 3443, 1611, 1537, 1491, 1430, 1104, 753, 625. Elemanalízis: C₂₂H₂₉Cl₂CoN₄O₁₁ összetételre számolt: C, 40.26, H, 4.61, N, 8.54%, mért: C, 40.09, H, 4.53 N, 8.45%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 228.579 ([Co(tren)(Me-flav)]²⁺).

[Co(tpa)(Me-flav)](ClO₄)₂ (**10**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekursorral (78,06 mg, 0,17 mmol) és Me-flavH-t (43,26 mg 0,17 mmol) használva. A termék halványbarnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 60,05 mg (44 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/ppm = 2.39$ (s, 1H, -CH₃-izomer B), 2.56 (s, 2H, -CH₃-izomer A), 5.20-5.34 (m, 4H, -CH₂), 5.57 (d, 0.6H, -CH₂ tpa-izomer B), 5.86 (d, 1.4H, -CH₂ tpa-izomer A), 7.39-7.60 (m, 4H, Ar-H), 7.68 (d, 1H, Ar-H), 7.79-7.90 (m, 4H, Ar-H), 7.98 (m, 0.7H, Ar-H-izomer A), 8.02-8.15 (m, 4H, Ar-H), 8.34 (d, 1H, Ar-H), 8.39 (d, 0.6H, Ar-H-izomer B), 8.48 (d, 1.4H, Ar-H-izomer A) 8.91 (d, 1H, Ar-H) 9.00 (m, 0.3H, Ar-H-izomer B), 9.15 (d, 0.7H, Ar-H-izomer A), 9.58 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B). IR (KBr)/cm⁻¹: 3431, 1610, 1492, 1431, 1093, 770, 624. Elemanalízis: C₃₄H₂₉Cl₂CoN₄O₁₁·0.8H₂O összetételre számolt: C, 50.11, H, 3.91, N, 6.88%, mért: C, 50.09, H, 3.72 N, 6.84%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 300.079 ([Co(tpa)(Me-flav)]²⁺).

[Co(tren)(NO₂-F-flav)](Cl)₂ (**11**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tren)Cl₂]Cl prekursorral (53,00 mg, 0,17 mmol) és NO₂-F-flavH-t (50,00 mg 0,17 mmol) használva. A termék vöröses színű porszerű anyag. Kitermelés: 37,24 mg (38 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 2.87 (m, 3H, $-\text{CH}_2$ tren), 2.94 (m, 2H, $-\text{CH}_2$ tren), 3.04-3.16 (m, 4H, $-\text{CH}_2$ tren), 3.56 (m, 3H, $-\text{CH}_2$ tren), 5.53 (m, 2H, $-\text{NH}_2$ tren), 6.05 (m, 2H, $-\text{NH}_2$ tren), 6.29 (m, 2H, $-\text{NH}_2$ tren), 7.81 (m, 1H, Ar-H), 7.89-7.98 (m, 2H, Ar-H), 8.19 (m, 1H, Ar-H), 8.38 (d, 1H, Ar-H), 8.86 (d, 1H, Ar-H), 9.76 (s, 1H, Ar-H). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3430, 1505, 1346, 1242, 797. Elemanalízis: $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{CoFN}_5\text{O}_5 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 38.90, H, 5.13, N, 10.80%, mért: C, 38.49, H, 5.26, N, 10.74%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 252.559 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-F-flav})]^{2+}$), 504.110 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-F-flav})\text{-H}]^+$).

[Co(tpa)(NO₂-F-flav)](ClO₄)₂ (12)

A szintézis menete megegyezett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})](\text{ClO}_4)_2$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekuzort (75,64 mg, 0,17 mmol) és NO₂-F-flavH-t (50,00 mg 0,17 mmol) használva. A termék halványbarnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 67,08 mg (46 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 5.38-5.43 (m, 4H, $-\text{CH}_2$ tpa), 5.53 (d, 0.7H, $-\text{CH}_2$ tpa-izomer B), 5.92 (d, 1.3H, $-\text{CH}_2$ tpa-izomer A), 7.47 (m, 1H, Ar-H), 7.57 (m, 2H, Ar-H), 7.77-7.90 (m, 4H, Ar-H), 8.01-8.29 (m, 6H, Ar-H), 8.36 (m, 0.4H, Ar-H-izomer B), 8.44 (m, 0.6H, Ar-H-izomer A), 8.54 (d, 1H, Ar-H), 8.59 (m, 0.6H, Ar-H-izomer A), 8.73 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 8.88 (m, 0.4H, Ar-H-izomer B), 9.17 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 9.28 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 9.37 (s, 0.4H, Ar-H-izomer B), 9.65 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 10.23 (s, 0.6H, Ar-H-izomer A). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3432, 1501, 1448, 1347, 1094, 624. Elemanalízis: $\text{C}_{33}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{CoFN}_5\text{O}_{13} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 46.13, H, 3.07, N, 8.25%, mért: C, 45.63, H, 3.12, N, 7.96%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 680.134 ($[\text{Co}(\text{tpa})(\text{NO}_2\text{-F-flav})+\text{OMe}]^+$).

[Co(tren)(NO₂-flav)](Cl)(ClO₄) (13)

A szintézis menete megegyezett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})](\text{ClO}_4)_2$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekuzort (48,15 mg, 0,17 mmol) és NO₂-flavH-t (50,00 mg 0,17 mmol) használva. A termék narancssárgás színű porszerű anyag. Kitermelés: 68,15 mg (52 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 2.85 (m, 3H, $-\text{CH}_2$ tren), 2.94 (m, 2H, $-\text{CH}_2$ tren), 3.08-3.15 (m, 4H, $-\text{CH}_2$ tren), 3.55. (m, 3H, $-\text{CH}_2$ tren), 5.49-5.57 (m, 4H, $-\text{NH}_2$ tren), 5.82 (m, 2H, $-\text{NH}_2$ tren), 7.63 (t, 1H, Ar-H), 7.94-8.01 (m, 2H, Ar-H), 8.08 (d, 1H, Ar-H), 8.13 (d, 1H, Ar-H), 8.38 (d, 1H, Ar-H), 8.84 (d, 1H, Ar-H), 9.77 (s, 1H, Ar-H). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3439, 1542, 1496, 1347, 1098, 624. Elemanalízis: $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{CoN}_4\text{O}_9 \cdot 1.7\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 38.63, H, 4.54, N, 10.73%, mért: C, 38.20, H, 4.24, N, 10.51%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 243.564 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-flav})]^{2+}$).

[Co(tpa)(NO₂-flav)](ClO₄)₂ (**14**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ anyag esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekursorral (77,46 mg, 0,17 mmol) és NO₂-flavH-t (48,15 mg 0,17 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 59,14 mg (42 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/ppm = 5.27-5.39$ (m, 4H, -CH₂ tpa), 5.54 (d, 0.6H, -CH₂ tpa-izomer B), 5.88 (d, 1.4H, -CH₂ tpa-izomer A), 7.47 (m, 1H, Ar-H), 7.54-7.59 (m, 2H, Ar-H), 7.78-7.97 (m, 5H, Ar-H), 8.05-8.15 (m, 5H, Ar-H), 8.35-8.44 (m, 2H, Ar), 8.55 (d, 1H, Ar-H), 8.59 (m, 0.6H, Ar-H-izomer A), 8.72 (m, 0.4H, Ar-H-izomer B) 9.06 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 9.15 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 9.29 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 9.39 (s, 0.4H, Ar-H-izomer B), 9.59 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 10.25 (s, 0.6H, Ar-H-izomer A). IR (KBr)/cm⁻¹: 3436, 1541, 1495, 1349, 1093, 768, 624. Elemanalízis: C₃₃H₂₆Cl₂CoN₅O₁₃·0.6H₂O összetételre számolt: C, 47.12, H, 3.26, N, 8.33%, mért: C, 46.68, H, 3.26 N, 8.21%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 315.564 ([Co(tpa)(NO₂-flav)]²⁺), 662.145 ([Co(tpa)(NO₂-flav)+OMe]⁺).

[Co(tren)(kriz)](Cl)(ClO₄) (**15**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tren)Cl₂]Cl prekursorral (100,00 mg, 0,32 mmol) és krizH-t (81,36 mg 0,32 mmol) használva. A termék halványbarnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 72,17 mg (38 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/ppm = 2.75-2.77$ (m, 4H, -CH₂ tren), 2.87 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.18 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.48 (m, 2H, -CH₂ tren), 5.31 (m, 2H, -NH₂ tren), 5.50 (m, 2H, -NH₂ tren), 5.70 (m, 2H, -NH₂ tren), 6.34 (m, 2H, Ar-H), 7.50 (s, 1H, -CH), 7.63 (m, 3H, Ar-H), 8.10 (m, 2H, Ar-H). IR (KBr)/cm⁻¹: 3420, 1634, 1531, 1430, 1169, 1107. Elemanalízis: C₂₁H₂₇Cl₂CoN₄O₈·H₂O összetételre számított: C, 41.26, H, 4.78, N, 9.17%, mért: C, 41.13, H, 4.78 N, 9.22%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 229.069 ([Co(tren)(kriz)]²⁺), 457.129 ([Co(tren)(kriz)-H]⁺).

[Co(tpa)(kriz)](ClO₄)₂ (**16**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekursorral (145,81 mg, 0,32 mmol) és krizH-t (81,36 mg 0,32 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 79,90 mg (28 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/ppm = 4.97$ (d, 1H, -CH₂ tpa-izomer A), 5.12 (d, 1H, -CH₂ tpa-izomer B), 5.30 (d, 2H, -CH₂ tpa), 5.59 (d, 1H, Ar-H-izomer A), 5.70 (d, 1H, Ar-H-izomer B), 6.43 (d, 1H, Ar-H), 6.56 (s, 0.5H, Ar-H-izomer A), 7.27 (s, 0.5H, Ar-H-izomer B), 7.41-7.46

(m, 1H, Ar-H), 7.51-7.62 (m, 3H, Ar-H), 7.72-7.84 (m, 4H, Ar-H), 7.92 (d, 1H, Ar-H), 8.00-8.06 (m, 2H, Ar-H), 8.11 (m, 2H, Ar-H), 8.23 (m, 2H, Ar-H), 8.28 (m, 2H, Ar-H), 9.26 (d, 0.5H, Ar-H-izomer A), 9.44 (d, 0.5H, Ar-H-izomer B), 11.05 (s, 0.5H, -OH-izomer A), 11.38 (s, 0.5H, -OH-izomer B). IR (KBr)/cm⁻¹: 3434, 1633, 1525, 1101, 771, 623. Elemanalízis: C₃₃H₂₇Cl₂CoN₄O₁₂·1H₂O összetételre számolt: C, 48.37, H, 3.57, N, 6.84%, mért: C, 48.09, H, 3.61 N, 7.09%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 301.069 ([Co(tpa)(kriz)]²⁺), 601.129 ([Co(tpa)(kriz)-H]⁺), 701.085 ([Co(tpa)(kriz)+ClO₄]⁺).

[Co(tren)(Cl-OMe-flav)](ClO₄)₂ (**17**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tren)Cl₂]Cl prekursorral (53,00 mg, 0,17 mmol) és Cl-OMe-flavH-t (50,00 mg 0,17 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 67,65 mg (56 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 2.76-2.85 (m, 2H, -CH₂ tren), 2.88-3.03 (m, 4H, -CH₂ tren), 3.07-3.12 (m, 2H, -CH₂ tren), 3.14-3.17 (m, 2H, -CH₂ tren), 3.51 (m, 0.7H, -CH₂ tren-izomer B), 3.73 (m, 1.3H, -CH₂ tren-izomer A), 3.89 (m, 3H, -CH₃), 5.07 (m, 1.3H, NH₂ tren-izomer A), 5.21 (m, 0.7H, NH₂ tren-izomer B), 5.36-5.43 (m, 4H, NH₂ tren), 7.14 (d, 1.3H, Ar-H-izomer A), 7.23 (d, 0.7H, Ar-H-izomer B), 7.91 (m, 1H, Ar-H), 7.99 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 8.04 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 8.10 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 8.47 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 8.64-8.67 (m, 2H, Ar-H). IR (KBr)/cm⁻¹: 3463, 3259, 1603, 1492, 1433, 1108, 626. Elemanalízis: C₂₂H₂₈Cl₃CoN₄O₁₂·1.5H₂O összetételre számolt: C, 36.06, H, 4.26, N, 7.65%, mért: C, 35.89, H, 3.72 N, 7.46%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 253.057 ([Co(tren)(Cl-OMe-flav)]²⁺), 505.107 ([Co(tren)(Cl-OMe-flav)-H]⁺), 605.063 ([Co(tren)(Cl-OMe-flav)+ClO₄]⁺).

[Co(tren)(iPr-flav)](ClO₄)₂ (**18**)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(flav)](ClO₄)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tren)Cl₂]Cl prekursorral (55,54 mg, 0,18 mmol) és iPr-flavH bioligandumot (50,00 mg 0,18 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 55,23 mg (45 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 1.27 (d, 6H, -CH₃), 2.78 (m, 3H, -CH₂ tren), 2.94-3.03 (m, 5H, -CH₂ tren, -CH), 3.16 (m, 3H, -CH₂ tren), 3.63 (m, 2H, -CH₂ tren), 5.39 (m, 2H, -NH₂ tren), 5.53 (m, 2H, -NH₂ tren), 5.89 (m, 2H, -NH₂ tren), 7.45 (d, 2H, Ar-H), 7.59 (t, 1H, Ar-H), 7.91 (t, 1H, Ar-H), 7.97 (d, 1H, Ar-H), 8.36 (d, 1H, Ar-H), 8.57 (d, 2H, Ar-H). IR (KBr)/cm⁻¹: 3512, 1615, 1603, 1493, 1090, 764, 623. Elemanalízis: C₂₄H₃₃Cl₂CoN₄O₁₁·1.5H₂O összetételre számolt: C, 44.59, H, 5.61, N, 8.67%, mért: C, 44.79,

H, 5.78 N, 8.73%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 242.094 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{iPr-flav})]^{2+}$), 483.180 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{iPr-flav})-\text{H}]^+$).

$[\text{Co}(\text{tren})(\text{nar})](\text{Cl})(\text{ClO}_4)$ (19)

A szintézis menete megegyezett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})](\text{ClO}_4)_2$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursorral (100,00 mg, 0,32 mmol) és narH-t (87,12 mg 0,32 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 89,19 mg (46 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 2.70-2.89 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 2.91-2.99 (m, 2H, $-\text{CH}_2$), 3.00-3.15 (m, 3H, $-\text{CH}_2$), 3.18-3.37 (m, 5H, $-\text{CH}_2$) 2.78 (m, 3H, $-\text{CH}_2$ tren), 5.22-5.55 (m, 6.6H, $-\text{NH}_2$ tren, $-\text{CH}$ -izomer A), 5.75 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 5.78 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 5.98 (m, 0.4H, $-\text{CH}$ -izomer B), 6.05 (d, 0.6H, Ar-H-izomer A), 6.15 (d, 0.4H, Ar-H-izomer B), 6.88-6.95 (m, 2H, Ar-H), 7.37-7.42 (m, 2H, Ar-H). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3421, 1610, 1100, 836, 624. Elemanalízis: $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{Cl}_2\text{CoN}_4\text{O}_9 \cdot 1.5\text{MeOH}$ összetételre számolt: C, 41.11, H, 5.06, N, 8.52%, mért: C, 41.30, H, 4.94 N, 8.04%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 238.075 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{nar})]^{2+}$), 475.141 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{nar})-\text{H}]^+$), 575.098 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{nar})+\text{ClO}_4]^+$).

$[\text{Co}(\text{tpa})(\text{iPr-flav})](\text{ClO}_4)_2$ (20)

A szintézis menete megegyezett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})](\text{ClO}_4)_2$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursorral (55,54 mg, 0,18 mmol) és iPr-flavH-t (50,00 mg 0,18 mmol) használva. A termék barnás színű porszerű anyag. Kitermelés: 34,15 mg (22 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 1.23 (d, 2H, $-\text{CH}_3$ -izomer B), 1.39 (d, 4H, $-\text{CH}_3$ -izomer A), 2.96 (m, 0.3H, $-\text{CH}$ -izomer B), 3.14 (m, 0.7H, $-\text{CH}$ -izomer A), 5.20-5.29 (m, 2H, $-\text{CH}_2$), 5.32 (s, 0.6H, $-\text{CH}_2$ -izomer B), 5.35 (s, 1.4H, $-\text{CH}_2$ -izomer A), 5.58 (d, 0.6H, $-\text{CH}_2$ -izomer B), 5.85 (d, 1.4H, $-\text{CH}_2$ -izomer A), 7.79-7.89 (m, 4H, Ar-H), 7.96-7.98 (m, 1H, Ar-H), 8.04-8.08 (m, 2H, Ar-H), 8.12 (t, 2H, Ar-H), 8.34 (d, 0.7H, Ar-H-izomer A), 8.38-8.40 (m, 1H, Ar-H), 8.49 (d, 2H, Ar-H), 8.99 (d, 1H, Ar-H), 9.03 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B), 9.18 (d, 0.7H, Ar-H-izomer A), 9.60 (d, 0.3H, Ar-H-izomer B). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3435, 1492, 1431, 1094, 765, 623. Elemanalízis: $\text{C}_{36}\text{H}_{35}\text{Cl}_2\text{CoN}_4\text{O}_{12}$ összetételre számolt: C, 52.25, H, 4.02, N, 6.77%, mért: C, 52.69, H, 4.18 N, 6.64%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 314.096 ($[\text{Co}(\text{tpa})(\text{iPr-flav})]^{2+}$).

4.2.2.2. Quinizarin tartalmú komplexek előállítása

$[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (21)

QuinH₂-t (38,00 mg, 0.16 mmol) feloldottam 2 ekvivalens 1M KOH (320 μL) 10 ml izopropanollal készített oldatában. Az elegyhez hozzácepegtettem a $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursor (100,00 mg, 0,32 mmol) 5 ml vízzel készített oldatát. Az elegyet visszafolyós hűtővel ellátott gömblombikban mágneses keverővel reflux hőmérsékleten kevertettem 4 órán keresztül. Ezt követően a szobahőmérsékletűre hűlt elegyet szűrtem, majd az oldathoz feleslegben szilárd NaClO₄-ot adtam. A 4 °C-on kis idő elteltével belül, az oldatból kiváló lila porszerű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, majd metanollal mostam. A nyers terméket acetonitrilből átkristályosítottam. A lila színű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 72,18 mg (43 %).

^1H NMR (400 MHz, D₂O): δ/ppm = 8.46 (m, 2H, Ar-H); 7.94 (m, 2H, Ar-H); 7.46 (t, 1H, Ar-H); 7.37 (t, 1H, Ar-H); 3.94 (m, 2H, -CH₂); 3.84 (m, 2H, -CH₂); 3.54 (m, 4H, -CH₂); 3.37 (m, 4H, -CH₂); 3.24 (m, 4H, -CH₂); 3.07 (m, 6H, -CH₂); 2.88 (m, 2H, -CH₂). (400 MHz, d⁶-DMSO): δ/ppm = 8.44 (m, 2H, Ar-H); 7.96 (m, 2H, Ar-H); 7.47 (t, 1H, Ar-H); 7.28 (t, 1H, Ar-H); 5.48 (m, 4H, -NH₂); 5.32 (m, 4H, -NH₂); 5.24 (m, 3H, -NH₂); 5.13 (m, 1H, -NH₂); 3.58 (m, 4H, -CH₂); 3.41 (m, 4H, -CH₂); 3.21 (m, 4H, -CH₂); 3.00 (m, 4H, -CH₂); 2.85 (m, 4H, -CH₂); 2.78 (m, 4H, -CH₂). IR (KBr)/cm⁻¹: 3260, 1543, 1422, 1105, 625. Elemanalízis: C₂₆H₄₂Cl₄Co₂N₈O₂₀·0.8NaClO₄·0.6 H₂O összetételre számolt: C, 27.03, H, 3.77, N, 9.70 %, mért: C, 27.00, H, 3.78, N, 9.58 %. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z: 444.122 ($[\text{Co}^{\text{II}}(\text{tren})(\text{quin})+\text{H}]^+$); 304.037 ($[\text{Co}^{\text{II}}(\text{tren})(\text{ClO}_4)]^+$).

$[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (22)

A szintézis menete megegyezett a $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursor (100,00 mg, 0,22 mmol) és quinH₂-t (26,00 mg, 0,11 mmol) használva. A nyers terméket vízből kristályosítottam át. A termék lilás színű porszerű anyag. Kitermelés: 94,22 mg (47 %).

^1H NMR (400 MHz, d⁶-DMSO): δ/ppm = 9.44 (d, 0.5H, Ar-H); 9.37 (m, 1.5H, Ar-H); 9.11 (d, 0.5H, Ar-H); 8.59 (d, 0.5H, Ar-H); 8.46 (m, 0.5H, Ar-H); 8.32 (m, 1.5H, Ar-H); 8.24 (m, 3H, Ar-H); 8.12 (m, 8H, Ar-H); 7.85 (m, 8H, ArH); 7.57 (m, 1H, ArH); 7.41 (m, 5H, ArH); 5.86 (m, 2.5H, -CH₂); 5.70 (m, 1.5H, -CH₂); 5.35-5.17 (m, 6H, -CH₂); 5.06-4.96 (m, 2H, -CH₂). IR (KBr)/cm⁻¹: 3434, 3083, 1611, 1540, 1424, 1278, 1091, 770, 623. Elemanalízis:

$C_{50}H_{42}Cl_4Co_2N_8O_{20} \cdot 2 H_2O$ összetételre számolt: C, 43.81, H, 3.38, N, 8.18 %, mért: C, 43.95, H, 3.34, N, 8.26 %. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 588.119 ($[Co^{II}(tpa)(quin)+H]^+$); 468.099 ($[Co^{II}(tpa)_2(quin)]^{2+}$); 448.034 ($[Co^{II}(tpa)(ClO_4)]^+$); 174.542 ($[Co^{II}(tpa)]^{2+}$).

$[(Co(tren))_2(quinS)](PF_6)_3$ (23)

QuinSH₂-t (51,00 mg, 0.16 mmol) feloldottam 2 ekvivalens 1M KOH (320 µL) 10 ml metanollal készített oldatában. A $[Co(tren)Cl_2]Cl$ prekursor (100,00 mg, 0.32 mmol) hozzáadását követően, az elegyet visszafolyós hűtővel felszerelt gömblombikban mágneses keverővel kevertettem 60 °C-os olajfürdőn egy éjszakán át. Ezt követően a szobahőmérsékletre hűlt elegyet szűrtem, majd 4 ekvivalens szilárd NH₄PF₆-ot (78,00 mg, 0,48 mmol) adtam az oldathoz. Ennek hatására nagyobb mennyiségű halvány lilás színű szilárd anyag vált ki az oldatból. Az elegyet reflux hőmérsékletre melegítettem, aminek következtében az összes szilárd anyag feloldódott és tiszta oldat keletkezett. Az oldatot hagyva lassan szobahőmérsékletre hűlni, lila színű szilárd anyag vált ki, amit üvegszűrőn szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 78,26 mg (48 %).

1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO): δ/ppm = 8.41 (m, 2H, Ar-H quinS); 7.93 (m, 2H, Ar-H quinS); 7.75 (s, 0.5H, Ar-H quinS); 7.60 (s, 0.5H, Ar-H quinS); 6.02 (m, 1H, -NH₂); 5.90-5.67 (m, 7H, -NH₂); 5.45 (m, 2H, -NH₂); 5.25 (m, 1H, -NH₂); 5.06 (m, 1H, -NH₂); 4.26 (m, 2H, -CH₂); 3.57 (m, 2H, -CH₂); 3.42 (m, 2H, -CH₂); 3.25-3.11 (m, 4H, -CH₂); 2.98 (m, 5H, -CH₂); 2.85 (m, 7H, -CH₂); 2.63 (m, 2H, -CH₂). IR (KBr)/cm⁻¹: 1602, 1413, 1048, 639, 501, 419. Elemanalízis: $C_{26}H_{41}Co_2F_{18}N_8O_7P_3S$ összetételre számolt: C, 26.86, H, 3.55, N, 9.64, S, 2.76 %, mért: C, 26.51, H, 3.46, N, 9.95, S, 2.58 %. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): 363.070 ($[Co^{III}(tren)_2quinS-H]^{2+}$).

$[(Co(tpa))_2(quinS)](ClO_4)_3$ (24)

A szintézis menete megegyezett a $[(Co(tren))_2(quin)](ClO_4)_4$ esetén alkalmazottal, $[Co(tpa)Cl_2]Cl$ prekuzort (146,00 mg, 0,32 mmol) és quinSH₂-t (51,00 mg 0,16 mmol), oldószerként 10 ml vizet használva. Az elegyet 70 °C-on kevertettem, illetve a NaClO₄ mellett 20 ml propanolt adtam hozzá. A termék lila színű porszerű szilárd anyag. Kitermelés: 132,23 mg (63 %).

1H NMR (400 MHz, d^6 -DMSO): δ/ppm = 10.31 (d, 1H, Ar-H tpa); 9.44 (d, 1H, Ar-H tpa); 8.83 (s, 1H, Ar-H quinS); 8.45 (d, 2H, Ar-H tpa); 8.41 (d, 2H, Ar-H); 8.34 (m, 2H, Ar-H); 8.11-7.98 (m, 6H, Ar-H); 7.84 (m, 3H, Ar-H); 7.77 (t, 4H, Ar-H); 7.69 (t, 1H, Ar-H); 7.62 (t, 2H, Ar-H); 7.56 (t, 2H, Ar-H); 7,40 (dd, 2H, Ar-H); 5.73 (dd, 4H, -CH₂); 5.33 (d, 4H, -CH₂);

5.19 (dd, 4H, -CH₂). IR (KBr)/cm⁻¹: 1612, 1450, 1050, 637, 504, 419. Elemanalízis: C₅₀H₄₁Cl₃Co₂N₈O₁₉S·0.5 CH₃CH₂CH₂OH·2 H₂O összetételre számolt: C, 44.81, H, 3.58, N, 8.12, S, 2.32 %, mért: C, 44.82, H, 3.57, N, 7.95, S, 2.53 %. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): 667.068 ([Co^{III}(tpa)quinS+H]⁺); 507.573 ([Co^{III}(tpa))(quinS)(Co^{II}(tpa))] ²⁺); 174.543 ([Co^{II}(tpa)] ²⁺).

4.2.2.3. Kinolon tartalmú komplexek előállítása

[Co(tren)(lev)](PF₆)₂ (25)

LevH-t (115,63 mg, 0,32 mmol) feloldottam 2 ekvivalens 1M KOH (320 µL) 15 ml 96 %-os etanollal készített oldatában. Az elegyhez hozzácepegtettem a [Co(tren)Cl₂]Cl prekursor (100,00 mg, 0,32 mmol) 5 ml vízzel készített oldatát, majd az elegy pH-ját 1 M-os KOH oldattal 9-es értékre állítottam. Az elegyet visszafolyós hűtővel ellátott gömblombikban mágneses keverővel 60 °C-os olajfürdőn kevertettem egy éjszakán át. Ezt követően a szobahőmérsékletűre hűlt elegyhez hozzáadtam 2 ekvivalens szilárd NH₄PF₆-ot (104,38 mg, 0,64 mmol). Az elegy lassú bepárlásával narancssárga színű szilárd anyag vált ki az oldatból, amit üvegszűrőn szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kiremelés: 106,28 mg (39 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 9.18 (s, 1H, Ar-H); 7.86 (d, 1H, Ar-H); 5.51 (m, 2H, -CH₂); 5.18 (m, 5H, -CH, -NH₂); 4.68 (m, 1H, -NH₂); 4.34 (m, 1H, -NH₂); 3.54 (m, 2H, tren-H); 3.33 (m, 8H, tren-H, -CH₂); 3.18 (t, 2H, tren-H); 2.92 (m, 3H, -CH₂); 2.73 (m, 5H, tren-H); 2.27 (s, 3H, -CH₃) 1.47 (d, 3H, -CH₃). IR (KBr)/cm⁻¹: 3434, 3221, 3120, 1636, 1520, 1472, 1281, 843, 558. Elemanalízis: C₂₄H₃₇CoF₁₃N₇O₄P₂ összetételre számolt: C, 33.70, H, 4.36, N, 11.46%, mért: C, 33.77, H, 4.63 N, 11.03%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z: 282.608 ([Co(tren)(lev)] ²⁺).

[Co(tren)(nal)](PF₆)₂ (26)

A szintézis menete megegyezett az [Co(tren)(lev)](PF₆)₂ esetén alkalmazottal, nalH-t (74,32 mg, 0,32 mmol) használva. A termék rózsaszín színű porszerű anyag. Kitermelés: 104,15 mg (45 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 9.49 (s, 1H, Ar-H); 8.80 (d, 1H, Ar-H); 7.74 (d, 1H, Ar-H); 5.69 (m, 2H, -NH₂); 5.34-5.21 (m, 4H, -NH₂); 4.79 (q, 2H, -CH₂); 3.36 (m, 4H, tren-H); 3.13 (m, 2H, tren-H); 3.02 (m, 2H, tren-H); 2.76 (m, 5H, tren-H, -CH₃); 2.63 (m, 2H, tren-H); 1.43 (t, 3H, N-CH₂-CH₃). IR (KBr)/cm⁻¹: 3339, 3281, 3058, 1611, 1565, 1523, 1498, 1452, 1262, 835. Elemanalízis: C₁₈H₂₉CoF₁₂N₆O₃P₂ összetételre számolt: C, 29.77, H, 4.02, N,

11.57 %, mért: C, 29.37, H, 4.05, N, 11.48%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 581.123 ([Co(tren)(nal)](PF₆)⁺).

[Co(tpa)(nal)](PF₆)₂ (27)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(lev)](PF₆)₂ esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekursor (145,81 mg, 0,32 mmol) és nalH-t (74,32 mg 0,32 mmol) használva. A termék mély vörös színű porszerű anyag. Kitermelés: 89,46 mg (32 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 9.56 (s, 1H, Ar-H); 9.14 (d, 1H, py-H); 9.00 (d, 1H, py-H); 8.43 (m, 1H, Ar-H); 8.24 (m, 1H, py-H); 8.10 (m, 2H, py-H); 8.03 (m, 1H, py-H); 7.78 (m, 3H, py-H); 7.63 (m, 3H, py-H, Ar-H); 7.42 (m, 1H, py-H); 5.79 (d, 2H, tpa-CH₂); 5.31 (s, 2H, tpa-CH₂); 5.13 (d, 2H, tpa-CH₂); 4.71 (q, 2H, Nal-CH₂); 2.69 (s, 3H, -CH₃); 1.38 (t, 3H, -CH₃). IR (KBr)/cm⁻¹: 3420, 3087, 2977, 1724, 1651, 1488, 1449, 1287, 1258, 803, 558. Elemanalízis: C₃₀H₂₉CoF₁₂N₆O₃P₂ összetételre számolt: C, 41.39, H, 3.36, N, 9.65%, mért: C, 41.67, H, 3.35, N, 9.74%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 725.126 ([Co(tpa)(nal)](PF₆)⁺).

[Co(tren)(cip)](PF₆)₂ (28)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(lev)](PF₆)₂ esetén alkalmazottal, a pH beállítása nélkül, [Co(tren)Cl₂]Cl prekursor (100,00 mg, 0,32 mmol) és cipH-t (106,03 mg 0,32 mmol) használva, a reakcióelegyet 80 °C-on kevertetve. A termék rózsaszín színű porszerű anyag. Kitermelés: 98,75 mg (37 %).

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 8.93 (s, 1H, Ar-H); 8.13 (d, 1H, Ar-H); 7.61 (d, 1H, Ar-H); 5.46 (m, 2H, -NH₂); 5.11 (m, 4H, -NH₂); 4.01 (m, 1H, -CH); 3.55 (m, 2H, tren-H); 3.28 (m, 5H, tren-H, -CH₂); 3.17 (m, 2H, tren-H); 2.93 (m, 6H, tren-H, -CH₂); 2.72 (m, 5H, tren-H, -CH₂); 1.44 (m, 2H, -CH₂ cp); 1.10 (m, 2H, -CH₂ cp). IR (KBr)/cm⁻¹: 3327, 3132, 1638, 1521, 1476, 1260, 844, 558. Elemanalízis: C₂₃H₃₅CoF₁₃N₇O₃P₂·H₂O összetételre számolt: C, 32.75, H, 4.42, N, 11.62%, mért: C, 32.90, H, 4.28, N, 11.57%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 680.175 ([Co(tren)(cip)](PF₆)⁺).

[Co(tpa)(cip)](PF₆)₂ (29)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(lev)](PF₆)₂ esetén alkalmazottal, a pH beállítása nélkül, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekursor (145,81 mg, 0,32 mmol) és cipH-t (106,03 mg 0,32 mmol) használva, a reakcióelegyet 50 °C-on kevertetve. A termék narancs színű porszerű szilárd anyag. Kitermelés: 112,37 mg (35 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 9.39 (d, 1H, py-H); 9.15 (d, 1H, py-H); 9.06 (m, 1H, Ar-H); 8.85 (s, 1H, Ar-H); 8.71 (s, 1H, Ar-H); 8.37 (m, 1H, py-H); 8.31 (m, 1H, py-H); 8.17 (m, 1H, py-H); 8.01 (m, 1H, py-H); 7.87 (m, 1H, py-H); 7.80 (m, 1H, py-H); 7.61-7.42 (m, 4H, py-H); 5.79 (d, 0.6H, tpa-CH₂ izomer B); 5.45 (d, 1.4H, tpa-CH₂ izomer A); 5.31 (s, 0.6H, tpa-CH₂ izomer B); 5.25 (s, 1.4H, tpa-CH₂ izomer A); 5.09 (d, 0.6H, tpa-CH₂ izomer B); 4.91 (d, 1.4H, tpa-CH₂ izomer A); 4.02 (m, 1H, -CH); 3.66 (m, 2H, -CH₂); 3.49 (m, 2H, -CH₂); 3.41 (m, 2H, -CH₂); 3.32 (m, 2H, -CH₂); 1.35 (m, 2H, -CH₂ cp); 1.19 (m, 2H, -CH₂ cp). IR (KBr)/cm⁻¹: 3422, 3249, 3119, 1639, 1524, 1471, 1272, 841, 558. Elemanalízis: C₃₅H₃₅CoF₁₃N₇O₃P₂·2 H₂O összetételre számolt: C, 41.80, H, 3.91, N, 9.70%, mért: C, 41.55, H, 3.92, N, 9.82 %. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 339.605 ([Co(tpa)(cip)]²⁺).

[Co(tren)(spa)](PF₆)(Cl) (30)

SpaH-t (125,57 mg, 0,32 mmol) feloldottam 2 ekvivalens NaOH (12,80 mg, 0,32 mmol) 12 ml metanollal készített oldatában. A [Co(tren)Cl₂]Cl prekursor (100,00 mg, 0,32 mmol) hozzáadását követően az elegyet visszafolyós hűtővel ellátott gömblombikban mágneses keverővel 60 °C-os olajfürdőn kevertettem egy éjszakán át. Ezt követően a szobahőmérsékletűre hűlt elegyhez hozzáadtam 2 ekvivalens szilárd NH₄PF₆-ot (104,38 mg, 0,64 mmol). Az elegyből kivált narancssárga színű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 123,55 mg (48 %).

^1H NMR (400 MHz, D₂O): δ/ppm = 8.98 (s, 1H, Ar-H); 4.23 (m, 1H, -CH); 3.72 (m, 2H, tren-H); 3.57 (m, 6H, tren-H, -CH₂, -CH); 3.28 (m, 6H, tren-H, -CH₂, -CH); 2.97 (m, 2H, tren-H); 2.88 (m, 2H, tren-H); 1.32 (m, 6H, -CH₃); 1.15 (m, 4H, -CH₂ cp). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ/ppm = 8.77 (s, 1H, Ar-H); 6.55 (m, 2H, -NH₂ spa); 5.72 (m, 2H, -NH₂ tren); 5.62 (m, 2H, -NH₂ tren); 5.52 (m, 2H, -NH₂ tren); 4.09 (m, 1H, -CH); 3.30 (m, 2H, tren-H); 3.17 (m, 6H, tren-H, -CH₂, -CH); 2.97 (m, 6H, tren-H, -CH₂, -CH); 2.87 (m, 2H, tren-H); 2.66 (m, 2H, tren-H); 1.22 (m, 3H, -CH₃); 1.09 (m, 7H, -CH₂ cp, -CH₃). IR (KBr)/cm⁻¹: 3404, 3328, 3211, 3091, 1640, 1525, 1433, 1298, 1182, 1030, 845, 559. Elemanalízis: C₂₅H₃₉CoF₈N₈O₃PCl·2 H₂O összetételre számolt: C, 36.93, H, 5.33, N, 13.78%, mért: C, 36.52, H, 5.43, N, 13.33%. MS (ESI TOF pozitív ion mód): m/z : 298.120 ([Co(tren)(spa)]²⁺).

[Co(tpa)(norH)](BF₄)₃ (31)

A szintézis menete megegyezett a [Co(tren)(spa)](PF₆)(Cl) esetén alkalmazottal, [Co(tpa)Cl₂]Cl prekursor (145,81 mg, 0,32 mmol) és norH-t (102,19 mg, 0,32 mmol),

valamint NH_4PF_6 helyett NaBF_4 -ot (70,27 mg, 0,64 mmol) használva. A termék rózsaszín színű porszerű szilárd anyag. Kitermelés: 61,79 mg (20 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 9.36$ (m, 1H, py-H); 9.31 (s, 1H, Ar-H); 9.02 (s, 1H, Ar-H); 8.34 (d, 2H, py-H); 8.13 (t, 2H, py-H); 8.04 (m, 1H, py-H); 7.87 (m, 1H, py-H); 7.80 (m, 2H, py-H); 7.47 (t, 2H, py-H); 7.41 (m, 2H, py-H, Ar-H); 5.49 (d, 2H, tpa- CH_2); 5.24 (s, 2H, tpa- CH_2); 4.94 (d, 2H, tpa- CH_2); 4.75 (q, 2H, nor- CH_2); 3.63 (m, 2H, nor- CH_2); 3.33 (m, 6H, Nor- CH_2); 1.43 (t, 3H, - CH_3). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3434, 1640, 1525, 1472, 1273, 1095, 771, 625. Elemanalízis: $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{B}_3\text{CoF}_{13}\text{N}_7\text{O}_3 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 42.29, H, 4.16, N, 9.86%, mért: C, 42.65, H, 4.35, N, 10.27%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 333.606 ($[\text{Co}(\text{tpa})(\text{nor})]^{2+}$).

$[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})](\text{PF}_6)_2$ (32)

A szintézis menete megegyezett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{PF}_6)(\text{Cl})$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekuzort (125,00 mg, 0,40 mmol) és norH-t (127,74 mg, 0,40 mmol) használva. A termék rózsaszín színű porszerű szilárd anyag. Kitermelés: 95,44 mg (29 %).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): $\delta/\text{ppm} = 9.08$ (s, 1H, Ar-H); 8.23 (d, 1H, Ar-H); 7.34 (d, 1H, Ar-H); 4.65 (q, 2H, - CH_2); 3.83 (m, 2H, tren-H); 3.55 (m, 2H, tren-H); 3.37 (m, 6H, tren-H, - CH_2); 3.18 (m, 2H, tren-H); 3.06 (m, 4H, - CH_2); 2.97 (m, 2H, tren-H); 2.90 (m, 2H, tren-H); 1.59 (t, 3H, - CH_3). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): $\delta/\text{ppm} = 9.16$ (s, 1H, Ar-H); 8.18 (d, 1H, Ar-H); 7.26 (d, 1H, Ar-H); 5.49 (m, 2H, - NH_2); 5.25 (m, 4H, - NH_2); 4.75 (q, 2H, - CH_2); 3.55 (m, 4H, tren-H); 3.17 (m, 2H, tren-H); 3.10 (m, 6H, tren-H, - CH_2); 2.91 (m, 3H, tren-H); 2.73 (m, 5H, - CH_2 , tren-H); 1.42 (t, 3H, - CH_3). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3445, 3277, 1637, 1481, 1256, 1092, 845, 625, 558. Elemanalízis: $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{P}_2\text{CoF}_{13}\text{N}_7\text{O}_5$ összetételre számolt: C, 31.11, H, 4.63, N, 11.54%, mért: C, 30.96, H, 4.85, N, 11.42%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 261.603 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})]^{2+}$).

$[\text{Co}(\text{tpa})(\text{lev})](\text{ClO}_4)_2$ (33)

LevH-t (57,82 mg, 0,16 mmol) feloldottam 1 ekvivalens NaOH (6,4 mg, 0,16 mmol) 10 ml vízzel készített oldatában. A $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekuzor (72,91 mg, 0,16 mmol) hozzáadását követően az elegyet visszafolyós hűtővel ellátott gömblombikban mágneses keverővel 60 °C-os olajfürdőn kevertettem egy éjszakán át. Ezt követően a szobahőmérsékletűre hűlt elegyet szűrtem, majd hozzáadtam 2 ekvivalens szilárd NaClO_4 -ot (39,18 mg, 0,32 mmol). Az elegyből kiváló vörös színű szilárd anyagot szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 59,15 mg (38 %).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ/ppm = 9.36 (d, 1H, py-H izomer A); 9.19 (d, 1H, py-H izomer B); 9.06 (s, 1H, Ar-H izomer A); 8.91 (s, 1H, Ar-H izomer B); 8.60 (d, 1H, Ar-H izomer A); 8.45 (d, 2H, py-H); 8.31 (m, 2H, Ar-H izomer B, py-H); 8.09-7.99 (m, 4H, py-H); 7.98-7.88 (m, 2H, py-H); 7.79-7.66 (m, 7H, py-H); 7.53 (m, 2H, py-H); 7.44 (m, 2H, py-H); 7.31 (m, 2H, py-H); 5.78-5.60 (m, 1H, tpa- CH_2); 5.05 (m, 1H, tpa- CH_2); 4.92-4.81 (m, 9H, tpa- CH_2 , lev- CH_2); 4.63 (d, 1H, tpa- CH_2); 4.53-4.43 (m, 3H, tpa- CH_2); 4.33 (d, 1H, tpa- CH_2); 3.58 (t, 4H, - CH_2 izomer A); 3.38 (t, 4H, - CH_2 izomer B); 2.84 (t, 4H, - CH_2 izomer A); 2.72 (t, 4H, - CH_2 izomer B); 2.47 (s, 3H, - CH_3 izomer A); 2.40 (s, 3H, - CH_3 izomer B); 1.58 (d, 3H, - CH_3 izomer A); 1.50 (d, 3H, - CH_3 izomer B). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3439, 1633, 1519, 1448, 1272, 1094, 624. Elemanalízis: $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{Cl}_2\text{CoFN}_7\text{O}_{12}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 44.92, H, 4.50, N, 10.19%, mért: C, 44.65, H, 4.15, N, 10.14%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 354.612 ($[\text{Co}(\text{tpa})(\text{lev})]^{2+}$).

4.2.2.4. Retrohidroxámsav tartalmú komplexek előállítása

$[\text{Co}(\text{tren})(\text{HFA})](\text{PF}_6)_{1.5}\text{Cl}_{0.5}$ (**34**)

HFAH-t (43,88 mg, 0,32 mmol) és $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ (100,00 mg, 0,32 mmol) prekuzort feloldottam 1 ekvivalens NaOH (12,80 mg, 0,32 mmol) 20 ml vízzel készített oldatában. Az elegyet visszafolyós hűtővel ellátott gömblombikban mágneses keverővel 60 °C-os olajfürdőn kevertettem egy éjszakán át. Ezt követően a szobahőmérsékletűre hűlt elegyet szűrtem, majd az oldatot szárazra pároltam. A visszamaradt szilárd anyagot 20 ml etanolban feloldottam, majd hozzáadtam 2 ekvivalens NH_4PF_6 (104,32 mg, 0,64 mmol) 20 ml etanollal készített oldatát. Az elegyből lassú bepárlás hatására kiváló lilás színű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, majd vákuumban szárítottam. Kitermelés: 40,17 mg (20 %).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ/ppm = 7.77 (s, 1H, formil H), 7.55 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (m, 3H, Ar-H), 3.69 (m, 2H, - CH_2), 3.38 (m, 2H, - CH_2), 3.22 (m, 4H, - CH_2), 3.05 (m, 2H, - CH_2), 2.91 (t, 2H, - CH_2). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3330, 3117, 1628, 1463, 1320, 823, 770, 692, 554, 518. Elemanalízis: $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{Cl}_{0.5}\text{CoF}_9\text{N}_5\text{O}_2\text{P}_{1.5}\cdot 0,33\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 26.95, H, 4.23, N, 12.09 %, mért: C, 26.57, H, 4.22, N, 11.83%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 340.2 ($[\text{Co}(\text{tren})(\text{HFA})]^+$).

$[\text{Co}(\text{tpa})(\text{HFA})]\text{Cl}_2$ (**35**)

A szintézis menete megegyezett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{HFA})](\text{PF}_6)_{1.5}\text{Cl}_{0.5}$ esetén alkalmazottal, $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekuzort (145,80 mg, 0,32 mmol) és HFAH-t (43,88 mg 0,32 mmol)

használva. A reakcióidő leteltét követően az elegy térfogatát rotációs vákuumbepárlóval ~2 ml-re pároltam. Az elegyből kiváló piros színű kristályos szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem és vákuumban szárítottam. Kitermelés: 111,10 mg (39 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta/\text{ppm} = 9.14$ (d, 0.3H, Ar-H-izomer B) 8.85 (d, 1H, Ar H-izomer A), 8.61 (d, 2H, Ar-H-izomer A), 8.35 (d, 0.6H, Ar-H-izomer B), 8.31 (s, 0.3H, formil H-izomer B), 7.96-7.92 (m, 2.6H, Ar-H-izomer A,B), 7.81-7.73 (m, 3.3H, Ar-H-izomer A,B), 7.70 (s, 1H, formil H-izomer A), 7.61-7.59 (m, 2.6H, Ar-H-izomer A,B), 7.56-7.40 (m, 6.8H, Ar-H-izomer A,B), 7.26-7.15 (m, 2.9H, Ar-H-izomer A,B) 5.51 (d, 2H, $-\text{CH}_2$ -izomer A), 5.43 (d, 0.6H, $-\text{CH}_2$ -izomer B), 5.12-5.03 (m, 4.6H, $-\text{CH}_2$ -izomer A,B), 4.96 (d, 0.6H, $-\text{CH}_2$ -izomer B). IR (KBr)/ cm^{-1} : 3328, 1600, 1574, 1459, 1327, 886, 754. Elemanalízis: $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{CoN}_5\text{O}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ összetételre számolt: C, 45.19, H, 5.46, N, 10.59, mért: C, 44.90, H, 4.60, N, 10.81%. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z : 485.2 ($[\text{Co}(\text{tpa})(\text{HFA})]^+$).

[Co(tpa)(GSK322)](PF_6)₂ (36)

GSK322H-t (60,00 mg, 0,13 mmol) és [Co(tpa)Cl₂]Cl (57,00 mg, 0,13 mmol) prekursor feloldottam 1 ekvivalens NaOH (5,00 mg, 0,13 mmol) 15 ml vízzel készített oldatában. Az elegyet visszafolyós hűtővel ellátott gömblombikban mágneses keverővel 60 °C-os olajfürdőn kevertettem 6 órán keresztül, majd szobahőmérsékleten további egy éjszakán át. A reakcióidő leteltét követően az elegy térfogatát rotációs vákuumbepárlóval ~5 ml-re pároltam, majd 2 ekvivalens szilárd NH_4PF_6 -ot (40,75 mg, 0,26 mmol) adtam hozzá. Az elegyből kiváló lila színű szilárd anyagot üvegszűrőn szűrtem, hideg vízzel és dietil-éterrel mostam és vákuumban szárítottam. Kitermelés: 84,44 mg (60 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta/\text{ppm} = 9.11$ (d, 0.5H, Ar-H), 8.70 (d, 0.5H, Ar-H), 8.65 (d, 0.5H, Ar-H), 8.59 (d, 0.5H, Ar-H), 8.40 (d, 0.5H, Ar-H), 8.33 (d, 0.5H, Ar-H), 8.07 (t, 0.5H, Ar-H), 8.01 (t, 1H, Ar-H), 7.86 (m, 0.5H, Ar-H), 7.82 (m, 0.5H, Ar-H), 7.78 (m, 1H, Ar-H), 7.73 (m, 0.5H, Ar-H), 7.67 (m, 1H, Ar-H), 7.61-7.53 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (m, 0.5H, ArH), 7.42 (m, 1H, Ar-H), 7.22 (m, 1H, Ar-H), 7.17 (m, 0.5H, Ar-H), 5.50 (m, 1H, $-\text{CH}_2$ tpa), 5.39 (m, 1H, $-\text{CH}_2$ tpa), 5.11-5.09 (m, 2.5H, $-\text{CH}_2$ tpa), 5.02 (m, 1H, $-\text{CH}_2$ tpa), 4.98 (m, 0.5H, $-\text{CH}_2$ tpa), 4.33-4.05 (m, 3H, $-\text{CH}_2$), 4.00-3.92 (m, 2H, $-\text{CH}_2$), 3.76 (m, 1H, $-\text{CH}_2$), 3.66-3.57 (m, 1H, $-\text{CH}_2$), 3.51-3.44 (m, 1.5H, $-\text{CH}_2$), 3.30-3.17 (m, 1H, $-\text{CH}_2$), 3.13-3.01 (m, 2H, $-\text{CH}_2$), 2.90-2.75 (m, 3.5H, $-\text{CH}_2$), 2.22 (s, 1.5H, $-\text{CH}_3$ izomer A), 1.96 (m, 1H, $-\text{CH}_2$), 1.88 (s, 1.5H, $-\text{CH}_3$ izomer B), 1.82-1.75 (m, 1.5H, $-\text{CH}_2$), 1.62-1.53 (m, 4H, $-\text{CH}_2$), 1.36 (m, 2.5H, $-\text{CH}_2$), 1.21 (m, 0.5H, $-\text{CH}_2$), 1.12 (m, 1H, $-\text{CH}_2$), 0.68 (m, 0.5H, $-\text{CH}_2$), 0.58 (m, 0.5H, $-\text{CH}_2$), 0.23 (m, 0.5H, $-\text{CH}_2$).

IR (KBr)/cm⁻¹: 3404, 2947, 1605, 1451, 842, 558. Elemanalízis: C₄₀H₅₁CoF₁₃N₁₁O₄P₂·2 H₂O összetételre számolt: C, 41.64, H, 4.80, N, 13.35 %, mért: C, 41.34, H, 4.86, N, 13.15 %. MS (ESI TOF, pozitív ion mód): m/z: 413.6713 [Co(tpa)(GSK)]²⁺, 826.3354 [Co(tpa)(GSK)-H]⁺, 972.3074 ([Co(tpa)(GSK)](PF₆)⁺.

4.3. Alkalmazott kísérleti módszerek

4.3.1. Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)

A kis mintaigény, az egyszerű minta előkészítés, és a széleskörű alkalmazhatóság következtében az NMR spektroszkópia az egyik legelterjedtebben használt műszeres szerkezetvizsgálati módszer. A módszer, az atommagok energiaszintjeinek Zeeman-féle felhasadásán alapszik, amely energiaszintek közötti átmenetek adott frekvenciájú elektromágneses sugárzással gerjeszthetők. A mérések során a magok rezonanciáját detektálják, amelyet az atommagot körülvevő mágneses tér határoz meg. Ezt a mágneses teret az atommag körüli elektron eloszlás befolyásolja, így a mag kémiai környezetéről kapunk információt. A detektált jelek helyzetét az NMR spektrumban, a ppm-ben kifejezett kémiai eltolódás (δ) értékekkel adhatják meg. A jelek felhasadását a szomszédos magok közötti spin-spin csatolás határozza meg, amely további információt nyújt az adott atom molekulán belüli elhelyezkedéséről.

Az NMR méréseket Bruker WP 360 SY és Bruker Avance 400 típusú készülékekkel, D₂O vagy d⁶-DMSO deuterált oldószerek alkalmazásával végeztük, a spektrumokat MestReNova program segítségével értékeltük ki. A kémiai eltolódásokat az ¹H NMR mérések esetén a használt oldószer jeléhez (DMSO: 2,50 ppm, D₂O: 4,79 ppm), míg a ¹⁹F NMR méréseknél a standardként alkalmazott 10 mM koncentrációjú NaF oldat jeléhez viszonyítva, ppm értékben adtuk meg.

4.3.2. Infravörös spektroszkópia (IR)

Az IR méréseket a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén Dr. Tóth László végezte, Perkin Elmer FTIR Paragon 1000 PC készülékkel, KBr pasztillás módszer alkalmazásával.

4.3.3. Elemanalízis

Az elemanalízis méréseket Elementar Vario MICRO CUBE készülék alkalmazásával, a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén Dr. Kiss Attila végezte.

4.3.4. Tömegspektrometria (MS)

A tömegspektrometria egy nagy érzékenységű analitikai és szerkezetvizsgálati módszer, amely a minta molekuláinak ionizációján alapul. A képződött ionokat fajlagos töltésük alapján elválasztják, majd detektálják a részecskéket. A mérés eredményeképpen kapott tömegspektrum, a relatív intenzitást ábrázolja a fajlagos tömeg függvényében, ami információt nyújt a minta összetételéről. ¹⁴⁵ Fémkomplexek vizsgálata során előnyösebb lágy ionizációs technikákat, mint pl. az elektroporlasztásos ionizáció (ESI), alkalmazni, mivel ezek esetén a minta molekulái kevésbé fragmentálódnak, így a tömegspektrumban a komplexhez tartozó molekulák is megjelenhetnek.

A méréseket a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén, Bruker micrOTOF-Q ESI-TOF készülékkel Dr. Nagy Tibor és a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén Bruker MaXis II. uhr ESI-TOF MS készülékkel Dr. Gáspár Attila és Dr. Csire Gizella végezték. A mérések valamennyi esetben pozitív módon történtek, oldószerként vizet vagy metanolt alkalmazva. A spektrumok kiértékelését a Data Analysis 3.4. programmal végeztük.

4.3.5. Röntgendiffrakció

Röntgendiffrakciós mérések során a kristályban periódikusan elhelyezkedő atomok elektronburkán röntgensugarak hajlanak el. A szórt sugarak interferálnak egymással és szabályosan elhelyezkedő foltokból álló interferenciaképet kapunk. Ebből, egykristályos, szilárd anyagból álló minta esetén meghatározható az atomok pontos elhelyezkedése az elemi cellában, illetve következtetni lehet az atomok minőségére is.

A kristályokat elsősorban az adott anyag kis koncentrációjú oldatának szobahőmérsékleten történő lassú bepárlásával, illetve a termékek átkristályosításával nyertem. Emellett próbálkoztam az anyag oldatára rétegzett hexán lassú diffúziójával is kikristályosítani az adott vegyületet, azonban ez a technika csak kevés esetben vezetett eredményre. Az előállított egykristályok molekulászerkezetének röntgendiffrakciós meghatározását a Me-flavH, **3, 5, 8, 9, 11, 13, 15, 18, 27, 32** anyagok esetében Bruker-Nonius

MACH3, illetve Bruker-D8 Venture típusú diffraktométerekkel, a Debreceni Egyetem Fizikai Kémiai Tanszékén Dr. Bényei Attila, valamint a GSKH, **34, 35** anyagok esetében Bruker-D8 Quest ECO diffraktométerrel, a Dublini Egyetemen Dr. Brendan Twamley végezte. A mérés során a Cu és a Mo karakterisztikus K_α sugárzását (Cu: $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$, Mo: $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) alkalmaztuk. A komplexek szerkezeti képének elkészítéséhez, valamint a fontosabb kötéstávolságok és kötésszögek meghatározásához a Mercury 3.0 programot használtuk.¹⁴⁶ Az előállított kristályok krisztallográfiai adatait az 1. táblázat (melléklet) tartalmazza.

4.3.6. Ciklikus voltammetria (CV)

A CV elterjedten alkalmazott elektrokémiai vizsgálati módszer, amellyel mennyiségi és minőségi információk egyaránt nyerhetők az elektronátmenettel járó folyamatokról. A mérések munka-, referencia- és ellenelektrodot tartalmazó rendszerben történnek. A munkaelektrod feszültségét egy kiindulási potenciál értékről egy meghatározott feszültség értékig változtatjuk. A feszültség változásának hatására, a rendszerben bekövetkező potenciálváltozást a referencia- és a munka-, míg az áramerősséget az ellen- és a munkaelektrod között mérjük. Az áramerősséget a feszültség függvényében ábrázolva kapjuk a ciklikus voltammogramot, amelyről leolvashatók az adott redoxi folyamatot jellemző katódos (E_{pc}) és anódos (E_{pa}) csúcspotenciál, illetve katódos (I_{pc}) és anódos (I_{pa}) csúcsáram értékek.

A méréseket Metrohm 746 VA Trace Analyzer és BASi Epsilon EClipse készülékkel végeztük, munkaelektrodként szén (CHI104), ellenelektrodként platina, referenciaelektrodként pedig Ag/AgCl elektrodot alkalmazva. A minták koncentrációja minden esetben 1 mM volt, oldószerként vizet, vagy víz : metanol = 1 : 1 elegyet vagy metanolt használtunk. A mintákban az ionerősséget szabályozó inert só koncentrációja minden esetben 0,2 M volt, vizes oldat esetén KNO_3 -ot, míg metanolos közegben $[\text{NBu}][\text{BF}_4]$ -t alkalmazva. A rendszer kalibrálását $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ vizes oldatával végeztük, illetve az adott mintát mérés előtt argon gázzal 5 percig levegőmentesítettük. A pH-függés vizsgálatokhoz a pH-t 0,2 M-os HCl és 0,2 M-os KOH oldatokkal állítottuk.

4.3.7. Biológiai vizsgálatok

4.3.7.1. Lipofilitás mérés

A vegyületek sejtmembránon való átjutásának modellezésére alkalmazható az adott vegyület *n*-oktanol/pufferelt vizes fázis (PBS, pH = 7,4) elegyben történő megoszlásának vizsgálatán alapuló lipofilitás mérés. A két fázis egymással való telítését követően a mintát feloldják az egyik fázisban, majd adott térfogat-arányban hosszabb ideig elegyítik a másik fázissal. Ezt követően centrifuga segítségével szétválasztják a fázisokat és spektrofotométerrel mérik azok abszorbanciáját. A kapott értékeket összehasonlítva, az eredeti, elegyítés előtti fázisok esetén mért abszorbanciákkal, meghatározható az adott vegyületre jellemző megoszlási hányados (D) az alábbi egyenlet alapján:

$$D = \left[\frac{A \text{ (kezdeti)}}{A \text{ (elegyítést követően)}} - 1 \right] \times \frac{V \text{ (vizes fázis)}}{V \text{ (oktanolos fázis)}}$$

, ahol A a vizes fázis egy adott hullámhosszon mért abszorbanciája elegyítés előtt és után, míg V a vizes és oktanolos fázisok elegyítés során alkalmazott térfogata.

A kapott adatokat általában a megoszlási hányados logaritmusával (lgD) adják meg. Minél nagyobb ennek az értéke annál lipofilebb karakterű a vizsgált molekula.

A quinizarin vegyületek esetén a lipofilitás méréseket a Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén Dr. Dömötör Orsolya végezte. A minták koncentrációja 20-100 µM, a vizsgált hullámhossz tartomány pedig 200-500 nm volt mind a quinizarin, mind az általam mért flavonol vegyületek esetében.

4.3.7.2. Humán szérum albuminhoz (HSA) való kötődés

A HSA a vérben a legnagyobb mennyiségben megtalálható szállító fehérje, amely hidrofób kötőzsebei révén sokféle típusú molekula megkötésére képes. A gyógyszermolekulák véráramban történő szállítása szempontjából érdekes vizsgálni azok fehérjéhez történő kötődését. A folyamatot spektrofotometriásan és spektrofluorimetriásan is követni lehet.

UV-Vis spektrofotometria

A vizsgált vegyület abszorpciós spektrumában, a hozzáadott HSA mennyiségének növelése hatására, végbemenő változások alapján következtetni lehet a fehérjéhez való

kötődés erősségére. A módszer alkalmazhatóságának feltétele, hogy a vizsgált vegyület és a HSA elnyelési maximuma ne legyen átfedésben egymással.

Spektrofluorimetria

A HSA a 214-es helyzetben (I.-es kötőhely) egyetlen triptofán aminosavat tartalmaz (Trp 214), ami fluoreszcens tulajdonságú. Ez a csoport megfelelő hullámhosszú fénysugárzás hatására gerjesztődik, így az általa emittált fény intenzitásának mérésével vizsgálható az adott molekula kötődése. Ez azért lehetséges, mert a molekulával történő kölcsönhatás kioltja a triptofán fluoreszcens hatását, így kötődés esetén az emittált fény intenzitása csökken. Ezt a mérési módszert kioltásos technikának nevezik. A kötődés vizsgálatára marker molekulák is alkalmazhatóak. Ezek olyan vegyületek, amik önmagukban nem, kötött formában viszont fluoreszcens hatásúak. Amennyiben a vizsgált vegyület kötődik a fehérjéhez, úgy kiszorítja a markert, aminek hatására az emittált fény intenzitása csökken. A fluorimetriás mérések eredményeképpen kapott intenzitásokat a minták önabszorpciója miatt korrigálni szükséges. A mintaelőkészítés történhet titrálós módszerrel, amikor ugyanazon mintában növelik a vizsgált anyag koncentrációját, illetve egyedi minták készítésével is, amelyek esetében a komponensek megfelelő koncentrációját előre beállítják.

A méréseket a Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén, Dr. Dömötör Orsolya segítségével végeztem Agilent Cary 8454 típusú spektrofotométert és Hitachi F-4500 típusú spektrofluorimétert alkalmazva. Marker molekulaként warfarint (W) és danzil-glicint (DG) használtunk. A gerjesztési hullámhossz a kioltásos technika esetén 295 nm, a W-kiszorításnál 310 nm, míg a DG-kiszorításnál 380 nm volt. A valamennyi mérésnél alkalmazott egyedi minták HSA-t és marker molekulát 1 μM , míg vizsgált vegyületet 0-15 μM koncentrációban tartalmaztak. A minták PBS pufferben (pH = 7,4) készültek és mérés előtt fél óráig 37 °C-on termosztálva voltak. A megfelelő korrekciók elvégzését követően a spektrumok alapján a kötési állandókat a PSEQUAD program használatával állapítottuk meg.¹⁴⁷

4.3.7.3. Antibakteriális aktivitás

A vegyületek antibakteriális aktivitását különböző baktérium sejtvonalakon, a μM -ban kifejezett MIC (a vegyület azon legkisebb koncentrációja, ami még hatásosan gátolja az adott baktérium törzs növekedését) értékek megadásával lehet kifejezni. A mérések során a steril körülmények között előkészített sejtekhez az adott vegyületet különböző koncentrációkban

hozzáadják, majd a mintákat adott ideig 37 °C-on inkubálják. Ezt követően a minták spektrofotometriás vizsgálata alapján határozzák meg az MIC értékeket.

A retrohidroxámsav alapú vegyületek esetén az antibakteriális aktivitás méréseket a Dublini Egyetemen Dr. Deirdre Fitzgerald-Hughes, míg a kinolon típusú vegyületek esetén a Brno-i Egyetemen Prof. Jana Kasparkova és kutatócsoportja végezte, előbbinél 18, míg utóbbinál 24 órás inkubációs időt alkalmazva.

4.3.7.4. DNS-hez való kötődés

Az adott vegyületek biológiai aktivitásának szempontjából fontos DNS-hez való kötődés vizsgálatára több módszer ismeretes. Egyik az UV-Vis spektrofotometria, amelynek az alkalmazási lehetősége megegyezik a 4.3.7.2. pontban bemutatottal. A másik lehetséges technika az Etídium-bromid (EtBr) kiszorítás, amely a marker kiszorításos HSA-hoz való kötődés vizsgálattal analóg módon spektrofluorimetriás mérésen alapszik. Kötődés esetén az adott vegyület kiszorítja, a DNS-hez kötődve fluoreszcens tulajdonságú EtBr molekulát, így a fluoreszcens aktivitás csökkenéséből következtetni lehet a kötődés erősségére.

4.3.7.5. DNS hasítás

A vizsgálathoz összetett szerkezetű, feltekeredett DNS-t használnak, amit puffer jelenlétében fiziológiás körülmények között adott ideig inkubálnak a vizsgált vegyülettel. Ezt követően az elegyet agaróz gélre viszik és gél elektroforézis módszerrel elválasztják. A különböző hosszúságú DNS egységek elkülönülve jelentkeznek az elektroferogramon, így EtBr hozzáadását követően fotometriásan vizsgálható az adott vegyület DNS hasító tulajdonsága.

A kísérleteket plazmid pBR322 típusú DNS-sel végezték, a kinolon tartalmú vegyületek esetén 45 perces inkubációs időt és 10 mM Tris puffert, míg a quinizarin vegyületek esetén 16 órás inkubációs időt és 5 mM Tris-HCl puffert alkalmazva.

4.3.7.6. Enzim inhibíció

A vizsgált topoizomeráz enzimek működésük során képesek az összetett DNS szerkezetét megbontani, így az enzim aktivitása vizsgálható a korábban a DNS-hasítás vizsgálatoknál alkalmazott gél elektroforézis technikával. Az adott enzimet együtt inkubálják

a vizsgált vegyülettel és a DNS-sel, majd a kapott elektroferogramot fotometriásan detektálják.

A quinizarin komplexek esetén plazmid pBR322 típusú DNS-t és topoizomeráz I. enzimet, míg a kinolon komplexek esetén kinetoplaszt DNS-t és topoizomeráz II. enzimet vizsgáltak.

A DNS kötési, DNS hasítási valamint az enzim inhibíciós vizsgálatokat a Brno-i Egyetemen Prof. Jana Kasparkova és kutatócsoportja végezte.

4.3.7.7. Antitumor aktivitás

Egy vegyület adott sejtvonalon mutatott rákellenes hatásának mértékét az IC₅₀ érték (a vegyület azon koncentrációja, amely hatására az aktivitás mértéke 50 %-al csökken) megadásával lehet kifejezni. Mérésére többféle módszer ismeretes. Az SRB (szulforodamin B) teszt esetén a steril körülmények között előkészített sejtekhez az adott vegyületet különböző koncentrációkban hozzáadják, majd a mintákat 37 °C-on inkubálják. Ezt követően triklórecetsav (TCA) hozzáadásával befagyasztják a reakciót, majd SRB festékanyagot adnak a mintákhoz, amik csak az élő sejteket képesek megfesteni, így a minták híg ecetsavas mosását követően spektrofotometriás mérésekkel meghatározhatóak az IC₅₀ értékek. Hasonló elven működik az MTT teszt is, SRB helyett MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium bromid) festékanyagot használva. Fémkomplexek esetén ICP-MS technika alkalmazásával vizsgálni lehet a komplexek sejtek által felvett mennyiségét. Ehhez a hozzáadott vegyület koncentrációját úgy kell megválasztani, hogy annak fémion tartalma ICP-MS technikával már kimutatható legyen, ugyanakkor még ne legyen toxikus a sejtekre nézve.

A flavonol vegyületek esetén készített SRB tesztek a Leiden-i Egyetemen végeztem 72 órás inkubációs időt alkalmazva. A kísérleteket a normál inkubátor mellett, a hipoxiás körülményeket modellezvén, az oxigén szintet 1 % alatt szabályozni képes inkubátor használatával is elvégeztem. A kinolon és quinizarin vegyületek MTT tesztjeit a Brno-i Egyetemen Prof. Jana Kasparkova és kutatócsoportja végezte, ugyanúgy 72 órás inkubációs időt alkalmazva. A quinizarin komplexek ICP-MS készülékkel mért sejtfelvétel vizsgálatainál az alkalmazott inkubációs idő 24 óra, míg komplex koncentráció 15 µM volt, így a sejtek 94 %-a életben volt a mérések időpontjában.

5. Eredmények és értelmezésük

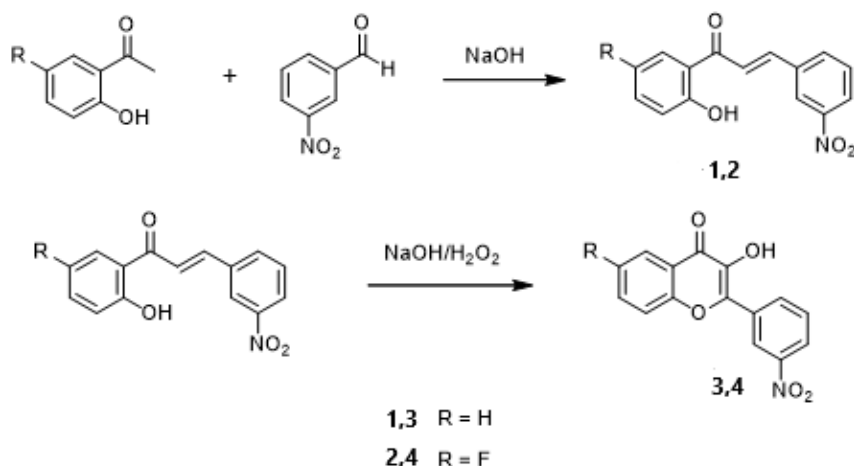
5.1. A ligandumok és komplexek szintézise

A kutatómunkám során négy új ligandumot és harminckét új Co(III)-komplexet állítottam elő, amelyek szintézisének jellemzését mutatom be a továbbiakban.

5.1.1. Ligandumok szintézise

A munkám során alkalmazott biomolekulákat aszerint választottuk, hogy antibakteriális vagy antitumor hatásuk mellett kelátképző helyzetben oxigén donor atomokkal rendelkezzenek, így képesek legyenek koordinálódni a kobalt-ionhoz. Emellett vizsgálni terveztük a különböző karakterű funkciós csoportoknak a képződő komplexek redoxi és biológiai sajátosságaira gyakorolt hatását, így az adott vegyületcsaládon belül eltérően szubsztituált származékokat alkalmaztunk. A flavonolok esetében a Dr. Kónya Krisztina által rendelkezésünkre bocsátott vegyületek többnyire elektronküldő csoportokat tartalmaznak, így a vizsgálandó molekulák körét kibővítettük az elektronszívó karakterű $-\text{NO}_2$, és $-\text{F}$ szubsztituenseket tartalmazó származékokkal.

A flavonolok adott pozícióban történő szubsztituálása nem egyértelmű, így a származékok előállítása a megfelelő funkciós csoportokat tartalmazó összetevőkből történik. Esetünkben 2'-hidroxiacetofenonból, vagy 5'-fluor-2'-hidroxiacetofenonból és 3-nitro-benzaldehidből indultunk ki. A két komponens elegyéhez lúgot adva az acetofenon α -szénatomja deprotonálódik, így nukleofilként támadja a benzaldehid parciálisan pozitív töltésű karbonil-szénatomját. A kondenzációs reakció ezt követően egy vízmolekula kilépésével zárul, majd az oldat semlegesítésével a keletkezett hidroxikalkon hidroxilcsoportja protonálódik, aminek hatására a termék kiválik az oldatból. Ezt követően a hidroxikalkonhoz lúgot és hidrogén-peroxidot adva, Algar-Flynn-Oyamada oxidációs gyűrűzárási reakció eredményeképpen keletkezik a megfelelő flavonol származék.¹⁴⁸ Az előállítás sematikus menete az 23. ábrán látható.



23. ábra. A $-\text{NO}_2$, és $-\text{F}$ szubsztituenseket tartalmazó kalkon és flavonol származékok előállításának sémája.

Kísérleteink során megpróbáltuk a kizárólag $-\text{F}$ szubsztituenst tartalmazó flavonol származékot is előállítani, 5'-fluor-2'-hidroxiacetofenon és benzaldehid reakciójával, azonban a kalkon-képződés nem játszódott le így nem jutottunk egységes termékhez.

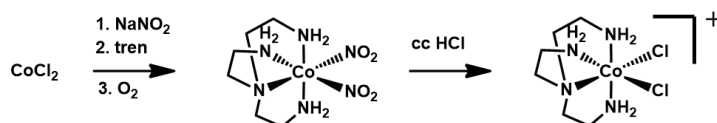
5.1.2. Komplexek szintézise

A szintézist először a $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ és $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursorok irodalmi receptek alapján történő előállításával kezdtük.¹⁴³ CoCl_2 és NaNO_2 oldatához adva a megfelelő tripodális amint a $[\text{Co}^{\text{II}}(4\text{N})(\text{NO}_2)_2]$ összetételű $\text{Co}(\text{II})$ -nitrito komplex képződik. Oxigén gáz bevezetésének hatására a komplexben a $\text{Co}(\text{II})$ oxidálódik és létrejön a kinetikailag inert $\text{Co}(\text{III})$ -nitrito komplex. A folyamatot elősegíti a +3-as oxidációs állapotot stabilizáló N donor ligandumok jelenléte. A $[\text{Co}^{\text{III}}(4\text{N})(\text{NO}_2)_2]\text{Cl}$ komplexet tömény sósavban főzve a nagy kloridion-koncentrációnak köszönhetően a komplexben a NO_2^- ligandumok Cl^- ligandumokra cserélődnek, majd protonálódás után a HNO_2 elbomlik és nitrózus gázok formájában távozik az oldatból. A Cl^- ionok jelentősen gyengébben koordinálnak a központi $\text{Co}(\text{III})$ -ionhoz, mint NO_2^- ionok, ami azért fontos, mert a további reakciók során a fémion ezen két koordinációs helyét fogja elfoglalni az (O,O) bioligandum. Így a $[\text{Co}(4\text{N})(\text{Cl})_2]\text{Cl}$ komplexek alkalmas prekursorok a $[\text{Co}(4\text{N})(\text{O},\text{O})]^{n+}$ összetételű komplexek előállításához.

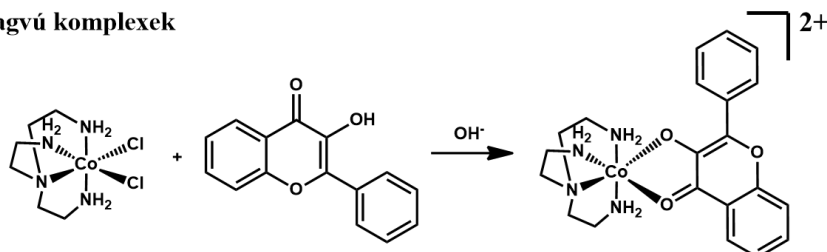
A komplexek szintézisét a prekursor és a bioligandum elegyéhez lúg hozzáadásával végeztük, aminek funkciója, hogy deprotonálja a biomolekula hidroxilcsoportját. Ez elősegíti a biomolekula oldódását és lehetővé teszi annak koordinációját a fémionhoz. Ennek értelmében az egymagvú komplexek kialakítására képes flavonol, kinolon, HFAH és GSKH

vegyületek esetében egy, míg a kétmagvú komplexek képző quinizarin ligandumoknál két ekvivalens lúgot alkalmaztunk. Utóbbi molekulák esetén próbálkoztunk egy ekvivalens lúg hozzáadásával egymagvú komplexeket is előállítani, de ezekben a reakciókban is a kétmagvú komplexek keletkeztek. A Co(III) komplexek lassú ligandumszubsztitúciós folyamatai miatt az elegyet magas hőmérsékleten kevertettük hosszabb időn keresztül, elősegítve ezzel a komplex kialakulását. Ezt követően nagy térkitöltésű ellenionok hozzáadásával segítettük a termékek oldatból való kiválását. A komplexek szintézisének általános sémája a 24. ábrán látható.

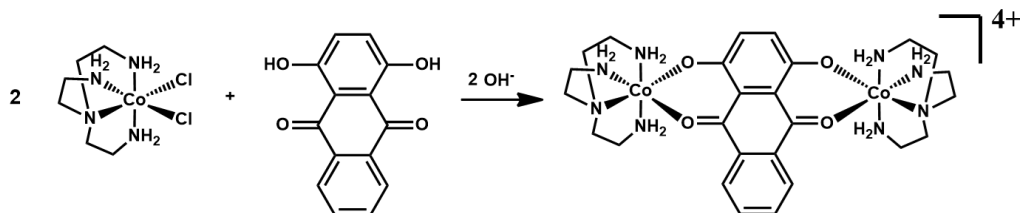
Prekurzorok



Egymagvú komplexek



Kétmagvú komplexek



24. ábra. A komplexek szintézisének általános sémája a $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]^+$, $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})]^{2+}$, és $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})]^{4+}$ komplexek példáján bemutatva.

Az előállítás menete valamennyi komplex esetén azonos volt, azonban bioligandumtól függően eltérő kísérleti körülményeket kellett alkalmazni. Az első fontos paraméter az oldószer, aminek megválasztásánál figyelembe kellett venni, hogy a bioligandumok inkább apoláris, míg a prekursor komplexek elsősorban protikus poláris oldószerekben oldódnak jól. A bioligandumok lúg hozzáadására történő deprotonálódása elősegítette azok oldódását protikusabb oldószerekben, így a reakciókat legtöbb esetben különböző alkoholokban, elsősorban metanolban végeztük. A retrohidroxámsav alapú HFAH és GSKH ligandumok melegítés hatására vízben is feloldódtak, míg a legrosszabbul oldódó quinH₂ molekula esetén izopropanolt kellett közegként alkalmazni. A quinSH₂ ligandumban lévő szulfonsavcsoport elősegítette a vegyület oldódását, így a ligandum melegítés hatására vízben is feloldódott. A

reakcióidő és az alkalmazott hőmérséklet kiválasztásánál fontos volt, hogy a komplex képződése mellett az adott biomolekula bomlása ne következzen be, így általában 60 °C-ot és 24 órás reakcióidőt alkalmaztunk. A reakció lejátszódását a quinH₂ és quinSH₂ ligandumok kivételével színváltozás is kísérte. Az elegy színe a reakció kezdetén a prekursorinak köszönhetően élénk lila volt, ami a termék képződése esetén vöröses színűre változott. Mivel az említett két quinizarin ligandum Co(III)-komplexei lilás, kékes színűek, így ezekben az esetekben a színváltozás kevésbé volt látványos. A reakciók lejátszódását követően a kationos komplexet elsősorban ClO₄⁻ és PF₆⁻ ellenionok hozzáadásával kristályosítottuk. A metanolos oldatok esetén a PF₆⁻, míg vizes közegnél a ClO₄⁻ anionok használata bizonyult hatékonynak. A flavonol tartalmú komplexek metanolban való jó oldódása miatt a reakcióidő lejártát követően oldószert cseréltünk és vizes oldatból kristályosítottuk ki a termékeket. A norfloxacin tpa komplexe esetén BF₄⁻ ellenionok hozzáadásával sikerült egységes termékhez jutnunk, míg a [Co(tpa)(HFA)]²⁺ komplex nagy térkitöltésű ellenion hozzáadása nélkül, a reakcióelegyben lévő Cl⁻-ionokkal kristályosodott.

A sikeresen előállított tren komplexek mellett a spaH, Cl-OMe-flavH és narH esetén is próbáltuk a tpa analógokat is szintetizálni, azonban a kísérleti körülmények többszöri változtatása, illetve a nyerstermékek tisztítása ellenére sem sikerült egységes termékhez jutni. A narH komplexnél egykristályt is sikerült előállítani, viszont az egyéb analitikai vizsgálatok alapján ebben az esetben is keveréktermék keletkezett. Emellett a quinizarin komplexek mintájára a rákellenes hatású készítményként kereskedelmi forgalomban kapható doxorubicin Co(III)-komplexét is megpróbáltuk előállítani, azonban nem sikerült egységes komplexhez jutnunk, ami a rendelkezésünkre álló ligandum limitált mennyiségének is köszönhető.

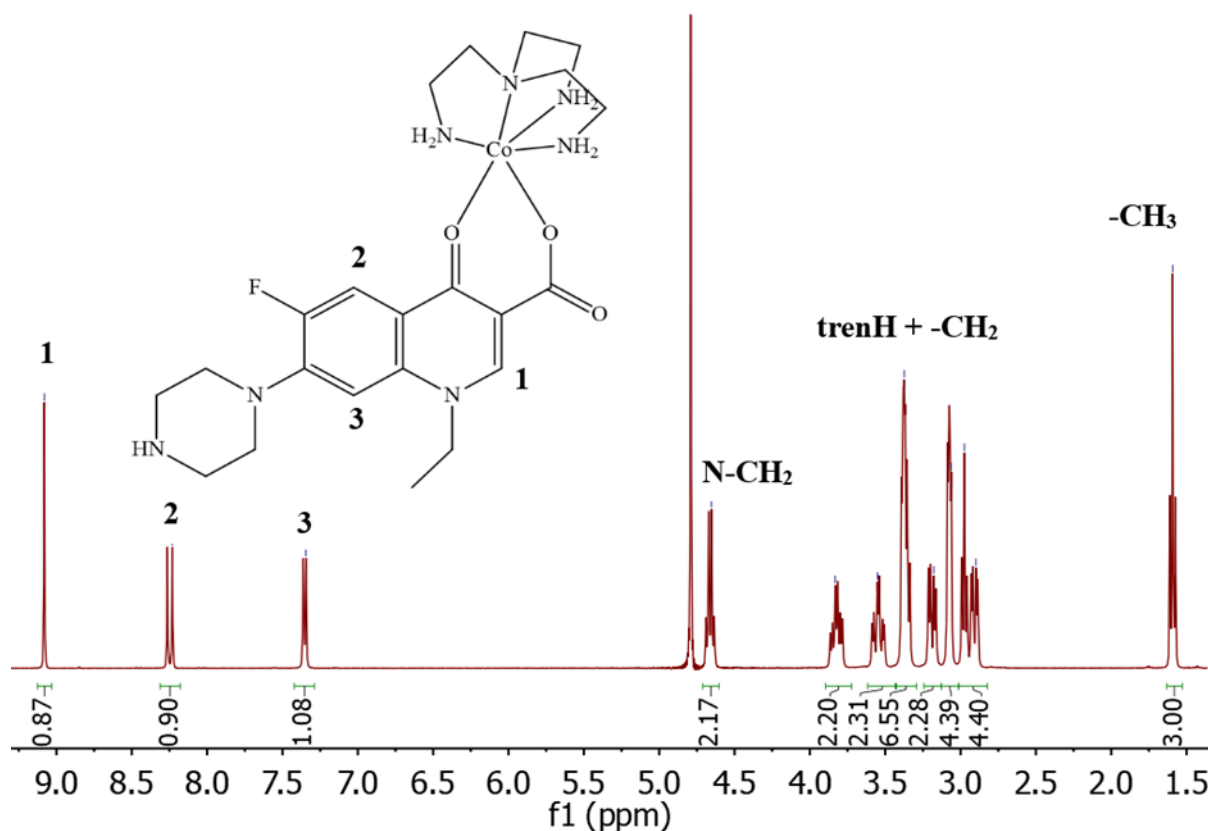
Az előállított ligandumok és komplexek szerkezetét és összetételét különböző analitikai szerkezetvizsgáló módszerek segítségével vizsgáltuk.

5.2. Az előállított anyagok analitikai jellemzése

5.2.1. NMR spektroszkópiás eredmények

Az általunk szintetizált kalkon és flavonol ligandumok esetén az ¹H NMR mérések egyértelműen igazolták a molekulák összetételét. A kalkonoknál a két –CH hidrogénhez rendelhető dublett csúcsok 7,8-8,3 ppm tartomány között jelentkeznek az NMR spektrumokban. A flavonolok spektrumaiból ezek a csúcsok hiányoznak, ami a többi jellel kiegészítve igazolja a gyűrűzárás lejátszódását és a megfelelő flavonol származék képződését.

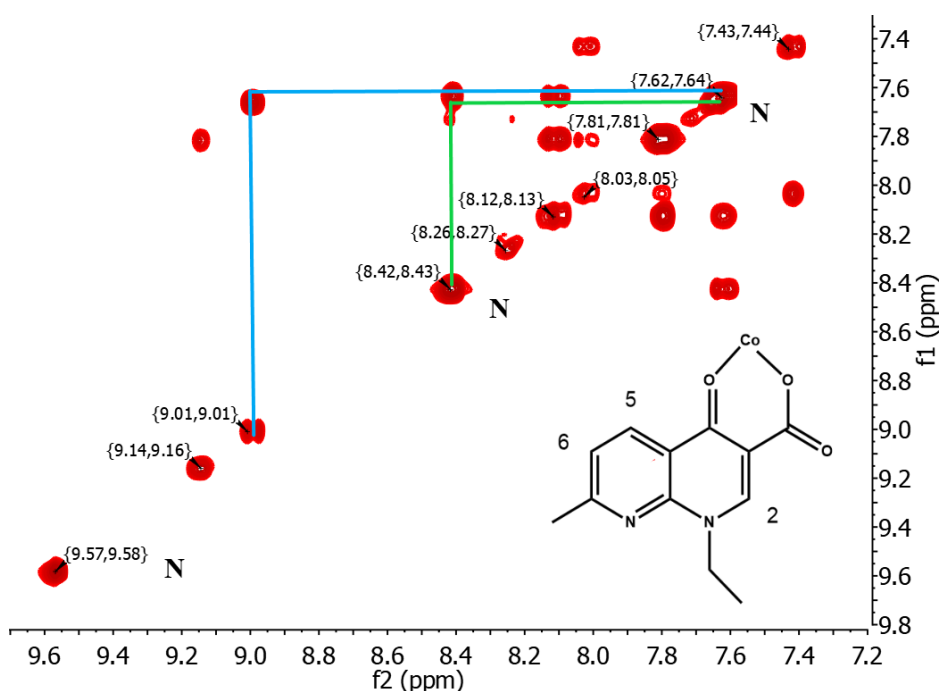
A tren komplexek esetében, a ^1H NMR spektrumban lévő jelek hozzárendelése a megfelelő hidrogénekhez egyértelmű volt, mivel valamennyi alkalmazott bioligandum többnyire aromás protonokat tartalmaz. Ezen hidrogének jelei a spektrumban jól elkülönülnek a tren ligandum alifás $-\text{CH}_2$ csoportjai protonjaihoz tartozó csúcsoktól, ami megkönnyíti a hozzárendelést. A tren $-\text{CH}_2$ csoportjainak hidrogénjei 2,7-4,0 ppm között, míg a bioligandumok aromás protonjai 6,5 ppm fölött jelentkeznek a spektrumokban. Amennyiben a méréseket aprotikus oldószerben, mint pl. $\text{d}^6\text{-DMSO}$, végeztük, úgy a tren $-\text{NH}_2$ csoportjainak protonjaihoz rendelhető csúcsok is látszanak a spektrumokban, 5,5 ppm körül. A példaként feltüntetett $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})](\text{PF}_6)_2$ komplex ^1H NMR spektruma a jelek hozzárendelésével az 25. ábrán látható.



25. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})](\text{PF}_6)_2$ komplex ^1H NMR spektruma D_2O -ban.

A többi bioligandummal ellentétben, a quinH₂ és quinSH₂ esetében, a molekulában két fémion megkötésére szolgáló hely is van, így kétmagvú komplexek képződése is lehetséges. A ^1H NMR spektrumokban a bioligandumhoz, illetve a 4N donorhoz tartozó jelek integrál értékeinek egymáshoz viszonyított aránya azt mutatta, hogy valamennyi esetben csak kétmagvú komplexek képződtek.

A tpa ligandumban lévő aromás karakterű piridinggyűrűk miatt a jelek hozzárendelése a megfelelő hidrogénekhez ezeknek a komplexek az esetén jelentősen bonyolultabb, ugyanis a 4N donor ligandum és a bioligandum aromás protonjainak jelei a spektrumokban átfednek egymással. A tpa $-\text{CH}_2$ csoportjai a 4,5-6 ppm közötti tartományban, két dublett és egy szinglett jel formájában jelentkeznek a spektrumokban. A csúcsok multiplicitása arra enged következtetni, hogy a tpa két karjában a $-\text{CH}_2$ csoportok hidrogénjei nem ekvivalensek, így csatolnak egymással, ami dubletteket eredményez, míg egy karban a két proton kémiaiailag azonos, így szingletteként jelentkezik a spektrumban. A jelhozzárendelést a tpa komplexek esetén a kiindulási szabad bioligandumok, illetve a $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursor spektrumaival történő összehasonlítás útján, valamint 2D NMR technika segítségével tudtuk elvégezni. Példaként a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{nal})](\text{PF}_6)_2$ COSY spektrumának aromás tartományát a 26. ábrán mutatom be.

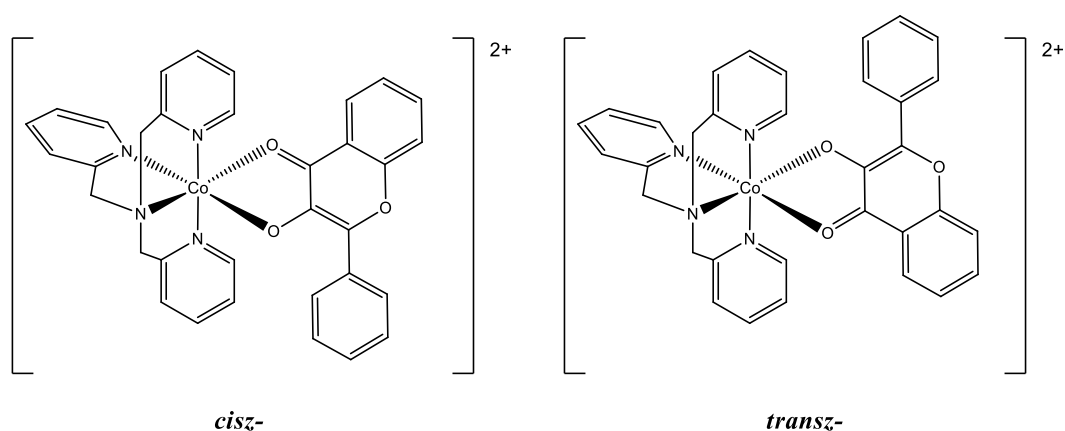


26. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{nal})](\text{PF}_6)_2$ COSY spektrumának aromás tartománya d^6 -DMSO-ban.

Ahogy az a 26. ábrán látható, ennek a komplexnek az esetén a nalidixisav ligandumban lévő aromás hidrogének közül a 2-es pozícióban lévő környezetében nincs proton, amivel csatolni tudna, míg az 5-ös és 6-os helyen lévő hidrogének kizárólag egymással csatolnak. Ezzel ellentétben a tpa piridin gyűrűinek protonjai két szomszédos hidrogénnel is csatolnak, így a COSY spektrumban megjelenő keresztcsúcsok alapján következtetni lehet, hogy az adott jel, melyik ligandumhoz tartozik. A 26. ábrán eltérő

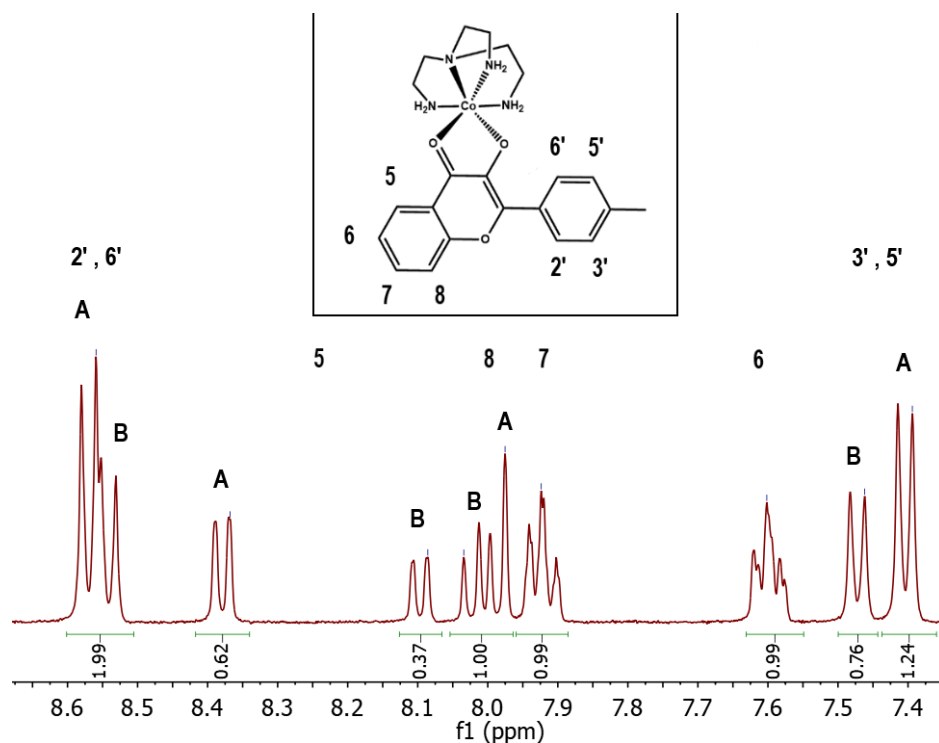
színekkel jelölt csatolások a nalidixisavhoz (zöld) és a tpa piridinngyűrűihez (kék) rendelhető spinrendszerekhez tartoznak.

Az NMR spektrumok számos komplex esetén utaltak izomerek megjelenésére. Az egymagvú komplexeknél két geometriai izomer képződése lehetséges, attól függően, hogy a 4N donor ligandum tercier nitrogénje, hogyan helyezkedik el a bioligandumban lévő aromás szubsztituenshez képest. Amennyiben az említett két molekularész egy oldalon van, úgy irodalmi előzmények alapján *cisz*-, ha pedig ellentétes oldalon található, akkor *transz*-izomerről beszélünk.¹⁴⁰ Az izomerek szerkezetét a flavonol ligandum tpa komplexének példáján keresztül, a 27. ábra szemlélteti.



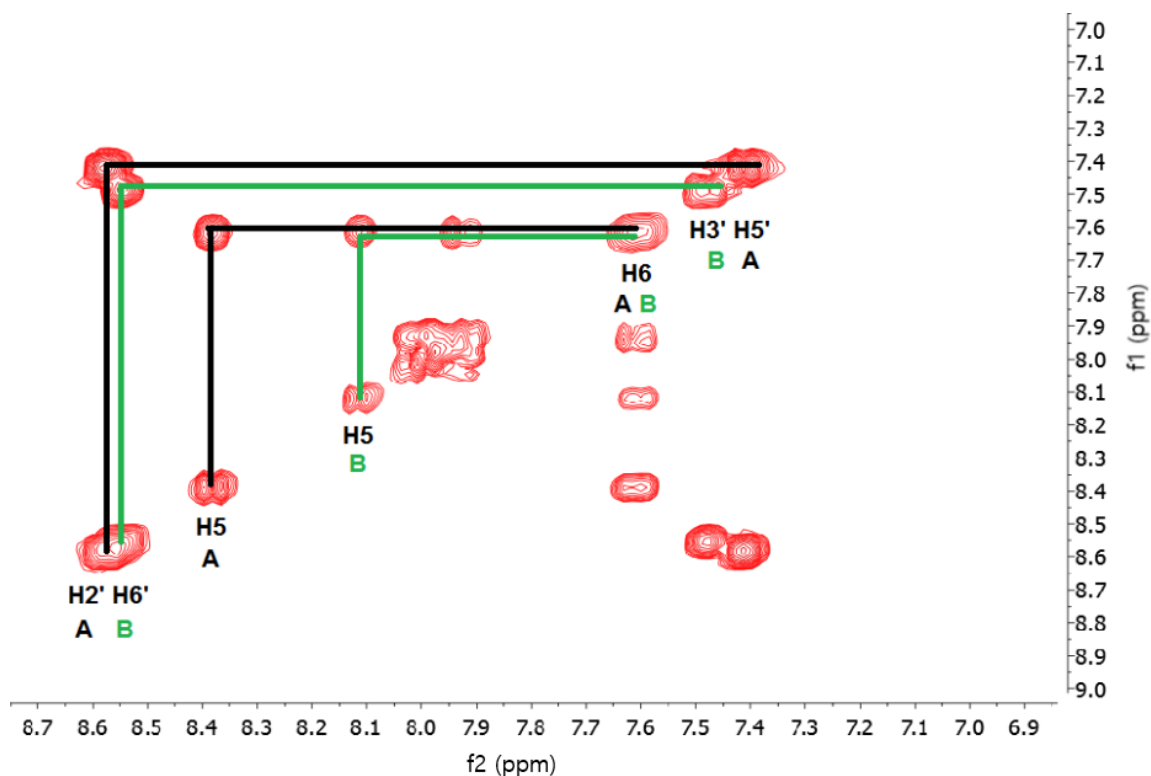
27. ábra. A $[\text{Co}(4\text{N})(\text{O},\text{O})]^{2+}$ komplexek esetén előforduló lehetséges izomerek szerkezete a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{flav})]^{2+}$ példáján bemutatva.

Mivel az NMR spektrumok alapján a jelek hozzárendelése a megfelelő izomerekhez nem lehetséges, így a dolgozatban a két izomert A-val és B-vel jelöltem. Az izomerek megjelenését a tren komplexek esetén a 4N donor ligandum $-\text{CH}_2$ és $-\text{NH}_2$ csoportjaihoz, illetve a bioligandum egyes aromás protonjaihoz tartozó jelek alapján volt lehetőségünk vizsgálni, ugyanis ezek a csúcsok eltérő ppm értékeknél jelentkeztek a spektrumokban a két izomer esetében. Egyes komplexeknél a jelek majdnem teljes hozzárendelése is megvalósítható volt a spektrumok alapján. Példaként a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{Me-flav})](\text{ClO}_4)_2$ komplex ^1H NMR spektrumának aromás tartományát mutatom be (28. ábra).



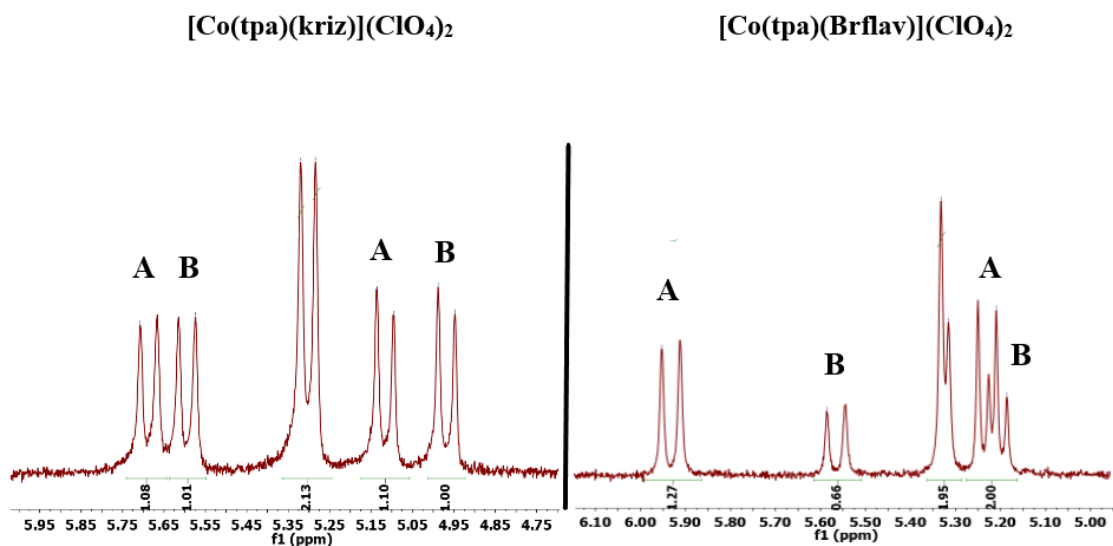
28. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{Me-flav})](\text{ClO}_4)_2$ ^1H NMR spektrumának aromás tartománya $\text{d}^6\text{-DMSO}$ -ban.

Ahogy az a 28. ábrán megfigyelhető, a 3' és 5' protonok mindkét izomerben egy dublettet adnak. A 7,4 ppm-nél jelentkező nagyobb intenzitású csúcs tartozik a fő izomerhez (A), míg a mellette lévő kisebb intenzitású csúcs a B izomerhez rendelhető. A 2' és 6' hidrogének szintén egy jelet adnak a spektrumban, amelyek a két izomer esetén átfednek egymással 8,6 ppm körül, de a közöttük lévő intenzitás különbség észlelhető. A két izomerben a 6 és 7 protonokhoz tartozó triplettek nem különülnek el a spektrumban, azonban a jelek felhasadása egyértelműen mutatja az izomerek jelenlétét. A két izomerben az 5 hidrogénhez tartozó csúcsok között tapasztalható a legnagyobb kémiai eltolódásbeli különbség. Az adott izomerekhez tartozó jelek integrál értékei alapján megállapítható azok egymáshoz viszonyított aránya, amely a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{Me-flav})](\text{ClO}_4)_2$ komplexnél izomer A : izomer B = 2:1. Az izomerek jelhozzárendelését COSY mérésekkel is alátámasztottuk (29. ábra).



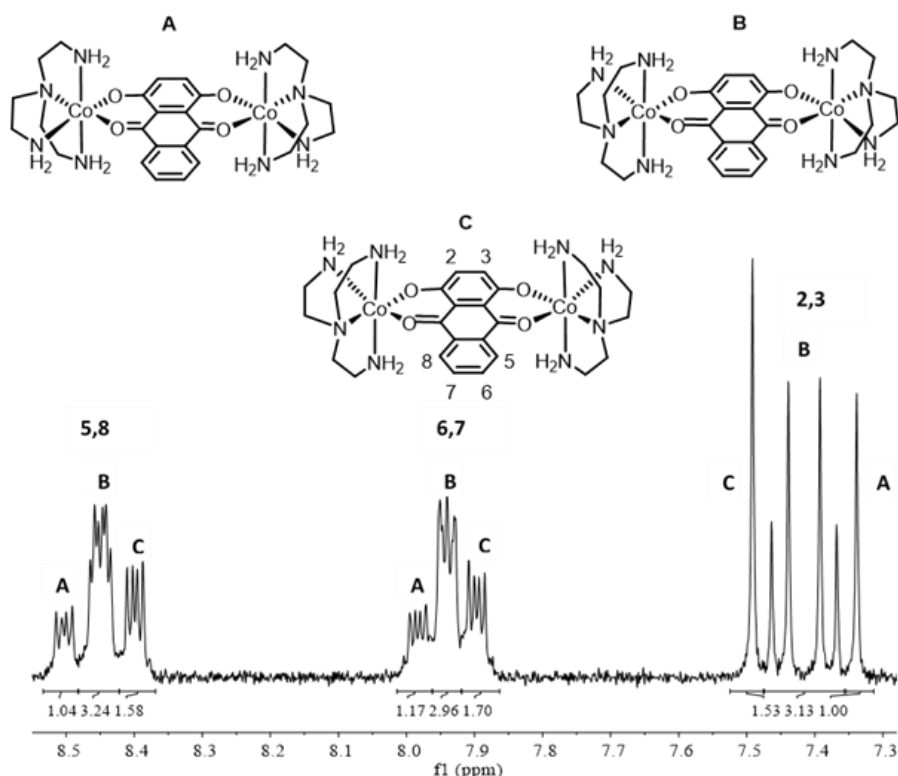
29. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{Meflav})](\text{ClO}_4)_2$ COSY spektrumának aromás tartománya d^6 -DMSO-ban.

A tpa-t tartalmazó komplexeknél az izomerek megjelenését elsősorban a tpa $-\text{CH}_2$ csoportjainak megfeleltethető jeleken keresztül lehet vizsgálni. A két izomer aránya a megfelelő jelek integrál értékei alapján a komplexekben 1:1 – 3:1 arányok között változott. A két izomer arányának eltérését a komplexekben a 30. ábra szemlélteti.



30. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{kriz})](\text{ClO}_4)_2$ és $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{Br-flav})](\text{ClO}_4)_2$ komplexek ^1H NMR spektrumainak alifás tartománya d^6 -DMSO-ban, a jelek izomerekhez történő hozzárendelésével.

A kétmagvú komplexeknél is hasonló módon *cisz-transz* geometriai izomerek kialakulására van lehetőség, azonban ez a molekula mindkét oldalán megvalósulhat, így összesen három, egy aszimmetrikus (B) és két szimmetrikus (A, C) izomert különböztetünk meg. Az izomerek arányát elsősorban a tren komplexek esetén lehet vizsgálni, mivel ezen komplexeknél a ligandum aromás protonjaihoz tartozó jelek a spektrumban nem fednek át a 4N donor ligandumhoz tartozó csúcsokkal. A lehetséges izomerek szerkezetét a quinH₂ ligandum tren komplexének példáján a 31. ábrán mutatom be.

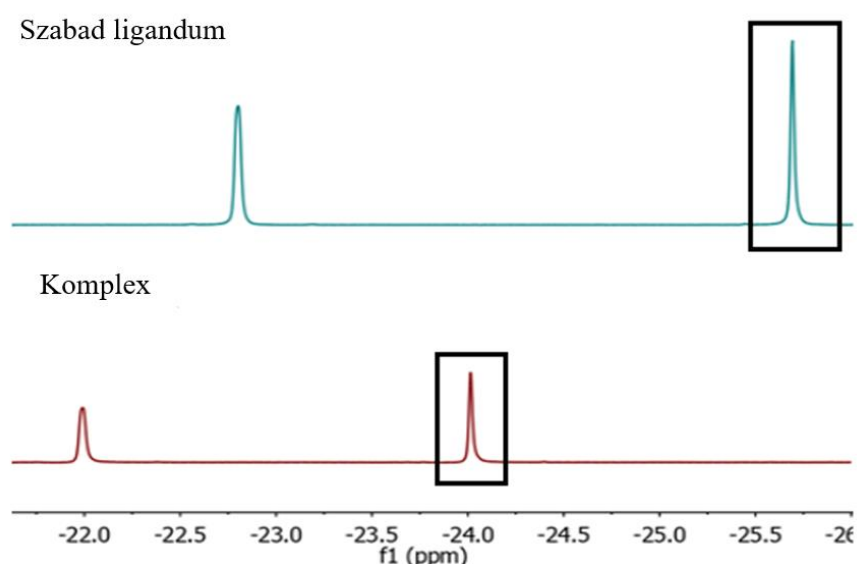


31. ábra. A $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ komplex ^1H NMR spektrumának aromás tartománya D_2O -ban. A feltüntetett szerkezetek a $[(\text{Co}(4\text{N}))_2(\text{quin})]^{4+}$ kation esetén lehetséges aszimmetrikus (B) és szimmetrikus (A, C) izomereket mutatják.

Az izomerek közötti különbség leginkább a 2 és 3 protonok jelein figyelhető meg, amelyek a szimmetrikus A és C izomerek esetében kémiaiag ekvivalensek, így egy csúcsot adnak a spektrumban. Az aszimmetrikus B izomernél viszont a két hidrogén kémiai környezete eltérő lesz, így egymással csatolva, két külön csúcsként jelentkeznek a spektrumban. A jelek integrál értékei alapján az aszimmetrikus B komplex a fő izomer.

A komplexekben a ligandum fémionhoz történő (O,O) koordinációs módja valamennyi bioligandum esetén egyértelmű, egyedül a sparfloxacinban (21. ábra) található az oxocsoport mellett kelátképző helyzetben egy $-\text{NH}_2$ szubsztituens is, így ennél a biomolekulánál az (O,O) mellett akár (N,O) koordinációs mód is megvalósulhat. A

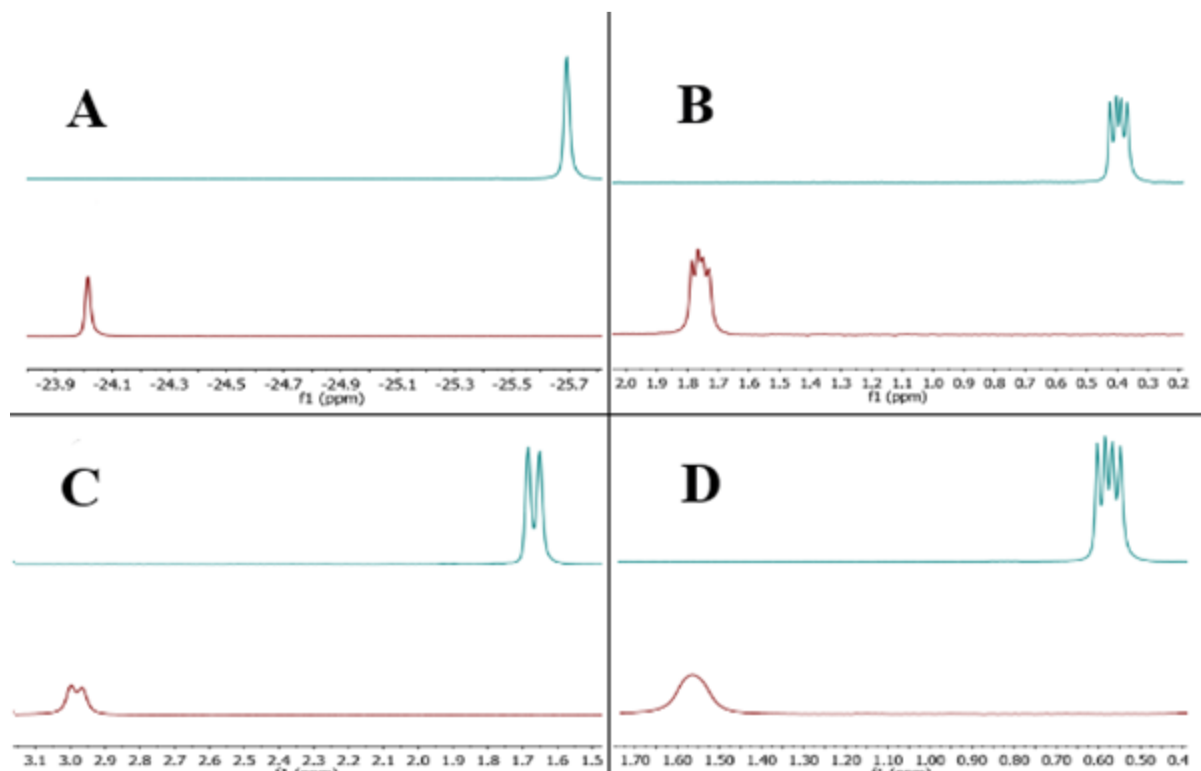
koordinációs mód eldöntéséhez a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{PF}_6)(\text{Cl})$ komplexben, a ^1H NMR spektrum nem nyújt elég információt, azonban a fluorokinolonokban 6-os pozícióban lévő F szubsztituens lehetővé teszi ^{19}F NMR mérések elvégzését. Ez a -F szubsztituens jó indikátorként szolgálhat a koordinációs mód eldöntésére, ugyanis közel van a koordinálódó atomokhoz. Ennek értelmében, összehasonlítás céljából felvettük valamennyi vizsgált fluorokinolon, a norfloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin és sparfloxacin, illetve tren komplexeik ^{19}F NMR spektrumait. A sparfloxacinban a 6-os mellett, a 8-as pozícióban is található egy -F szubsztituens, így a ligandum spektrumában is két jelet látunk -20, és -25 ppm-nél, melyek közül irodalmi előzmények alapján utóbbi tartozik a 6-os pozíciójú F-hoz, így ennek a jelnek a változását vizsgáltuk.¹³¹ A 32. ábrán látható, hogy a komplexképződés hatására a jel a szabad liganduméhoz képest $\sim 1,5$ ppm értékkel a pozitívabb tartományba tolódott el.



32. ábra. A sparfloxacin és $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{PF}_6)(\text{Cl})$ komplex ^{19}F NMR spektrumai $\text{d}^6\text{-DMSO}$ -ban. A bekeretezett jel tartozik a 6-os pozíciójú F-szubsztituenshez.

Ennek az eltolódásnak a mértékét összehasonlítva a többi ligandum és tren komplexe esetén mért értékekkel nem tapasztalható eltérés (33. ábra). Ebből arra lehet következtetni, hogy a sparfloxacin esetében is (O,O) koordinációs mód valósul meg, mivel ha az aminocsoport vett volna részt a koordinációban, úgy feltehetőleg jelentősen nagyobb mértékű eltolódást tapasztaltunk volna. Megfigyelhető továbbá, hogy az adott -F szubsztituenshez tartozó csúcs a többi fluorokinolon esetében 0 ppm-hez közel jelentkezett a spektrumokban, míg a sparfloxacinnál ezzel szemben ez az érték -25 ppm. Ez szintén azt támasztja alá, hogy a különbség nem a komplexekben lévő koordinációs módban, hanem a sparfloxacin és a többi

vizsgált fluorokinolon között található. Az irodalomban közölt Co(II)-sparfloxacin komplexek esetén szintén (O,O) koordinációs módot állapítottak meg.^{132,149}



33. ábra. A fluorokinolon szabad ligandumok (felül) és Co(III)-tren komplexeik (alul) ^{19}F NMR spektrumai d^6 -DMSO-ban. (A: spaH és $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{PF}_6)(\text{Cl})$, B: cipH és $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$, C: levH és $[\text{Co}(\text{tren})(\text{lev})](\text{PF}_6)_2$, D: norH és $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})](\text{PF}_6)_2$.

Valamennyi vizsgált komplex PF_6^- ellenionokkal kristályosodott, amelyek jelei szintén megtalálhatóak a ^{19}F NMR spektrumokban. A sparfloxacin-komplex esetén az ellenionhoz tartozó csúcsok és a 6-os pozícióban lévő -F szubsztituenshez tartozó csúcs integrál értékeinek egymáshoz viszonyított aránya 6 : 1, ami egyértelműen mutatja, hogy ez a komplex csak egy PF_6^- ellenionot tartalmaz. A többi vizsgált komplexnél a jelek integrál értékeinek aránya 12 : 1, ami mutatja, hogy a komplexek a vártan megfelelően, két PF_6^- ellenionnal kristályosodtak.

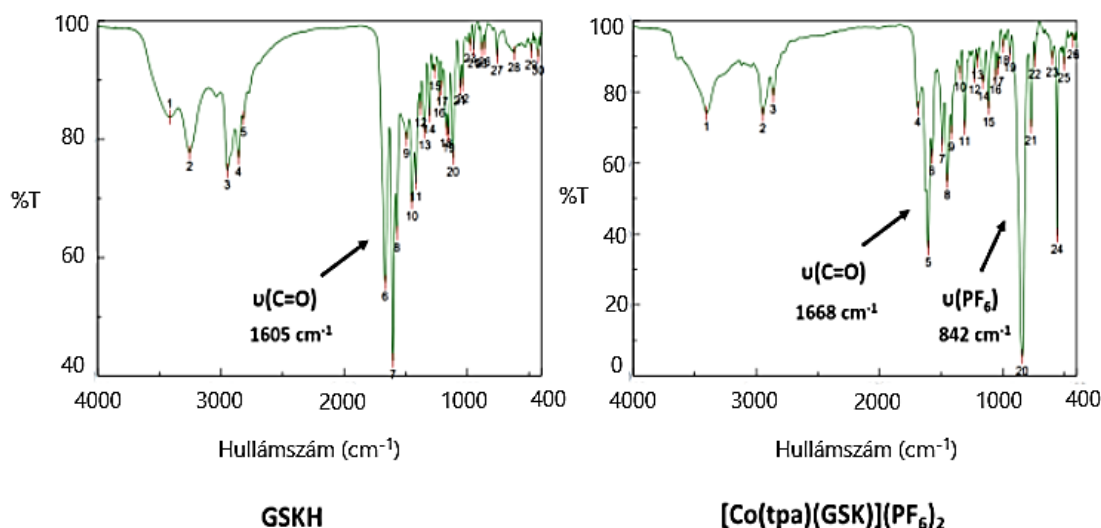
A kapott spektrumok alapján elmondható, hogy az NMR mérések valamennyi esetben alátámasztották a komplexek feltételezett összetételét.

5.2.2. IR spektroszkópiás eredmények

Az előállított ligandumok és komplexek összetételét IR mérésekkel is vizsgáltuk. Az általunk szintetizált kalkonok és flavonolok IR spektrumaiban is megtalálhatóak a várt funkciócsoportok jelenlétére utaló csúcsok. A $-\text{NO}_2$ csoporthoz tartozó $\nu(\text{N-O})$

aszimmetrikus rezgés $\sim 1525\text{ cm}^{-1}$, míg a szimmetrikus $\sim 1350\text{ cm}^{-1}$ körül jelentkezik a spektrumokban. A $\nu(\text{C}=\text{O})$ rezgéshez tartozó jel a kalkonok és flavonolok spektrumaiban egyaránt $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ körüli értéknél található.

A komplexképződést az adott bioligandum és kobalt komplexei IR spektrumainak összehasonlításával vizsgáltuk. A koordinációban valamennyi bioligandum esetén részt vevő karbonilcsoport $\nu(\text{C}=\text{O})$ rezgéséhez tartozó csúcs helye a spektrumokban változik a fémionhoz történő koordináció következtében. Példaként a GSKH szabad ligandum és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ IR spektrumait mutatom be a 34. ábrán. A komplexképződés hatására az adott jel minden esetben a kisebb hullámszám felé tolódott. Az eltolódás mértéke a kinolon és a GSK komplexek esetén kisebbnek, míg a flavonol, illetve antrakinon bioligandumot tartalmazó komplexek esetén nagyobbak adódtak. A kinolon ligandumok esetében a fémionhoz történő koordinációban részt vevő karboxilcsoport $\nu(\text{COOH})$ rezgéséhez tartozó csúcs a spektrumokban szintén változik a komplexképződés következtében. A szabad ligandumok IR spektrumaiban $\sim 1720\text{ cm}^{-1}$ körül jelentkező sáv a komplexek esetén nem jelenik meg, amely feltehetően a karboxilcsoport deprotonálódására és ezáltal a fémionhoz történő koordinálódására utal. A PF_6^- ellenionnal kristályosodott komplexek esetén a $\nu(\text{PF}_6)$ rezgéshez rendelhető csúcs is megjelent a spektrumokban $\sim 842\text{ cm}^{-1}$ körül, ahogyan az a 34. ábrán is látható.



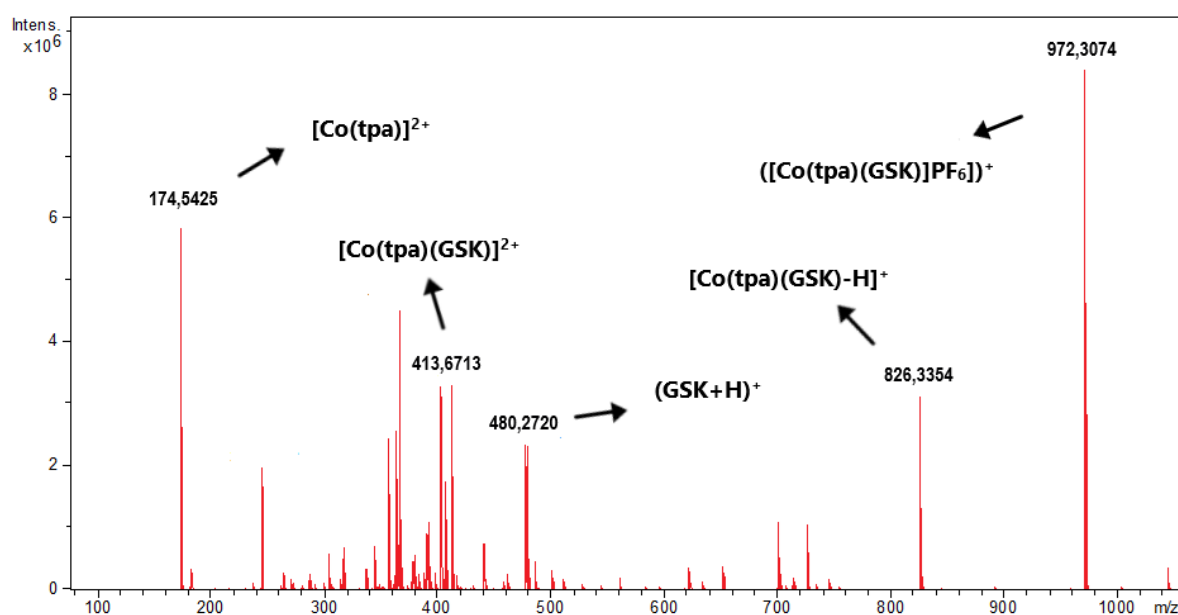
34. ábra. A GSKH és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ IR spektrumai

A kapott IR eredmények jó egyezésben állnak az irodalomban közölt ligandumok és egyéb fémkomplexeik esetén tapasztaltakkal, amely szintén alátámasztja a komplexek

képződését, illetve a -C=O és -COO^- csoportok koordinációban való részvételét.^{148,150,151,152,153,154}

5.2.3. ESI-MS tömegspektrometriás eredmények

Az előállított komplexek összetételének vizsgálatához ESI-MS méréseket is végeztünk. A spektrumok alapján azonosított részecskék mért és számolt izotópeloszlása valamennyi esetben jó egyezést mutat, ami bizonyítja a fragmensek feltételezett összetételét. A komplexekhez rendelhető molekulaionok jelei, illetve különböző fragmenscsúcsok egyaránt megjelentek a tömegspektrumokban. Több esetben is tapasztaltuk, hogy az ellenionok sem disszociáltak teljesen az adott komplexről, így a komplex kation egy ellenionnal alkotott adduktja egyszeres töltésű csúcsként jelentkezett a spektrumban. Példaként a 35. ábrán a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ komplex tömegspektrumát mutatom be a fő csúcsok hozzárendelésével együtt.

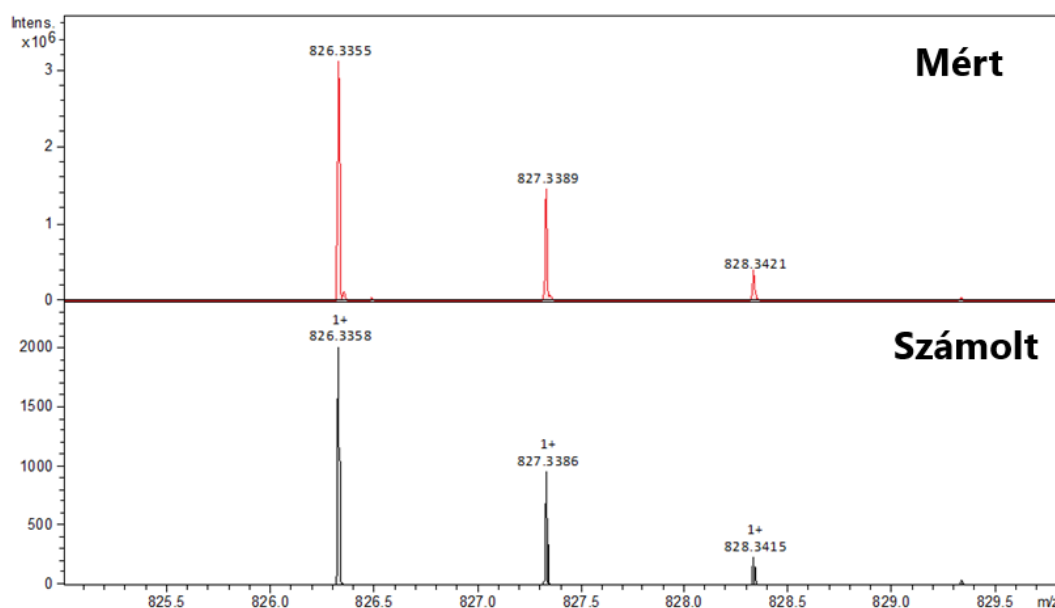


35. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ komplex tömegspektruma a fő csúcsok hozzárendelésével.

A 35. ábrán látható, hogy a 174,5425 m/z értékhez tartozó részecskében a kobalt oxidációs állapota a várttal ellentétben nem +3-as, hanem +2-es. Ez arra utal, hogy ESI-MS körülmények között a komplex redukálódott és az analóg Co(II) részecskék képződtek. A jelenség a retrohidroxámsav alapú GSK és HFA ligandumok komplexei mellett a quinizarin tartalmú komplexeknél is megjelenik. A quinH_2 komplexek tömegspektrumaiban kizárólag Co(II) -tartalmú részecskéket tudtunk azonosítani, míg a quinSH_2 komplexek esetében a Co(II) és Co(III) analógok egyaránt megjelentek. A kétmagvú $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quinS})](\text{ClO}_4)_3$ komplex

spektrumában például, az 507,573 m/z értéknél jelentkező csúcshoz rendelhető $[(\text{Co}^{\text{III}}(\text{tpa}))(\text{quinS})(\text{Co}^{\text{III}}(\text{tpa}))]^{2+}$ részecskében a két kobalt-ion eltérő oxidációs állapotú.

Az adott részecskéket a mért illetve számolt izotópeloszlásuk összehasonlításával azonosítottuk, amelyek minden esetben jó egyezést mutattak. Illusztrációként a spektrumban (35. ábra) 826,3354 m/z értéknél jelentkező $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})\text{-H}]^+$ molekulaion esetén mért és számolt izotópeloszlása a 36. ábrán látható.



36. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})\text{-H}]^+$ részecske esetén mért és számolt izotópeloszlás.

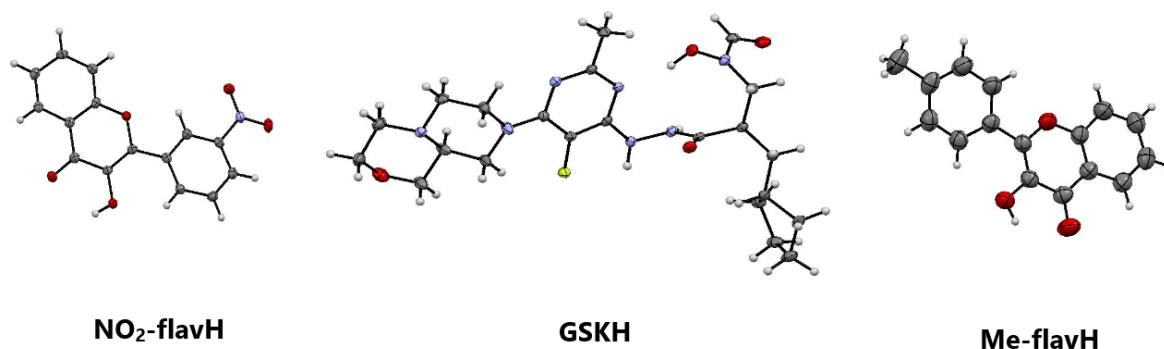
A tömegspektrometriás eredmények az NMR és IR spektroszkópiás mérésekkel összhangban, egyértelműen igazolják a komplexek feltételezett összetételét.

5.2.4. Elemanalízis mérések eredményei

Az elemanalízis mérések szintén megerősítették a munkánk során előállított ligandumok és komplexek összetételét. A kapott eredmények több termék esetén is arra utalnak, hogy az adott komplex oldószer molekulákkal, illetve a nagy térkitöltésű ellenionok mellett a szintézis során alkalmazott prekursorok révén a reakcióelegyben lévő Cl^- -ionokkal, tehát vegyes ellenionokkal kristályosodott. Például a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{PF}_6)(\text{Cl})$ komplexnél az 5.2.1.-es pontban bemutatott ^{19}F NMR eredményekkel összhangban, az elemanalízis mérések is megerősítették a vegyes ellenionok jelenlétét. Ezeket az eredményeket a következő pontban ismertetett röntgendiffrakciós mérések is igazolták.

5.2.5. Röntgendiffrakciós eredmények

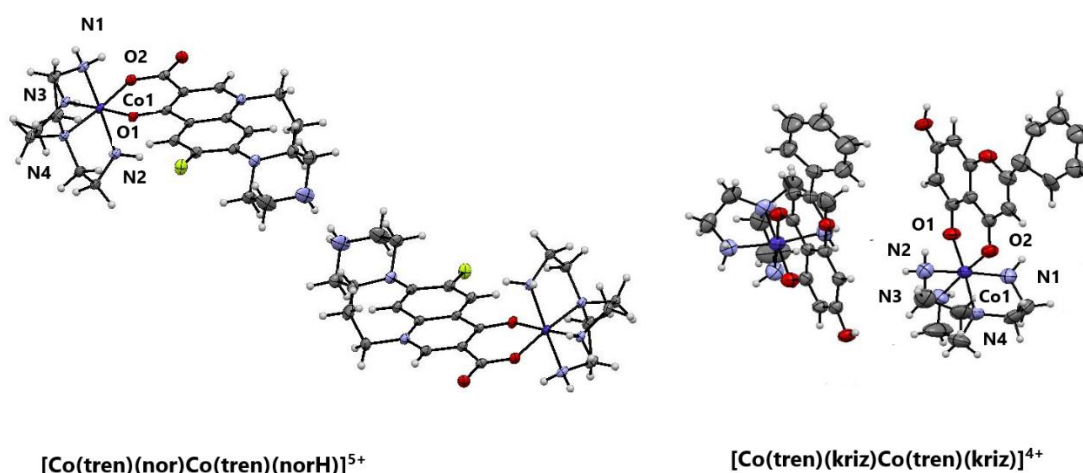
Több anyag esetén is sikerült egykristályt előállítani, így lehetőségünk nyílt a termékek szerkezetének röntgendiffrakciós vizsgálatára is. A komplexek mellett három ligandumként alkalmazott biomolekula, a Me-flavH, a NO₂-flavH és a GSKH esetén is sikerült a mérésekre alkalmas egykristályokat előállítani. Mivel molekulaszervezetüket az irodalomban korábban még nem közölték, így fontosnak tartottuk bemutatásukat. Emellett az általam előállított, új NO₂-flavH esetén kapott eredmények igazolják a ligandum szerkezetét és ezáltal a szintézis sikerességét. Az említett ligandumok röntgendiffrakciós vizsgálata során meghatározott szerkezetek a 37. ábrán láthatóak.



37. ábra. A Me-flavH, a NO₂-flavH és a GSKH ligandumok röntgendiffrakcióval meghatározott molekulaszervezete.

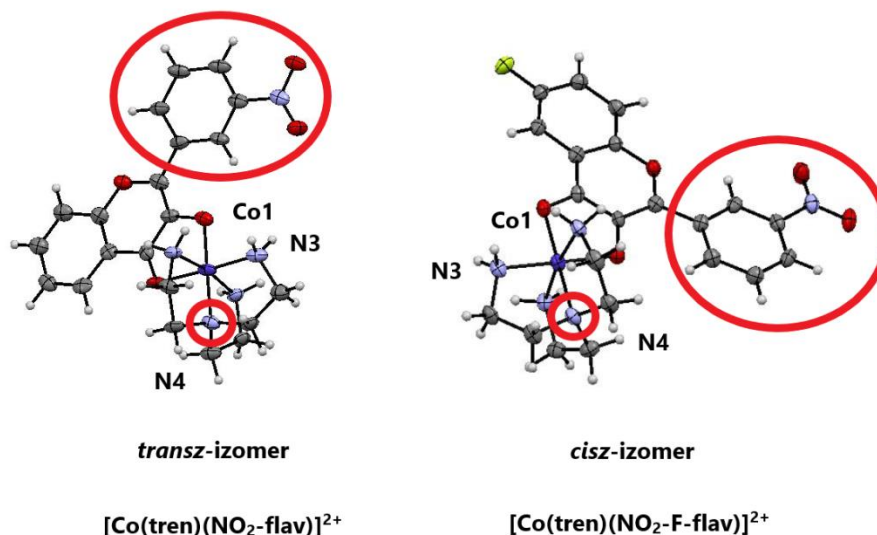
A quinizarin származékokat leszámítva valamennyi vegyületcsalád esetén sikerült a Co(III)-komplexekből is egykristályokat növesztetni. A röntgendiffrakciós vizsgálatokkal meghatározott szerkezetek alátámasztják az eddigi feltételezéseket, miszerint a bioligandumok minden esetben –OH csoportjuk deprotonálódását követően, oxigén donor atomjaikkal koordinálódtak a fémionhoz. A keletkezett komplexek a vártak megfelelően egyaránt oktaédes geometriájúak, amely jellemző a [Co(4N)(O,O)]ⁿ⁺ típusú vegyületekre.^{23,25} Az elemanalízis eredményeket alátámasztva, a molekulaszervezeteken látható, hogy több komplex is oldószermolekulákkal, illetve vegyes ellenionokkal kristályosodott. A [Co(tren)(Me-flav)]²⁺ és a [Co(tren)(iPr-flav)]²⁺ komplexek egyaránt egy ClO₄[−] és egy Cl[−] anionnal kristályosodtak, míg a [Co(tren)(nor)]²⁺ röntgen szerkezetében PF₆[−] és Cl[−] ionok találhatóak. Ez utóbbi vegyület esetén az aszimmetrikus egység két komplex molekulát tartalmaz, így a kristálykiváláshoz szükséges semleges töltés eléréséhez négy ellenion jelenlétét feltételeztük. Ezzel szemben öt anion volt található az aszimmetrikus egységben, ami arra utal, hogy a komplex valamely donor atomja részlegesen protonált

formában van jelen, így kristály pontos összetétele $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})\text{Co}(\text{tren})(\text{norH})](\text{PF}_6)_3(\text{Cl})_2 \cdot 5\text{MeOH}$. Ez szintén összefüggésbe hozható az elemanalízis mérések eredményével, amely a norfloxacin tpa komplexe esetén is három BF_4^- ellenion jelenlétére utal. Ennek értelmében a komplexek protonálódása feltehetően a bioligandum egyik N donoratomján következik be. A krizin tren komplexe esetén szintén két komplex molekula egység található az aszimmetrikus egységben, amelyek két ClO_4^- és két Cl^- ellenionnal kristályosodtak. A norfloxacin és a krizin tren komplexeinek röntgenkristallográfiásan meghatározott molekulaszervezetét a 38. ábrán mutatom be.



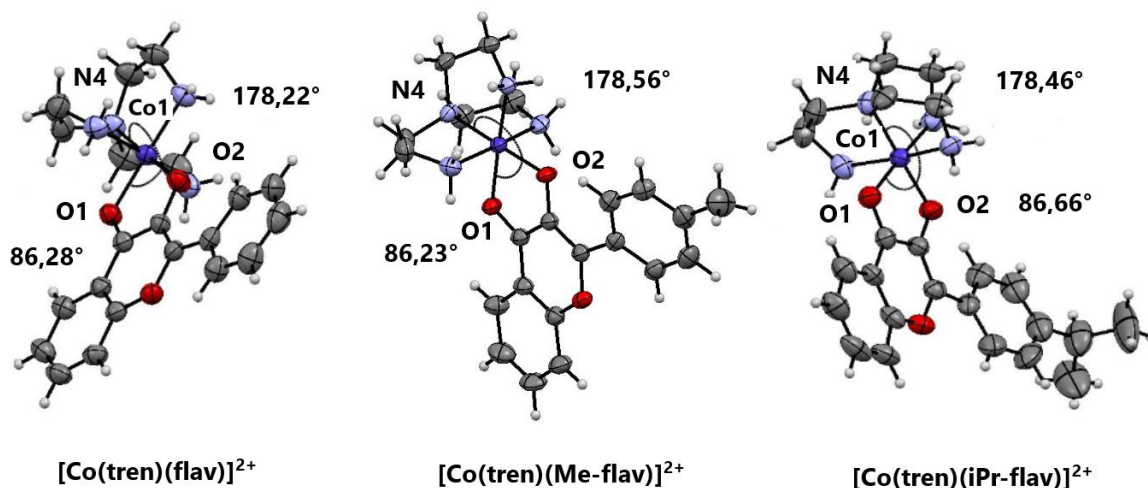
38. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})\text{Co}(\text{tren})(\text{norH})]^{5+}$ és a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{kriz})\text{Co}(\text{tren})(\text{kriz})]^{4+}$ komplexek molekulaszervezetei. Az ellenionokat és az oldószermolekulákat a könnyebb átláthatóság érdekében nem tüntettem fel.

A röntgendiffrakciós mérések alapján egyértelműen megállapítható, hogy a **11, 27, 32** komplexeknél a cisz, míg a **5, 8, 9, 13, 15, 18, 34, 35** komplexek esetén a transz izomer forma kristályosodott. Illusztrációként a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-flav})]^{2+}$ és a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-F-flav})]^{2+}$ komplexek molekulaszervezetét mutatom be a 39. ábrán. A pirossal bekarikázott molekularészek egymáshoz viszonyított helyzete alapján lehet meghatározni, hogy az adott komplex esetén melyik geometriai izomer kristályosodott ki. Amennyiben a 4N donor ligandum tercier nitrogénje és a bioligandumban lévő aromás szubsztituens egy oldalon van, úgy cisz-, ha pedig ellentétes oldalon található, akkor transz-izomerről beszélünk.¹⁴⁰



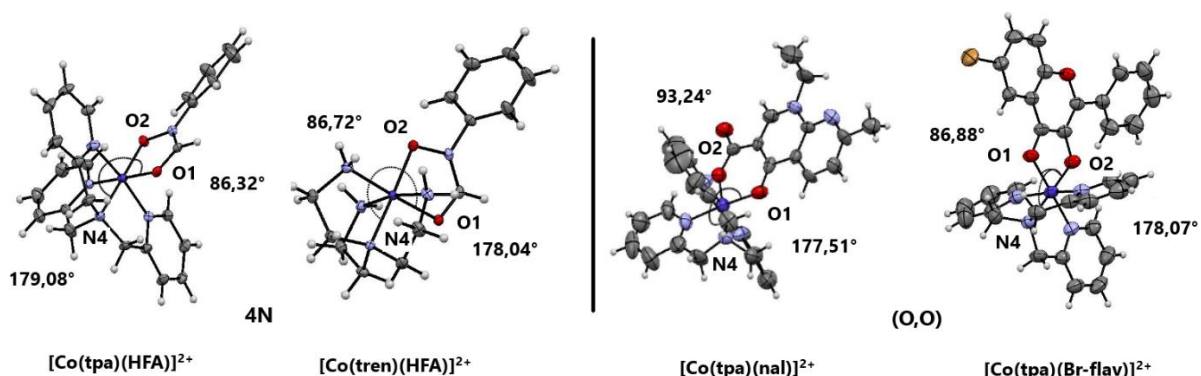
39. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-flav})]^{2+}$ és a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-F-flav})]^{2+}$ komplexek röntgendiffrakcióval meghatározott molekulaszervezetei.

A mért kötéstávolságok és kötésszögek egyaránt alátámasztják a komplexek oktaédes geometriáját. Valamennyi komplex esetén elmondható, hogy a bioligandum oxocsoportjának oxigén atomja és a fémion közötti kötéshossz (O1-Co1: $\sim 1,92(6)$ Å) nagyobbak bizonyult, mint a hidroxilcsoport oxigén atomjával kialakított kötés (O2-Co1: $\sim 1,88(8)$ Å) hossza. A Co(III) központi fémionnak a tren és tpa tripodális aminok különböző nitrogén atomjaival létesített kötéseinek (N-Co1: 1,90-1,96 Å) hosszában jelentősebb eltérés nem volt tapasztalható. A koordinációban résztvevő atomok közötti kötésszögek teljesen szabályos oktaéder esetén 90° és 180° értékek lennének, amikhez képest az általunk mért adatok kismértékű eltérést mutatnak, így a komplexek esetén enyhén torzult oktaédes geometriáról beszélhetünk. Példaként a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})]^{2+}$, a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{Me-flav})]^{2+}$ és a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{iPr-flav})]^{2+}$ molekulaszervezeteit mutatom be a 40. ábrán.



40. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{flav})]^{2+}$, a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{Me-flav})]^{2+}$ és a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{iPr-flav})]^{2+}$ komplexek röntgendiffrakcióval meghatározott molekulaszervezetei. Az ábrán az O1-Co1-O2 és az O2-Co1-N4 kötésszögek értékeit tüntettem fel.

A tren és tpa komplexek között sem a kötэшossz, sem a kötésszög értékekben nem tapasztalható szignifikáns eltérés. A különböző (O,O) ligandumok komplexeit összehasonlítva azonban megfigyelhető, hogy a kötésszög értékek a fluorokinolon és a krizin komplexeknél különböznek a flavonol és HFAH komplexek megfelelő adataitól. Ez egyértelműen azzal magyarázható, hogy az adott ligandum az előbbi komplexeknél hattagú, míg utóbbiaknál öttagú kelátgyűrűt alakít ki a fémionnal. A 4N donor ligandum típusának a kötésszög értékekre gyakorolt hatását a HFA tartalmú komplexek szervezeteinek, míg az (O,O) donor ligandum típusának hatását a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{Br-flav})]^{2+}$ és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{iPr-flav})]^{2+}$ komplexek szervezeteinek bemutatásával szemléltetem (41. ábra). A flavonol komplexek eltérő karakterű szubsztituensei a kristályok adataira nincsenek jelentős hatással.



41. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{HFA})]^{2+}$, a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{HFA})]^{2+}$, a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{nal})]^{2+}$ és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{Br-flav})]^{2+}$ komplexek röntgendiffrakcióval meghatározott molekulaszervezetei. Az ábrán az O1-Co1-O2 és az O2-Co1-N4 kötésszögek értékeit tüntettem fel.

A röntgendiffrakciós mérések egyértelműen igazolták a komplexek feltételezett szerkezetét, miszerint valamennyi bioligandum esetén (O,O) koordinációs mód valósult meg és enyhén torzult oktaéderes geometriájú komplexek keletkeztek.

5.3. Az előállított anyagok CV vizsgálatának eredményei

Annak érdekében, hogy információt szerezzünk arról, hogy az előállított komplexek közül melyek lehetnek alkalmasak a hipoxiás rákos szövetekben történő szelektív redukcióra, a komplexek redoxi sajátságait ciklikus voltammetriával vizsgáltuk. A mérések során meghatároztuk a redukciós folyamatokhoz tartozó katódos csúcspotenciál (E_{pc}) illetve az oxidációhoz rendelhető anódos csúcspotenciál (E_{pa}) értékeket. A csúcspotenciál értékeket a Nernst egyenlet értelmében alapvetően a $[Co(H_2O)_6]^{3+}/[Co(H_2O)_6]^{2+}$, az akvakomplexek egyensúlyi koncentrációira vonatkozó hányados határozza meg. Minél stabilabb a Co(III) komplex, annál kevesebb Co(III) ion van $[Co(H_2O)_6]^{3+}$ formában, így a redukciós potenciál értéke is annál negatívabb lesz. Az E_{pc} érték növekedését, vagyis a komplex könnyebb redukálhatóságát a Co(III) komplex stabilitásának a csökkenése, illetve a Co(II) komplex stabilitásának a növekedése egyaránt okozhatja. A méréseket valamennyi esetben Ag/AgCl referenciaelektrod alkalmazásával végeztük, a mért csúcspotenciál értékeket azonban a táblázatokban a biológiai szempontból releváns normál hidrogénelektrodra (NHE) vonatkoztatva adtam meg.

A komplexek vizsgálatát megelőzően a megfelelő szabad ligandumok redoxi sajátságait is vizsgáltuk a kísérleti rész 4.3.6. pontjában feltüntetett körülmények között. Méréseinket a biológiai szempontból releváns +600-(-1000) mV potenciál tartományban végeztük. A továbbiakban a kinolon és flavonol molekulák alkalmazásával szintetizált egymagvú, illetve a quinizarin ligandumokkal előállított kétmagvú komplexek esetén kapott eredményeket ismertetem.

5.3.1. Egymagvú komplexek redoxi sajátságai

A vizsgált tartományban a kinolon és flavonol szabad ligandumok közül egyedül a 3'-nitro-3-hidroxiflavonol és 6-fluor-3'-nitro-3-hidroxiflavonol származékok bizonyultak redoxi aktívnak. Ennek oka a molekulákban lévő $-NO_2$ csoport, amely elsősorban egy intenzív redukciós csúcs formájában jelentkezik a voltammogramokban -900 mV körül. Ez jelentősen negatívabb, mint a komplexek Co(III)-Co(II) átmeneteihez rendelhető csúcspotenciálok értékei, így nem befolyásolja azok meghatározását.

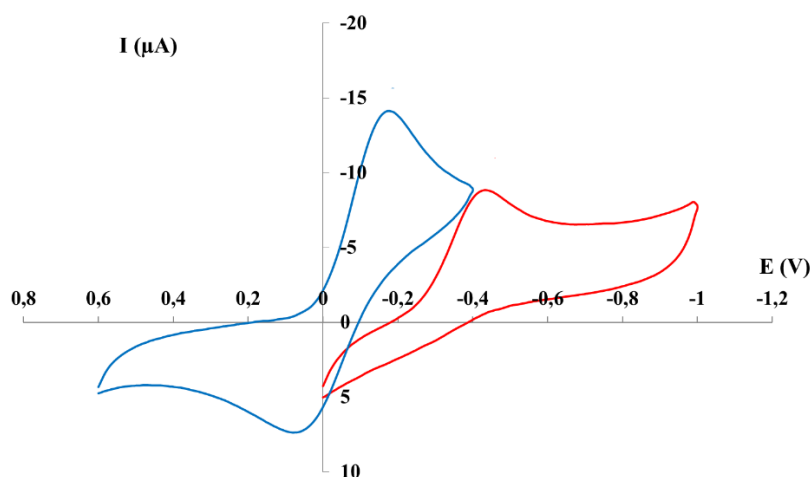
A vizsgált potenciál tartományban valamennyi komplex redoxi aktívnak bizonyult. A meghatározott katódos (E_{pc}) és anódos (E_{pa}) csúcspotenciál értékeket a 2. táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat. A flavonol és kinolon bioligandumot tartalmazó, egymagvú komplexek E_{pc} és E_{pa} csúcspotenciál értékei normál hidrogénelektródra (NHE) vonatkoztatva.

		Tren komplex	Tpa Komplex	
Bioligandum		E_{pc} (mV)	E_{pc} (mV)	E_{pa} (mV)
Flavonol	flavH	-206	51	197
	NO ₂ -F-flavH	-194	71	309
	NO ₂ -flavH	-175	80	252
	Me-flavH	-187	57	185
	Cl-OMe-flavH	-264	-	-
	Br-flavH	-285	69	241
	iPr-flavH	-291	29	187
	krizH	-331	-3	94
	narH	-532	-	-
Kinolon	levH	-222	35	288
	nalH	-231	61	309
	cipH	-242	31	329
	norH	-252	35	292
	spaH	-133	-	-

A 2. táblázat adataiból egyértelműen látszik, hogy alapvető különbség van a tren és a tpa 4N donor ligandumot tartalmazó komplexek redoxi sajátosságai között. A tren komplexek esetén csak katódos, redukciós csúcsok megjelenését tapasztaltuk, míg a tpa komplexeknél anódos, oxidációs folyamatokhoz tartozó csúcsok is megjelentek a voltammogrammon. Ez egyértelműen arra enged következtetni, hogy a tren analógok redukciója irreverzibilis, míg a tpa komplexeké reverzibilis. Ennek magyarázata mindenképpen a 4N donor ligandumok eltérő karakterű N donoratomjaiban keresendő. A tren ligandumban lévő alifás N donoratomok esetén a fémion és a ligandum között egyedül σ -donor kölcsönhatás valósulhat meg. Ezzel szemben a tpa, aromás karakterű piridingyűrűi révén, σ -donor mellett π -akceptor tulajdonsággal is rendelkezik, így viszontkoordinációra képes a fémionnal. Ennek következtében a tpa ligandum jobban stabilizálja a kisebb oxidációs állapotú Co(II) formát, így a komplex redukciója után nem disszociál hanem egyben marad. Ezáltal változatlan

formában képes a visszaoxidációra, amely folyamat anódos csúcsot eredményez a voltammogramokban. További jelentős különbség a tren és a tpa komplexek közötti potenciálkülönbség, ami szerint a tpa komplexek csúcspotenciál értékei a tren analógokéihoz képest jelentősen eltolódnak a pozitívabb tartományba. Ez szintén a tpa ligandum aromás karakterű N donoratomjainak a Co(II) komplexet stabilizáló hatásával magyarázható. A tren és tpa komplexek redoxi sajátságaiban mutatott eltéréseit irodalmi eredmények is alátámasztják.^{138,150,155,156} A 4N donor ligandumok hatását a komplexek redoxi sajátságaira, a levofloxacin tren és tpa komplexének ciklikus voltammogrammjainak bemutatásával illusztrálom (42. ábra).

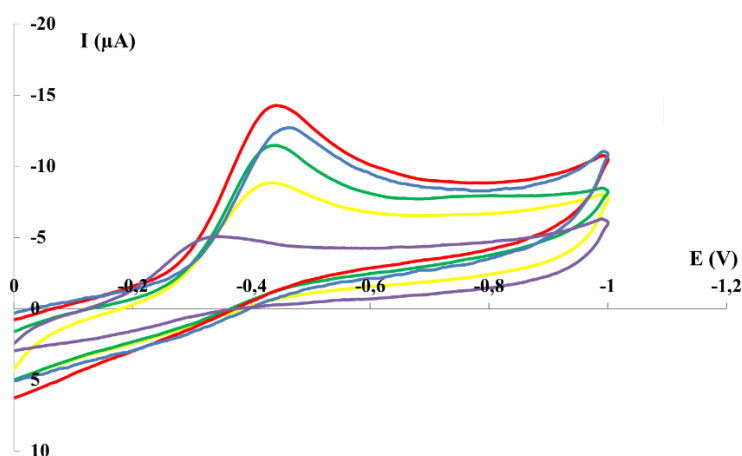


42. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{lev})](\text{ClO}_4)_2$ (**kék**) és a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{lev})](\text{PF}_6)_2$ (**piros**) komplexek ciklikus voltammogramjai, víz:MeOH = 1:1 oldószerkeletet, Ag/AgCl referencia elektródot és 200 mV/s pásztázási sebességet alkalmazva.

A kinolon és flavonol bioligandumok eltérő módon koordinálódnak a fémionhoz. A kinolon molekulák karbonil- és karboxilátcsoportjaik oxigén donoratomjaival hattaágú, míg a flavonolok karbonil- és hidroxilcsoportjaik oxigénjeivel öttagú kelátgyűrűt alakítanak ki a fémionnal. A 2. táblázatban megfigyelhető, hogy a kinolon és a flavonol komplexek csúcspotenciál értékei megközelítőleg ugyanabba a potenciál tartományba esnek, ami arra enged következtetni, hogy a két koordinációs mód között nincs jelentősebb különbség a komplexek redukciós tulajdonságaira gyakorolt hatás szempontjából.

A különböző kinolon származékok esetén a redoxi-potenciál értékekben nincs szignifikáns különbség, amiből arra következtethetünk, hogy az (O,O) bioligandum eltérő szubsztituáltsága jelentősen kisebb mértékben befolyásolja a komplexek redoxi sajátságait,

mint a 4N donor ligandum típusa. Ennek szemléltetésére a tren ligandumot tartalmazó kinolon komplexek voltammogrammjai a 43. ábrán láthatóak.



43. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ (**piros**), $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nor})](\text{PF}_6)_2$ (**kék**), $[\text{Co}(\text{tren})(\text{nal})](\text{PF}_6)_2$ (**zöld**), $[\text{Co}(\text{tren})(\text{lev})](\text{PF}_6)_2$ (**sárga**) és $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{PF}_6)(\text{Cl})$ (**lila**) komplexek ciklikus voltammogrammjai víz:MeOH = 1:1 oldószerkeletet, Ag/AgCl referencia elektródot és 200 mV/s pásztázási sebességet alkalmazva.

A 43. ábrán bemutatott $[\text{Co}(\text{tren})(\text{kin})]^{2+}$ összetételű komplexek esetén megfigyelhető egy összefüggés, miszerint a szabad ligandum pK értékének növekedésével az adott tren komplex redukciós potenciálja csökken. Az E_{pc} értékeket és a pK adatokat a 3. táblázat tartalmazza. A kinolonok pK értékei irodalomban közölt adatok.¹⁵⁷ A redukciós potenciál értékek közötti különbségek azonban meglehetősen kicsik, hibahatár környékén vannak, így komolyabb következtetést nem lehet levonni belőlük. Továbbá ugyanez a tendencia a tpa komplexek esetén nem tapasztalható. A 3. táblázatban látható, hogy a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{spa})](\text{ClO}_4)(\text{Cl})$ katódos csúcspotenciál értéke viszont jelentősebb mértékben eltér a többi kinolon tren komplexének E_{pc} értékétől. A korábban 5.2.1. pontban bemutatott ^{19}F NMR mérések alapján ez az eltérés nem a másfajta koordinációs móddal, hanem a sparfloracin és a többi kinolon szabad ligandum közötti különbséggel magyarázható.

3. táblázat. A kinolon szabad ligandumok pK értékei, illetve $[\text{Co}(\text{tren})(\text{kin})]^{2+}$ típusú komplexeik normál hidrogénelektrodra vonatkoztatott E_{pc} értékei.

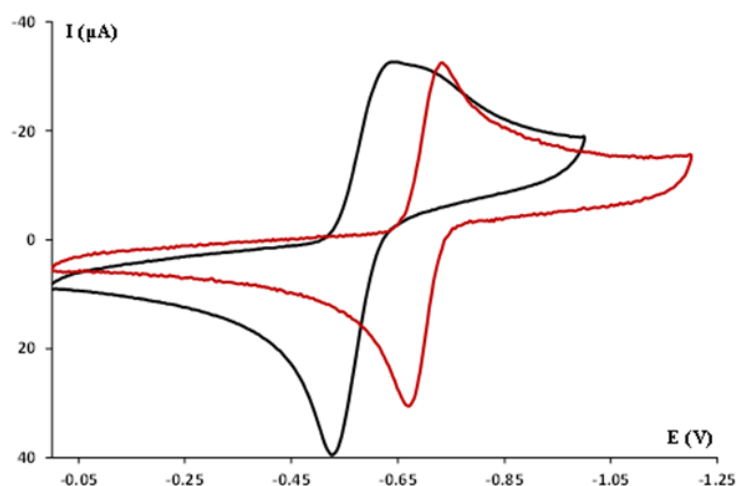
Kinolon	levH	nalH	cipH	norH	spaH
pK	5,50	5,95	6,09	6,34	6,25
$[\text{Co}(\text{tren})(\text{kin})]^{2+}$ E_{pc} (mV)	-222	-231	-242	-252	-133

A kinolon komplexekkel összhangban, a flavonolt tartalmazó komplexek esetén is megfigyelhető, hogy a bioligandum szubsztituáltsága kisebb mértékben befolyásolja a komplex redukciós potenciál értékét, mint a 4N donor ligandum típusa. A mért csúcspotenciál értékek alapján azonban elmondható, hogy az erősen elektronszívó karakterű $-\text{NO}_2$ csoportot tartalmazó származékok komplexeinek E_{pc} értékei a pozitívabb potenciál tartomány felé tolódnak el. Ez egyezik a Hambley és kutatócsoportja által közölt eredményekkel, ami szerint az elektronszívó szubsztituens csökkenti az elektronsűrűséget a központi fémionon, ezáltal annak redukciója könnyebben végbemegy.^{138,140} Ennek megfelelően, az elektronküldő $-\text{OMe}$, $-\text{iPr}$, $-\text{Me}$ csoportokat tartalmazó flavonolok komplexei esetében negatívabb E_{pc} értékeket tapasztaltunk, ami annak köszönhető, hogy az említett szubsztituensek hatására a kobaltionon lévő elektronsűrűség növekszik. A 2. táblázatban szereplő adatokon azonban megfigyelhető, hogy a 4N donorok esetén tapasztalt szabályszerűségekkel ellentétben, ez a tendencia nem érvényesül minden komplex esetében. Emellett viszont, a krizin, illetve naringenin komplexek esetén a többi flavonol komplexhez képest szignifikánsan negatívabb redukciós csúcspotenciál értékeket tapasztaltunk. Ebben a két bioligandumban a koordinációban résztvevő hidroxilcsoport nem a flavonol molekula 3-as hanem, az 5-ös pozíciójában található. Ennek következtében a többi flavonol származékkal ellentétben a krizin és a naringenin nem öt-, hanem hattagú kelátgyűrűt képes kialakítani a fémionnal. A kapott csúcspotenciál értékek alapján egyértelműen arra lehet következtetni, hogy ez a koordinációs mód stabilabb Co(III) komplexeket eredményez. Ráadásul mindkét ligandumban további hidroxil szubsztituensek találhatóak, amelyek elektronküldő karakterük miatt szintén a komplexek nehezebb redukálhatóságát segítik elő. Érdekes továbbá megfigyelni, hogy a krizin és naringenin ligandumokkal megegyezően, a kinolonoknál megvalósuló koordinációs mód esetén a kelátgyűrű tagszáma szintén hat, mégsem tapasztalható megnövekedett stabilitás a kinolon komplexek esetén. Ennek kapcsán arra lehet következtetni, hogy a fémionnal kialakított kelátgyűrű tagszámán túl a koordinálódó csoportok típusa és pozíciója is befolyásolja a komplexek redukálhatóságát.

5.3.2. Kétmagvú komplexek redoxi sajátságai

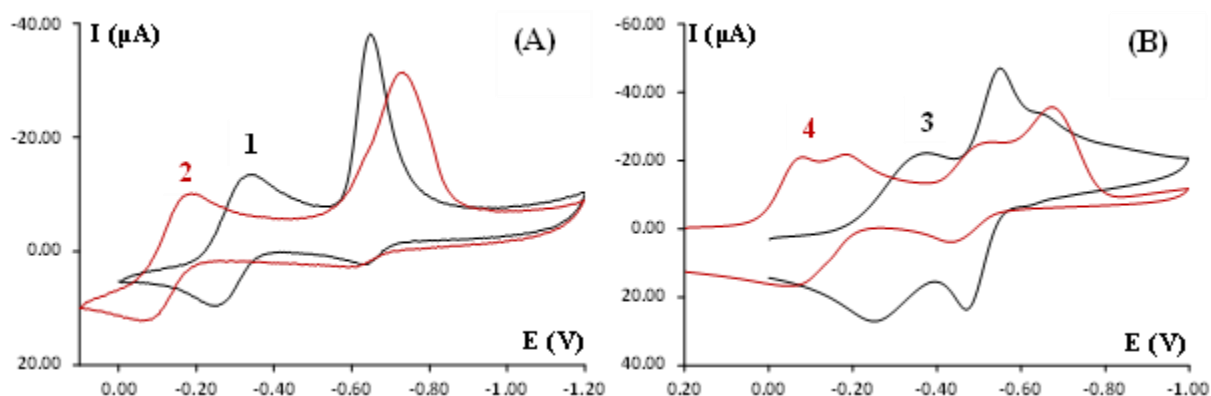
Az egymagvú komplexekhez hasonlóan a kétmagvú komplexeket képző quinH_2 és quinSH_3 molekulák kapcsán is először a szabad ligandumok redoxi sajátságait vizsgáltuk. Irodalmi előzményekkel összhangban mindkét ligandum redoxi aktívnak bizonyult a vizsgált potenciál tartományban (44. ábra).^{93,158,159} Mindkét ligandum voltammogrammja reverzibilis

redukciós folyamatok lejátszódására utal a -450–(-800) mV potenciál tartományban. Ahogyan a 44. ábrán látható, a két ligandum voltammogrammja között különbséget tapasztaltunk, miszerint a quinSH₂ csúcspotenciál értékei a quinH₂ ligandumhoz képest ~150 mV-tal a pozitívabb tartományba tolódtak, ami a quinSH₂ ligandumban lévő elektronszívó karakterű szulfonátcsoporthoz rendelhető.



44. ábra. A quinSH₂ (fekete) és quinH₂ (piros) szabad ligandumok ciklikus voltammogrammjai pH ~ 11,5 vizes közeg, Ag/AgCl referencia elektródot és 200 mV/s pásztázási sebességet alkalmazva.

A komplexek voltammogramjaiban a megfelelő szabad ligandumokéival összehasonlítva további reverzibilis folyamatokra utaló csúcsok jelentek meg a 0–(-400) mV tartományban (45. ábra). Mivel ezen csúcsok a szabad ligandumok voltammogramjaiból hiányoznak, így feltehetőleg a komplexek Co(III)-Co(II) redukciós folyamataihoz rendelhetőek. Ezt támasztják alá a csúcsok potenciál értékei is, amelyek közel esnek az egymagvú komplexek esetén mért értékekhez. Az irodalomban közölt Ru(II)-quinizarin komplexek CV vizsgálata esetén is hasonló eredményeket tapasztaltak.¹⁶⁰ A 45. ábrán megfigyelhető, hogy a szukcesszív redukciós folyamatokhoz tartozó csúcsok a [(Co(tpa))₂(quinS)](ClO₄)₃ voltammogramjában különülnek el leginkább, míg a többi komplex esetén egy burkológörbe formájában jelennek meg.



45. ábra. A $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (**1**), $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (**2**), $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quinS})](\text{PF}_6)_3$ (**3**), $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quinS})](\text{ClO}_4)_3$ (**4**) komplexek ciklikus voltammogramjai pH ~ 5 vizes közeget, Ag/AgCl referencia elektródot és 200 mV/s pásztázási sebességet alkalmazva.

A 45. ábrán látható, hogy az egymagvú komplexekkel összhangban a kétmagvú komplexek redukciójához tartozó csúcsok potenciál értékei a tren komplexek voltammogramjaiban a negatívabb tartomány felé tolódnak a tpa analógokéihoz képest. Eltérés azonban az egymagvú komplexeknél tapasztaltakhoz képest, hogy ezen komplexek esetén a tpa származékok mellett a tren analógok voltammogramjaiban is megjelentek a katódos csúcsok anódos párjai. Ez egyértelműen arra utal, hogy a kétmagvú tren komplexek redukciója is reverzibilis, így a mérési körülmények között a ligandum nem disszociál a redukciót követően. A könnyebb átláthatóság érdekében a 4. táblázatban csak a komplexek redukciós folyamataihoz tartozó csúcspotenciál értékeket tüntettem fel.

4. táblázat. A quinH₂ és quinSH₂ ligandumok kétmagvú komplexeinek redukciós folyamataihoz tartozó csúcspotenciál értékek.

Komplex	E_{pc} (mV)		E_{pa} (mV)
$[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$	-131		-61
$[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$	27		139
$[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quinS})](\text{PF}_6)_3$	-159		-51
$[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quinS})](\text{ClO}_4)_3$	131	18	149

Biológiai szempontból a CV eredmények alapján mind az egy-, mind a kétmagvú komplexek esetén egyértelműen a tren analógok alkalmazhatósága tűnik jobbnak. Ezen komplexek E_{pc} értékei közelebb esnek a hipoxiás szövetekre jellemző potenciál tartományhoz, így lehetőség nyílhat a komplexek szelektív redukciójára. Ezzel szemben a tpa komplexek esetén ezek az értékek túl pozitívak, így a komplexek redukciója valószínűleg már a normál sejtekben végbemenne. Ezen felül, az egymagvú kinolon, illetve flavonol tren komplexek

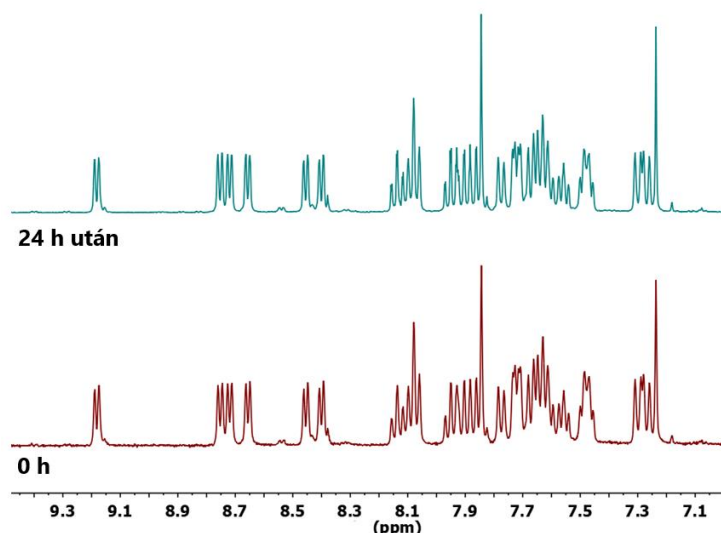
redukciója irreverzibilis, amely szintén előnyt jelenthet, a biológiailag aktív ligandum felszabadulását illetően, a komplex szelektív redukcióját követően. Természetesen a CV mérések körülményei nem feleltethetők meg egyértelműen a szervezetben lévő összetett biológiai folyamatok alakította környezetnek, így a vizsgálatok eredményei alapján csak következtetni lehet a komplexek szerkezetbeli redoxi viselkedését illetően.

5.4. Biológiai vizsgálatok eredményei

Hazai és nemzetközi együttműködések keretében lehetőségünk nyílt az előállított komplexek biológiai tesztjeinek elvégzésére. A várhatóan antibakteriális és antitumor hatású vegyületek kapcsán kapott eredményeket ismertetem a továbbiakban.

5.4.1. Potenciálisan antibakteriális hatású komplexek

A retrohidroxámsav alapú HFAH és GSKH ligandumokat tartalmazó komplexek biológiai vizsgálatát a dublini egyetemen Dr. Deirdre Fitzgerald, míg a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ és $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ és kinolon ligandumú komplexekét a brno-i egyetemen Prof. Dr. Jana Kasparkova és kutatócsoportja végezte. A tesztek megkezdése előtt ^1H NMR mérésekkel vizsgáltuk a komplexek oldatbeli stabilitását. Mivel az antibakteriális aktivitás mérésénél 18-24 órás inkubációs időt alkalmaztunk, így a komplexek stabilitását is ezen időtartamon belül vizsgáltuk. Példaként a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ komplex ^1H NMR spektruma, a minta összeállítását követően, majd 24 óra elteltével rögzítve a 46. ábrán látható. A két spektrumot összehasonlítva, a jelek pozíciójában, és intenzitásában sem tapasztalható változás, illetve új csúcsok sem jelentek meg. Ez egyértelműen azt bizonyítja, hogy a komplex összetétele a vizsgálat során nem változott, így annak oldatbeli stabilitása megfelelő a biológiai tesztek elvégzéséhez. Ez valamennyi vizsgált komplex esetén elmondható.



46. ábra. A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ komplex ^1H NMR spektruma, a minta összeállítását követően (0 h), majd 24 óra elteltével rögzítve D_2O -ban.

A HFAH és GSKH komplexek antibakteriális aktivitását a Gram(+) *S. aureus* és a Gram(-) *E. coli* baktériumokon vizsgáltuk. Mindkét baktérium esetén egy antibiotikum-érzékeny (É) és egy antibiotikum-rezisztens (R) sejtvonalat választottunk a tesztek elvégzéséhez. A komplexek és szabad ligandumok, valamint a kontrollként alkalmazott, ismert széles spektrumú antibiotikum a ciprofloxacín esetén meghatározott MIC értékeket az 5. táblázatban foglaltam össze.

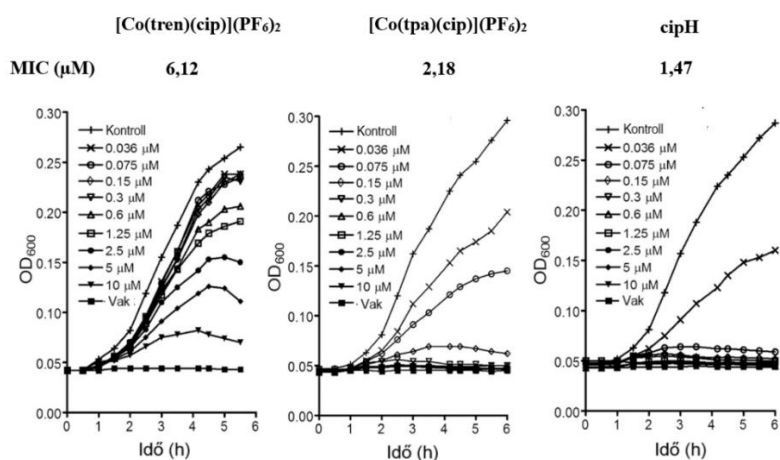
5. táblázat. A HFAH és GSKH szabad ligandumok és komplexeik, valamint a kontrollként alkalmazott ciprofloxacín esetén meghatározott MIC értékek (μM)

MIC (μM)	Baktérium sejtvonala			
	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
	ATCC 25922 (É)	CL2 (R)	ATCC 25923 (É)	ATCC 43300 (R)
HFAH	>200	>200	>200	>200
$[\text{Co}(\text{tren})(\text{HFA})](\text{PF}_6)_{1.5}\text{Cl}_{0.5}$	>200	>200	>200	>200
$[\text{Co}(\text{tpa})(\text{HFA})]\text{Cl}_2$	>200	>200	>200	>200
$[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$	100	200	3,125	3,125
GSKH	50	100	6,25	1,56
cipH	3,125	25	3,125	25

Az 5. táblázatban feltüntetett adatok alapján elmondható, hogy a HFAH szabad ligandum, illetve kobalt komplexei egyik sejtvonalon sem bizonyultak aktívnak. Ez az

eredmény megfelel a várakozásnak, ugyanis a HFAH-t nem biológiai aktivitása miatt, hanem a GSKH ligandum modellezése céljából alkalmaztuk. Ezzel szemben, a GSKH szabad ligandum aktívnak bizonyult valamennyi sejtvonalon. A molekula Gram(+) baktériumokkal szembeni hatékonysága az irodalomban ismert, amivel összhangban, a mi esetünkben is az *S. aureus* baktériumokkal szemben mutatott jelentős aktivitást.^{135,136} A rezisztens *S. aureus* sejtvonalon a ciprofloxacinnál is szignifikánsan hatékonyabbnak bizonyult. A [Co(tpa)(GSK)](PF₆)₂ komplex szintén nagy aktivitást mutatott az *S. aureus* baktériumokkal szemben, az antibiotikum-rezisztens és -érzékeny sejtvonalakon azonosan alacsony MIC értéket (3,125 µM) határoztunk meg. Ez alapján a komplex az antibiotikum-érzékeny *S. aureus* sejtvonalon nagyobb aktivitással rendelkezik a szabad GSKH ligandumnál, míg a rezisztens sejtvonalon, egy nagyságrenddel hatékonyabb a ciprofloxacinnál. Az eredmények alapján tehát elmondható, hogy a GSKH molekula antibakteriális aktivitása Co(III)-komplexbe kötött formában is megmaradt, ráadásul egy esetben a hatékonyság mértékének növekedése tapasztalható.

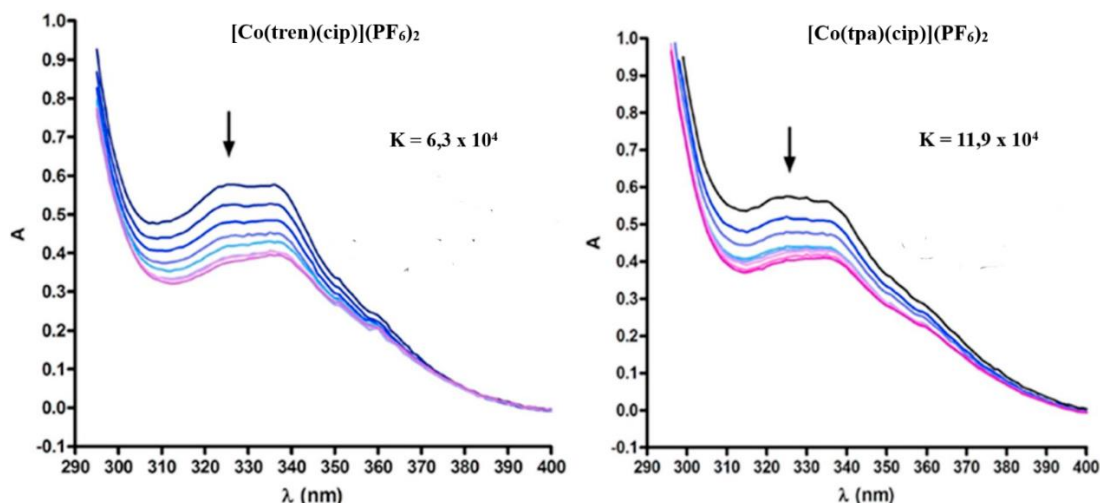
A ciprofloxacín komplexek aktivitását egy *E. coli* baktérium sejtvonalon vizsgáltuk. A 47. ábrán látható, hogy a komplexek a ciprofloxacínhoz hasonlóan már a vizsgálat kezdeti szakaszában gátolják a baktériumok növekedését. A meghatározott MIC értékek alapján elmondható, hogy mindkét komplexnek jelentős antibakteriális aktivitása van, azonban hatékonyságuk kevéssel elmarad a szabad ligandum ciprofloxacínétól. A tpa komplex aktivitása nagyobbak bizonyult a tren analógéhoz képest. Ezen mérések a komplexek antibakteriális aktivitásának okáról nem nyújtanak információt így ennek kiderítésére a ciprofloxacín komplexek esetén további vizsgálatokat végeztünk.



47. ábra. A cipH ligandum, valamint tren és tpa komplexének hatása a K12 *E. coli* baktérium sejtek növekedésére, illetve a meghatározott MIC értékek.

Mivel a fluorokinolonok antibakteriális aktivitása elsősorban a topoizomeráz enzimek gátlásán alapul, vizsgálat tárgyát képezte, hogy a komplexek hatékonysága is ehhez rendelhető-e.^{161,162} A kinetoplast DNS-sel végzett gél elektroforézis vizsgálatok megmutatták, hogy mindkét komplex rendelkezik topoizomeráz II-enzimgátló hatással. Az MIC értékekkel összhangban, a tpa komplex esetén az inhibíció mértéke nagyobbak adódott a tren komplexnél tapasztalható képest. Ennek értelmében feltételezhető, hogy összefüggés van a komplexek antibakteriális aktivitása és enzimgátló hatása között, azonban az nem jelenthető ki, hogy a tpa származék nagyobb hatékonysága kizárólag annak köszönhető, hogy ez a komplex jobban gátolja a topoizomeráz II. enzim működését.

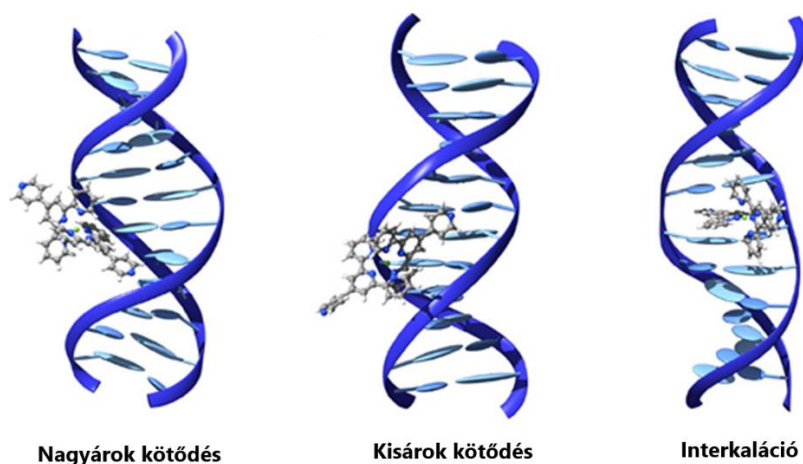
A fluorokinolonok enzimgátló hatása összefüggésbe hozható a molekulák DNS-hez való kötődésével, így a komplexek esetén is vizsgáltuk ezt a tulajdonságot ct-DNS alkalmazásával. A kölcsönhatást először UV-Vis spektrofotometriával tanulmányoztuk. A spektrumokban a komplexek abszorpciós maximuma 310-400 nm között jelentkezett, ami nem fed át a DNS elnyelési hullámhosszával, így a kölcsönhatás vizsgálható ennek a csúcsnak a változásait követve. A $\text{DNS} + \text{komplex} \rightleftharpoons [\text{DNS(komplex)}]$ egyensúlyi folyamatra a kötési állandó meghatározása a komplex oldatához a DNS 0-ról induló koncentrációjának a lépcsőzetes növelése mellett regisztrált abszorpciós sávok változását követve történt, amely a $\text{komplex}/[\text{DNS(komplex)}]$ arány változásához köthető. A méréseket addig folytatva, amíg a spektrumokban szignifikáns változás regisztrálható, majd a regisztrált spektrumokat számítógépes illesztőprogram alkalmazásával illesztve, az állandó számítható volt. A ct-DNS koncentrációjának növelésével a csúcs jelentősebb hipokróm és a nagyobb hullámhossz felé történő, enyhébb batokróm eltolódást mutatott mindkét komplex spektrumában (48. ábra). Ezen típusú változások elfogadottan a kis molekulák DNS-hez történő interkalációs kötődéséhez rendelhetőek, így arra lehet következtetni, hogy a komplexek kötődnek a DNS-hez. A kötődés feltehetően elsősorban a DNS lánc bázispárjai, illetve a ciprofloxacinnal bioligandum aromás csoportja közötti erős stacking kölcsönhatás révén valósul meg. A meghatározott kötési állandó (K) értéke a tpa komplex esetén közel kétszerese a tren analógénak, tehát az előbbi erősebben kötődik a DNS-hez.



48. ábra. A $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ és $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ komplexek DNS-hez kötődésének UV-Vis vizsgálata és a meghatározott kötési állandók (K). A minták komplex koncentrációja $5,3 \times 10^{-5}$ M volt. A nyilak a komplexek abszorpciós maximumának a hozzáadott DNS mennyiségének a növelése hatására bekövetkező csökkenését jelzik.

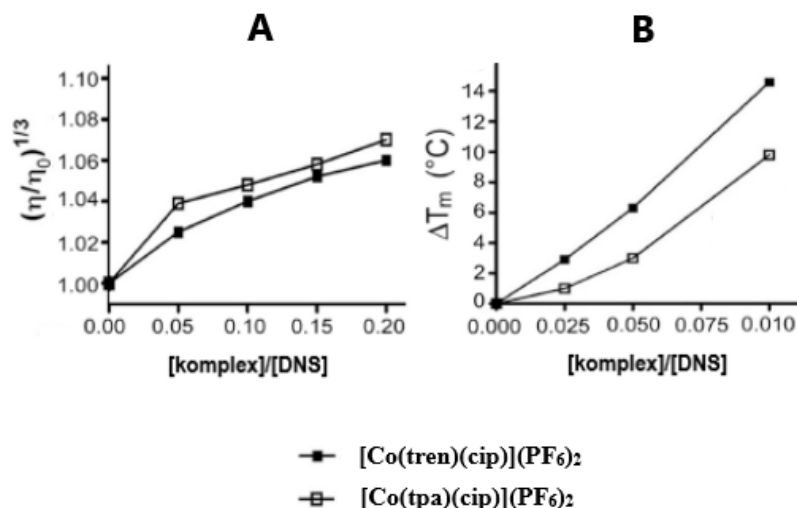
A $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ komplex DNS-hez történő erősebb kötődése valószínűleg a tpa ligandumban lévő aromás piridinggyűrűk jelenlétére vezethető vissza, amelyek növelik a DNS-sel kialakított stacking kölcsönhatás erősségét. Ezáltal a tpa komplex erősebben kötődik a DNS-hez, mint az alifás csoportokkal rendelkező tren ligandumot tartalmazó komplex. Ez magyarázatul szolgálhat a tpa komplex nagyobb mértékű enzim-gátló hatására és ezáltal nagyobb antibakteriális aktivitására. Ezen teória alapján a komplexek disszociációja a sejten belül nem játszódik le. Az aktivitás mértéke mindkét komplex esetén kevéssel elmarad a szabad ligandum, a ciprofloxacínéhoz képest, vagyis ezen hipotézis szerint a komplexek kevésbé kötődnek a DNS-hez, mint a szabad ligandum, aminek feltételezhetően sztérikus okai vannak.

A kis molekulák DNS-hez történő kötődése többféle módon is megvalósulhat. A leginkább előforduló lehetséges kötőmódokat a 49. ábra szemlélteti. A spektrofotometriásan meghatározott kötési állandó értékek alapján következtetni lehet a DNS-hez való kötődés módjára is, azonban ennek egyértelmű eldöntésére további vizsgálatokat végeztünk.



49. ábra. A kis molekulák esetén leggyakrabban előforduló DNS-kötésmódok.¹⁶³

A viszkozimetria alkamas technika a DNS-hez történő kötésmód eldöntésére. Amennyiben a komplexek az UV-Vis eredmények alapján feltételezett, interkalációs módon, azaz a DNS szálak közé ékelődve kötődnek, akkor ennek hatására a DNS láncok megnyúlnak, hosszuk növekszik, ami a DNS oldat viszkozitásának megnövekedését okozza. Ugyanez a jelenség a 49. ábrán feltüntetett egyéb lehetséges kötésmódok esetén nem valósul meg.¹⁶⁴ Az általunk vizsgált mindkét komplex koncentrációjának a növelése esetén egyaránt a DNS oldat viszkozitás értékének növekedését tapasztaltuk, ami megerősíti a spektrofotometriás eredmények alapján feltételezett interkalációs kötésmódot (50. ábra, A). A kötésmód meghatározható továbbá a DNS olvadási hőmérsékletének (T_m) vizsgálatával is. Az interkalációs módon kötődő molekulák stabilizálják a DNS kettős hélix szerkezetét, ami a DNS olvadási hőmérsékletének emelkedését eredményezi. A DNS T_m értéke a komplex hozzáadásának hatására növekedett a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ esetén is, ami alátámasztja a komplexek interkalációs kötésmódját (50. ábra, B).



50. ábra. A ct-DNS relatív viszkozitásának (A) és olvadási hőmérsékletének (B) változása a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ komplexek hozzáadásának hatására.

A ciprofloxacin komplexek esetén teszteltük antitumor aktivitásukat is, egy egészséges (MRC5 pd30 tüdőszövet) és három különböző rákos (HeLa méhnyakrák carcinoma, MDA-MB-239 mellrák carcinoma, MCF-7 mellrák adenocarcinoma) sejtvonalon. A komplexek mellett vizsgáltuk a kiindulási $[\text{Co}(\text{tren})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ és $[\text{Co}(\text{tpa})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ prekursor komplexek, illetve a szabad ligandum ciprofloxacin citotoxicitását is, azonban egyik esetben sem tapasztaltunk aktivitást a vizsgált 0-200 μM koncentráció tartományban. Emellett a gél elektroforézis vizsgálatok alapján elmondható, hogy egyik komplex hatására sem fragmentálódott a DNS, így a komplexek kötődnek a DNS-hez, de annak elhasadását nem eredményezik. Ezen vizsgálatok alapján elmondható, hogy a ciprofloxacinhoz hasonlóan, a komplexeknek nincs toxikus hatása, amely előfeltétele az antibiotikumként való biztonságos alkalmazásuknak.^{165,166}

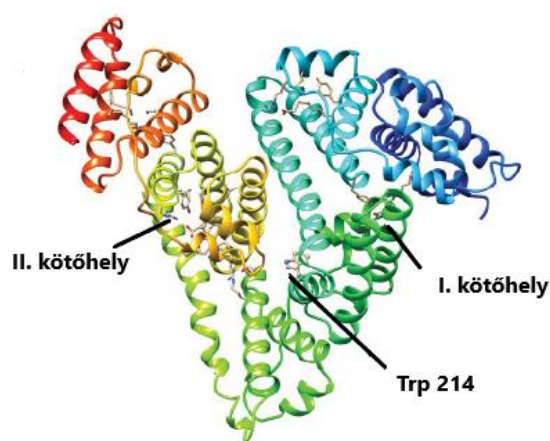
A biológiai vizsgálatok eredményei alapján tehát elmondható, hogy a $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$, $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{PF}_6)_2$ és a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ komplexek is rendelkeznek a megfelelő szabad ligandumával összemérhető antibakteriális aktivitással, így alkalmazásuk esetlegesen alternatívát jelenthet rezisztens baktériumok esetén. Ezen felül, a $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ komplex, az antibiotikum-érzékeny *S. aureus* sejtvonalon a GSKH szabad ligandumnál is hatékonyabbnak bizonyult.

5.4.2. Potenciálisan antitumor hatású komplexek

A várhatóan rákellenes hatású quinizarin és flavonol komplexek esetén is, a biológiai tesztek elvégzését megelőzően vizsgáltuk a komplexek oldatbeli stabilitását ^1H NMR és UV-Vis módszereket alkalmazva. Az NMR mérések során a biológiai vizsgálatok során használt körülményeket modellezve, a quinizarin-tartalmaú komplexeket D_2O -ban, míg a flavonol komplexeket $\text{D}_2\text{O} : \text{d}^6\text{-DMSO} = 5 : 1$ arányú oldószerkeletben oldottuk fel. Az oldatbeli stabilitást ezeknél a komplexeknél egy napon túl is vizsgáltuk a biológiai tesztekhez alkalmazott hosszabb inkubációs idő miatt. A kapott eredmények alapján az antibakteriális hatású komplexekhez hasonlóan valamennyi vegyület stabilnak bizonyult a vizsgált időtartamon belül, így alkalmasak a megfelelő biológiai tesztelésre. A továbbiakban a kétmagvú és az egymagvú komplexek kapcsán elért eredményeket külön pontokban ismertetem.

5.4.2.1. Kétmagvú komplexek

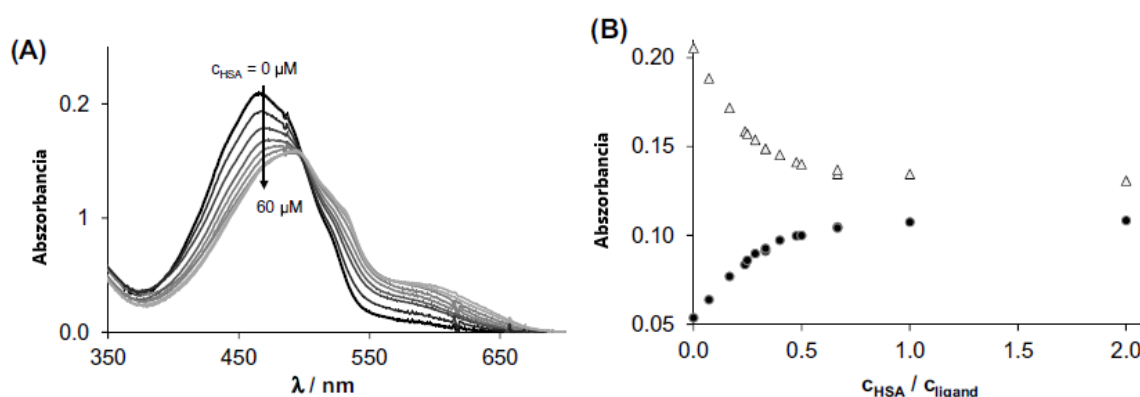
Annak érdekében, hogy információt szerezzünk a komplexek véráramban történő szállításáról, vizsgáltuk azok humán szérum albuminhoz (HSA) való kötődését. A HSA a véráramban legnagyobb koncentrációban előforduló szállító fehérje, amely három hidrofób zsebbel rendelkezik, így alkalmas lehet kis molekulák megkötésére (51. ábra).



51. ábra. A humán szérum albumin (HSA) szerkezete.¹⁶⁷

A HSA-hoz való kötődést a quinSH₂ ligandum, illetve a $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ és $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quinS})](\text{ClO}_4)_3$ komplexek esetén először UV-Vis spektrofotometriás mérésekkel vizsgáltuk. Az 52. ábrán látható, hogy a quinSH₂ UV-Vis spektrumában két változás is

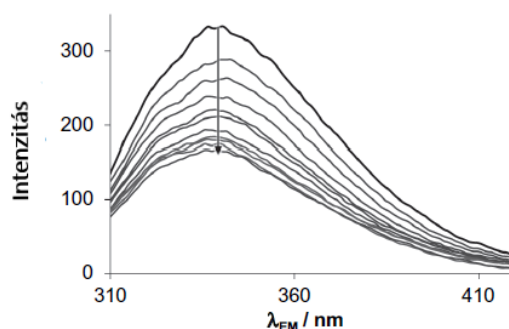
megfigyelhető a hozzáadott HSA koncentráció növelésének hatására (52. ábra A). Egyik a 460 nm hullámhossznál jelentkező csúcs intenzitásának csökkenése, illetve csúcspontjának a nagyobb hullámhossz tartományba történő eltolódása. A másik egy új abszorpciós csúcs megjelenése a spektrumban 550-650 nm között. Ezen két változás mértéke összhangban van egymással, ahogy az az 52. B ábrán is látható. Ezek a spektrális változások feltehetően a ligandum HSA-hoz történő kötődéséhez rendelhetők. Az eredmények alapján a folyamat már kevesebb, mint 1 ekvivalens fehérje hozzáadására is teljesen végbemegy, amely arra enged következtetni, hogy a quinSH₂ több helyen is kötődik a HSA-hoz. Ezzel szemben egyik komplex spektrumában sem tapasztaltunk változást a fehérje hozzáadásának hatására, amely arra utal, hogy a komplexek nem kötődnek a HSA-hoz. Ugyanakkor ez nem tekinthető egyértelmű bizonyítéknak, mivel a kötődés másodlagos kötések nyomán megy végbe, amelyhez rendelhető szerkezeti változások nem mindig láthatóak az adott anyag UV-Vis spektrumában. Ezért spektrofotometriás méréseket is végeztünk, amelyekkel az is vizsgálható, hogy a molekula esetleges kötődése a fehérje melyik kötőhelyén következik be.



52. ábra. A quinSH₂ ligandum UV-Vis spektrumának változása a hozzáadott HSA koncentrációjának hatására (A), illetve a 460 nm-en (Δ), és 530 nm-en ($\bullet$) mért abszorbancia értékek változása (B).

A HSA I.-es kötőhelyén található a fehérje egyetlen triptofán aminosava (Trp 214). A triptofán fluoreszcens aktivitással rendelkezik, amit kiolt egy molekula bekötődése a fehérjének erre a részére, így a folyamat az ún. kioltásos módszerrel fluorimetriásan követhető^{168,169,170}. A triptofán aminosav 295 nm-es hullámhosszon szelektíven gerjeszthető, amelynek hatására az emittált fluoreszcens sugárzás 340 nm-nél lévő csúcsként jelenik meg a spektrumban. Ennek a csúcsnak a maximumához tartozó intenzitás változását követtük a quinSH₂ ligandum és valamennyi quinizarin tartalmú komplex hozzáadásának hatására. A quinH₂ gyenge vízdoldhatósága miatt nem volt vizsgálható ezzel a módszerrel. A 53. ábrán látható, hogy a quinSH₂ ligandum esetében a molekula koncentrációjának növelésével a csúcs

intenzitása csökken, ami egyértelműen arra utal, hogy a ligandum kötődik a HSA I.-es kötőhelyére. Ugyanez egyik komplex esetén sem mondható el.



53. ábra. A HSA-beli Trp 214 fluoreszcens aktivitásának változása a hozzáadott quinSH₂ ligandum koncentrációjának növelése hatására.

A HSA I.-es kötőhelyére történő kötődést marker-kiszorításos módszerrel is vizsgáltuk. A markerek olyan vegyületek, amelyek csak a fehérjéhez kötődve rendelkeznek fluoreszcens emisszióval. Amennyiben egy molekula kötődik a fehérjéhez, az kiszorítja onnan a markert, így a fluoreszcens aktivitás csökken. A warfarin (W) marker a HSA I.-es kötőhelyére kötődik, így használatával a vegyületeknek, a fehérjének erre a részére történő kötődését vizsgáltuk. Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy az emissziós csúcs intenzitása csak a quinSH₂ szabad ligandum esetén csökkent, egyik komplex spektrumában sem tapasztaltunk változást. Ez alátámasztja a kioltásos módszerrel kapott eredményeket, miszerint a komplexek nem, a szabad quinSH₂ ligandum viszont kötődik a HSA I.-es kötőhelyére. A quinSH₂ kötési állandóját a kioltásos ($\log K' = 5,92(1)$) és a W-kiszorításos ($\log K' = 6,14(1)$) módszer kapcsán is meghatároztuk, amely értékek jó egyezést mutatnak egymással. A vegyületeknek a fehérje II.-es kötőhelyére történő kötődését egy másik marker molekula, a danzil-glicin (DG) használatával vizsgáltuk. Az eddigi eredményekkel összhangban a komplexek nem, csak a quinSH₃ szabad ligandum kötődött a fehérjéhez ($\log K' = 6,45(2)$).

A quinSH₂ és quinH₂ szabad ligandumoknak saját fluoreszcens aktivitásuk is van, amely nincs átfedésben a HSA-hoz tartozóéval így a ligandumok fehérjéhez való kötődését ezen emittált fluoreszcens sugárzáson keresztül is vizsgáltuk. Ez a módszer kisebb minta koncentrációt igényel, így a quinH₂ esetében is el tudtuk végezni a méréseket. A fehérje hozzáadására mindkét ligandum spektrumában a fluoreszcens aktivitás csökkenését tapasztaltuk. Ez feltehetően azzal magyarázható, hogy a kötődés következtében a ligandumok deprotonálódnak, amely formában fluoreszcens aktivitásuk megszűnik, ezáltal csökken az

emittált sugárzás intenzitása a HSA hozzáadásának hatására. A kapott eredmények alapján mindkét ligandum kötődik a fehérjéhez, azonban a quinSH₂ esetén a kölcsönhatás erőssége nagyobb mint a quinH₂ ligandumnál.

Vizsgálataink alapján tehát elmondható, hogy a quinSH₂ és quinH₂ szabad ligandumok kötődnek a HSA fehérjéhez, Co(III)-komplexeik azonban nem. A véráramban lévő szállítófehérjék közül a gyógyszermolekulák megkötésére a HSA mellett, elsősorban a humán szérum transzferrin (Tf) alkalmas, így lehetséges, hogy az általunk előállított komplexek szállítása is a Tf-el kialakított kölcsönhatáson alapszik. Ennek vizsgálatára sajnos nem volt lehetőségünk, azonban az irodalomban ismert, hogy a biológiailag aktív, Ru(III)-tartalmú KP1019 komplex képes kötődni a transzferrinhez⁴².

A [(Co(tren))₂(quin)](ClO₄)₄ és a [(Co(tpa))₂(quin)](ClO₄)₄ komplexek, illetve a pozitív kontrollként alkalmazott karboplatin antitumor aktivitását MTT tesztet alkalmazva öt különböző ráksejtvonalon (HeLa méhnyakrák carcinoma, HCT116 vastagbélrák carcinoma, A2780 petefészekrák carcinoma, A2780cisR ciszplatin-rezisztens petefészekrák carcinoma, MCF-7 mellrák) vizsgáltuk. A mérések során meghatározott IC₅₀ értékeket a 6. táblázat tartalmazza.

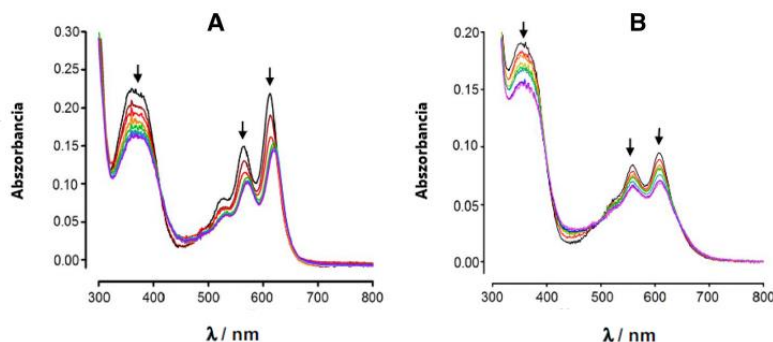
6. táblázat. A [(Co(tren))₂(quin)](ClO₄)₄ és a [(Co(tpa))₂(quin)](ClO₄)₄ komplexek, valamint a kontrollként alkalmazott karboplatin esetén meghatározott IC₅₀ értékek (μM).

IC ₅₀ (μM)	Sejtvonal				
Komplex	HCT116	MCF 7	A 2780	A2780 cisR	HeLa
[(Co(tren)) ₂ (quin)](ClO ₄) ₄	56,3 (0,5)	26 (3)	39 (2)	34 (3)	30 (3)
[(Co(tpa)) ₂ (quin)](ClO ₄) ₄	28 (6)	15,1 (0,8)	16 (4)	19,6 (0,2)	26,4 (0,1)
Karboplatin	76 (6)	73 (5) ¹⁷¹	21 (2) ¹⁷¹	83 (5) ¹⁷¹	46 (4)

A 6. táblázatban szereplő adatok alapján megállapítható, hogy a komplexek valamennyi sejtvonalon aktívnak bizonyultak. Hatékonyságuk mértéke hozzávetőlegesen megegyezett a különböző sejtvonalakon és egyaránt nagyobbak bizonyult a karboplatinénál. Egyedül az A2780 sejtvonalon mutatott a [(Co(tren))₂(quin)](ClO₄)₄ kisebb aktivitást, mint a karboplatin, de a tpa származék ebben az esetben is hatékonyabb volt a platina-komplexnél. Az A2780 ciszplatin-érzékeny és -rezisztens sejtvonalakon meghatározott IC₅₀ értékeket összehasonlítva látható, hogy a karboplatin hatékonysága a rezisztens sejtvonalon jelentősen

csökken. Ezzel szemben a komplexek hatékonysága közel azonos mindkét esetben, ami arra utal, hogy alkalmazásuk rezisztens ráksejtvonalakkal szemben is megoldást jelenthet. A két komplexet összehasonlítva, látható, hogy a tpa származék mind az öt vizsgált sejtvonalon aktívabbnak bizonyult mint a tren analóg. Az eltérés okának a kiderítésére ICP-MS technika segítségével vizsgáltuk a komplexek sejtek általi felvételét. Az eredményekben a két komplex között kis különbség adódott, miszerint a tpa komplex (7,5 (1,8) ng Co/10⁶ sejt) nagyobb mértékben jut be a sejtbe mint a tren származék (5,6 (0,8) ng Co/10⁶ sejt), azonban az értékek közötti eltérés nem nevezhető szignifikánsnak. A különbség adódhat a vegyületek eltérő lipofilitásából, így vizsgáltuk ezen tulajdonságukat is és meghatároztuk az lgD (megoszlási hányados logaritmus) értékeit. A vártak megfelelően mindkét komplex esetén kis értékeket kaptunk, amely mutatja, hogy a vegyületek alapvetően hidrofíl karakterűek. A tpa analóg lgD értéke (-1,08) nagyobbak adódtak a tren komplexénél (-1,33) így előbbi nagyobb lipofilitással rendelkezik, ami valószínűleg a tpa ligandumban lévő piridilcsoportoknak köszönhető. Feltehetően a lipofilitásbeli különbség az oka a sejtfelvételben tapasztalt kis eltérésnek is, azonban ezeknek a különbségeknek a mértéke nem jelentős, így valószínűleg nem kizárólag ezekhez rendelhető a tpa komplex nagyobb rákellenes hatása.

Annak érdekében, hogy meghatározzuk, hogy mivel hozható összefüggésbe a komplexek antitumor aktivitása, illetve a tpa analóg nagyobb hatékonysága, vizsgáltuk a komplexek DNS-hez való kötődését és a DNS-replikációs folyamataiban szerepet játszó topoizomeráz I. enzimgátló tulajdonságát. A DNS-kötődési vizsgálatokat a korábban bemutatott kinolon-komplexekhez hasonlóan először UV-Vis spektrofotometriás mérésekkel kezdtük. A DNS hozzáadásának hatására mindkét komplex spektrumában csökkent az abszorpciós maximumhoz tartozó jel intenzitása, amely a fehérjéhez való kötődésre utal (54. ábra). A [(Co(tren))₂(quin)](ClO₄)₄ esetében, a ciprofloxacin komplexekkel egyezően, a csúcs hipokróm és enyhe batokróm eltolódást mutat a DNS koncentrációjának növelése hatására, amely a komplex interkalációs kötésmódjára utal. Ezzel szemben a [(Co(tpa))₂(quin)](ClO₄)₄ komplexnél batokróm eltolódást nem tapasztaltunk, ami másféle kötésmódot feltételez. Emellett a meghatározott kötési állandók alapján elmondható, hogy a tren komplex ($K = 3,7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) erősebben kötődik a DNS-hez, mint a tpa származék ($K = 1,0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$).



54. ábra. A $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (A) és a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (B) komplexek DNS-hez kötődésének UV-Vis vizsgálata. A minták koncentrációja $c_{\text{komplex}}: 2,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ és $c_{\text{DNS}}: 0-1,1 \times 10^{-4} \text{ M}$ volt. A nyilak a komplexek abszorpciós maximumának a hozzáadott DNS mennyiségének a növelése hatására bekövetkező csökkenését jelzik.

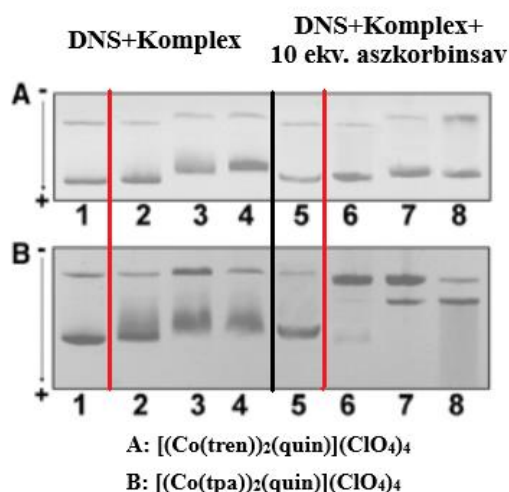
A DNS-hez való kötődést etídium-bromid (EtBr) kiszorítással is vizsgáltuk, amely során a DNS-EtBr addukt fluoreszcens aktivitásának változását spektrofluorimetrián keresztül követtük a hozzáadott komplex koncentrációjának növelése függvényében. A fluoreszcens aktivitás mértéke mindkét komplex hatására csökkent, ami a vegyületek kötődésére utal. A tren komplexnél nagyobb mértékben csökkent az emissziós csúcs intenzitása, ami az UV-Vis eredményekkel összhangban arra enged következtetni, hogy ez a komplex erősebben kötődik a DNS-hez, mint a tpa analóg.

A megvalósuló kötősmód eldöntésére viszkozimetriás és termikus stabilitási vizsgálatokat végeztünk. A DNS olvadási hőmérséklete (T_m) jelentősen nagyobb mértékben emelkedett a tren komplex, mint a tpa analóg hozzáadása esetén. Emellett a DNS oldat relatív viszkozitása is csak a tren komplex hozzáadásának hatására növekedett, a tpa komplex esetén nem változott. Ezek az eredmények egyértelműen arra utalnak, hogy a $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ a kinolon komplexekhez hasonlóan interkalációs módon kötődik a DNS-hez, míg a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ kötődése más módon, valószínűleg a 48. ábrán feltüntetett nagyárok, vagy kisárok kötősmóddal valósul meg. Ez feltehetően azzal magyarázható, hogy a kétmagvú tpa komplexben lévő, összesen hat piridinggyűrű révén a molekula már túl nagy méretű, így szterikus okok miatt nem képes a DNS két szála közé beékelődni, interkalációs módon kötődni.

A DNS-kötődéssel kapcsolatos mérések mellett gélelektroforézis technikával annak vizsgálata is megtörtént, hogy a komplexek képesek-e gátolni a topoizomeráz I. enzim működését. Az enzim megbontja az alkalmazott plazmid DNS összetett szerkezetét, így működésének gátlása, ezáltal a komplexek aktivitása követhető a mérés során kapott

elektroferogrammon. A vizsgálatok eredménye alapján a tren komplex jobban gátolja az enzim működését, mint a tpa származék. Ez összefüggésben van a DNS-kötődési vizsgálatok eredményeivel, így elmondható, hogy a tren komplex erőbben kötődik a fehérjéhez és ezáltal jobban gátolja az enzim működését, mint a tpa komplex. Ugyanez a tendencia volt megfigyelhető a kinolon-komplexek esetén is, vagyis az a származék rendelkezett nagyobb enzim-inhibitor sajátossággal, amelyik erőbben kötődött a DNS-hez. A ciprofloxacin komplexekkel ellentétben ezen komplexek enzim-inhibitor képessége nincs összhangban a biológiai aktivitásukkal, ugyanis a tren származék gátolja nagyobb mértékben a topoizoméráz I. enzimet, mégis a tpa analóg rákellenes hatása a nagyobb. Ebből egyértelműen arra lehet következtetni, hogy a komplexek antitumor aktivitásáért nem az enzimgátló képességük a felelős, így a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ nagyobb hatékonyságának oka is máshol keresendő.

Emiatt vizsgáltuk a komplexek DNS hasító képességét is, szintén gél elektroforézis módszerrel. A mérések során kapott elektroferogrammok a 55. ábrán mutatom be.



55. ábra. A $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (A) és a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ (B) komplexek DNS hasító képességének vizsgálata során kapott elektroferogrammok. 1: DNS; 2: DNS + komplex, $r = 0,01$; 3: DNS + komplex, $r = 0,05$; 4: DNS + komplex, $r = 0,1$; 5: DNS + aszkorbinsav; 6: DNS + aszkorbinsav + komplex, $r = 0,01$; 7: DNS + aszkorbinsav + komplex, $r = 0,05$; 8: DNS + aszkorbinsav + komplex, $r = 0,1$; $r = [\text{komplex}]/[\text{DNS}]$.

Az 55. ábrán megfigyelhető, hogy a komplex koncentrációjának a növekedésével a tpa származék esetén egyre inkább változik a kapott sáv alakja és pozíciója, míg a tren analóg esetén nem tapasztalható változás. A kapott eredmények alapján elmondható, hogy a tpa komplex jelenléte a DNS lánc kismértékű elhasadását okozza, míg ugyanez a tren származék esetén nem valósul meg. A tumorban lévő redukтивabb környezet modellezése céljából a kísérleteket elvégeztük tíz ekvivalens aszkorbinsav redukálószer jelenlétében is. A tpa

komplex esetén rögzített elektroferogrammon látható, hogy a hasított DNS-fragmensek mennyisége jelentősen megnőtt, amiből arra lehet következtetni, hogy a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ DNS-hasítása redoxi-függő. A $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ esetén aszkorbinsav jelenlétében sem tapasztaltunk a DNS fragmentálódására utaló jeleket az elektroferogrammon. Ezen eredmények alapján elmondható, hogy a tpa komplex kis mértékben hasítja a DNS láncot, míg a tren analóg nem rendelkezik ilyen tulajdonsággal. Ez magyarázatul szolgálhat a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ nagyobb rákellenes hatására.

Abból, hogy a tpa komplex DNS-hasító aktivitása redukívabb környezetben megnövekedett, arra lehet következtetni, hogy a hasításért feltehetően, a komplex redukciója során keletkező reaktív szabad gyökök a felelősek.^{172,173,174,175,176} Ez összefüggésbe hozható a CV eredményekkel, miszerint a tpa komplexek könnyebben redukálhatóak, mint a tren analógok, így a $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ valószínűleg azért nem hasítja a DNS láncot, mert a komplex aszkorbinsav jelenlétében sem redukálódik.

Annak érdekében, hogy meggyőződjünk arról, hogy a DNS-hasítása valóban a reaktív gyökök képződéséhez rendelhető-e, a kísérleteket megismételtük aszkorbinsav mellett három különböző típusú gyökfogó molekula, NaN_3 (szinglet oxigén gyök), DMSO (hidroxil gyök), illetve szuperoxid dizmutáz (SOD) (szuperoxid anion gyök) jelenlétében is. Annak alapján, hogy melyik gyökfogó jelenlétében csökken a komplex DNS-t hasító aktivitása, következtetni lehet, hogy milyen típusú gyök felelős a folyamatért. Az eredmények alapján a komplex DNS-hasító sajátja leginkább a NaN_3 jelenlétében, illetve kisebb mértékben a DMSO hatására csökkent. SOD jelenlétében semmilyen változást nem volt kimutatható. Ez megerősíti a feltételezésünket, miszerint a DNS-hasításért a komplex redukciója során keletkező, elsősorban szinglet oxigén típusú reaktív szabad gyökök a felelősek. A módszerrel kapott eredmények alapján tehát következtethetünk a szervezetben esetlegesen lejátszódó folyamatokra, mivel a redukálószer alkalmazása a rákos szövetekben lévő redukívabb környezet modellezésére szolgál. Ennek ellenére, az élőszervezetekben lévő környezet és a mérés körülményei között jelentősebb különbségek lehetnek, így az említett megállapítások csak feltételezéseknek tekinthetők.

Az eredmények alapján tehát mind a $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$, mind a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ komplex a karboplatinál nagyobb antitumor aktivitással rendelkezik a vizsgált sejtvonalakon. A komplexek hatékonysága a karboplatinallal ellentétben a ciszplatin-rezisztens sejtvonalon sem csökkent. A tpa komplex esetén valamennyi sejtvonalon nagyobb aktivitást tapasztaltunk, mint a tren származéknál. Ennek oka feltehetően

a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ DNS-hasító sajátságához vagy kicsit nagyobb mértékű sejtek általi felvételéhez rendelhető. A vizsgálatok alapján a tpa komplex redukzív környezetben nagyobb mértékben hasítja a DNS-t. Ez fontos lehet a komplex szelektív aktiválódása szempontjából, mivel a tumor szövetekben is redukzívabb környezet van jelen, mint az egészséges szövetekben.

5.4.2.2. Egymagvú komplexek

Az egymagvú flavonoláto komplexek esetén a rákellenes aktivitás tesztet lehetőségünk nyílt párhuzamosan normoxiás és hipoxiás körülmények között is elvégezni a leiden-i egyetemen. Ehhez egy olyan inkubátor állt rendelkezésünkre, amelyben szabályozható az oxigén szint, amit a hipoxiás körülmények modellezésére 1 %-ra állítottuk be. A $[(\text{Co}(4\text{N})(\text{flav}))](\text{ClO}_4)_2$ (4N = tren, tpa, flav = Br-flav, Me-flav, flav, kriz, NO_2 -flav, NO_2 -F-flav) összetételű komplexek és szabad ligandumaik, illetve a pozitív kontrollként alkalmazott ciszplatin antitumor aktivitását SRB tesztet alkalmazva 2 különböző ráksejtvonalon (A431 bőrrák epidermoid carcinoma, A549 tüdőrák carcinoma) vizsgáltuk. A mérések során meghatározott IC_{50} értékeket a 7. táblázat tartalmazza.

7. táblázat. A vizsgált flavonoláto komplexek és szabad ligandumok valamint a kontrollként alkalmazott ciszplatin rákellenes hatásának vizsgálata során meghatározott IC₅₀ értékek (μM)

IC ₅₀ (μM)	A431		A549	
	Normoxia	Hipoxia	Normoxia	Hipoxia
[Co(tren)Cl ₂]Cl	>100	>100	>100	>100
[Co(tpa)Cl ₂]Cl	>100	>100	>100	>100
[Co(tren)(flav)](ClO ₄) ₂	>100	>100	>100	>100
[Co(tpa)(flav)](ClO ₄) ₂	45 (3)	47 (6)	8,3 (1,1)	21 (3)
[Co(tren)(Me-flav)](ClO ₄) ₂	44 (4)	88 (14)	>100	>100
[Co(tpa)(Me-flav)](ClO ₄) ₂	17 (2)	26 (4)	14 (1)	17 (11)
[Co(tpa)(Br-flav)](ClO ₄) ₂	13 (1)	17 (2)	6,8 (0,9)	8,9 (3,5)
[Co(tren)(kriz)](ClO ₄) ₂	>100	>100	>100	>100
[Co(tpa)(kriz)](ClO ₄) ₂	68 (16)	64 (14)	34 (3)	33 (4)
[Co(tren)(NO ₂ -F-flav)](ClO ₄) ₂	>100	>100	72 (15)	48 (8)
[Co(tpa)(NO ₂ -F-flav)](ClO ₄) ₂	15 (2)	22 (4)	5,2 (0,7)	6,9 (1,2)
[Co(tpa)(NO ₂ -flav)](ClO ₄) ₂	14 (3)	23 (4)	6.3 (1,0)	7.3 (1,4)
[Co(tren)(Br-flav)](ClO ₄) ₂	55 (11)	91 (39)	89 (12)	73 (20)
Krizin	>100	>100	>100	>100
Flavonol	>100	>100	36 (7)	>100
Me-flavonol	>100	>100	>100	>100
Br-flavonol	84 (29)	>100	7,0 (1,0)	12 (7)
NO ₂ -flavonol	64 (7)	>100	15 (3)	17 (3)
NO ₂ -F-flavonol	>100	>100	16 (2)	15 (3)
Ciszplatin	3,2 (0,7)	5,6 (1,3)	1,8 (0,2)	2,4 (0,6)

A komplexek és a szabad ligandumok mellett a [Co(tren)Cl₂]Cl és [Co(tpa)Cl₂]Cl prekurzorok rákellenes hatását is vizsgáltuk, azonban ezek a vegyületek egyik sejtvonalon sem mutattak aktivitást, ami megfelel az irodalomban közölt eredményeknek¹³⁸. A 7. táblázat adatai alapján általánosságban elmondható, hogy a vizsgált vegyületek hatékonyabbnak bizonyultak az A549 sejtvonalon, mint az A431-en. Egyedüli kivétel a [(Co(tren)(Me-flav)](ClO₄)₂, amelynél csak az A431 sejtvonalon tapasztaltunk aktivitást. A szabad ligandumok közül a Me-flavH és a krizH egyáltalán nem bizonyult aktívnek, míg a flavH kizárólag az A549 sejtekkel szemben mutatott kis mértékű hatékonyságot. A Br-flavH, NO₂-flavH és NO₂-F-flavH ligandumok szintén egyedül az A549 sejtvonalon voltak aktívak, azonban hatékonyságuk mértéke jelentősen nagyobbak adódott, mint a korábban említett ligandumoké. A NO₂-flavH és NO₂-F-flavH vegyületek IC₅₀ értékei valamennyi vizsgálati

körülmény között megegyeznek, ami arra utal, hogy a molekula 6-os pozíciójában lévő fluor szubsztituens a vegyület antitumor hatására nincs jelentős befolyással. A többi szabad ligandum közötti eltérések azonban egyértelműen bizonyítják, hogy a flavonol ligandumok rákellenes hatása jelentős mértékben függ a vegyületek szubsztituáltságától, amit irodalmi eredmények is megerősítenek.⁸⁵

A komplexek vizsgálata során, a $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{flav}))](\text{ClO}_4)_2$ és a $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{kriz}))](\text{ClO}_4)_2$ vegyületeket leszámítva, valamennyi esetben tapasztaltunk biológiai aktivitást. A 7. táblázatban látható, hogy a tpa komplexek szignifikánsan aktívabbnak bizonyultak, mint a tren analógok. Ez összhangban van a quinizarin-komplexek esetén kapott eredményekkel, amelyeknél szintén a tpa komplex mutatott nagyobb hatékonyságot. Valamennyi tpa komplex aktívabbnak bizonyult a megfelelő szabad ligandumnál, amely bizonyítja, hogy a molekula rákellenes hatása fokozható annak komplexbe kötött formájának alkalmazásával. A $[(\text{Co}(\text{tpa})(\text{NO}_2\text{-F-flav}))](\text{ClO}_4)_2$, $[(\text{Co}(\text{tpa})(\text{NO}_2\text{-flav}))](\text{ClO}_4)_2$ és $[(\text{Co}(\text{tpa})(\text{Br-flav}))](\text{ClO}_4)_2$ komplexeknél különösen nagy, a rákellenes gyógyszerként széles körben alkalmazott ciszplatinnal is összevethető antitumor aktivitást tapasztaltunk.

Annak érdekében, hogy vizsgáljuk a tren és tpa származékok rákellenes hatása közötti jelentős eltérés okát, ebben az esetben is lipofilitás méréseket végeztünk. Meghatároztuk három flavonol, a flavH, Me-flavH és a krizH tren és tpa komplexeinek lgD értékeit, amelyeket a 8. táblázatban foglaltam össze.

8. táblázat. A vizsgált komplexek lgD értékei.

lgD (pH = 7,4, t = 25 °C)		
flavonol	$[(\text{Co}(\text{tren})(\text{flav}))]^{2+}$	$[(\text{Co}(\text{tpa})(\text{flav}))]^{2+}$
flavH	-0,141	0,756
Me-flavH	-0,524	0,337
krizH	-0,349	-0,277

A 8. táblázatban látható, hogy a tpa komplexek esetén nagyobb lgD értékeket kaptunk, mint a megfelelő tren származékoknál, ami egyértelműen azt mutatja, hogy a tpa analógok lipofilebb karakterűek. Ez az eredmény megfelel a várakozásnak és feltehetően a tpa ligandumban lévő három aromás piridingyűrűvel magyarázható. A kapott adatok nagyobbak, mint a quinizarin komplexek esetén mért értékek ($\text{lgD} = -1,08 - (-3,0)$), így az egymagvú flavonol komplexek lipofilebb karakterűek, mint a kétmagvú quinizarin tartalmúak, ami

valószínűleg utóbbiak nagyobb töltésének köszönhető. A flavonoloknál a lipofilitásbeli különbség elsősorban a flavH és Me-flavH ligandumokat tartalmazó komplexeknél jelentős, amelyeknél a tpa komplex lgD értéke ~1-el nagyobb, mint a megfelelő tren analógé. Ezek az eredmények összefüggésbe hozhatók az antitumor aktivitás vizsgálatok során meghatározott IC₅₀ értékekkel, így feltételezhető, hogy a tpa származékok nagyobb rákellenes hatékonysága részben a nagyobb lipofilitásuknak köszönhető. Másik oldalról nézve, lehetséges, hogy a tren komplexek azért kevésbé aktívak, mert kevésbé lipofil karakterük révén kisebb mértékben jutnak be a sejtekbe.

A komplexek közül egyedül a $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-F-flav}))(\text{ClO}_4)_2]$ és a $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{Br-flav}))(\text{ClO}_4)_2]$ komplexeknél mértünk nagyobb aktivitást hipoxiás közegben, mint normoxiásban, mindkét esetben az A549 sejtvonalon. A többi komplex, beleértve a ciszplatint is, azonban a meghatározott IC₅₀ értékek alapján nagyobb aktivitást mutat normoxiás körülmények között. Érdekes megfigyelni, hogy a $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{NO}_2\text{-F-flav}))(\text{ClO}_4)_2]$ és $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{Br-flav}))(\text{ClO}_4)_2]$ komplexek a legnagyobb rákellenes hatást mutató Br-flavH és NO₂-F-flavH ligandumok tren komplexei. Ebből arra lehet következtetni, hogy a sejtekben a ligandum valamilyen mértékben felszabadul és ehhez rendelhető az antitumor hatás. Mivel a CV vizsgálatok alapján a tren komplexek redukciós potenciálja a negatívabb tartományba tolódik, ezért lehetséges, hogy a redukciót követő ligandum-felszabadulás a reduktívabb környezetet biztosító hipoxiás környezetben nagyobb mértékben megy végbe. Ugyanez a hipoxia-aktiváltság valószínűleg a többi tren-komplex esetén is megvan, azonban ezeknek a szabad ligandumai sem rendelkeznek ezeken a sejtvonalakon rákellenes hatással. Ezzel szemben egyik tpa analóg sem mutat ilyen tendenciát, ami azzal magyarázható, hogy ezeknek a komplexeknek a redukciós potenciálja lényegesen pozitívabb, mint a tren származékoké, így redukciójuk feltehetően normoxiás közegben is végbemegy. A kivétel ebben az esetben is a $[(\text{Co}(\text{tren})(\text{Me-flav}))(\text{ClO}_4)_2]$ komplex, amely az A431-es sejtvonalon a Me-flavH szabad ligandummal ellentétben aktív, azonban nem mutat hipoxia-szelektivitást. A komplexek hatékonysága azonban feltehetően nem kizárólag az aktív flavonol ligandum felszabadulásához rendelhető, mivel a tpa származékok aktívabbak, mint a megfelelő szabad ligandumok. Ez a plusz hatékonyság pedig nem köthető az esetleges redukciót követően felszabadult prekursorokhoz, mivel azoknak nincs aktivitása. Ebből kiindulva elképzelhető, hogy a quinizarin komplexekhez hasonlóan a redukciót a flavonol vegyületeknél is reaktív szabad gyökök képződése kíséri, amely további rákellenes hatást eredményez.

Összességében tehát valamennyi tpa komplex esetén tapasztaltunk rákellenes hatást, amelynek mértéke nagyobb, mint a megfelelő szabad ligandumoké és egyes esetekben a ciszplatinnal összemérhető. Ez bizonyítja, hogy a flavonol ligandumok aktivitása növelhető Co(III)-komplexbe kötött formájuk alkalmazásával. Hipoxia-szelektivitást azonban egyedül két tren komplex esetén tapasztaltunk, amelyek aktivitása, feltehetően a kevésbé lipofil karakterüknek köszönhetően kisebbnek adódott.

6. Összefoglalás

A rákos megbetegedések és a rezisztens baktériumok okozta fertőzések jelentik korunk legjelentősebb egészségügyi fenyegetéseit. A baktériumok antibiotikumokkal szembeni ellenállóképességének leküzdése régóta megoldatlan probléma, míg a daganatos megbetegedések kezelésének legnagyobb hiányossága a megfelelő szelektivitás elérése, így a kemoterápiában jelenleg alkalmazott készítmények számos káros mellékhatással rendelkeznek.

A hatékonyság és a szelektivitás növelése, valamint a rezisztencia visszaszorítása céljából is megoldást jelenthet a biológiai aktív molekulák fémkomplexeinek alkalmazása mind az antitumor, mind az antibakteriális készítmények esetén. A Co(III) komplexek képesek lehetnek a biológiai aktivitással rendelkező molekulákat célzottan a tumorhoz juttatni, ezáltal megfelelőek lehetnek prodrugként való alkalmazásra. Ennek oka, hogy a Co(III) komplexek rendkívül inerteek, így feltehetően csak a daganatos szövetekben lévő hipoxiás állapotnak köszönhetően jelenlévő redukzív környezet hatására redukálódnának Co(II)-vé. A Co(II) komplexek kinetikailag jelentősen labilisabbak, így a redukciót követően azonnal megkezdődhet a komplex disszociációja. Annak érdekében, hogy a redukció ne játszódjon le már az egészséges szövetekben, a fémion négy koordinációs helyét erősen koordinálódó N-donoratomokat tartalmazó négyfogú ligandumok (4N) foglalják el. A szabadon maradt két koordinációs helyre pedig az elsősorban O donoratomokkal rendelkező bioligandumok (O,O) köthetők, amelyek, így szelektíven a daganatos szövetekben fejthetik ki biológiai hatásukat. Az antitumor sajátságú bioligandumok mellett az antibakteriális anyagok hatékonyságának növelésére is megfelelő lehet Co(III) komplexbe kötött formájuk alkalmazása. A kemoterápiás kezelés következtében legyengült szervezet esetén ugyanis fontos lehet az antibiotikum célzott eljuttatása az érintett területre, illetve a rezisztens baktériumtörzsek ellen is megoldást jelenthet a komplexek alkalmazása.

Ennek értelmében, doktori munkám során $[\text{Co}(4\text{N})(\text{O},\text{O})]^{n+}$ összetételű komplexek előállításával foglalkoztam és vizsgáltam a termékek analitikai, elektrokémiai és biológiai sajátságait. 4N donor ligandumként tren és tpa tripodális aminokat, O donoratomokkal rendelkező bioligandumként pedig az antibakteriális hatású kinolon és retrohetroxámsav alapú molekulákat, illetve a rákellenes hatású flavonol és quinizarin vegyületeket alkalmaztam.

A komplexek szintézisét a ligandumok és prekursor komplexek előállítását követően, valamennyi esetben azonos séma alapján végeztem. Ennek során a prekursor molekula és a

bioligandum poláris oldószerben történő feloldását követően a reakcióelegyet hosszabb időn keresztül magas hőmérsékleten kevertettem. Ezt követően nagy térkitöltésű ellenion hozzáadásával kristályosítottam ki a terméket, amelyet szükség esetén tisztítottam. Az előállított termékek összetételét NMR, IR, MS és elemanalízis analitikai technikákkal vizsgáltuk. A ^1H NMR spektrumokban a jelek hozzárendelése a megfelelő protonokhoz a legtöbb tren komplexnél egyszerűbb volt, mint a tpa analógok esetén, ahol a bioligandum és a tpa aromás hidrogénjeinek megfeleltethető csúcsok átfedtek egymással. Az összetett spektrumok esetén COSY méréseket alkalmaztam a jelek beazonosítására. A csúcsok integrál értékei alapján a flavonol, kinolon, illetve a HFAH és GSKH ligandumokkal a vártnak megfelelően egymagvú, míg a két fémion megkötésére alkalmas hellyel rendelkező quinizarin ligandumok esetén kétmagvú komplexek képződtek. Az NMR spektrumok alapján elmondható, hogy a termék számos komplex esetén izomerek keveréke. Az egymagvú komplexek esetén két geometriai izomer megjelenése lehetséges, attól függően, hogy a bioligandumban lévő aromás szubsztituenshez képest a 4N donor ligandum tercier nitrogénje ugyanazon (*cisz*), vagy ellentétes (*transz*) oldalon helyezkedik el. A kétmagvú komplexek esetén szintén ennek a két geometriai izomernek a képződése lehetséges, azonban ez megvalósulhat a bioligandum mindkét kötőhelyén, így összesen három, egy aszimmetrikus és két szimmetrikus izomert lehet megkülönböztetni. A vizsgált bioligandumok közül egyedül a spaH esetében volt elképzelhető, hogy a molekulában kelátképző helyzetben lévő $-\text{NH}_2$ csoport révén (O,N) típusú koordinációs mód valósuljon meg, azonban ^{19}F NMR mérések segítségével igazoltuk, hogy a többi bioligandumhoz hasonlóan a sparfloxacin is a várt módon, O donoratomjaival koordinálódott a Co(III) ionhoz. A komplexképződést IR spektroszkópiás mérésekkel is vizsgáltuk, ahol a $\nu(\text{C}=\text{O})$ rezgéshez tartozó sáv helyzete változott a komplexek spektrumaiban a szabad ligandumokéihoz képest, ami a karbonilcsoport koordinációban történő részvételét támasztja alá. Az ESI-MS mérések során a komplexekhez tartozó molekulaionok, illetve különböző fragmensek csúcsai egyaránt megjelentek a tömegspektrumokban. A mért és számolt izotópeloszlás minden azonosított részecske esetén megegyezett, amely valamennyi analitikai technikával összhangban egyértelműen igazolja a komplexek összetételét. Több komplex esetén sikerült egykristályt előállítani, így röntgendiffrakciós mérések segítségével vizsgálni tudtuk a termékek szerkezetét. A vártnak megfelelően a bioligandum minden esetben O-donor atomjaival koordinálódott a fémionhoz, létrehozva az oktaéderes geometriájú komplexet. A vizsgált anyagok röntgenszerkezetei alapján, a **11**, **27** és **32** komplexeknél esetén a *cisz*-, míg az **5**, **8**, **9**, **13**, **15**, **18**, **34** és **35** komplexek esetén a *transz*-geometriai izomer kristályosodott ki.

A komplexek redoxi sajátságainak, illetve hipoxia-aktivált készítményekként való alkalmazhatóságuk felderítésére, ciklikus voltammetriás méréseket is végeztünk. A mért voltammogrammok alapján elmondható, hogy alapvető különbség van a tren és a tpa származékok redoxi sajátságai között. A tren komplexek redukciós potenciál értékei szignifikánsan negatívabbak, mint a tpa analógokéi, ezáltal redukciójuk nehezebben megy végbe. Emellett valamennyi egymagvú komplex esetén megfigyelhető, hogy a tpa komplexek redukciója reverzibilis, míg a tren származékoké irreverzibilis. Mindkét eltérés feltehetően a tpa-ban lévő aromás karakterű piridil csoportokhoz rendelhető, amelyek révén a ligandum viszontkoordinációra képes a fémionnal, ami jobban stabilizálja a kisebb oxidációs állapotú Co(II) formát. A megfelelő kinolon, illetve flavonol tartalmú komplexek E_{pc} értékei megközelítőleg azonos tartományba esnek, így arra lehet következtetni, hogy a két különböző bioligandum esetén megvalósuló eltérő, öt- és hattagú kelátgyűrűt kialakító koordinációs módok a komplexek redoxi sajátságait jelentősen nem befolyásolják. Ezzel ellentétben a narH és krizH tartalmú komplexek nehezebben redukálhatónak bizonyultak, mint a többi flavonol származék komplexei, ami feltehetően a koordinálódó –OH csoportjuk eltérő pozíciójának, így ezen ligandumok eltérő koordinációs módjának köszönhető. Mindkét bioligandum család esetén elmondható, hogy a molekula eltérő szubsztituáltsága a komplex E_{pc} értékét jelentősen kisebb mértékben befolyásolja, mint a 4N donor ligandum típusa. Elsősorban a flavonoláto komplexek esetén figyelhető meg, hogy az elektronküldő karakterű funkciócsoportok a negatívabb, míg az elektronszívó tulajdonságúak a pozitívabb potenciál tartomány felé tolják el az adott komplex redukciós potenciál értékét. Ezen tapasztalatok alapján elmondható, hogy a komplexek redukciós potenciál értékei hangolhatók a különböző ligandumok megválasztásával. A tren komplexek E_{pc} értékei közel esnek a biológiai szempontból releváns potenciál tartományhoz, így alkalmasak lehetnek a hipoxia-szelektivitás szempontjából.

Több hazai és nemzetközi együttműködés keretében lehetőségünk nyílt több komplex esetén is biológiai vizsgálatok elvégzésére. A cipH, HFAH illetve a GSKH molekulák komplexeinek antibakteriális aktivitását többféle, antibiotikum-érzékeny és –rezisztens sejtvonalakon is teszteltük. A $[Co(tren)(cip)](ClO_4)_2$, $[Co(tpa)(cip)](ClO_4)_2$ és $[Co(tpa)(GSK)](PF_6)_2$ komplexek egyaránt jelentős antibakteriális aktivitást mutattak a vizsgált sejtvonalakon. A GSK komplex az antibiotikum-érzékeny *S. aureus* sejtvonalon a szabad liganduménál is nagyobb aktivitást mutatott, míg a rezisztens baktériumokkal szemben az ismert antibiotikum ciprofloxacinnál egy nagyságrenddel hatékonyabbnak bizonyult. A cipH komplexek esetén a tpa analóg aktivitása nagyobbak adódott, mint a tren származéké.

Vizsgálataink alapján ennek lehetséges oka, hogy a tpa származék erősebben kötődik a DNS-hez, ezáltal jobban gátolja a baktérium számára szükséges topoizomeráz II. enzim működését, mint a tren komplex.

A potenciálisan antitumor hatású quinizarin és flavonol tartalmú komplexek szintén jelentős biológiai aktivitást mutattak. A quinizarin komplexek valamennyi vizsgált sejtvonalon nagyobb hatékonyságúnak bizonyultak, mint az ismerten rákellenes hatású karboplatin. A ciprofloxacin komplexekhez hasonlóan a quinizarin komplexek közül is a tpa származékok aktivitása volt nagyobb. Ez az eltérés azonban nem a komplexek DNS-hez való kötődésében, hanem feltehetően a DNS-hasító tulajdonságukban mutatkozó különbségekhez rendelhető. A kapott eredmények értelmében a $[(\text{Co}(\text{tpa}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ hasítja a DNS-láncot, amely folyamatnak a mértéke redukálószer jelenlétében növekszik. Ez fontos lehet a hipoxia-szelektivitás szempontjából, hiszen a daganatos szövetekben is redukтивabb környezet van jelen, mint az egészséges szövetekben. Mivel a hasításért feltehetően a redukció során keletkező reaktív gyökök a felelősek, a tpa származék nagyobb aktivitásának oka valószínűleg összefüggésben van a komplex pozitívabb tartományban lévő redukciós potenciál értékével. Ezzel szemben a $[(\text{Co}(\text{tren}))_2(\text{quin})](\text{ClO}_4)_4$ E_{pc} értéke túl negatív ahhoz, hogy a komplex redukálódjon, ezáltal ez a származék nem hasítja a DNS-láncot. A flavonol komplexek rákellenes aktivitását lehetőségünk nyílt normoxiás és hipoxiás körülmények között is tesztelni. A kapott eredmények alapján, a quinizarin komplexekkel összehangban a tpa származékok esetén tapasztaltunk nagyobb aktivitást, a tren komplexekkel szemben, amelynek mértéke valamennyi esetben nagyobb volt, mint a szabad flavonol bioligandumé. Hipoxia-szelektivitás azonban csak két tren komplex esetén volt megfigyelhető. Ezek az eredmények feltételezhetően azzal magyarázhatóak, hogy a tpa komplexek, nagyobb lipofil karakterük révén nagyobb mennyiségben jutnak be a sejtekbe, ezáltal hatékonyabbak is, mint a tren analógok. Azonban a tren komplexekkel ellentétben, a tpa származékok redukciós potenciál értéke túl pozitív, a hipoxia-szelektivitás eléréséhez. Ennek értelmében a nagy rákellenes aktivitás és a megfelelő szelektivitás együttes elérése szempontjából az ideális jelölt feltehetően olyan tpa komplex, amely kellően negatív redukciós potenciál értékkel rendelkezik.

Kutatómunkám során tehát több biomolekula alkalmazásával is sikeresen állítottunk elő olyan Co(III) komplexeket, amelyek esetén a biológiai aktivitás mértéke nem változott, sőt, egyes esetekben növekedett a szabad liganduméhoz képest. Ennek értelmében a Co(III)

komplexek alkalmazása valóban alternatíva lehet a rezisztencia leküzdésére és a hatékonyság növelésére, mind rákellenes, mind antibakteriális hatású készítmények esetén.

7. Summary

Various cancers as well as infections caused by resistant bacteria are the two most serious medical threats in recent years. Despite several attempts in the last century antibacterial resistance is still an unsolved problem while the lack of selectivity in cancer therapy leads to many unwanted side effects of the used anticancer agents.

To increase the efficiency and selectivity of the drugs and to overcome the problem of resistance the use of metal complexes as carriers of the drug molecules can be a solution for both antibacterial and anticancer agents. The use of Co(III) as a central metal ion in the complexes can be an option to deliver the biologically active molecules selectively to the tumor tissues. Since the Co(III) complexes are kinetically inert their reduction to the corresponding Co(II) complexes might happen only in the reducing environment of the tumor. Co(II) complexes are much more labile therefore the dissociation of the complex can occur shortly after the reduction. In order to avoid the reduction of the Co(III) complexes in the normal cells before reaching the tumor tetradentate ligands with N donor atoms (4N) and capable of forming stable fused chelates are coordinated to the metal ion. The remaining two coordination sites of the Co(III) are occupied by the drug molecule having O donor atoms in chelating position. These ligands can then selectively be released in the hypoxic cancer cells. Besides antitumor agents the use of Co(III) complexes of antibacterial drugs can also be useful to enhance their efficiency. Since patients after cancer treatment have a weakened ability to fight against infections delivering the antibacterial agent directly to the treated area might be more effective; furthermore, complexation of the drug molecule may also solve the problem of resistance.

The aim of my work was to synthesize and characterize $[\text{Co}(4\text{N})(\text{O},\text{O})]^{n+}$ type complexes and investigate the redox and biological properties of the products. Tren and tpa tripodal amines were used as 4N donor ligands and several quinolons and retrohydroxamic acid based molecules were selected for (O,O) type ligands with antibacterial activity. Differently substituted flavonols and quinizarin compounds were used as anticancer agents having O donor atoms.

The synthesis of the complexes was carried out following the same scheme in all cases: the previously synthesized $[\text{Co}(4\text{N})(\text{Cl})_2]^+$ type precursor complex and the (O,O) bioligand were dissolved in presence of base in protic solvent and the mixture was stirred at elevated temperature for a longer period of time. Bulky counter ions were added to the

mixture for the crystallization of the products; those were purified if it was necessary. Different experimental conditions had to be used depending on the type of the ligands. The products were characterized by NMR, IR, MS and elemental analysis. Assignment of the signals to the corresponding protons in ^1H NMR spectra of the complexes was more difficult for tpa complexes than for tren analogues due to the overlapping of numerous signals belonging both to tpa and the bioligand in the low field region of the spectra. In these cases COSY measurements were carried out for the assignment. Formation of mononuclear complexes was found with flavonol, quinolon, HFAH and GSKH ligands while dinuclear complexes were isolated with quinizarin as it was indicated by the integral values of the signals in the spectra. In many cases the products were a mixture of isomers based on the results. For mononuclear complexes the formation of two different geometric isomers is possible depending on whether the tertiary N atom of the 4N donor ligand is *cis* or *trans* to the aromatic substituent of the (O,O) ligand. Similar isomers can be formed for the dinuclear complexes too, but because of the two binding sites of the quinizarine two symmetric and one asymmetric isomer can be differentiated. Due to the presence of an $-\text{NH}_2$ group in chelating position in sparfloxacin for this ligand a (N,O) chelating mode was also possible instead of the expected (O,O) coordination. ^{19}F NMR studies, however, confirmed that sparfloxacin was also coordinated to Co(III) via its O donor atoms like all the other bioligands. The complexation was also investigated using IR by comparing the peaks related to $\nu(\text{C}=\text{O})$ vibration in the spectra of the complexes with that of the free ligands. Shift of the signals in the IR spectra proved the involvement of carbonyl group in the coordination for all complexes. Peaks of the molecule ions corresponding to the complexes and signals of characteristic fragment ions appeared in the ESI-MS spectra of the complexes. All of them displayed the correct isotopic pattern proving the identity of the complexes. Molecular structure of several complexes was also studied by single crystal analysis. The X-ray studies confirmed that the bioligands coordinated to the central metal ion with the O donor atoms of the carboxyl group and the deprotonated hydroxyl group resulting in complexes with octahedral geometry in all cases. The X-ray structures of the studied complexes revealed that **11**, **27** and **32** were crystallized as *cis*-isomers while single crystals of complexes **5**, **8**, **9**, **13**, **15**, **18**, **34** and **35** were found to be *trans*-isomers.

Cyclic voltammetric studies were carried out to investigate the redox properties of the synthesized complexes and to obtain information about their applicability as hypoxia-activated prodrugs. The registered voltammograms revealed major difference between the

redox behaviour of the tren and tpa analogues. Reduction potential values of the tren containing complexes observed to be significantly more negative than those of the tpa containing ones, making the tren complexes harder to be reduced. Furthermore, voltammograms of tpa complexes showed reversible reduction in contrast to the tren analogues for all mononuclear complexes. Both the above differences between the complexes of the two 4N donor ligands can be explained with the π -back bonding character of tpa because of its aromatic N donor atoms resulting in higher stabilization of the lower oxidation state Co(II) form. The E_{pc} values of the corresponding flavonol and quinolon containing complexes fell into similar potential range indicating that the different coordination modes involving six- and five-membered chelate rings have no significant influence on the redox properties of the complexes. On the contrary, complexes of narH and krizH found to be less reducible than the other flavonol containing complexes. This can be interpreted by the different position of the coordinating –OH group in their structure. Different substituents of the complexed flavonols and quinolons have much less effect on the redox properties of the Co(III) complexes than the type of the 4N ligand. E_{pc} value of the complex was shifted to the more negative potential range by functional groups with electron withdrawing character mainly in case of flavonolato complexes. These results indicate that the reduction potential of the complexes can be tuned by selecting different types of ligands. Since the E_{pc} value of the tren analogues fell close to the potential range of cellular reductases these type of complexes can be suitable for biological approaches.

Biological studies of several complexes were also carried out thanks to domestic and international cooperations. CipH, HFAH, GSKH and their Co(III) complexes were tested against various antibiotic-sensitive and-resistant bacteria. $[\text{Co}(\text{tren})(\text{cip})](\text{ClO}_4)_2$, $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{cip})](\text{ClO}_4)_2$ and $[\text{Co}(\text{tpa})(\text{GSK})](\text{PF}_6)_2$ showed significant antibacterial activity on all tested cell lines. The GSK complex showed higher activity than the free ligand against antibiotic-sensitive *S. aureus* bacteria and found to be more effective on resistant bacteria than the well known antibiotic ciprofloxacin. These results indicate that activity of the antibacterial drug molecule is retained upon complexation, in addition, the efficiency was enhanced comparing the MIC value of the complex to that of the free ligand in one case. The tpa analogue displayed higher activity than the tren containing one for cipH complexes and this can be connected to the higher DNA binding and topoisomerase II inhibiting ability of the tpa complex over the tren analogue.

The flavonol and quinizarin containing complexes also showed high biological activity as anticancer agents. The dinuclear quinizarin complexes were found to be more active on all the tested cell lines than the used antitumor agent, carboplatin. For the quinizarin containing complexes the tpa analogue showed higher efficacy over the tren analogue similarly to the ciprofloxacin complexes. This difference might be related to the DNA cleaving capability of the tpa complex being enhanced in the presence of reducing agents. This property can be useful for hypoxia-selectivity since tumor tissues also have reductive environment. Therefore, reactive species generated by the reduction might be responsible for the DNA cleaving ability and the higher activity of the tpa complex can be connected to its more positive E_{pc} value. Since the reduction potential of $[(Co(tren))_2(quin)](ClO_4)_4$ might be too negative for the reduction of the complex thus this analogue does not cleave the DNA. Anticancer activity of flavonol containing complexes were tested under both normoxic and hypoxic conditions. In good agreement with the previously mentioned results of the other type of complexes tpa complexes displayed higher activity than the tren analogues and found to be more effective than the corresponding free ligand. However, hypoxia-selectivity was observed in the case of two tren complexes. These results might be explained by the higher cell uptake values of the tpa complexes in connection to their more lipophilic character. However, the reduction potentials of the tpa complexes are probably too positive for hypoxia-selectivity. Based on this theory the ideal candidate for a highly active and hypoxia-selective prodrug would be a tpa complex that has more negative reduction potential value.

During my research several Co(III) complexes of bioactive drugs were synthesized and found to be as active as the free ligand or had even enhanced activity on the tested cell lines. This proves that use of the Co(III) complexes can be an option to overcome the resistance problem and to enhance the efficiency of the drug molecule for both antitumor and antibacterial agents.

8. Melléklet

Tudományos publikációk

Az értekezés alapját képző közlemények:

1. *Máté Kozsup*, Etelka Farkas, Attila Bényei, Jana Kasparkova, Hana Crlikova, Viktor Brabec, Péter Buglyó
Synthesis, characterization and biological evaluation of Co(III) complexes with quinolone drugs
J. Inorg. Biochem **193** (2019) 94-105
IF: 3,212 (2019)
2. *Máté Kozsup*, Orsolya Dömötör, Sándor Nagy, Etelka Farkas, Éva A. Enyedy, Péter Buglyó
Synthesis, characterization and albumin binding capabilities of quinizarin containing ternary cobalt(III) complexes
J. Inorg. Biochem **204** (2020) 110963
IF: 3,212 (2019)
3. Hana Crlikova, Hana Kostrhunova, Jitka Pracharova, *Máté Kozsup*, Sándor Nagy, Péter Buglyó, Viktor Brabec, Jana Kasparkova
Antiproliferative, DNA binding and cleavage properties of dinuclear Co(III) complexes containing the bioactive quinizarin ligand
J. Biol. Inorg. Chem. **25** (2020) 339-350
IF: 3,246 (2019)
4. *Máté Kozsup*, Donal M. Keogan, Deidre Fitzgerald-Hughes, Éva A. Enyedy, Branden Twamley, Péter Buglyó, Darren Griffith
Synthesis and characterization of Co(III) complexes of N-formylhydroxylamines and antibacterial activity of a Co(III) peptide deformylase inhibitor complex
Dalton Trans. **49** (2020) 6980 – 6988
IF: 4,174 (2019)

Az értekezés anyagához szorosan nem kapcsolódó közlemények:

1. Péter Buglyó, Krisztina Lénárt, *Máté Kozsup*, Attila Bényei, Éva Kováts, Imre Sóvágó, Etelka Farkas
[Pd(en)(H₂O)₂]²⁺ and [Pd(pic)(H₂O)₂]²⁺ complexation by monohydroxamic acids: A solution equilibrium and solid state approach
Polyhedron, **100** (2015) 392-399
IF: 1,926
2. Péter Buglyó, István Kacsir, *Máté Kozsup*, Imre Nagy, Sándor Nagy, Attila Bényei, Éva Kováts, Etelka Farkas
Tuning the redox potentials of ternary Co(III) complexes containing various hydroxamates
Inorg. Cim. Acta **472** (2018) 234-242
IF: 2,306

Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások:

1. Kozsup M., Nagy I., Kacsir I., Szilágyi E., Farkas E., Bényei A., Buglyó P.,
Potenciálisan hipoxia-aktivált Co(III) komplexek előállítása és vizsgálata
50. Komplexkémiái Kollokvium, Balatonvilágos, 2016.05.30.-06.01
2. Kozsup M., Nagy S., Farkas E., Buglyó P.,
Doxorubicin modell ligandumok Co(III) komplexeinek előállítása és vizsgálata
51. Komplexkémiái Kollokvium, Balatonvilágos, 2016.05.29-31.
3. Kozsup M., Bényei A., Buglyó P., Farkas E.,
Floxacin származékok Co(III) komplexeinek előállítása és vizsgálata
II. Debreceni Röntgendiffrakciós Kerekasztal, Debrecen, 2018.01.18.
4. Kozsup M., Bényei A., Buglyó P., Farkas E.,
Biológiailag aktív fluorokinolon származékok Co(III) komplexeinek előállítása és vizsgálata
52. Komplexkémiái Kollokvium, Balatonvilágos, 2018.05.22-24.
5. Kozsup M., Farkas E., Bényei A., J. Kasparkova, H. Skakalova Buglyó P.,
Floxacinok Co(III) komplexei: redoxi sajátságok és biológiai aktivitás
Válogatás a koordinációs kémia és bioszervetlen kémia újabb eredményeiből,
Debrecen, 2018.09.26.
6. Kozsup M., D. Griffith, B. Twamley, Buglyó P., Farkas E.,
Antibakteriális hatású bioligandumok fémkomplexeinek előállítása és szerkezetvizsgálata
III. Debreceni Röntgendiffrakciós Kerekasztal, Debrecen, 2019.01.24.
7. Kozsup M., D. Griffith, B. Twamley, Buglyó P., Farkas E.,
Retrohidroxámsav típusú bioligandumok kobalt és bizmut komplexeinek előállítása és vizsgálata
I. Fiatal Kémikusok Fóruma Szimpózium, Debrecen, 2019.04.3-5.
8. Kozsup M., D. Griffith, D. M. Keogan, B. Twamley, Buglyó P., Farkas E.,
Antibakteriális hatású biomolekulák fémkomplexeinek előállítása és vizsgálata
53. Komplexkémiái Kollokvium, Velence, 2019.05.21-23.
9. M. Kozsup, P. Buglyó, I. Nagy, S. Nagy, A. Ozsváth, A. Cs. Bényei, E. Farkas
Cobalt(III) complexes with likely hypoxia-activation to carry biomolecules
15. International Symposium on Applied Bioorganic Chemistry, Nara, 2019.06.2-5.

Az értekezés anyagához szorosan nem kapcsolódó előadások:

1. M. Kozsup, K. Lénárt, A. Bényei, É. Kováts, E. Farkas, I. Sóvágó, P. Buglyó
A $[\text{Pd}(\text{en})(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ és hidroxámsavak kölcsönhatásának vizsgálata
I. Debreceni Röntgendiffrakciós Kerekasztal, Debrecen, 2016.01.20.
2. Farkas E., Buglyó P., Kacsir I., Kozsup M., Nagy I., Nagy S.,
Co(III) ternary complexes of hydroxamate-based compounds
International Symposium on Metal Complexes, Firenze, 2018.06.3-7.
3. Buglyó P., Farkas E., Kozsup M., Nagy I., Nagy S., Ozsváth A.,
Pd(II) peptidohydroxamate interactions to develop potentially hypoxia-activated bimetallic complexes
14. European Biological Inorganic Chemistry Conference, Birmingham, 2018.08.26-30.

Az értekezés anyagához kapcsolódó poszterek:

1. Kozsup M., Farkas E., Bényei A., J. Kasparkova., H. Skakalova Buglyó P.,
Synthesis, characterization and biological evaluation of Co(III) complexes with quinolone drugs
14. European Biological Inorganic Chemistry Conference, Birmingham, 2018.08.26-30.
2. Kozsup M., Farkas E., Bényei A., J. Kasparkova, H. Skakalova Buglyó P.,
Co(III) complexes of quinolone drugs: redox properties and biological activity
2. Symposium of the Irish Biological Inorganic Chemistry Society, Galway, 2018.11.02.
3. M. Kozsup, D. Griffith, B. Twamley, D. M. Keogan, E. Farkas, P. Buglyó,
Co(III) and Bi(III) complexes of retrohydroxamate-based antibacterial compounds
International Symposium on Metal Complexes, Debrecen, 2019.06.11-14.
4. S. Nagy, M. Kozsup, O. Dömötör, É. A. Enyedy, E. Farkas, P. Buglyó,
Synthesis characterization and HSA binding studies of quinizarin containing ternary Co(III) complexes
19. International Conference on Biological Inorganic Chemistry, Interlaken, 2019.08.11-16.

Az értekezés anyagához szorosan nem kapcsolódó poszterek:

1. Nagy I., Farkas E., Buglyó P., Kacsir I., Kozsup M., Nagy S.,
Tuning the redox potential of ternary cobalt(III) complexes containing various hydroxamates
14. European Biological Inorganic Chemistry Conference, Birmingham, 2018.08.26-30.

1. táblázat. Az előállított kristályok krisztallográfiai adatai.

	(3)	Me-flavH	GSKH	(5)	(8)
Összegképlet	$C_{15}H_9NO_5 \cdot C_2H_4O_2$	$C_{16}H_{12}O_3$	$C_{26}H_{42}FN_7O_5$	$C_{21}H_{27}CoN_4O_3 \cdot 2(ClO_4) \cdot H_2O$	$C_{33}H_{26}BrCoN_4O_3 \cdot 2(ClO_4) \cdot 0.25(H_2O)$
Molekulatömeg	343,28	252,26	551,66	659,31	868,82
Kristályrendszer	Monoklin	Monoklin	Monoklin	Monoklin	Monoklin
Térceport	$P2_1/n$	$P2_1/n$	C2	$P2_1/n$	$P2_1/n$
Hőmérséklet (K)	100	298	100	300	298
Elemi cella adatai					
a (Å)	13,2419 (12)	13,2971 (3)	21,6357 (10)	10,5765 (4)	10,349 (2)
b (Å)	4,7490 (4)	5,1868 (1)	9,0441 (4)	11,0817 (3)	18,317 (3)
c (Å)	24,021 (2)	18,8239 (5)	17,7227 (8)	22,9044 (8)	19,372 (4)
α (°)	90	90	90	90	90
β (°)	103,227 (4)	109,272 (1)	126,2917 (10)	92,610 (2)	103,767 (7)
γ (°)	90	90	90	90	90
V (Å ³)	1470,5 (2)	1225,52 (5)	2795,2 (2)	2681,74 (16)	3566,7 (12)
Z	4	4	4	4	4
Sugárzás típusa	Mo $K\alpha$	Cu $K\alpha$	Mo $K\alpha$	Mo $K\alpha$	Mo $K\alpha$
μ (mm ⁻¹)	0,12	0,77	0,097	0,91	1,82
Kristály méretei (mm)	$0,58 \times 0,14 \times 0,06$	$0,65 \times 0,14 \times 0,10$	$0,44 \times 0,19 \times 0,15$	$0,33 \times 0,26 \times 0,18$	$0,22 \times 0,13 \times 0,13$
Adatgyűjtés					
Gyűjtött reflexiók	18477	15710	31597	60090	46224
Független reflexiók	2885	2316	6264	5479	6777
Reflexiók, ahol: $[I > 2\sigma(I)]$	2329	1723		4744	5200
R_{int}	0,060	0,088	0,0347	0,040	0,055
Finomítás					
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, ,	0,042	0,063	0,0370	0,052	0,057
$wR(F^2)$	0,126	0,198	0,080	0,161	0,210
S	1,16	1,03	1,047	1,10	1,01
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	0,48, -0,43	0,27, -0,31	0,265, -0,350	0,90, -0,45	1,15, -0,76

	(9)	(11)	(13)	(15)	(18)
Összegképlet	$C_{22}H_{29}CoN_4O_3 \cdot ClO_4 \cdot Cl \cdot H_2O$	$C_{21}H_{25}CoFN_5O_{10} \cdot 4(CH_4O) \cdot Cl_2$	$C_{21}H_{26}CoN_5O_5 \cdot 2(ClO_4) \cdot 2(CH_4O)$	$2(C_{21}H_{27}CoN_4O_4) \cdot 2(ClO_4) \cdot 2(Cl) \cdot 3(H_2O)$	$C_{24}H_{33}CoN_4O_3 \cdot ClO_4 \cdot Cl \cdot H_2O$
Molekulatömeg	609,34	704,46	750,38	1240,64	637,39
Kristályrendszer	Monoklin	Triklin	Monoklin	Triklin	Ortorombos
Tér csoport	$P2_1/n$	$P\bar{1}$	$P2_1/c$	$P\bar{1}$	$Pna2_1$
Hőmérséklet (K)	118	150	100	295	102
Elemi cella adatai					
a (Å)	14,0617 (9)	8,3411 (7)	15,8980 (15)	11,3550 (6)	20,499 (3)
b (Å)	9,6707 (5)	11,1137 (10)	12,8379 (11)	15,3643 (7)	14,814 (2)
c (Å)	19,5640 (12)	18,4385 (16)	15,9035 (13)	15,8605 (7)	9,7753 (14)
α (°)	90	99,921 (3)	90	68,531 (1)	90
β (°)	102,515 (2)	100,193 (3)	111,282 (5)	80,585 (2)	90
γ (°)	90	92,870 (3)	90	80,041 (2)	90
V (Å ³)	2597,2 (3)	1654,4 (2)	3024,5 (5)	2521,0 (2)	2968,5 (8)
Z	4	2	4	2	4
Sugárzás típusa	Mo $K\alpha$	Cu $K\alpha$	Cu $K\alpha$	Mo $K\alpha$	Mo $K\alpha$
μ (mm ⁻¹)	0,92	6,08	6,80	0,95	0,81
Kristály méretei (mm)	$0,33 \times 0,32 \times 0,07$	$0,59 \times 0,11 \times 0,05$	$0,65 \times 0,19 \times 0,07$	$0,30 \times 0,21 \times 0,13$	$0,47 \times 0,28 \times 0,20$
Adatgyűjtés					
Gyűjtött reflexiók	26583	21900	22476	97798	20646
Független reflexiók	5273	6266	5463	9601	5939
Reflexiók, ahol: $[I > 2\sigma(I)]$	4162	5542	3566	7287	4609
R_{int}	0,060	0,057	0,168	0,081	0,062
Finomítás					
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, ,	0,051	0,078	0,140	0,077	0,061
$wR(F^2)$	0,155	0,241	0,368	0,243	0,190
S	1,12	1,05	1,27	1,03	1,13
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	0,48, -0,36	3,45, -0,55	1,40, -2,62	1,05, -1,45	1,20, -0,72

	(27)	(32)	(34)	(35)
Összegképlet	$C_{30}H_{29}CoN_6O_3 \cdot 2(F_6P)$	$2(C_{22}H_{35.5}CoFN_7O_3) \cdot 3(F_6P) \cdot 5(CH_4O) \cdot 2Cl$	$C_{13}H_{24}CoF_{12}N_5O_2P_2$	$C_{25}H_{34}Cl_2CoN_5O_7$
Molekulatömeg	870,46	1714,03	631,24	646,40
Kristályrendszer	Monoklin	Monoklin	Monoklin	Monoklin
Tér csoport	$C2/c$	$C2/c$	$C2/c$	$P2_1/c$
Hőmérséklet (K)	298	100	100	100
Elemi cella adatai				
a (Å)	23,377 (1)	27,941 (3)	13,1822 (4)	15,2195 (12)
b (Å)	10,696 (1)	8,2965 (8)	14,8090 (5)	13,7845 (11)
c (Å)	29,956 (1)	33,577 (4)	22,6470 (7)	14,5792 (13)
α (°)	90	90	90	90
β (°)	100,42 (1)	114,024 (3)	93,8294 (14)	105,564 (3)
γ (°)	90	90	90	90
V (Å ³)	7366,7 (8)	7109,3 (13)	4411,2 (2)	2946,5 (4)
Z	8	4	8	4
Sugárzás típusa	Mo $K\alpha$	Mo $K\alpha$	Mo $K\alpha$	Mo $K\alpha$
μ (mm ⁻¹)	0,65	0,73	1,047	0,815
Kristály méretei (mm)	$0,3 \times 0,25 \times 0,2$	$0,30 \times 0,21 \times 0,10$	$0,28 \times 0,24 \times 0,14$	$0,35 \times 0,27 \times 0,08$
Adatgyűjtés				
Gyűjtött reflexiók	6877	51857	32710	13118
Független reflexiók	6877	10806	5104	13118
Reflexiók, ahol: $[I > 2\sigma(I)]$	1955	9751	316	390
R_{int}	0,082	0,026	0,0234	0,0870
Finomítás				
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, ,	0,111	0,038	0,0260	0,0697
$wR(F^2)$	0,227	0,121	0,0669	0,1685
S	0,94	1,77	1,023	1,031
$\Delta_{max}, \Delta_{min}$ (e Å ⁻³)	0,57, -0,57	0,95, -0,51	0,451, -0,459	1,295, -2,060

Irodalomjegyzék

- ¹ Blair, J. M.; Webber, M. A.; Baylay, A. J.; Ogbolu, D. O.; Piddock, L. J., Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, *13* (1), 42-51.
- ² Szabó Dóra, Akadémiai Doktori Értekezés, Béta-laktám rezisztens Gram-negatív baktériumok vizsgálata, *Semmelweis Egyetem*, **2011**.
- ³ Spohn Réka, Ph.D. értekezés, A bakteriális antibiotikum rezisztencia de novo evolúciója és járulékos következményei, *MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont*, **2018**.
- ⁴ Fleming, A., Classics in infectious diseases: on the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae* by Alexander Fleming, Reprinted from the British Journal of Experimental Pathology 10:226-236, 1929. *Rev. Infect. Dis.* **1980**, *2* (1), 129-39.
- ⁵ Kirby, W. M., Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. *Science (New York, N.Y.)* **1944**, *99* (2579), 452-3.
- ⁶ O'Neill, J., *The Review on Antimicrobial Resistance*, **2014**.
- ⁷ Cantas, L.; Shah, S. Q.; Cavaco, L. M.; Manaia, C. M.; Walsh, F.; Popowska, M.; Garelick, H.; Bürgmann, H.; Sørum, H., A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. *Front. Microbiol.* **2013**, *4*, 96.
- ⁸ Select findings and conclusions. *Clin. Infect. Dis.* **2002**, *34 Suppl 3*, S73-5.
- ⁹ Potter, A.; Gerds, V.; Littel-van den Hurk, S., Veterinary vaccines: alternatives to antibiotics? *Anim. Health Res. Rev.* **2008**, *9* (2), 187-99.
- ¹⁰ Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P.; Verstraete, W., Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. R.* **2000**, *64* (4), 655-71.
- ¹¹ Buchy, P.; Ascioğlu, S.; Buisson, Y.; Datta, S.; Nissen, M.; Tambyah, P. A.; Vong, S., Impact of vaccines on antimicrobial resistance. *Int. J. Infect. Dis.* **2020**, *90*, 188-196.
- ¹² Franz, K., Application of inorganic chemistry for non-cancer therapeutics. *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 6333-4.
- ¹³ Kloss, P.; Xiong, L.; Shinabarger, D. L.; Mankin, A. S., Resistance mutations in 23 S rRNA identify the site of action of the protein synthesis inhibitor linezolid in the ribosomal peptidyl transferase center. *J. Mol. Biol.* **1999**, *294* (1), 93-101.
- ¹⁴ Denny, W. A., Prodrug strategies in cancer therapy. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36* (7-8), 577-95.
- ¹⁵ Souza, E. T.; Maia, P. J.; Azevedo, E. M.; Kaiser, C. R.; Resende, J. A.; Pinheiro, C. B.; Heinrich, T. A.; da Silva, R. S.; Scarpellini, M., A series of mononuclear Co(III) complexes using tridentate N,O-donor ligands: chemical properties and cytotoxicity activity. *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105* (12), 1767-73.
- ¹⁶ Brown, J. M., The hypoxic cell: a target for selective cancer therapy--eighteenth Bruce F. Cain Memorial Award lecture. *Cancer Res.* **1999**, *59* (23), 5863-70.
- ¹⁷ Brown, J. M.; Wilson, W. R., Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4* (6), 437-47.
- ¹⁸ Hambley, T., ChemInform Abstract: Physiological Targeting to Improve Anticancer Drug Selectivity. *Aus. J. Chem.* **2008**, *61*.
- ¹⁹ Muz, B.; de la Puente, P.; Azab, F.; Luderer, M.; Azab, A. K., The role of hypoxia and exploitation of the hypoxic environment in hematologic malignancies. *Mol. Cancer Res.* **2014**, *12* (10), 1347-54.
- ²⁰ Mallikarjun, V.; Clarke, D. J.; Campbell, C. J., Cellular redox potential and the biomolecular electrochemical series: a systems hypothesis. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *53* (2), 280-8.
- ²¹ Jones, D. P., Redox sensing: orthogonal control in cell cycle and apoptosis signalling. *J. Int. Med.* **2010**, *268* (5), 432-48.
- ²² Dooley, C. T.; Dore, T. M.; Hanson, G. T.; Jackson, W. C.; Remington, S. J.; Tsien, R. Y., Imaging dynamic redox changes in mammalian cells with green fluorescent protein indicators. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279* (21), 22284-93.
- ²³ Green, B. P.; Renfrew, A. K.; Glenister, A.; Turner, P.; Hambley, T. W., The influence of the ancillary ligand on the potential of cobalt(III) complexes to act as chaperones for hydroxamic acid-based drugs. *Dalton Trans.* **2017**, *46* (45), 15897-15907.
- ²⁴ Hall, M. D.; Failes, T. W.; Yamamoto, N.; Hambley, T. W., Bioreductive activation and drug chaperoning in cobalt pharmaceuticals. *Dalton Trans.* **2007**, (36), 3983-90.
- ²⁵ Failes, T. W.; Hambley, T. W., Models of hypoxia activated prodrugs: Co(III) complexes of hydroxamic acids. *Dalton Trans.* **2006**, (15), 1895-901.
- ²⁶ Ware, D. C.; Palmer, B. D.; Wilson, W. R.; Denny, W. A., Hypoxia-selective antitumor agents. 7. Metal complexes of aliphatic mustards as a new class of hypoxia-selective cytotoxins. Synthesis and evaluation of cobalt(III) complexes of bidentate mustards. *J. Med. Chem.* **1993**, *36* (13), 1839-46.

- ²⁷ Hall, M.; Underwood, C.; Failes, T.; Foran, G.; Hambley, T., Using XANES to Monitor the Oxidation State of Cobalt Complexes. *Aus. J. Chem.* **2007**, *60*, 180-183.
- ²⁸ Oliveira, J. S.; Sousa, E. H.; Basso, L. A.; Palaci, M.; Dietze, R.; Santos, D. S.; Moreira, I. S., An inorganic iron complex that inhibits wild-type and an isoniazid-resistant mutant 2-trans-enoyl-ACP (CoA) reductase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Chem. Commun.* **2004**, (3), 312-3.
- ²⁹ Scutaru, D., Monosubstituted derivatives of ferrocene. Ferrocene-containing penicillins and cephalosporins. *J. Organomet. Chem.* **1991**, *401*, 81-85.
- ³⁰ Perevalova, E. G.; Reshetova, M. D.; Grandberg, K. I., Methods of Elementoorganic Chemistry. Organoiron Compounds. Ferrocene. *Moskva: Nauka* **1983**.
- ³¹ Sierra, M. A.; Casarrubios, L., Bio-Organometallic Derivatives of Antibacterial Drugs. **2019**, *25* (30), 7232-7242.
- ³² Delhaes, L.; Biot, C.; Berry, L.; Delcourt, P.; Maciejewski, L. A.; Camus, D.; Brocard, J. S.; Dive, D., Synthesis of ferroquine enantiomers: first investigation of effects of metallocenic chirality upon antimalarial activity and cytotoxicity. *Chembiochem* **2002**, *3* (5), 418-23.
- ³³ Komeda, S.; Casini, A., Next-generation anticancer metallodrugs. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, *12* (3), 219-35.
- ³⁴ Hanif, M.; Hartinger, C. G., Anticancer metallodrugs: where is the next cisplatin? *Fut. Med. Chem.* **2018**, *10* (6), 615-617.
- ³⁵ Cheff, D. M.; Hall, M. D., A Drug of Such Damned Nature.1 Challenges and Opportunities in Translational Platinum Drug Research. **2017**, *60* (11), 4517-4532.
- ³⁶ Rocha, C. R. R.; Silva, M. M.; Quinet, A.; Cabral-Neto, J. B.; Menck, C. F. M., DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)* **2018**, *73* (suppl 1), e478s.
- ³⁷ Amable, L., Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacol. Res.* **2016**, *106*, 27-36.
- ³⁸ Johnstone, T. C.; Suntharalingam, K.; Lippard, S. J., The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (5), 3436-86.
- ³⁹ Basu, U.; Banik, B.; Wen, R.; Pathak, R. K.; Dhar, S., The Platin-X series: activation, targeting, and delivery. *Dalton Trans.* **2016**, *45* (33), 12992-3004.
- ⁴⁰ Meijer, C.; Mulder, N. H.; Hospers, G. A.; Uges, D. R.; de Vries, E. G., The role of glutathione in resistance to cisplatin in a human small cell lung cancer cell line. *Br. J. Cancer* **1990**, *62* (1), 72-7.
- ⁴¹ Andrews, P. A.; Murphy, M. P.; Howell, S. B., Metallothionein-mediated cisplatin resistance in human ovarian carcinoma cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1987**, *19* (2), 149-54.
- ⁴² 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). *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100* (5-6), 891-904.
- ⁴³ Hartinger, C. G.; Jakupec, M. A.; Zorbas-Seifried, S.; Groessl, M.; Egger, A.; Berger, W.; Zorbas, H.; Dyson, P. J.; Keppler, B. K., KP1019, a new redox-active anticancer agent--preclinical development and results of a clinical phase I study in tumor patients. *Chem. Biodivers.* **2008**, *5* (10), 2140-55.
- ⁴⁴ Scolaro, C.; Bergamo, A.; Brescacin, L.; Delfino, R.; Cocchietto, M.; Laurenczy, G.; Geldbach, T. J.; Sava, G.; Dyson, P. J., In vitro and in vivo evaluation of ruthenium(II)-arene PTA complexes. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (12), 4161-71.
- ⁴⁵ Gabbiani, C.; Casini, A.; Messori, L.; Guerri, A.; Cinellu, M. A.; Minghetti, G.; Corsini, M.; Rosani, C.; Zanello, P.; Arca, M., Structural characterization, solution studies, and DFT calculations on a series of binuclear gold(III) oxo complexes: relationships to biological properties. *Inorg. Chem.* **2008**, *47* (7), 2368-79.
- ⁴⁶ Aird, R. E.; Cummings, J.; Ritchie, A. A.; Muir, M.; Morris, R. E.; Chen, H.; Sadler, P. J.; Jodrell, D. I., In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. *Br. J. Cancer* **2002**, *86* (10), 1652-7.
- ⁴⁷ Chen, H.; Parkinson, J.; Parsons, S.; Coxall, R.; Gould, R.; Sadler, P., Organometallic Ruthenium(II) Diamine Anticancer Complexes: Arene-Nucleobase Stacking and Stereospecific Hydrogen-Bonding in Guanine Adducts. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3064-82.
- ⁴⁸ van Rijt, S.; Sadler, P., Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 1089-97.
- ⁴⁹ Blatter, E.; Vollano, J.; Krishnan, B.; Dabrowiak, J., Interaction of the antitumor agents cis,cis,trans-PtIV(NH₃)₂Cl₂(OH)₂ and cis,cis,trans-PtIV[(CH₃)₂CHNH₂]₂Cl₂(OH)₂ and their reduction products with PM2 DNA. *Biochem.* **1984**, *23*, 4817-20.
- ⁵⁰ Carr, J. L.; Tingle, M. D.; McKeage, M. J., Satraplatin activation by haemoglobin, cytochrome C and liver microsomes in vitro. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2006**, *57* (4), 483-90.

- ⁵¹ Hall, M. D.; Foran, G. J.; Zhang, M.; Beale, P. J.; Hambley, T. W., XANES determination of the platinum oxidation state distribution in cancer cells treated with platinum(IV) anticancer agents. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (25), 7524-5.
- ⁵² van Hennik, M. B.; van der Vijgh, W. J.; Klein, I.; Vermorken, J. B.; Pinedo, H. M., Human pharmacokinetics of carboplatin after oral administration. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1989**, *23* (2), 126-7.
- ⁵³ Morris, R. E.; Aird, R. E.; Murdoch Pdel, S.; Chen, H.; Cummings, J.; Hughes, N. D.; Parsons, S.; Parkin, A.; Boyd, G.; Jodrell, D. I.; Sadler, P. J., Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes. *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (22), 3616-21.
- ⁵⁴ Lide, D. L.; CRC Handbook of Chemistry and Physics, Standard Reference Data. National Institute of Standards and Technology **2003-2004**, 8, 24.
- ⁵⁵ Renfrew, A.; O'Neill, E.; Hambley, T., Harnessing the properties of cobalt coordination complexes for biological application. *Coord. Chem. Rev.* **2017**, 375.
- ⁵⁶ Laurent, Q.; Batchelor, L.; Dyson, P., Applying a Trojan Horse Strategy to Ruthenium Complexes in the Pursuit of Novel Antibacterial Agents. *Organomet.* **2018**, 37.
- ⁵⁷ de Visser, K. E.; Eichten, A.; Coussens, L. M., Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6* (1), 24-37.
- ⁵⁸ Blackman, A. G., The Coordination Chemistry of Tripodal Tetraamine Ligands. *Polyhedron* **2005**, *24*, 1-39.
- ⁵⁹ Chahar, M.; Sharma, N.; Dobhal, M.; Joshi, Y., Flavonoids: A versatile source of anticancer drugs. *Pharmacogn. Rev.* **2011**, *5*, 1-12.
- ⁶⁰ Raffa, D.; Maggio, B.; Raimondi, M.; Plescia, F.; Daidone, G., Recent discoveries of anticancer flavonoids. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 142.
- ⁶¹ Jeong, H. J.; Ryu, Y. B.; Park, S. J.; Kim, J. H.; Kwon, H. J.; Kim, J. H.; Park, K. H.; Rho, M. C.; Lee, W. S., Neuraminidase inhibitory activities of flavonols isolated from *Rhodiola rosea* roots and their in vitro anti-influenza viral activities. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17* (19), 6816-23.
- ⁶² Kwon, H. J.; Kim, H. H.; Ryu, Y. B.; Kim, J. H.; Jeong, H. J.; Lee, S. W.; Chang, J. S.; Cho, K. O.; Rho, M. C.; Park, S. J.; Lee, W. S., In vitro anti-rotavirus activity of polyphenol compounds isolated from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18* (21), 7668-74.
- ⁶³ Sithisarn, P.; Michaelis, M.; Schubert-Zsilavecz, M.; Cinatl, J., Jr., Differential antiviral and anti-inflammatory mechanisms of the flavonoids biochanin A and baicalein in H5N1 influenza A virus-infected cells. *Antivir. Res.* **2013**, *97* (1), 41-8.
- ⁶⁴ Guz, N. R.; Stermitz, F. R.; Johnson, J. B.; Beeson, T. D.; Willen, S.; Hsiang, J.; Lewis, K., Flavonolignan and flavone inhibitors of a *Staphylococcus aureus* multidrug resistance pump: structure-activity relationships. *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (2), 261-8.
- ⁶⁵ Kim, Y. S.; Ryu, Y. B.; Curtis-Long, M. J.; Yuk, H. J.; Cho, J. K.; Kim, J. Y.; Kim, K. D.; Lee, W. S.; Park, K. H., Flavanones and rotenoids from the roots of *Amorpha fruticosa* L. that inhibit bacterial neuraminidase. *Food Chem. Toxicol.* **2011**, *49* (8), 1849-56.
- ⁶⁶ Ohemeng, K.; Schwender, C. F.; Fu, K. P.; Barrett, J. F., DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 225-230.
- ⁶⁷ Wu, T.; He, M.; Zang, X.; Zhou, Y.; Qiu, T.; Pan, S.; Xu, X., A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitors of *E. Coli* by membrane interaction effect. *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1828.
- ⁶⁸ Greeff, J.; Joubert, J.; Malan, S.; Dyk, S., Antioxidant properties of 4-quinolones and structurally related flavones. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *20*, 809-18.
- ⁶⁹ Hyun, J.; Woo, Y.; Hwang, D.-S.; Jo, G.; Eom, S.; Lee, Y.; Park, J.; Lim, Y., Relationships between structures of hydroxyflavones and their antioxidative effects. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5510-3.
- ⁷⁰ Ravishankar, D., Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2013**, *45*, 2821-2831.
- ⁷¹ Osborn, H.; Greco, F.; Ravishankar, D.; Watson, K., Novel synthesised flavone derivatives provide significant insight into the structural features required for enhanced anti-proliferative activity. *RSC Adv.* **2016**, 6.
- ⁷² Wang, T.-y.; Li, Q.; Bi, K.-s., Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J. Pharm. Sci.* **2017**, 13.
- ⁷³ Cazarolli, L.; Zanatta, L.; Alberton, E.; Figueiredo, M.; Folador, P.; Damazio, R.; Pizzolatti, M.; Silva, F., Flavonoids: Prospective Drug Candidates. *Mini Rev. Med Chem.* **2008**, *8*, 1429-40.
- ⁷⁴ Kandaswami, C.; Kanadaswami, C.; Lee, L.-T.; Lee, P.-P.; Hwang, J.-J.; Ke, F.-C.; Huang, Y.-T.; Lee, M.-T., The Antitumor Activities of Flavonoids. *In vivo* **2005**, *19*, 895-909.
- ⁷⁵ Nishizuka, Y., Studies and perspectives of protein kinase C. *Science* **1986**, *233* (4761), 305-12.
- ⁷⁶ Nishizuka, Y., The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nat.* **1988**, *334* (6184), 661-5.

- ⁷⁷ Nishizuka, Y., Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **1995**, 9 (7), 484-96.
- ⁷⁸ Champoux, J. J., DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annu. Rev. Biochem.* **2001**, 70, 369-413.
- ⁷⁹ Wang, I. K.; Lin-Shiau, S. Y.; Lin, J. K., Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells. *Eur. J. Cancer* **1999**, 35 (10), 1517-25.
- ⁸⁰ Bailly, C., Topoisomerase I poisons and suppressors as anticancer drugs. *Curr. Med. Chem.* **2000**, 7 (1), 39-58.
- ⁸¹ Sukardiman; Darwanto, A.; Tanjung, M.; Darmadi, M. O., Cytotoxic mechanism of flavonoid from Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*) in cell culture of human mammary carcinoma. *Clin. Hemorheol. Micro.* **2000**, 23 (2-4), 185-90.
- ⁸² Khater, M.; Ravishankar, D.; Greco, F.; Osborn, H., Metal complexes of flavonoids: their synthesis, characterization and enhanced antioxidant and anticancer activities. *Fut. Med. Chem.* **2019**, 11.
- ⁸³ Sanna, D.; Ugone, V.; Fadda, A.; Micera, G.; Garribba, E., Behavior of the potential antitumor VIVO complexes formed by flavonoid ligands. 3. Antioxidant properties and radical production capability. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, 161.
- ⁸⁴ Sanna, D.; Ugone, V.; Pisano, L.; Serra, M.; Micera, G.; Garribba, E., Behavior of the potential antitumor V(IV)O complexes formed by flavonoid ligands. 2. Characterization of sulfonate derivatives of quercetin and morin, interaction with the bioligands of the plasma and preliminary biotransformation studies. *J. Inorg. Biochem.* **2015**, 153.
- ⁸⁵ Kurzwernhart, A.; Mokesch, S.; Klapproth, E.; Adib-Ravazi, M.; Jakupec, M.; Hartinger, C.; Kandioller, W.; Keppler, B., Flavonoid-Based Organometallics with Different Metal Centers - Investigations of the Effects on Reactivity and Cytotoxicity. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, 240-246.
- ⁸⁶ Gyires K., Fürst Zs., A farmakológia alapja, *Medicina Könyvkiadó Zrt.*, **2011**.
- ⁸⁷ Agudelo, D.; Bourassa, P.; Bérubé, G.; Tajmir-Riahi, H. A., Review on the binding of anticancer drug doxorubicin with DNA and tRNA: Structural models and antitumor activity. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* **2016**, 158, 274-9.
- ⁸⁸ Ma, P.; Mumper, R. J., Anthracycline Nano-Delivery Systems to Overcome Multiple Drug Resistance: A Comprehensive Review. *Nano today* **2013**, 8 (3), 313-331.
- ⁸⁹ Carvalho, C.; Santos, R. X.; Cardoso, S.; Correia, S.; Oliveira, P. J.; Santos, M. S.; Moreira, P. I., Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Curr. Med. Chem.* **2009**, 16 (25), 3267-85.
- ⁹⁰ Minotti, G.; Menna, P.; Salvatorelli, E.; Cairo, G.; Gianni, L., Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol. Rev.* **2004**, 56 (2), 185-229.
- ⁹¹ Gammella, E.; Maccarinelli, F.; Buratti, P.; Recalcati, S.; Cairo, G., The role of iron in anthracycline cardiotoxicity. *Front. Pharmacol.* **2014**, 5, 25.
- ⁹² Zhang, S.; Liu, X.; Bawa-Khalfe, T.; Lu, L.-S.; Lyu, L.; Liu, L.; Yeh, E., Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat. Med.* **2012**, 18.
- ⁹³ Guin, P.; Das, S.; Mandal, P., Interaction of 1,4-Dihydroxy-9,10-Anthraquinone with Calf Thymus DNA: A Comparison with Anthracycline Anticancer Drugs. *J. Sol. Chem.* **2011**, 40, 492-501.
- ⁹⁴ Eriksson, M.; Nordén, B.; Eriksson, S., Anthracycline-DNA interactions studied with linear dichroism and fluorescence spectroscopy. *Biochem.* **1988**, 27, 8144-51.
- ⁹⁵ Li, N.; Ma, Y.; Yang, C.; Guo, L.; Yang, X., Interaction of anticancer drug mitoxantrone with DNA analyzed by electrochemical and spectroscopic methods. *Biophys. Chem.* **2005**, 116, 199-205.
- ⁹⁶ Goto, S.; Ihara, Y.; Urata, Y.; Izumi, S.; Abe, K.; Koji, T.; Kondo, T., Doxorubicin-induced DNA intercalation and scavenging by nuclear glutathione S-transferase pi. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **2001**, 15 (14), 2702-14.
- ⁹⁷ Yao, F.; Duan, J.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Guo, Y.; Guo, H.; Kang, X., Nanopore single-molecule analysis of DNA-doxorubicin interactions. *Anal. Chem.* **2015**, 87 (1), 338-42.
- ⁹⁸ Agudelo, D.; Bourassa, P.; Bérubé, G.; Tajmir-Riahi, H. A., Intercalation of antitumor drug doxorubicin and its analogue by DNA duplex: structural features and biological implications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, 66, 144-50.
- ⁹⁹ Banerjee, T.; Mukhopadhyay, R., Structural effects of nogalamycin, an antibiotic antitumour agent, on DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, 374, 264-8.
- ¹⁰⁰ Feng, M.; Yang, Y.; He, P.; Fang, Y., Spectroscopic studies of copper(II) and iron(II) complexes of adriamycin. *Spectrochim. Acta. Part A, Mol. Biomol. Spect.* **2000**, 56 (3), 581-7.
- ¹⁰¹ Muhammed, H.; Ramasarma, T.; Kurup, C. K., Inhibition of mitochondrial oxidative phosphorylation by adriamycin. *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, 722 (1), 43-50.
- ¹⁰² Goormaghtigh, E.; Ruysschaert, J. M., Anthracycline glycoside-membrane interactions. *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 779 (3), 271-88.

- ¹⁰³ Demant, E. J., NADH oxidation in submitochondrial particles protects respiratory chain activity against damage by adriamycin-Fe³⁺. *Eur. J. Biochem.* **1983**, *137* (1-2), 113-8.
- ¹⁰⁴ Demant, E. J.; Jensen, P. K., Destruction of phospholipids and respiratory-chain activity in pig-heart submitochondrial particles induced by an adriamycin-iron complex. *Eur. J. Biochem.* **1983**, *132* (3), 551-6.
- ¹⁰⁵ Iwamoto, Y.; Hansen, I. L.; Porter, T. H.; Folkers, K., Inhibition of coenzyme Q10-enzymes, succinoxidase and NADH-oxidase, by adriamycin and other quinones having antitumor activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1974**, *58* (3), 633-8.
- ¹⁰⁶ Mjos, K. D.; Cawthray, J. F.; Jamieson, G.; Fox, J. A.; Orvig, C., Iron(III)-binding of the anticancer agents doxorubicin and vosaroxin. *Dalton Trans.* **2015**, *44* (5), 2348-58.
- ¹⁰⁷ Kellogg, G.; Scarsdale, J.; Fornari, F., Identification and hydrophobic characterization of structural features affecting sequence specificity for doxorubicin intercalation into DNA double-stranded polynucleotides. *Nucleic Acid Res.* **1998**, *26*, 4721-32.
- ¹⁰⁸ Zhang, H. M.; Li, N. Q., Electrochemical studies of the interaction of adriamycin to DNA. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2000**, *22* (1), 67-73.
- ¹⁰⁹ Abraham, S. A.; Edwards, K.; Karlsson, G.; MacIntosh, S.; Mayer, L. D.; McKenzie, C.; Bally, M. B., Formation of transition metal-doxorubicin complexes inside liposomes. *Biochim. Biophys. Acta.* **2002**, *1565* (1), 41-54.
- ¹¹⁰ Fiallo, M. M.; Drechsel, H.; Garnier-Suillerot, A.; Matzanke, B. F.; Kozlowski, H., Solution structure of iron(III)-anthracycline complexes. *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (15), 2844-51.
- ¹¹¹ Appelbaum, P. C.; Hunter, P. A., The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *16* (1), 5-15.
- ¹¹² Mitscher, L. A., Bacterial topoisomerase inhibitors: quinolone and pyridone antibacterial agents. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (2), 559-92.
- ¹¹³ Mustaev, A.; Malik, M.; Zhao, X.; Kurepina, N.; Luan, G.; Opegard, L. M.; Hiasa, H.; Marks, K. R.; Kerns, R. J.; Berger, J. M.; Drlica, K., Fluoroquinolone-gyrase-DNA complexes: two modes of drug binding. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289* (18), 12300-12.
- ¹¹⁴ Andersson, M. I.; MacGowan, A. P., Development of the quinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51* Suppl 1, 1-11.
- ¹¹⁵ Emmerson, A. M.; Jones, A. M., The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51* Suppl 1, 13-20.
- ¹¹⁶ Cuprys, A.; Rama, P.; Brar, K.; Drogui, P.; Verma, M.; Surampalli, R., Fluoroquinolones metal complexation and its environmental impacts. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *376*, 46-61.
- ¹¹⁷ Kim, S.; Thiessen, P. A.; Bolton, E. E.; Chen, J.; Fu, G.; Gindulyte, A.; Han, L.; He, J.; He, S.; Shoemaker, B. A.; Wang, J.; Yu, B.; Zhang, J.; Bryant, S. H., PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acid Res.* **2016**, *44* (D1), D1202-13.
- ¹¹⁸ Wishart, D. S.; Knox, C.; Guo, A. C.; Shrivastava, S.; Hassanali, M.; Stothard, P.; Chang, Z.; Woolsey, J., DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acid Res.* **2006**, *34* (Database issue), D668-72.
- ¹¹⁹ Drlica, K.; Zhao, X., DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, *61* (3), 377-92.
- ¹²⁰ Sharma, P.; Jain, A.; Jain, S., Fluoroquinolone antibacterials: A review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. *Acta Pol. Pharm.* **2009**, *66*, 587-604.
- ¹²¹ Girardi, C.; Greve, J.; Lamshöft, M.; Fetzner, I.; Miltner, A.; Schäffer, A.; Kästner, M., Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *198*, 22-30.
- ¹²² Pagès, J. M.; James, C. E.; Winterhalter, M., The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, *6* (12), 893-903.
- ¹²³ Zhao, X.; Yang, J.; Zhang, B.; Sun, S.; Chang, W., Characterization of Integrins and Resistance Genes in Salmonella Isolates from Farm Animals in Shandong Province, China. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 1300.
- ¹²⁴ Mach, T.; Neves, P.; Spiga, E.; Weingart, H.; Winterhalter, M.; Ruggerone, P.; Ceccarelli, M.; Gameiro, P., Facilitated permeation of antibiotics across membrane channels--interaction of the quinolone moxifloxacin with the OmpF channel. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (40), 13301-9.
- ¹²⁵ Mahendran, K. R.; Kreir, M.; Weingart, H.; Fertig, N.; Winterhalter, M., Permeation of antibiotics through Escherichia coli OmpF and OmpC porins: screening for influx on a single-molecule level. *J. Biomol. Screen.* **2010**, *15* (3), 302-7.
- ¹²⁶ Setälä, H.; McLean, M. A., Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. *Oecologia* **2004**, *139* (1), 98-107.
- ¹²⁷ Ribeiro, C.; Lopes, S. C.; Gameiro, P., New insights into the translocation route of enrofloxacin and its metalloantibiotics. *J. Membr. Biol.* **2011**, *241* (3), 117-25.

- ¹²⁸ Ferreira, M.; Gameiro, P., Ciprofloxacin metalloantibiotic: an effective antibiotic with an influx route strongly dependent on lipid interaction? *J. Membr. Biol.* **2015**, *248* (1), 125-36.
- ¹²⁹ López-Gresa, M. P.; Ortiz, R.; Perelló, L.; Latorre, J.; Liu-González, M.; García-Granda, S.; Pérez-Priede, M.; Cantón, E., Interactions of metal ions with two quinolone antimicrobial agents (cinoxacin and ciprofloxacin). Spectroscopic and X-ray structural characterization. Antibacterial studies. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *92* (1), 65-74.
- ¹³⁰ Refat, M. S., Synthesis and characterization of norfloxacin-transition metal complexes (group 11, IB): spectroscopic, thermal, kinetic measurements and biological activity. *Spectrochim. Acta. Part A, Mol. Biomol. Spect.* **2007**, *68* (5), 1393-405.
- ¹³¹ Lecomte, S.; Baron, M. H.; Chenon, M. T.; Couprie, C.; Moreau, N. J., Effect of magnesium complexation by fluoroquinolones on their antibacterial properties. *Antimicrob. Agent Chemother.* **1994**, *38* (12), 2810-6.
- ¹³² Efthimiadou, E.; Karaliota, A.; Psomas, G., Structure, antimicrobial activity and DNA-binding properties of the cobalt(II)-sparfloxacin complex. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4033-7.
- ¹³³ Mamaril-Fishman, D.; Zhu, J.; Lin, M.; Felgate, C.; Jones, L.; Stump, P.; Pierre, E.; Bowen, C.; Naderer, O.; Dumont, E.; Patel, P.; Gorycki, P. D.; Wen, B.; Chen, L.; Deng, Y., Investigation of metabolism and disposition of GSK1322322, a peptidase deformylase inhibitor, in healthy humans using the entero-test for biliary sampling. *Drug Metabol. Dispos.* **2014**, *42* (8), 1314-25.
- ¹³⁴ Fieulaine, S.; Alves de Sousa, R.; Maigre, L.; Hamiche, K.; Alimi, M.; Bolla, J.-M.; Taleb, A.; Denis, A.; Pagès, J.-M.; Artaud, I.; Meinel, T.; Giglione, C., A unique peptide deformylase platform to rationally design and challenge novel active compounds. *Sci. Rep* **2016**, *6* (1), 35429.
- ¹³⁵ Griffith, D. M.; Devocelle, M.; Marmion, C. J.; *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry* **2010**, pp. 93-144.
- ¹³⁶ Hoover, J.; Lewandowski, T.; Straub, R. J.; Novick, S. J.; DeMarsh, P.; Aubart, K.; Rittenhouse, S.; Zalacain, M., Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Peptide Deformylase Inhibitor GSK1322322 against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Staphylococcus aureus* in Rodent Models of Infection. *Antimicrob. Agent Chemother.* **2016**, *60* (1), 180-9.
- ¹³⁷ Failes, T.; Hambley, T., Models of hypoxia activated prodrugs: Co(III) complexes of hydroxamic acids. *Dalton Trans.* **2006**, *60*, 1895-901.
- ¹³⁸ Bonnitcho, P.; Kim, B.; Hocking, R.; Clegg, J.; Turner, P.; Neville, S.; Hambley, T., Cobalt complexes with tripodal ligands: Implications for the design of drug chaperones. *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 11293-304.
- ¹³⁹ Shepherd, F. A.; Giaccone, G.; Seymour, L.; Debruyne, C.; Bezjak, A.; Hirsh, V.; Smylie, M.; Rubin, S.; Martins, H.; Lamont, A.; Krzakowski, M.; Sadura, A.; Zee, B., Prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of marimastat after response to first-line chemotherapy in patients with small-cell lung cancer: a trial of the National Cancer Institute of Canada-Clinical Trials Group and the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *J. Clin. Oncol.* **2002**, *20* (22), 4434-9.
- ¹⁴⁰ 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. *Chem.* **2007**, *13* (10), 2974-82.
- ¹⁴¹ Renfrew, A.; Bryce, N.; Hambley, T., Delivery and release of curcumin by a hypoxia-activated cobalt chaperone: A XANES and FLIM study. *Chem. Sci.* **2013**, *4*.
- ¹⁴² Kim, B.; Hambley, T.; Bryce, N., Visualising the hypoxia selectivity of cobalt(III) prodrugs. *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 2135-2142.
- ¹⁴³ Kimura, E.; Young, S.; Collman, J. P., Cleavage of amino acid esters and peptides with hydroxo-aquo(2,2',2''-triaminotriethylamine)cobalt(III) ion. *Inorg. Chem.* **1970**, *9* (5), 1183-1191.
- ¹⁴⁴ Bourque, J.; Burley, R.; Bearne, S., Intermediate analogue inhibitors of mandelate racemase: N-Hydroxyformanilide and cupferron. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2664.
- ¹⁴⁵ Újszászy K.–Frigyes D., Tömegspektrometria, ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék Budapest, **2003**.
- ¹⁴⁶ C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek & P. A. Wood, *J. Appl. Cryst.* **2008**, *41*, 466-470.
- ¹⁴⁷ Zekany, L.; Nagypal, I., PSEQUAD. In *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, Leggett, D. J., Ed. Springer US: Boston, MA, **1985**; pp 291-353.
- ¹⁴⁸ Mills, C.; Mateeva, N.; Redda, K., Synthesis of Novel Substituted Flavonoids. *J. Heterocycl. Chem.* **2006**, *43*, 59-64.
- ¹⁴⁹ Kouris, E.; Kalogiannis, S.; Perdih, F.; Turel, I.; Psomas, G., Cobalt(II) complexes of sparfloxacin: Characterization, structure, antimicrobial activity and interaction with DNA and albumins. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *163*, 18-27.

- ¹⁵⁰ Chohan, Z. H.; Supuran, C. T.; Scozzafava, A., Metal binding and antibacterial activity of ciprofloxacin complexes. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2005**, *20* (3), 303-7.
- ¹⁵¹ Al-Khodir, F. A. I.; Refat, M. S., Vital metal complexes of levofloxacin as potential medical agents: Synthesis and their spectroscopic, thermal, computational, and anticancer studies. *Russ. J. Gen. Chem.* **2015**, *85* (3), 718-730.
- ¹⁵² Sadeek, S., Synthesis, thermogravimetric analysis, infrared, electronic and mass spectra of Mn(II), Co(II) and Fe(III) norfloxacin complexes. *J. Mol. Struct.* **2005**, *753*, 1-12.
- ¹⁵³ Xuan, X.; Wang, X.; Wang, N., Theoretical study of molecular structure and vibrational spectra of 1,4-dihydroxyanthraquinone. *Spectrochim. Acta. Part A, Mol. Biomol. Spec.* **2011**, *79* (5), 1091-8.
- ¹⁵⁴ Shamsipur, M.; Besharati-Seidani, A., Synthesis of a novel nanostructured ion-imprinted polymer for very fast and highly selective recognition of copper(II) ions in aqueous media. *React. Funct. Polym.* **2011**, *71*, 131-139.
- ¹⁵⁵ Yano, M.; Fujita, M.; Miyake, M.; Tatsumi, M.; Yajima, T.; Yamauchi, O.; Oyama, M.; Sato, K.; Takui, T., Synthesis and properties of a redox active ligand with bispicorylamino groups and its dinuclear complex. *Polyhedron* **2007**, *26*.
- ¹⁵⁶ Suenaga, Y.; Inada, H.; Inomata, M.; Yamaguchi, R.; Okubo, T.; Maekawa, M.; Kuroda-Sowa, T., Crystal Structure and Characterization of Trinuclear Cobalt(III) Complex with 2,3,6,7,10,11-Hexahydroxytriphenylene. *Chem. Lett.* **2014**, *43*, 562-564.
- ¹⁵⁷ Pawar, P.; Katara, R.; Mishra, S.; Majumdar, D. K., Topical ocular delivery of fluoroquinolones. *Expert Opin. Drug. Deliv.* **2013**, *10* (5), 691-711.
- ¹⁵⁸ Guin, P.; Das, S.; Mandal, P., Electrochemical Reduction of Sodium 1,4-dihydroxy-9,10-anthraquinone-2-sulphonate in Aqueous and Aqueous Dimethyl Formamide Mixed Solvent: A Cyclic Voltammetric Study. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2008**, *3*, 1016-1028.
- ¹⁵⁹ Nematollahi, D.; Sayadi, A.; Varmaghani, F., Electrochemical study of quinizarin in the presence of arylsulfonic acids: Synthesis of new sulfone derivatives of quinizarin. *J. Electroanal. Chem.* **2012**, *671*, 44-50.
- ¹⁶⁰ Mandal, A.; Grupp, A.; Schwederski, B.; Kaim, W.; Lahiri, G. K., Varying Electronic Structures of Diosmium Complexes from Noninnocently Behaving Anthraquinone-Derived Bis-chelate Ligands. *Inorg. Chem.* **2015**, *54* (16), 7936-7944.
- ¹⁶¹ Pestova, E.; Millichap, J. J.; Noskin, G. A.; Peterson, L. R., Intracellular targets of moxifloxacin: a comparison with other fluoroquinolones. *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, *45* (5), 583-90.
- ¹⁶² Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.; Marchand, C., DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chem. Biol.* **2010**, *17* (5), 421-33.
- ¹⁶³ Gattuso, H.; Duchanois, T.; Besancenot, V.; Barbieux, C.; Assfeld, X.; Becuwe, P.; Gros, P. C.; Grandemange, S.; Monari, A., Interaction of Iron II Complexes with B-DNA. Insights from Molecular Modeling, Spectroscopy, and Cellular Biology. *Front. Chem.* **2015**, *3*, 67-67.
- ¹⁶⁴ Satyanarayana, S.; Dabrowiak, J. C.; Chaires, J. B., Tris(phenanthroline)ruthenium(II) enantiomer interactions with DNA: mode and specificity of binding. *Biochem.* **1993**, *32* (10), 2573-84.
- ¹⁶⁵ Herold, C.; Ocker, M.; Ganslmayer, M.; Gerauer, H.; Hahn, E. G.; Schuppan, D., Ciprofloxacin induces apoptosis and inhibits proliferation of human colorectal carcinoma cells. *Br. J. Cancer* **2002**, *86* (3), 443-8.
- ¹⁶⁶ Gürbay, A.; Gonthier, B.; Barret, L.; Favier, A.; Hincal, F., Cytotoxic effect of ciprofloxacin in primary culture of rat astrocytes and protection by Vitamin E. *Toxicology* **2007**, *229* (1-2), 54-61.
- ¹⁶⁷ Alsamamra, H.; Abu Teir, M.; Darwish, S., Propylthiouracil with Human and Bovine Serum Albumins. **2019**.
- ¹⁶⁸ Peters, J., All About Albumin. Biochemistry, Genetics and Medical Application. *Academic Press San Diego* **1995**.
- ¹⁶⁹ Fanali, G.; di Masi, A.; Trezza, V.; Marino, M.; Fasano, M.; Ascenzi, P., Human serum albumin: from bench to bedside. *Mol. Aspects Med.* **2012**, *33* (3), 209-90.
- ¹⁷⁰ Sudlow, G.; Birkett, D. J.; Wade, D. N., Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin. *Mol. Pharmacol.* **1976**, *12* (6), 1052-61.
- ¹⁷¹ Novohradsky, V.; Zajac, J.; Vrana, O.; Kasparkova, J.; Brabec, V., Simultaneous delivery of olaparib and carboplatin in PEGylated liposomes imparts this drug combination hypersensitivity and selectivity for breast tumor cells. *Oncotarget* **2018**, *9* (47), 28456-28473.
- ¹⁷² Stenger, C.; Naves, T.; Verdier, M.; Ratinaud, M. H., The cell death response to the ROS inducer, cobalt chloride, in neuroblastoma cell lines according to p53 status. *Int. J. Oncol.* **2011**, *39* (3), 601-9.
- ¹⁷³ Cressey, P. B.; Eskandari, A.; Bruno, P. M.; Lu, C.; Hemann, M. T.; Suntharalingam, K., The Potent Inhibitory Effect of a Naproxen-Appended Cobalt(III)-Cyclam Complex on Cancer Stem Cells. *Chembiochem* **2016**, *17* (18), 1713-8.
- ¹⁷⁴ Cressey, P.; Eskandari, A.; Suntharalingam, K., A Cancer Stem Cell Potent Cobalt(III)-Cyclam Complex Bearing Two Tolfenamic Acid Moieties. *Inorganics* **2017**, *5*, 12.

¹⁷⁵ Chamaon, K.; Schönfeld, P.; Awiszus, F.; Bertrand, J.; Lohmann, C. H., Ionic cobalt but not metal particles induces ROS generation in immune cells in vitro. *J. Biomed. Mat. Res. Part B, Appl. Biomater.* **2019**, *107* (4), 1246-1253.

¹⁷⁶ Lan, A. P.; Chen, J.; Chai, Z. F.; Hu, Y., The neurotoxicity of iron, copper and cobalt in Parkinson's disease through ROS-mediated mechanisms. *Biometals* **2016**, *29* (4), 665-78.