

SCUOLA DI SCIENZE
Dipartimento di Chimica Industriale "Toso Montanari"

Corso di Laurea Magistrale in

Chimica Industriale

Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

CHIMICA DEI COMPLESSI DI Ru(II) CON LEGANTI
BIOMIMETICI CHELANTI

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Giacomo Drius

RELATORE

Chiar.mo Prof. Silvia Bordoni

Anno Accademico 2020-2021

ABSTRACT

Novel metal Ru(II) complexes were synthesized by substitution of phosphine and hydride ligands with bioactive molecules in $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ to investigate the potential activity alterations promoted by the metal coordination.

Pyrrrole 2-carboxylic acid (**A**), 2-[(1H-pyrrol-2-yl)methyleneamino]phenol (**B**), 5-hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) (**C**) and L-asparagine (**D**) have been selected to form stable chelate organometallic systems, based on O,O- or N,O- binding coordinative modes. Experiments were run under variable reaction conditions (stoichiometry, temperature, solvent, time duration, energy source) to selectively drive the reactions to a single desired isomer.

Stereo-electronic features and rotameric behaviour have been studied by spectroscopic techniques (ESI-MS, IR, heteronuclear NMR and VT NMR) and DFT (Density Functional Theory) calculations.

The complexes obtained by a double coordination of two equivalents pyrrolyl carboxylate ligands giving bis-monohapto (η^1) species have been further investigated whereas longer reaction times are required affording monohapto-, dihapto [$\kappa^1(\text{O})$, $\kappa^2(\text{O},\text{O})$ -] complexes. More drastic conditions (MW, 1,2-DME, 12h) likely achieved *trans*-bishelate species. **B**, **C** and **D** molecules exhibited a preferential N,O-coordination mode by stabilizing five-membered metallacycles.

Le reazioni tra il complesso $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ e varie molecole con attività biologica quali l'acido pirrolo 2-carbossilico, il 5-idrossi-L-triptofano (5-HTP), il 2-[(H-pirrol-2-il)metilene]amminofenolo e l'(L) asparagina sono state studiate con diverse condizioni (stechiometria, temperatura, durata, solvente e sorgente energetica), formando in modo selettivo preferenzialmente un singolo isomero. La scelta dei leganti è stata dettata non solo dalla biocompatibilità ma anche dalla possibilità di sintetizzare complessi con leganti chelanti del tipo O,O- e N,O-.

I complessi sintetizzati sono stati caratterizzati con le consuete tecniche spettroscopiche (ESI-MS, IR, ^1H , ^{13}C , ^{31}P NMR, con tecniche a temperatura variabile, nOe e bidimensionali eteronucleari) e attraverso calcoli (in vuoto e con effetto solvente) DFT.

Due distinti leganti di 2-carbossil pirrolo sono stati coordinati simultaneamente al centro metallico di Ru(II) attraverso due reazioni consecutive e sintesi "one pot". La perdita della natura acida del metallo dovuta alla coordinazione del primo legante ha determinato la necessità di condurre le reazioni per tempi più lunghi ed in condizioni più drastiche, al fine di legare un'ulteriore molecola intercettando così specie intermedie con leganti mono-coordinati o coordinati contemporaneamente in modo monoapto e diapto. L'acido pirrolo 2-carbossilico preferisce l'(O,O)-chelazione oppure con due carbossilati mono coordinati in presenza di una molecola di solvente, mentre la base di Schiff, il 5-HTP e la L-asparagina formano analoghe specie N,O-chelanti.

Indice

1. INTRODUZIONE	2
1.1: Attività biologica dei metalli.....	2
1.2: complessi metallici come antitumorali, <i>cis</i> -platino e meccanismo di azione	2
1.3: Rutenio e metalli d ⁸ , proprietà chimiche	4
1.4: Meccanismo di azione dei composti di rutenio	6
1.5: Complessi di rutenio approvati per i test clinici	7
1.6: Struttura, chelazione e ricaduta sull'attività biologica.....	9
1.8 Scelta dei leganti: acido pirrolo 2-carbossilico	12
1.9 Scelta dei leganti: Base di Schiff	14
1.10 Scelta dei leganti: 5-idrossi-L-triptofano.....	15
1.11 Scelta dei leganti: L-Asparagina.....	19
2. SCOPO DELLA TESI	20
3. RISULTATI E DISCUSSIONE	21
3.1 Caratterizzazione di [Ru(H) ₂ (CO)(PPh ₃) ₃]	21
3.2 Caratterizzazione di κ ² -(O,O)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (Pyr-2COO)]	26
3.3 Caratterizzazione di κ ² -(O,O)κ ¹ -(O)[Ru(CO)(PPh ₃) ₂ (Pyr-C(O)O) ₂]	37
3.4 Caratterizzazione di [Ru(CO)(PPh ₃) ₂ (Pyr-2COO) ₂ (H ₂ O)].....	42
3.5 Caratterizzazione di κ ² -(O,O)[Ru(CO)(PPh ₃)(Pyr-COO) ₂].....	49
3.6 Caratterizzazione di κ ² -(N,O)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (Pyr-AMF)]	53
3.7 Caratterizzazione di κ ² -(N,O) [RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (5-HTP)]	61
3.8 Caratterizzazione di κ ² -(N,O)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (asp)]	73
4. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE.....	80
5. PARTE SPERIMENTALE.....	83
Premessa	83
BIBLIOGRAFIA	104

1. INTRODUZIONE

1.1: Attività biologica dei metalli

Il cancro è responsabile della morte di migliaia di persone ogni anno, secondo solo ai decessi dovuti a problemi cardiaci. Il cancro è una malattia genetica originata da mutazioni sporadiche accumulate spontaneamente nei geni nel corso della vita, alcune di queste alterazioni possono condurre al tumore. Le mutazioni sono provocate da esposizione a fattori di rischio e ad errori casuali durante la replicazione del DNA. La presenza di queste alterazioni non determina necessariamente la comparsa del tumore, ma ne aumenta il rischio.

La rapida crescita di casi di cancro a livello mondiale e le diverse limitazioni dei farmaci già conosciuti hanno motivato i ricercatori a indagare su nuove cure. A questo proposito, alcuni complessi metallici possono operare come agenti antitumorali, contro una grande varietà di tipologie di cancro.^{1,2}

La chemioterapia è uno dei principali trattamenti utilizzati per la cura del cancro e utilizza farmaci organici e inorganici. La maggior parte dei farmaci antitumorali approvati dalla FDA (Food and Drug Administration) sono molecole organiche, mentre i metallofarmaci sono molto rari.² I metalli sono ancora poco utilizzati come medicinali, ma possiedono un ruolo cruciale negli esseri viventi in quanto in forma cationica gli ioni metallici elettron-poveri hanno la tendenza ad interagire con molecole biologiche elettron-ricche come le proteine e il DNA. Gli stessi sono coinvolti in molteplici funzioni biologiche essenziali come il trasporto di elettroni e di ossigeno. Siccome la natura ha impiegato in modo estensivo gli ioni metallici nei sistemi biologici, è nato l'interesse da parte dei ricercatori a sviluppare composti di coordinazione potenzialmente impiegabili come agenti antitumorali.³

1.2: complessi metallici come antitumorali, *cis*-platino e meccanismo di azione

L'utilizzo moderno dei complessi di metalli di transizione come agenti chemioterapeutici risale ad una scoperta fortuita di Rosenberg nel 1965.⁴

Rosenberg, studiando l'effetto dei campi elettromagnetici sulla divisione di cellule batteriche di *Escherichia coli* mediante l'utilizzo di elettrodi di platino, scoprì che i

cloro-ammino complessi di Pt(II) impedivano ai batteri di dividersi nonostante questi continuassero a replicarsi. Esistono due complessi neutri planari quadrati di Pt con leganti NH_3 e Cl^- che sono gli isomeri geometrici *cis*-diclorodiamminoplatino (cisplatino) e *trans*-diclorodiamminoplatino (transplatino). Solo il primo è attivo come antitumorale mentre il secondo risulta inefficace a basse concentrazioni e tossico a concentrazioni più elevate.



Figura 1: Struttura del *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ (cisplatino) e del *trans*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ (transplatino)

Nonostante la predisposizione dell'epoca contro i composti metallici come agenti chemioterapici, il cisplatino mostrò un'attività contro diverse tipologie di tumori anche in stadi avanzati. Lo sviluppo clinico del cisplatino fu molto rapido, i test clinici iniziarono nel 1971 e nel 1978 iniziò la vendita del farmaco con il nome commerciale Platinol.⁵

Il cisplatino è stato largamente utilizzato per trattare una varietà di tumori come il carcinoma ovarico, il tumore alla cervicale, i tumori della testa, del collo, del polmone e il cancro ai testicoli.

Il meccanismo d'azione del cisplatino prevede un'attivazione intracellulare dovuta alla solvatazione del complesso con l'uscita di uno dei due gruppi cloruro. Successivamente, il complesso solvatato si lega in modo covalente al DNA costituendo degli addotti e attivando varie vie di trasduzione del segnale, come quelle coinvolte nel riconoscimento e nella riparazione del danno al DNA, nell'arresto del ciclo cellulare e nella morte cellulare programmata.⁶

Sebbene sia chiaro che il cisplatino è un antitumorale molto potente, questo non è esente da effetti collaterali. Gli studi preclinici indicarono che il platino si accumula negli organi escretori e può rimanere nel corpo fino a 4 mesi dopo il trattamento. Il suo uso clinico diffuso è stato ostacolato dalla resistenza intrinseca e dalla comparsa di resistenza acquisita.^{5,7} Inoltre, il cisplatino presenta gravi effetti collaterali come nausea, vomito, soppressione del midollo osseo e tossicità renale. Queste limitazioni hanno avviato la ricerca verso altri composti a base di platino con minore tossicità e con maggiore selettività.

Nel tentativo di affrontare queste carenze, i complessi di Pt(II) di seconda e terza generazione che mantengono un profilo di tossicità più gestibile, sono stati progettati e approvati nel mercato per l'uso clinico.

Ad ora, alcuni tra i complessi di Pt(II) approvati dalla FDA sono il cisplatino, il carboplatino e l'oxaliplatino, questi vengono utilizzati per il trattamento di numerosi tipologie di cancro a livello mondiale, mentre il nedaplatino, il lobaplatino e l'eptaplatino sono approvati per l'uso clinico rispettivamente in Giappone, Cina e Corea.

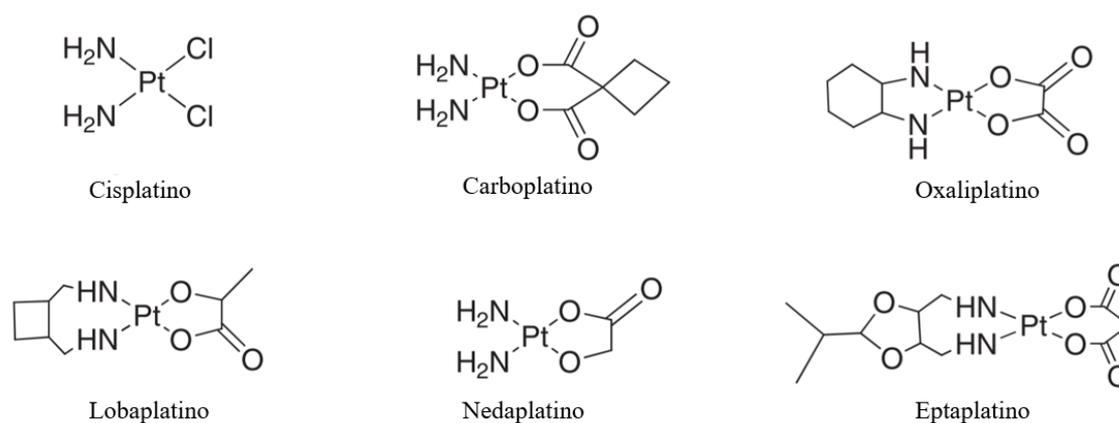


Figura 2: Complessi di Pt(II) approvati per l'uso clinico

Dalla scoperta del cisplatino ad oggi, grazie allo sviluppo di nuovi farmaci a base di platino, è stato ridotto il rischio associato all'assunzione ed è stato ampliato lo spettro di attività antitumorale. Tuttavia, gli effetti collaterali e la resistenza al farmaco rappresentano dei grandi ostacoli per una più ampia applicazione clinica di questi farmaci. Per superare questi problemi, sono stati condotti molti studi su nuovi ioni metallici con diverse caratteristiche strutturali e di reattività.⁸ Altri complessi metallici, in principio, mostrano un'attività anticancerogena ed effetti collaterali tossici significativamente diversi poiché possiedono un comportamento chimico e meccanismi di azione differenti. Tra i vari metalli che sono attualmente oggetto di indagine, il rutenio occupa una posizione di rilievo.⁹

1.3: Rutenio e metalli d⁸, proprietà chimiche

Molti complessi di Ru(II) e di Ru(III) sono considerati dei validi candidati come antitumorali poiché mostrano bassa citossicità e genotossicità in cellule non tumorali e differenti modalità di azione rispetto ai farmaci già conosciuti.

Il rutenio appartiene al gruppo d^8 dei metalli di transizione insieme al ferro e all'osmio, è un metallo nobile e forma complessi con numerosi leganti. Il ferro, omologo inferiore del rutenio, è il metallo di transizione più abbondante negli esseri umani. Le funzioni biologiche più conosciute del ferro riguardano i processi di trasferimento elettronico e l'attivazione dell'ossigeno. Si trova in una grande quantità di biomolecole come emoglobina, mioglobina, transferrina e catalasi. La bassa tossicità dei complessi di rutenio potrebbe essere dovuta alla capacità del metallo a imitare il ferro nella formazione di legami con le biomolecole, in particolare con l'albumina e la transferrina.

Il rutenio è il secondo metallo di transizione meno abbondante dopo il rodio e non si trova nei sistemi biologici, tuttavia, i suoi complessi possiedono delle proprietà chimiche particolarmente rilevanti per l'attività biologica. Gli stati di ossidazione accessibili del rutenio sono compresi tra -2 in $[\text{Ru}(\text{CO})_4]^{2-}$ a $+8$ in RuO_4 , tuttavia, i due stati di ossidazione principali del rutenio in soluzione fisiologica sono $\text{Ru}(\text{II})$ (d^6 , diamagnetico) e $\text{Ru}(\text{III})$ (d^5 , paramagnetico). Anche il $\text{Ru}(\text{IV})$ è possibile, ma richiede la presenza di ossidanti come l'ossigeno o l'acqua ossigenata.^{9,10}

A differenza dei complessi di $\text{Pt}(\text{II})$, che possiedono una geometria planare quadrata, in entrambi gli stati di ossidazione $\text{Ru}(\text{II})$ e $\text{Ru}(\text{III})$ gli ioni di rutenio sono esacoordinati con una geometria ottaedrica. I complessi di rutenio formano dei legami forti con elementi con diverso carattere "hard" ed elettronegatività, in analogia ai composti di $\text{Pt}(\text{II})$, i complessi metallorganici di rutenio hanno cinetiche di scambio dei leganti simili e sono affini ai leganti all'azoto e allo zolfo. I complessi di $\text{Ru}(\text{II})$ sono generalmente più reattivi rispetto ai corrispondenti di $\text{Ru}(\text{III})$ e tendono ad ossidarsi all'aria in assenza di buoni leganti π -accettori. Gli orbitali d parzialmente riempiti consentono la formazione di complessi utili per un'ampia varietà di applicazioni, oltre al campo dei farmaci antitumorali hanno attirato l'attenzione della ricerca anche nella catalisi, nell'elettronica e nella fotochimica.^{9,10}

L'interesse della chimica bioinorganica e medica, rispetto ai complessi di rutenio, è nato quando questi hanno mostrato attività terapeutica su tumori che hanno sviluppato resistenza al cisplatino o verso i quali il cisplatino era inattivo.

I composti di rutenio possiedono molteplici proprietà che li rendono potenzialmente utilizzabili come farmaci in campo medico. In primo luogo, possono esistere in tre stati di ossidazione accessibili in soluzione fisiologica e possiedono cinetiche di scambio di

leganti favorevoli con bassa tossicità.¹¹ Sono degli agenti antitumorali selettivi, in particolare antimetastatici. I complessi di rutenio hanno l'abilità di scambiare elettroni con composti O- e N- donatori e di legarsi agli acidi nucleici interagendo diversamente dal cisplatino. Infine, la geometria ottaedrica permette di disporre i leganti in uno spazio tridimensionale che consente numerose opportunità sintetiche per la regolazione dell'attività biologica.¹²

1.4: Meccanismo di azione dei composti di rutenio

Il DNA è un bersaglio chiave per i farmaci antitumorali perché la sua replicazione rappresenta un processo fondamentale nello sviluppo del cancro. I metalloterapeutici agiscono prevenendo la divisione delle cellule cancerose e innescandone l'apoptosi inducendo danni al DNA e interrompendo il processo di riparazione del DNA.

Il DNA viene danneggiato sia nelle cellule sane che nelle cellule tumorali ma quest'ultime, a causa delle modifiche subite, hanno una possibilità maggiore di morire per apoptosi.¹⁰

La chemioterapia classica di cui fanno parte i metallofarmaci di platino, ancora attualmente in uso, fa riferimento ai farmaci che interferiscono con la replicazione delle cellule tumorali. Storicamente questo era il target principale in quanto la biologia dei tumori, le cause del cancro e il suo meccanismo non erano ancora conosciuti, per cui la strategia consisteva nel danneggiare in modo maggiore le cellule tumorali rispetto a quelle non tumorali. Il maggiore inconveniente della chemioterapia classica è il danno ai tessuti sani, infatti, bloccando il metabolismo delle cellule maligne che si dividono molto velocemente, vengono causati dei danni anche alle cellule sane caratterizzate da una rapida divisione, come follicoli piliferi, midollo osseo e cellule che rivestono il tratto gastrointestinale. Di conseguenza, si hanno i comuni effetti collaterali della chemioterapia come la perdita di capelli, l'anemia, la nausea e il vomito.

La ricerca sui farmaci a base di rutenio si sta allontanando dagli approcci classici per entrare in un sistema non classico e più mirato al fine di ottenere un profilo di tossicità più facilmente gestibile. Al contrario della chemioterapia classica, le terapie mirate si concentrano su vie più specifiche, come i segnali a cui fanno riferimento le cellule tumorali per crescere, la metastasi e l'angiogenesi. Sebbene le terapie mirate siano

ancora agli inizi, gli sforzi della ricerca antitumorale si stanno spostando verso queste ultime.¹³

La diversa attività antitumorale dei complessi di rutenio, rispetto ai metallofarmaci di platino, può essere attribuita all'interazione con il DNA che dipende dalla geometria e dalle caratteristiche elettroniche e steriche del complesso. L'associazione con il DNA può essere di diversi tipi e può essere classificata come coordinativa e non coordinativa, quest'ultima è regolata da interazioni elettrostatiche, riconoscimento molecolare basato su forma e dimensione e legami a idrogeno. In generale, i complessi di platino creano delle lesioni al DNA formando legami di coordinazione e provocando l'apoptosi, mentre i complessi organometallici di rutenio non si limitano a legarsi al DNA in modo coordinativo, ma anche mediante legami a idrogeno e interazioni idrofobiche.¹⁴ Per completezza, è importante riportare che nonostante il DNA sia il bersaglio principale dei metallofarmaci, alcuni complessi di rutenio, come il KP1019 (figura 4), mostrano attività antitumorale agendo sulle proteine del citosol.¹⁵

1.5: Complessi di rutenio approvati per i test clinici

Numerosi complessi di rutenio sono considerati promettenti farmaci antitumorali; almeno quattro di questi sono stati sperimentati in test clinici. I composti antineoplastici sperimentati in test clinici includono specie di Ru(III) e di Ru(II) e sono: NAMI-A, KP109, KP1339 e TLD1433.

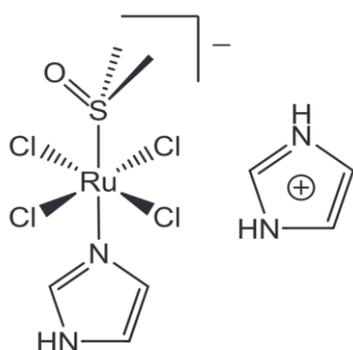


Figura 3: Struttura NAMI-A

Il NAMI-A, $H^+[trans-RuCl_4(DMSO)Im]^-Im$ (figura 3) è un farmaco antitumorale innovativo di Ru(III), scoperto e sviluppato interamente a Trieste, è stato il primo complesso a base di rutenio a superare la sperimentazione di laboratorio e a raggiungere l'indagine clinica sull'uomo. Nel $H^+[trans-RuCl_4(DMSO)Im]^-Im$ (NAMI-A)

il complesso è stabilizzato da un controione imidazolico e il rutenio è coordinato a un legante imidazolo, un DMSO e a quattro ioni cloruro. Ha una buona solubilità in acqua, è attivo contro una grande gamma di tumori e risulta molto meno tossico verso i tessuti sani rispetto al cisplatino. Tuttavia, la sperimentazione ha mostrato un'efficacia limitata che ha impedito un ulteriore sviluppo clinico.

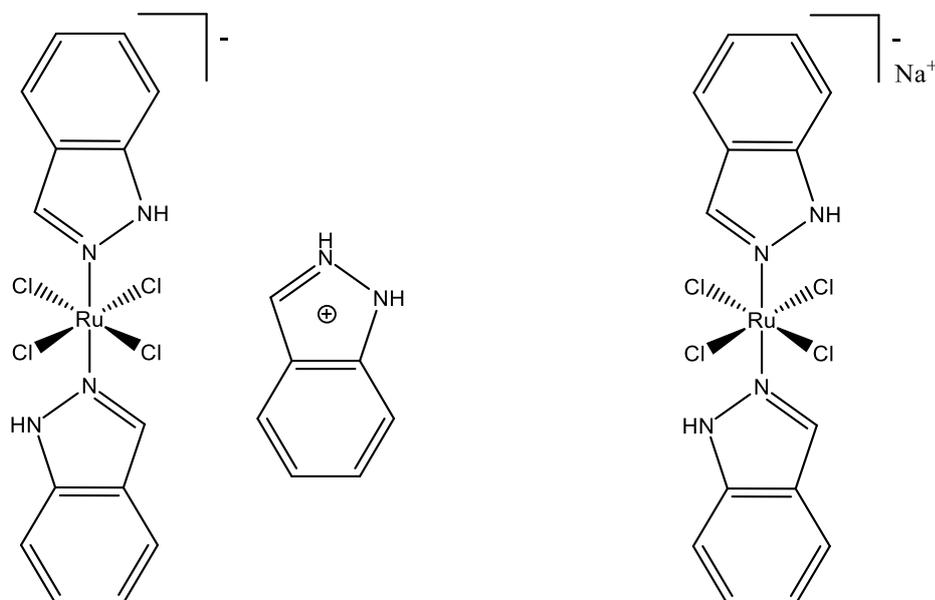


Figura 4: Struttura KP1019 e KP1339

Il secondo metallofarmaco di Ru(III), $\text{H}^+[\text{RuCl}_4(\text{ind})_2]^- \text{Ind}$ (KP1019) (figura 4), non ha superato la sperimentazione a causa della sua bassa solubilità nel liquido fisiologico, ma il sale di sodio più solubile, KP1339 (figura 5), è attualmente in fase di sperimentazione clinica.

Mentre il complesso KP1339 si trova principalmente nel nucleo, il target principale di KP1019 è il citosol. Analisi di spettrometria di massa hanno rivelato che la formazione di addotti ad alto peso molecolare è essenziale per l'effetto terapeutico di questi complessi, suggerendo che la loro tossicità sia dovuta a legami con proteine.¹⁰

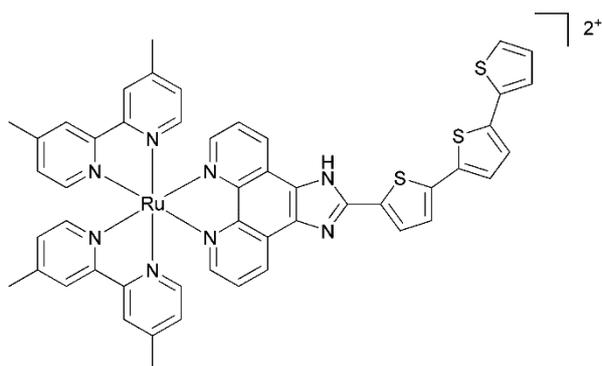


Figura 5: Struttura TLD1433

Il complesso di Ru(II), TLD1433 (figura 5), come il NAMI-A ha superato la prima fase di sperimentazione ma è ancora esaminato nella seconda fase clinica per il trattamento del cancro alla vescica. Si suppone che questo complesso agisca attraverso reazioni di ossido-riduzione con l'organismo promuovendo l'apoptosi della cellula.¹⁶

Ad ora, solo due composti di rutenio rimangono in considerazione per i test clinici: KP1339 e TLD1433. Sono necessarie indagini approfondite per modificare la struttura dei complessi e migliorarne l'efficacia. Lo sviluppo di nuovi farmaci è una grande sfida, il 95% degli antitumorali, entrati nella sperimentazione clinica, hanno fallito a fronte del 90% nelle altre aree terapeutiche. Detto ciò, è auspicabile che la terapia derivata dal rutenio entri nel mercato come supporto ai chemioterapici a base di platino.¹⁶

1.6: Struttura, chelazione e ricaduta sull'attività biologica

I complessi a base di rutenio mostrano un'alta selettività verso le cellule tumorali e questa può essere incrementata in base alla scelta dei leganti. Inoltre, i leganti giocano un ruolo chiave anche nell'attività antitumorale e nel meccanismo di azione dei composti di rutenio.

Anche piccole variazioni della struttura possono influenzare significativamente l'attività biologica, la maggior parte degli studi sono incentrati su complessi di Ru(II) ciclometallati, chelanti N,N-, chelanti O,O- e chelanti N,O-.

Complessi ciclometallati

I leganti che portano alla formazione di complessi ciclometallati sono comunemente N- e C- donatori. Nei composti ciclometallati di rutenio la distanza di legame tra metallo e legante è significativamente più corta nel legame Ru-C rispetto al legame Ru-N. La ciclometallazione può ridurre la carica di valenza dei complessi di Ru(II),

quindi i complessi ciclometallati risultano più lipofili e l'assorbimento cellulare viene favorito.^{2,17}

La maggior parte dei complessi di rutenio approvati per i test clinici sono caratterizzati da legami deboli tra i leganti e il centro metallico, mentre i complessi ciclorutenati formano legami forti e risultano particolarmente stabili nei sistemi biologici.¹⁸

I complessi ciclorutenati testati in vitro interagiscono con il DNA e lo danneggiano inducendo un meccanismo di apoptosi differente da quello dei complessi di platino, ma con minore neurotossicità.

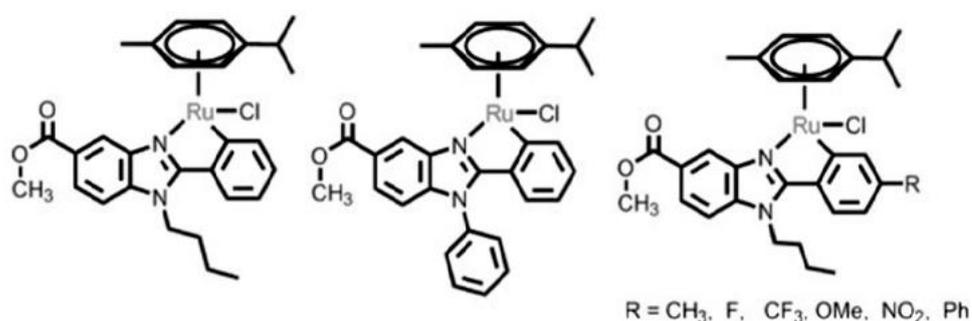


Figura 6: Esempi di complessi di Ru ciclometallati che mostrano attività antitumorale²

Chelanti N,N-

I leganti chelanti N,N- più comuni nei complessi di Ru(II) includono diammine alifatiche, diammine aromatiche, e derivati della piridina. L'etilendiammina è uno dei leganti chelanti maggiormente usati in complessi Ru-arene, in cui i leganti all'azoto sono σ -donatori. Un esempio è il complesso $[(\eta^6\text{-arene})\text{Ru}(\text{en})\text{Cl}]^+$ (figura 7), questo è stabile, solubile in H₂O e mostra proprietà antitumorali sia in vitro che in vivo. La variazione del gruppo uscente, dell'agente chelante N,N- o dell'anello aromatico può indurre un effetto significativo sull'attività chimica e biologica, infatti, i gruppi NH₂ diamminici, l'arene idrofobico e i gruppi uscenti Cl⁻ hanno un ruolo importante nell'interazione degli acidi nucleici con i complessi di Ru(II).²

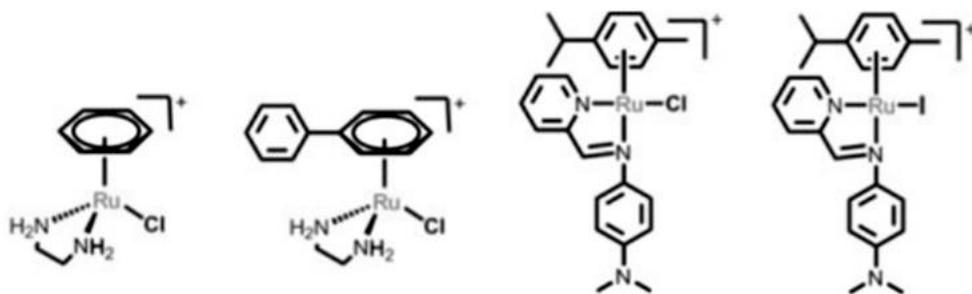


Figura 7: Esempi di complessi di rutenio con chelanti N,N- che mostrano attività antitumorale ²

Chelanti N,O-

Amminoacidi e leganti β -chetoamminici sono comuni chelanti N,O-. I leganti β -chetoamminici possono essere facilmente modificati per variare le caratteristiche steriche ed elettroniche del centro metallico. Alcuni complessi con chelanti N,O- hanno mostrato rilevanti proprietà anticancerogene in vitro (figura 8).¹⁹

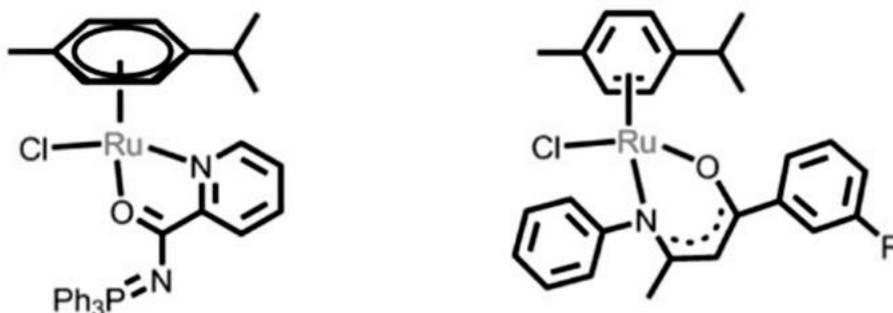


Figura 8: Esempi di complessi di rutenio con chelanti N,O- che mostrano attività antitumorale ²

Chelanti O,O-

I chelanti O,O- più comuni sono β -dichetonati e derivati del pirone (anello a sei termini contenente un atomo di ossigeno e un gruppo funzionale chetonico). Secondo recenti studi in vitro, i complessi Ru(II) con chelanti O,O- possono agire come antitumorali con effetti collaterali modesti (figura 9).²⁰

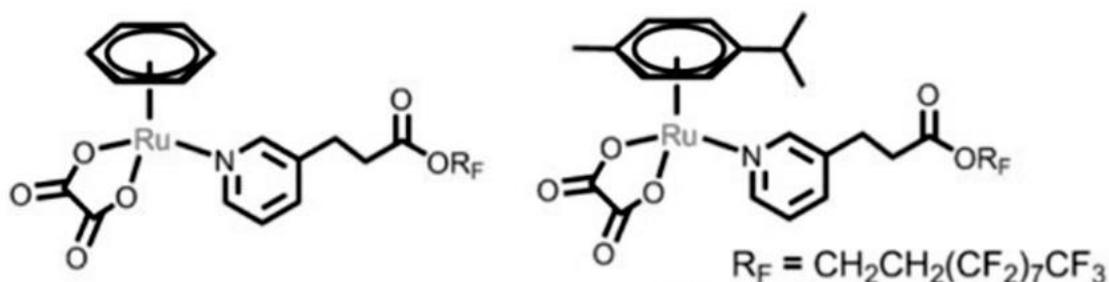


Figura 9: Esempi di complessi di rutenio con chelanti O,O- che mostrano attività antitumorale ²

1.8 Scelta dei leganti: acido pirrolo 2-carbossilico

Al fine di ottenere complessi di Rutenio con chelanti bioattivi, uno dei leganti che è stato utilizzato in questo studio è l'acido pirrolo 2-carbossilico (figura 10).

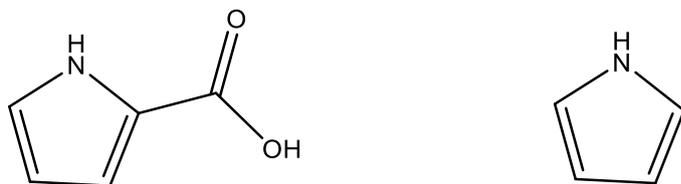


Figura 10: Strutture dell'acido pirrolo 2-carbossilico e del pirrolo

L'acido pirrolo 2-carbossilico ha la struttura di un pirrolo con un sostituito carbossilico in posizione 2 che è stato sfruttato per la coordinazione con il centro metallico di Ru(II).

La scelta di questo legante è stata dettata dall'importanza del pirrolo in biologia, infatti, costituisce una parte fondamentale della struttura della clorofilla, eme e vitamina B12, tutte basate su una struttura porfirinica tetrapirrolica. Gli eterocicli all'azoto hanno ricevuto un'attenzione considerevole grazie alle loro importanti proprietà biologiche e al loro ruolo di farmacofori.

Il pirrolo (figura 10) presenta una struttura pentagonale planare con l'azoto e i carboni ibridati sp^2 ed è una base debole perché la sua protonazione determina la perdita dell'aromaticità. I momenti dipolari del composto contribuiscono alla stabilità della molecola, infatti, una differenza di dipolo troppo marcata sull'eteroatomo determinerebbe una minore capacità di delocalizzare la carica negativa nell'anello rendendolo più instabile. Nel pirrolo l'atomo di azoto è formalmente positivo in 4 su 5

delle strutture di risonanza principali, questo determina un momento di dipolo rivolto verso l'anello che ne aumenta il carattere aromatico.²¹

L'acido pirrolo 2-carbossilico isolato non mostra attività antitumorale, ma il pirrolo come subunità si trova all'interno di diversi composti bioattivi, compresi alcuni agenti antitumorali (figura 11).²²

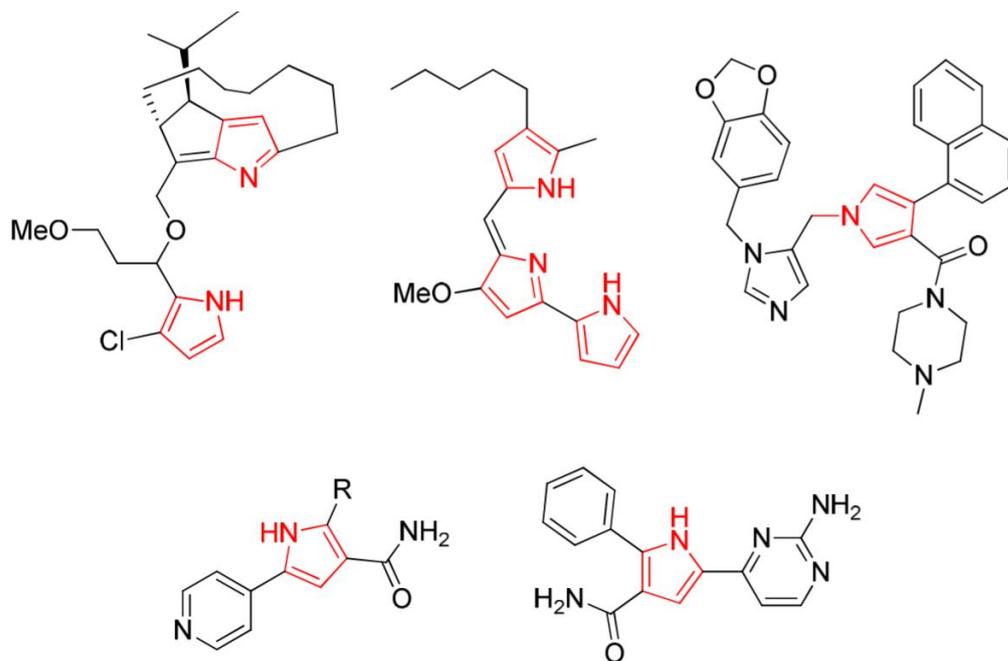


Figura 11: Esempi di composti contenenti subunità di pirrolo che mostrano attività antitumorale²³

In molti lavori riportati in letteratura sono stati studiati derivati del pirrolo coordinati a complessi di rutenio in quanto le molecole biologicamente attive possono incrementare o modificare la loro attività biologica in seguito alla coordinazione ad un metallo.²⁴ Ad esempio, derivati chetonici del pirrolo multidentati, come il 2-(2'-metossibenzoil) pirrolo, si possono coordinare chelando il metallo in modo N,O- (figura 12).²⁵

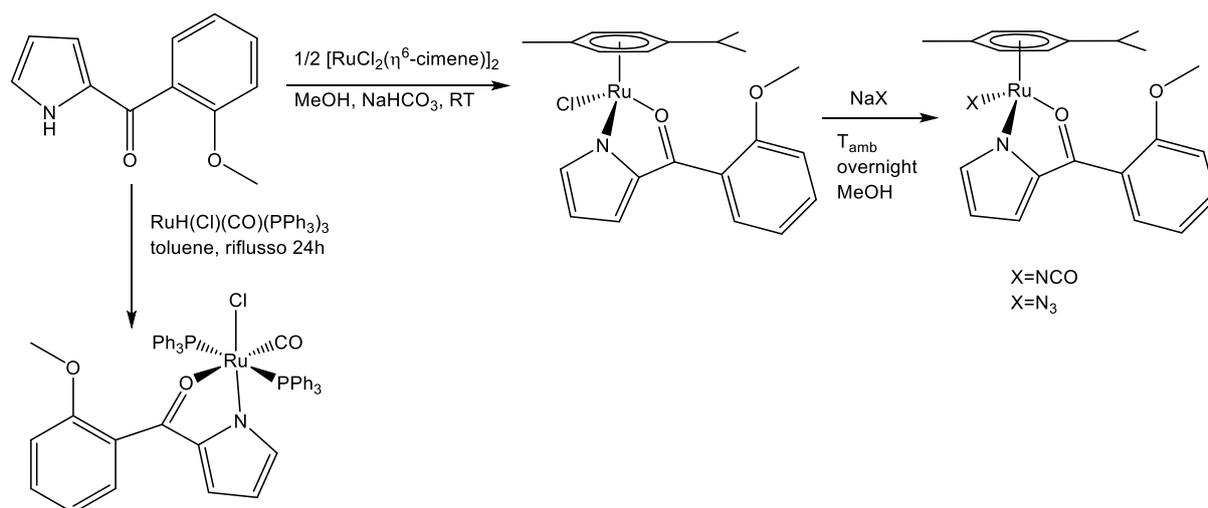


Figura 12: Chelazione di 2-(2'-metossibenzoil)pirrolo a complessi di rutenio²⁵

Nella figura 12 il derivato del pirrolo usato per chelare il metallo è un chetone, nel caso dell'acido pirrolo 2-carbossilico utilizzato in questo lavoro di tesi la coordinazione N,O- risulta meno favorita rispetto alla coordinazione monodentata O- oppure bidentata O,O- del gruppo carbossilico del legante. Questo comportamento si ritrova in diversi complessi contenenti gruppi carbossilato del tipo $\text{Ru}(\text{CO})(\text{RCOO})(\mu\text{-O},\text{O}'\text{-RCOO})(\text{PPh}_3)_2$ ($\text{R}=\text{Me}$, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{Cl}$, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$, CF_3 , C_2F_5 , C_6F_5).²⁶ In questi complessi si osserva un rapido scambio tra la coordinazione monodentata e bidentata che determina segnali allargati negli spettri ^1H NMR.

1.9 Scelta dei leganti: Base di Schiff

Alcuni complessi di rutenio, in seguito alla coordinazione di immine, hanno mostrato l'inibizione della replicazione del DNA, l'intervento nei meccanismi di riparazione e la formazione di legami con il DNA nucleare.¹⁰

In questo lavoro è stata sintetizzata un'immina contenente un'unità pirrolica (figura 13) ed è stata studiata la sua coordinazione con un complesso di Ru(II).

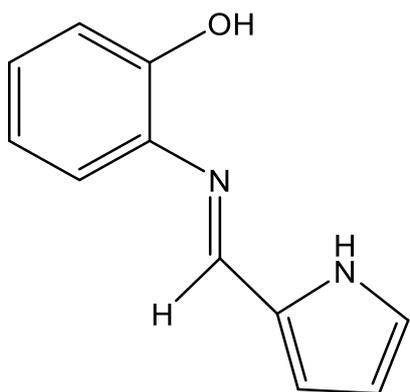


Figura 13: Struttura dell'immina indagata

La coordinazione della base di Schiff in Figura 13 ad un complesso di Ru(III) è stata studiata da R.V. Jagadeesh et al.²⁷. Dalla reazione della base di Schiff con $[\text{RuCl}_3(\text{PPh}_3)_3]$ si ottiene un complesso trischelato (figura 14) in cui tutti e 3 gli eteroatomi del legante vengono coordinati al centro metallico. Il legante N,N,O-donatore risulta globalmente dianionico.

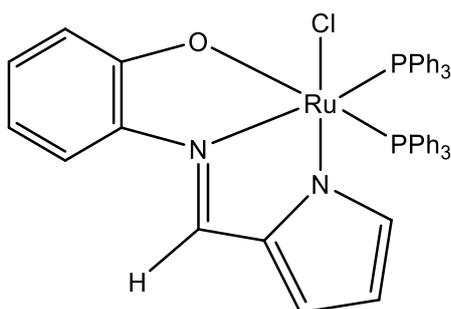


Figura 14: Struttura di $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2\text{Im}]^{27}$

1.10 Scelta dei leganti: 5-idrossi-L-triptofano

In questo lavoro sono state studiate la coordinazione e la struttura di complessi di rutenio che coordinano il 5-HTP (5-idrossi-L-triptofano). Il 5-HTP (figura 15) è un derivato amminoacidico ottenuto a partire dal triptofano. Il 5-HTP è il precursore della serotonina che è un neurotrasmettitore di vitale importanza per il benessere dell'intero organismo.

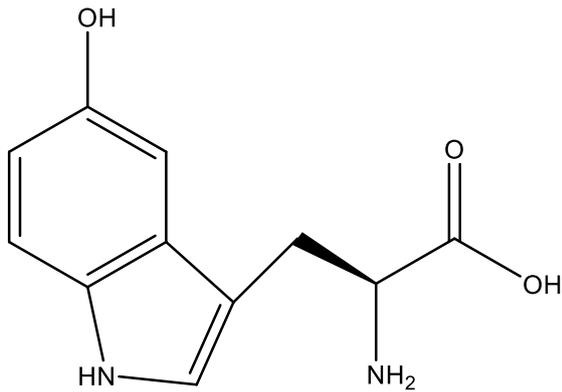


Figura 15: Struttura del 5-idrossi-L-triptofano

La via di sintesi della serotonina prevede due step enzimatici. Il triptofano viene convertito prima in 5-HTP tramite l'enzima triptofano idrolasi e poi decarbossilato grazie all'attività dell'enzima 5-HTP decarbossilasi.²⁸ La sintesi della serotonina appare limitata dalla quantità di triptofano disponibile nel fluido extracellulare in cui i neuroni sono immersi. La fonte del triptofano cerebrale è il sangue, e la fonte del triptofano nel circolo sanguigno è la dieta (alimenti particolarmente ricchi di triptofano sono cereali, latticini, carne e cioccolato).

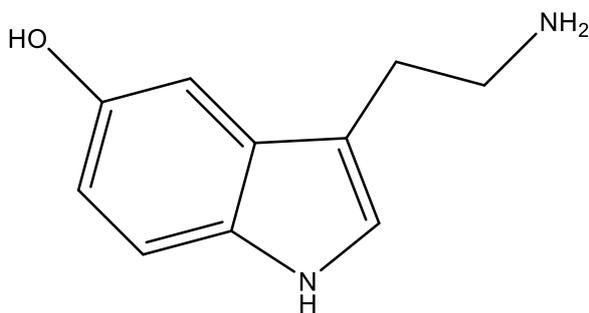


Figura 16: Struttura della 5-idrossitriptamina

La serotonina (5-idrossitriptamina) è coinvolta in numerose funzioni biologiche: pregiudica l'umore, l'appetito, i cicli del sonno e la percezione del dolore. Bassi livelli di 5-HTP nel corpo sono associati a numerose disfunzioni del sonno, memoria e della digestione. La serotonina gioca un ruolo molto importante nel sistema immunitario e condivide una forte relazione con casi patologici di tumori stimolando la migrazione delle cellule tumorali, la disseminazione delle metastasi, l'angiogenesi e prevenendo la morte cellulare.^{28,29} La serotonina agisce direttamente sul tumore per cui può modificare l'efficienza del trattamento. Le conoscenze attuali suggeriscono che i farmaci che inibiscono la serotonina possono essere clinicamente utili, ma questa

teoria deve ancora essere confermata.²⁹ L'integrazione del 5-HTP aumenta il livello della serotonina nel cervello e nel sistema nervoso centrale per cui non risulta adatto al trattamento antitumorale, ma composti organometallici di rutenio con derivati del 5-idrossi-indolo sono stati studiati per investigare la loro potenziale attività come farmaci per il trattamento dell'obesità.²⁴

L'obesità è un grande problema della salute pubblica perché è associata al diabete di tipo II, ai disordini cardiovascolari e ad alcune forme di cancro. Questa è causata da un incremento del tessuto adiposo nell'organismo a causa di fattori genetici o come risultato di fattori ambientali e abitudini culturali. L'adipogenesi è il processo mediante il quale gli adipociti (cellule cariche di grasso) si sviluppano e si accumulano in vari siti del corpo, questa può essere controllata grazie all'utilizzo di farmaci che regolano la crescita del tessuto adiposo. La serotina è la responsabile della sensazione di sazietà, alcuni studi sui suoi precursori (triptofano e 5-HTP) hanno mostrato una significativa riduzione dell'assunzione di cibo in animali di laboratorio come risposta all'aumento del livello di serotonina.³⁰ Inoltre, in alcuni test clinici è stato dimostrato che l'integrazione di 5-HTP diminuisce l'assunzione di carboidrati e grassi promuovendo la perdita di peso in adulti obesi.³¹ Il 5-HTP è studiato anche per il trattamento di depressione, ansia, attacchi di panico e disordini del sonno perché attraversa facilmente la barriera emato-encefalica, può entrare nel sistema nervoso senza l'ausilio di un carrier e svolgere un ruolo significativo in diversi disturbi mentali.³²

Il 5-HTP è potenzialmente un ottimo legante per complessi metallorganici, ma in questo campo è stato studiato ancora molto poco. Risulta interessante indagare l'attività biologica di complessi di Ru(II) con l'idrossitriptofano per verificare se risulta migliorata o variata in seguito alla coordinazione ad un centro metallico.

Complessi organometallici di Ru(II) con derivati del 5-idrossi-indolo sono stati sintetizzati per il trattamento con $[(\eta^6\text{-Cy})\text{Ru}(\text{acetone})_3](\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ in CF_3COOH , inoltre sono stati caratterizzati strutturalmente ed è stata studiata la loro solubilità.³³ In queste condizioni, si osserva una coordinazione η^6 al centro metallico con l'anello a sei membri aromatico dell'indolo (figura 17).

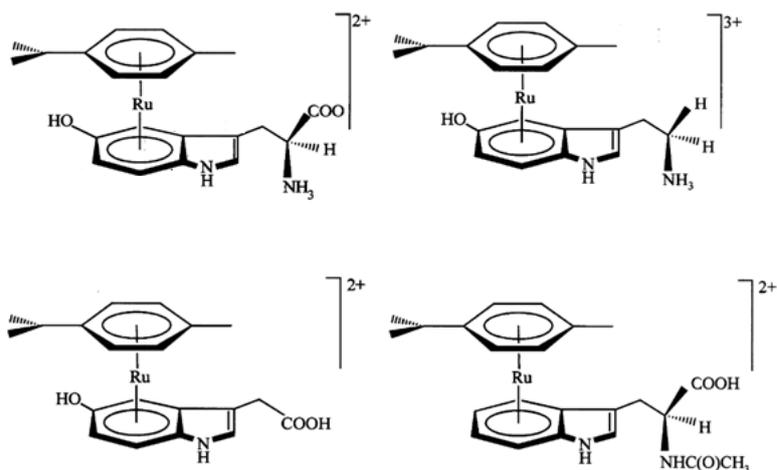


Figura 17: Esempi di coordinazione di derivati del 5-idrossi-3-indolo con ioni di Ru(II)³³

È stata studiata la coordinazione del 5-HTP con gli ioni Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} . In questi si osserva una coordinazione monodentata del gruppo carbossilico del 5-HTP con il centro metallico (figura 18). Studi ai raggi X della struttura cristallina hanno determinato la presenza di un legame a idrogeno intramolecolare $\text{NH}\cdots\text{O}_2$ che stabilizza i composti di coordinazione. Alcuni di questi complessi hanno mostrato attività come agenti per il trattamento dell'obesità.²⁴

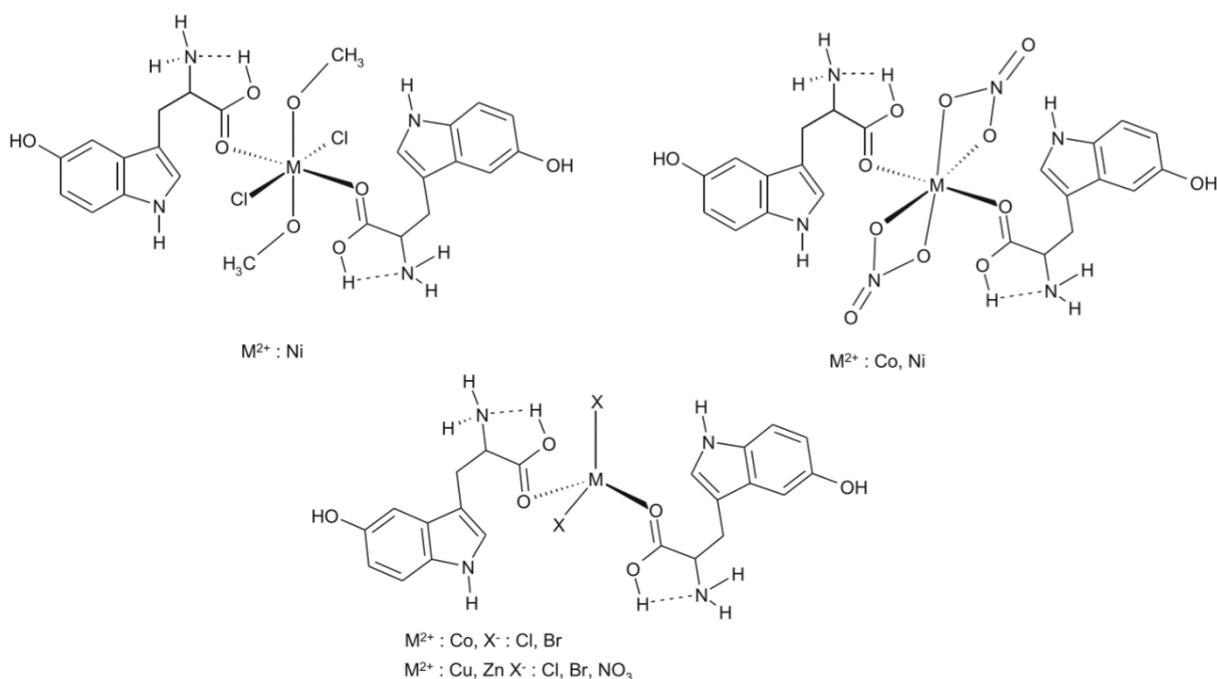


Figura 18: Coordinazione del 5-HTP con gli ioni Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} ²⁴

1.11 Scelta dei leganti: L-Asparagina

I complessi di rutenio con leganti amminoacidici hanno mostrato un grande potenziale come agenti antitumorali, ma sono necessari ulteriori studi per capire il loro meccanismo di azione.³⁴ La L-asparagina è un amminoacido non essenziale e si trova in molti peptidi e proteine. In questo studio è stata coordinata la L-asparagina ad un complesso di Ru(II) ed è stata indagata la struttura.

Alcuni complessi di Ru(II) con leganti amminoacidici sono stati studiati e riportati in letteratura.^{34,35} Almeida M.A.P. et al. hanno indagato l'attività di complessi con formula chimica $[Ru(AA)(bipy)(dppb)]PF_6$ in cui AA= metionina, glicina, leucina, acido aspartico o alanina; bipy= 2,2'-bipiridina; e dppb=[1,4-bis(difenilfosfina)butano] (figura 19). Gli amminoacidi si coordinano al centro metallico con il carbossilato e il gruppo amminico. Un aspetto particolarmente interessante mostrato dagli spettri ^{31}P NMR e dalla diffrazione ai raggi X è che tutti i complessi, a parte il complesso con la glicina, formano due diastereoisomeri. I complessi $[Ru(AA)(bipy)(dppb)]PF_6$ sono stabili in soluzione fisiologica e il loro meccanismo di azione contro le cellule tumorali potrebbe essere dovuto a interazioni deboli con il DNA, probabilmente a legami a idrogeno.³⁴

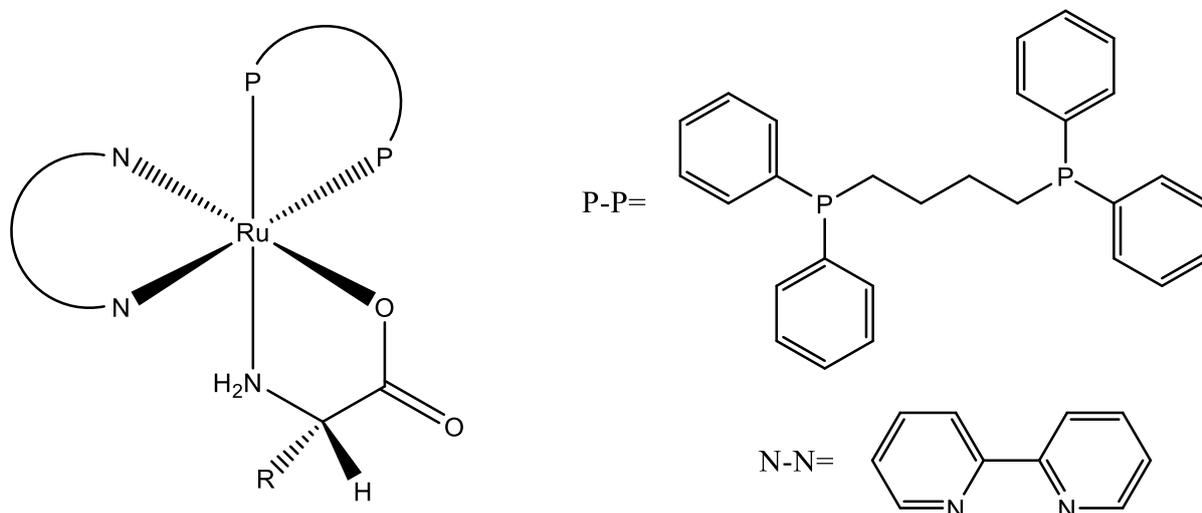


Figura 19: Struttura di $[Ru(AA)(bipy)(dppb)]PF_6$ ³⁴

2. SCOPO DELLA TESI

Alla luce delle premesse esposte, la presente Tesi sperimentale si pone come obiettivo la progettazione, la sintesi e la caratterizzazione di nuovi complessi organometallici di rutenio potenzialmente attivi come farmaci, basati sulla coordinazione di molecole biologicamente attive al centro metallico.

Inizialmente è stato sintetizzato il complesso di rutenio $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ secondo le indicazioni di sintesi pubblicata³⁶ (Grushin, 2013) con alcune modificazioni riguardo la precipitazione per ottenere un miglioramento della resa selettiva nel prodotto desiderato. Sono state quindi studiate le reazioni con leganti biocompatibili bidentati eteroatomici del tipo N,O- e O,O- per ottenere composti stabili e solubili in solventi polari.

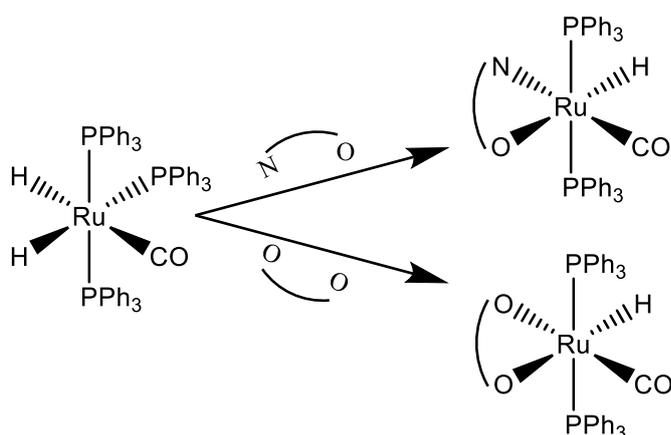


Figura 20: Struttura dei complessi $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$, $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{L})]$ e $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{L})]$

La scelta dei leganti nei complessi $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{L})]$, $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{L})]$ è stata effettuata in base alle proprietà elettroniche e steriche delle trifenilfosfine, del CO, dell'idruro e dei leganti bidentati biocompatibili. I leganti organici utilizzati, brevemente trattati nell'introduzione, sono: acido pirrolo 2-carbossilico, 2-[(H-pirrolo-2-il)metilene]amminofenolo, 5-idrossi-L-triptofano e L-asparagina.

Successivamente, sono state ricercate le condizioni adatte per la coordinazione di 2 equivalenti di acido pirrolo 2-carbossilico al centro metallico di rutenio. A partire dal precursore $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ sono state effettuate sia reazioni successive con

l'acido pirrolo 2-carbossilico sia attraverso la sintesi "one-pot" utilizzando un eccesso di reagente organico.

I prodotti ottenuti sono stati caratterizzati con le consuete tecniche spettroscopiche e di indagine strutturale: ESI-MS, IR, NMR multinucleare e con tecniche eterocorrelate bidimensionali.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

In seguito, verranno utilizzate le seguenti abbreviazioni:

Categoria	Nome	Abbreviazione
R	Acido pirrolo 2-carbossilico	Pyr-2COO
R	5-idrossi-L-triptofano	5-HTP
R	2-[(H-pirrolo-2-il)metilene]amminofenolo	Pyr-AMF
R	L-Asparagina	asp
R	Trifenilfosfina	PPh ₃
S	Ciclopentilmetiletere	CPME
S	1,2-Dimetossietano	1,2-DME
T	Spettroscopia infrarossa	IR
T	Spettroscopia in riflettanza totale attenuata	FTIR-ATR
T	Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (Protone, Carbonio, Fosforo)	¹ H NMR, ¹³ C{ ¹ H} NMR, ³¹ P{ ¹ H} NMR
T	Spettroscopia di massa	ESI-MS
	Sorgente energetica a microonde	MW

Tabella 1: Abbreviazioni utilizzate

Legenda: R= reagente, S=solvente, T=tecnica di caratterizzazione.

3.1 Caratterizzazione di [Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]

Il composto [Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃] è molto comune nella chimica metallorganica in quanto viene utilizzato come catalizzatore omogeneo per diverse trasformazioni. Il metodo di preparazione più noto e diffuso prevede un forte eccesso di formaldeide altamente tossica e grandi volumi di solvente. Qui è stata utilizzata un'alternativa di

sintesi “one-pot” più green che utilizza sia come solvente che come fonte di CO l’etanolo.

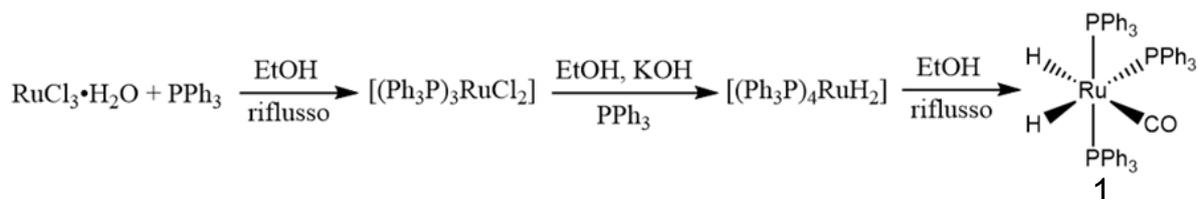


Figura 21: Intermedi coinvolti nella sintesi

Nel primo step della reazione in figura 21, il Ru(III) viene ridotto a Ru(II) per riscaldamento in etanolo in presenza di PPh₃ (trifenilfosfina). In questa riduzione sia la PPh₃ che l’etanolo possono agire come riducenti. È difficile definire qual è l’agente riducente o se agiscono entrambe le specie perché non si conosce la stechiometria esatta della reazione, in quanto RuCl₃·xH₂O è una miscela non stechiometrica di specie di rutenio che viene chiamata “tricloruro” perché il rapporto Cl:Ru è di circa 3:1 ma può contenere anche Ru(IV). È ragionevole pensare che la fosfina partecipi alla riduzione perché al termine della reazione rimane una certa quantità di PPh₃O (ossido di trifenilfosfina) nelle acque madri.

Successivamente, è necessario aggiungere 3 equivalenti di KOH per convertire tutto il cloruro nel sistema a KCl. L’aggiunta di KOH deve essere effettuata a temperatura ambiente per evitare la formazione di sottoprodotti. Infine, l’etanolo partecipa alla reazione attraverso un’addizione ossidativa sul metallo, seguita da un’α-migrazione dell’idruro sul rutenio, formando così il legame Ru–CO con rilascio di CH₄ e di H₂.

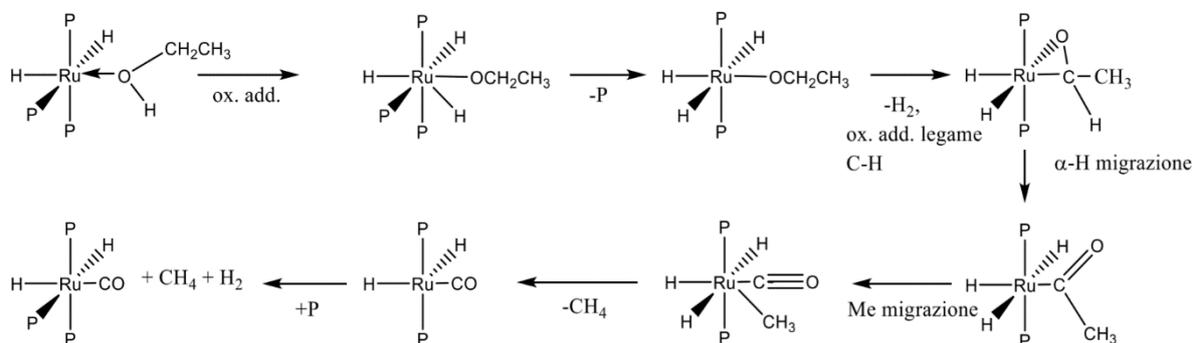


Figura 22: Meccanismo di formazione di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$

Le analisi IR e NMR del complesso **1** risultano particolarmente interessanti perché la sintesi ha tre possibili stereoisomeri come prodotti, senza considerare gli enantiomeri. Lo studio dello spettro IR e dei segnali ^1H NMR permettono di identificare l'isomero.

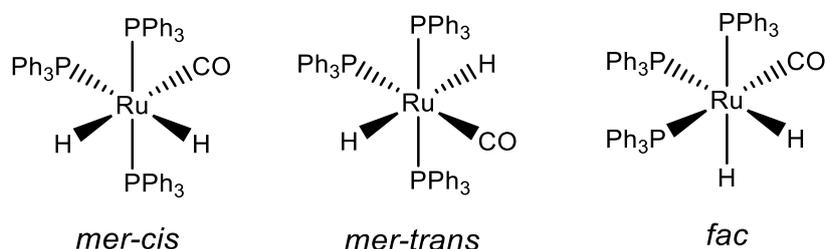


Figura 23: Tre possibili isomeri di $[\text{Ru}(\text{CO})(\text{H})_2(\text{PPh}_3)_3]$

Nello spettro IR il picco dello stretching del carbonile a 1939 cm^{-1} è molto intenso e si sovrappone parzialmente al segnale Ru–H (simmetrico e antisimmetrico) che risulta comunque visibile (figura 24).

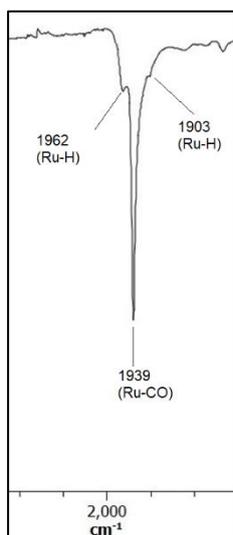


Figura 24: Ingrandimento banda carbonilica spettro FTIR complesso **1**, valori in cm^{-1} , ordinata in %T

Per ognuno dei 3 isomeri sono possibili due vibrazioni di stretching Ru–H, ma nel caso dell'isomero *trans* lo stretching simmetrico risulta IR inattivo perché non determina una variazione del dipolo nella molecola. Sono visibili due picchi Ru–H per cui si può escludere l'isomero *trans*, mentre sia l'isomero *mer-cis* che l'isomero *fac* possono essere entrambi responsabili dello spettro osservato.

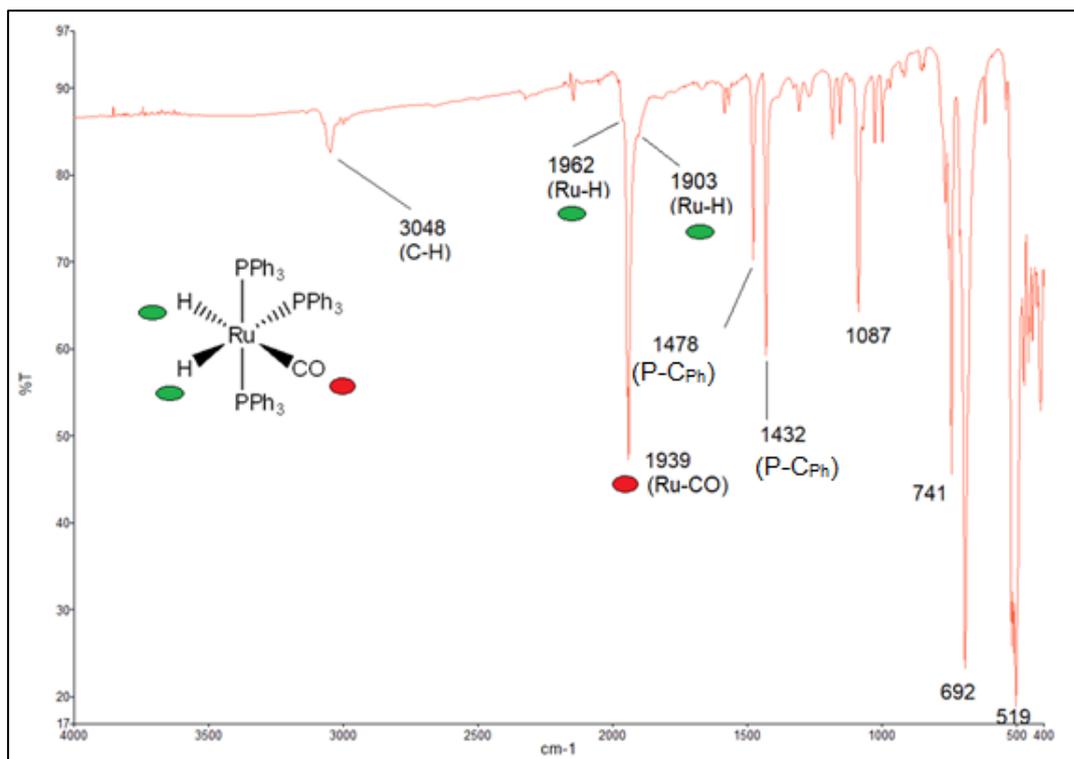


Figura 25: Spettro ATR complesso $[\text{Ru}(\text{CO})(\text{H})_2(\text{PPh}_3)_3]$, valori in cm^{-1}

Nello spettro ^1H NMR oltre ai due idruri del complesso, si può osservare un tripletto a $-4,47$ ppm. Questo è probabilmente dovuto al sottoprodotto $[\text{RuH}_2(\text{CO})_2(\text{PPh}_3)_2]$.

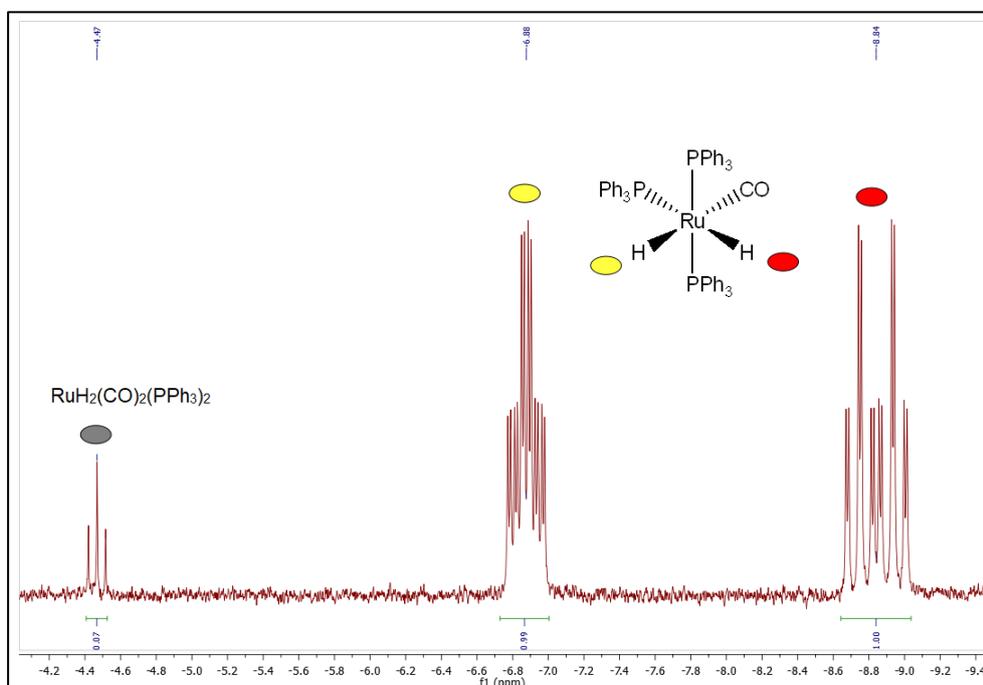
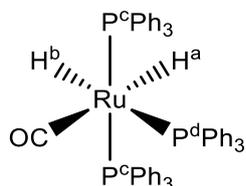


Figura 26: ^1H NMR segnali idruri complesso 1

L'isomero *mer-cis* ha gli idruri in due differenti intorni chimici, mentre l'isomero *fac* ne possiede solo uno. Quindi, l'isomero che è stato sintetizzato è l'isomero *mer-cis*. I due segnali idrurici a $-8,83$ e a $-6,87$ ppm sono rispettivamente un doppietto di tripletti di doppietti (dtd) e un tripetto di doppietti di doppietti (tdd). Le costanti di accoppiamento sono riportate nella tabella 2.



H ^a	H ^b
${}^2J_{\text{trans}}(\text{H}^a\text{P}^d) = 74,1 \text{ Hz}$	${}^2J_{\text{cis}}(\text{H}^b\text{P}^c) = 30,5 \text{ Hz}$
${}^2J_{\text{cis}}(\text{H}^a\text{P}^c) = 28,3 \text{ Hz}$	${}^2J_{\text{cis}}(\text{H}^b\text{P}^d) = 15,1 \text{ Hz}$
${}^2J_{\text{cis}}(\text{H}^a\text{H}^b) = 6,4 \text{ Hz}$	${}^2J_{\text{cis}}(\text{H}^a\text{H}^b) = 6,4 \text{ Hz}$

Tabella 2: Costanti di accoppiamento complesso 1

Nello spettro ${}^{31}\text{P}$ NMR disaccoppiato al protone si possono osservare due segnali: il complesso 1 ha due intorni chimici del fosforo, uno con 1 P e uno con 2 P (figura 27). I segnali risultano allargati e non è possibile distinguere la molteplicità, ma l'integrazione e il numero di segnali corrisponde alle aspettative.

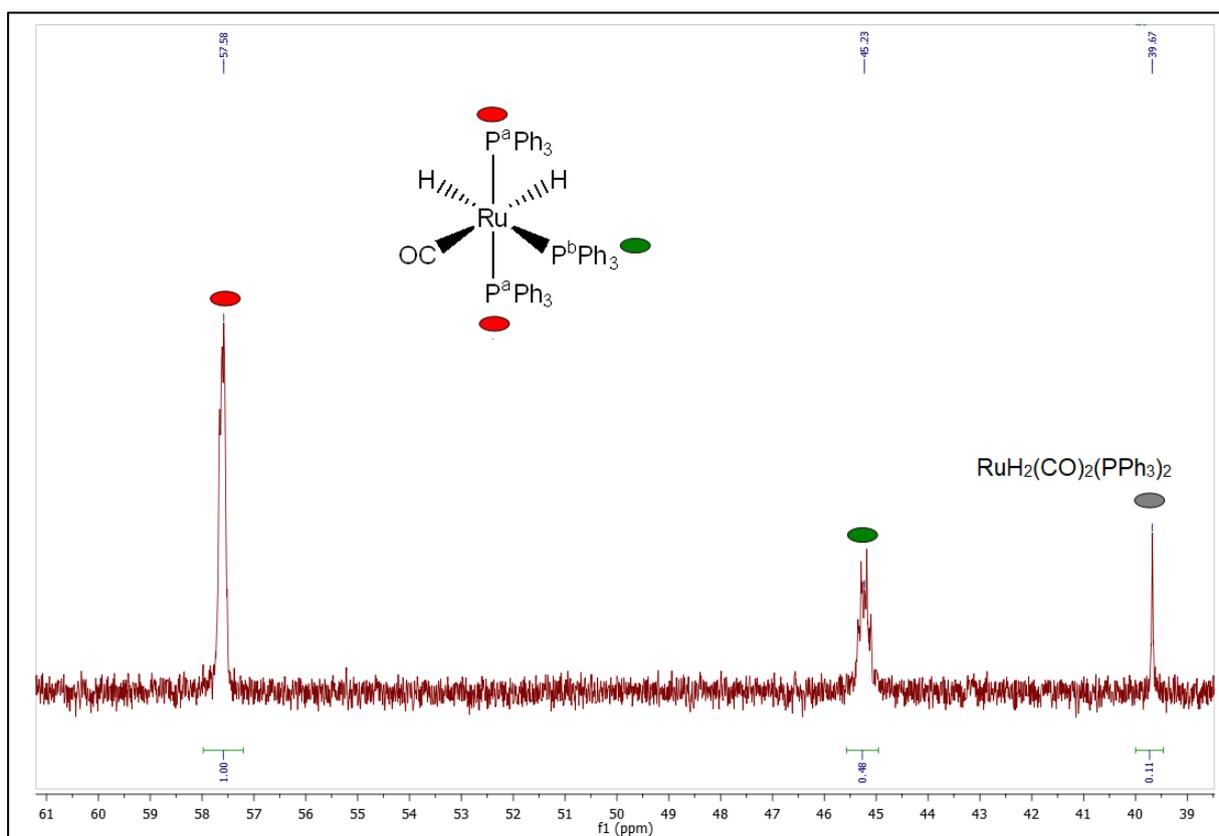


Figura 27: Spettro ${}^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR complesso 1

Anche nello spettro ${}^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR si osserva il complesso $\text{RuH}_2(\text{CO})_2(\text{PPh}_3)_2$. Questa impurezza viene rimossa con una filtrazione su allumina con eluizione del prodotto con

diclorometano. Come si può osservare nella figura 28 non è più presente il tripletto a $-4,47$ ppm. Questa purificazione non risulta necessaria in quanto il complesso $[\text{RuH}_2(\text{CO})_2(\text{PPh}_3)_2]$ risulta poco reattivo e non reagisce con i composti organici utilizzati nelle sintesi successive.

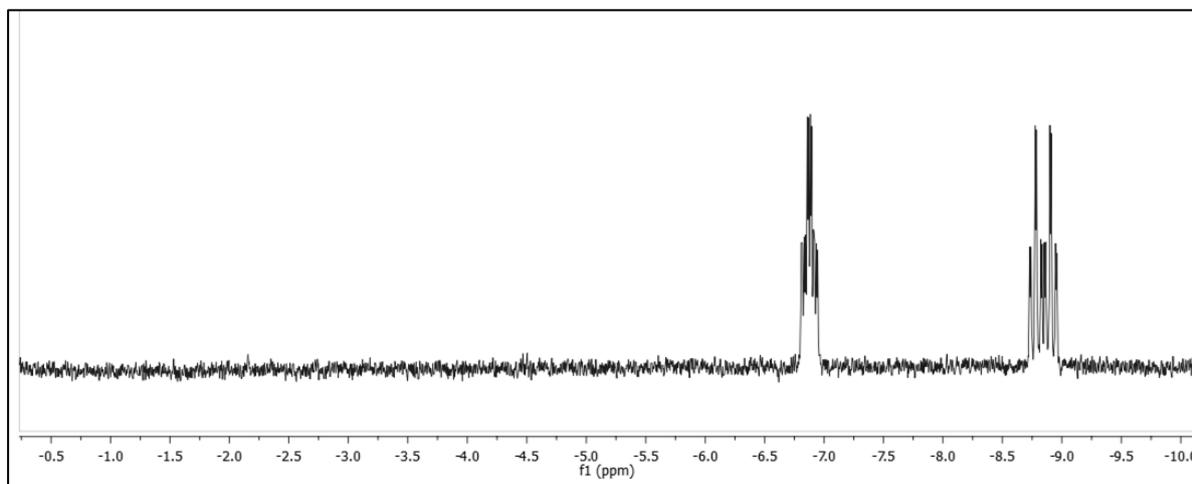


Figura 28: Complesso 1 purificato con filtrazione su allumina

3.2 Caratterizzazione di $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{Pyr-2COO})]$

Sono stati sintetizzati complessi di Ru(II) per reazione di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ con l'acido pirrolo 2-carbossilico.

Le due costanti di dissociazione dell'acido pirrolo 2-carbossilico sono $\text{pK}_1=4.38$ e $\text{pK}_2=12.52$ a 298K. L'anello pirrolico non possiede un carattere basico perché la protonazione dell'azoto determina la perdita dell'aromaticità.

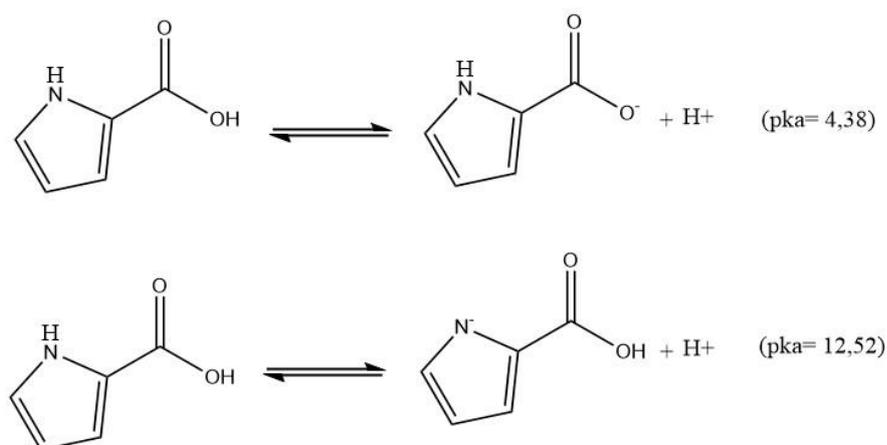


Figura 29: Costanti di dissociazione acida dell'acido pirrolo 2-carbossilico

Tutti e 3 gli eteroatomi dell'acido pirrolo 2-carbossilico possono coordinarsi al rutenio per cui, tenendo in considerazione la regola dei 18 elettroni, i prodotti metallorganici stabili che si possono ottenere sono due (figura 30).

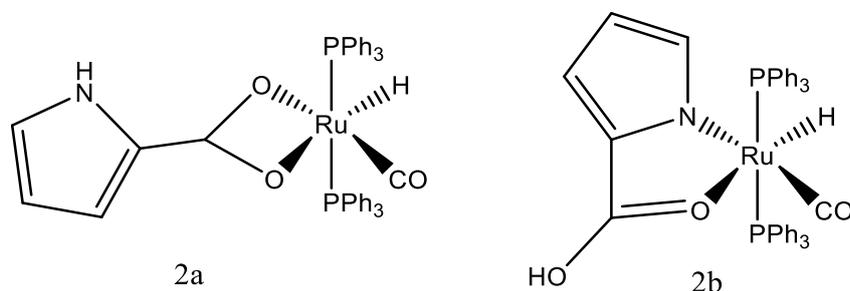


Figura 30: Possibili coordinazioni dell'acido pirrolo 2-carbossilico

La struttura **2a** è caratterizzata da un legame O,O- e la struttura **2b** da un legame eteroleptico N,O-. In entrambe le strutture la driving force della reazione può essere attribuita alla perdita di idrogeno molecolare per reazione tra il protone carbossilico o dell'N-H pirrolico con l'idruro coordinato al metallo. Nel caso del legame eteroleptico si verrebbe a formare un metallaciclo stabile a 5 membri, mentre nel caso del chelante O,O- l'anello è a 4. Inoltre, va considerato che la coordinazione dell'azoto al metallo determina la rottura dell'aromaticità dell'anello pirrolico.

Per entrambe le coordinazioni le trifenilfosfine hanno una maggiore tendenza a disporsi in reciproca posizione *trans* per ridurre l'ingombro sterico, la presenza del chelante riduce la sistemazione dei restanti 2 leganti (CO e H) a due possibilità. Quindi, sia per il composto **2a** che per il composto **2b** vi possono essere due isomeri dati dall'inversione di posizione del CO e dell'idruro. Si suppone che nel prodotto **2a** la rotazione del legame C_{pirrolico}-C_{carbonilico} sia impedita a causa del parziale carattere di doppio legame dovuto all'estensione del sistema π .

È stata effettuata la reazione tra il complesso **1** e l'acido pirrolo 2-carbossilico in CPME scaldando a 110°C in un sistema a microonde. Al fine di controllare se il complesso di partenza è stato completamente convertito durante la reazione, viene effettuata un'analisi IR in soluzione della miscela di reazione controllando la diminuzione nel tempo della banda a 1941 cm⁻¹ che identifica il prodotto di partenza [Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]. La banda a 1941 cm⁻¹ dopo 15 minuti di reazione non è più presente nello spettro della miscela di reazione, si osserva lo spostamento a 1930 cm⁻¹ attribuibile alla formazione di un nuovo complesso.

Il prodotto grezzo è stato purificato per filtrazione su celite seguita da eluizione con etere etilico. Il prodotto ottenuto è stato caratterizzato mediante FTIR, ^1H NMR, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR e con tecniche bidimensionali eterocorrelate.

Si possono ottenere molte informazioni sulla struttura del prodotto confrontando lo spettro FTIR del legante isolato con lo spettro del complesso. Nello spettro del legante acido pirrolo 2-carbossilico si osserva una banda dello stretching N-H molto intenso a 3348 cm^{-1} e una banda data dalla vibrazione del gruppo carbossilico a 1662 cm^{-1} .

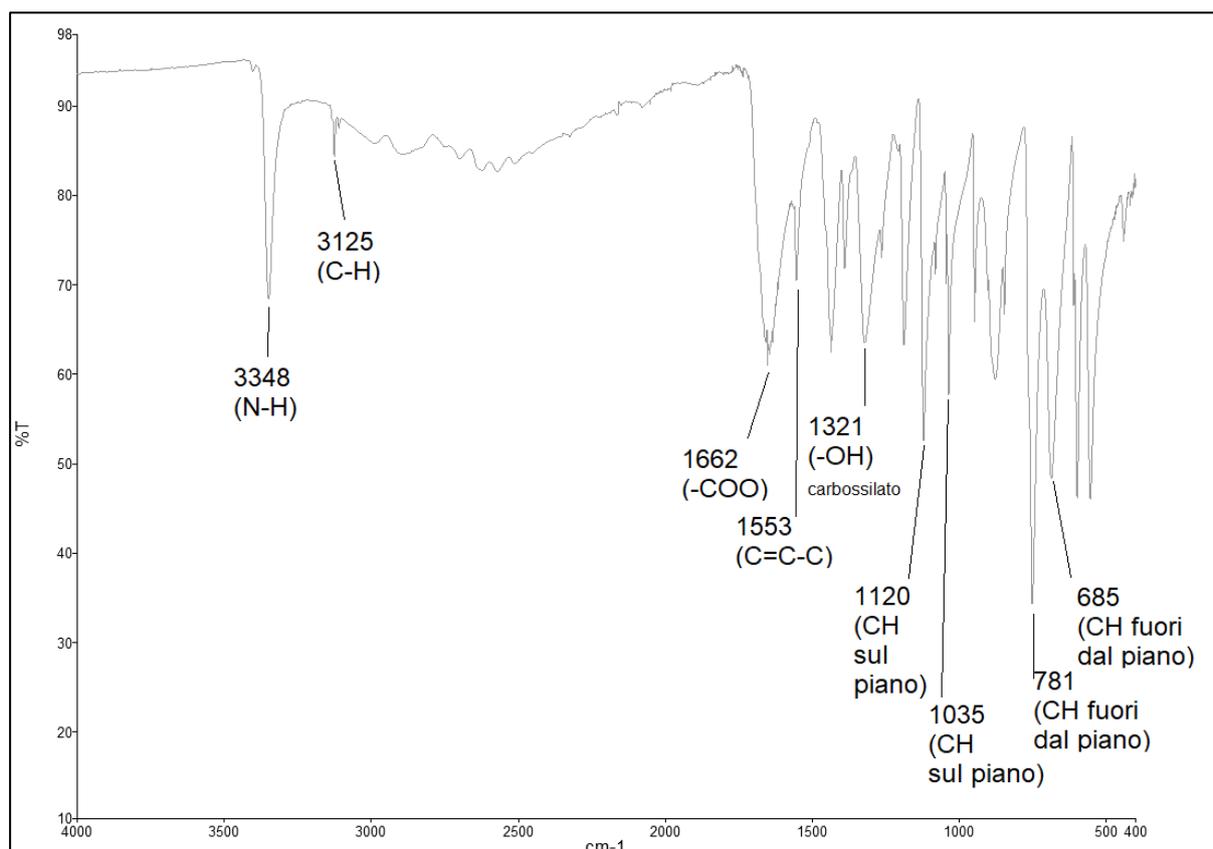


Figura 31: FTIR dell'acido pirrolo 2-carbossilico

Lo spettro IR del complesso (figura 32) presenta una banda molto intensa a 1924 cm^{-1} attribuibile all'assorbimento del legame CO, la banda dello stretching N-H si sposta da 3348 a 3299 cm^{-1} e anche la banda della vibrazione del gruppo carbossilico si sposta a numeri d'onda minori, ovvero da 1662 a 1559 cm^{-1} . Quindi, si può confermare che il legante si è coordinato al centro metallico di rutenio e continua ad esserci il gruppo N-H nell'anello pirrolico per cui la coordinazione avviene attraverso il legame chelante O,O-.

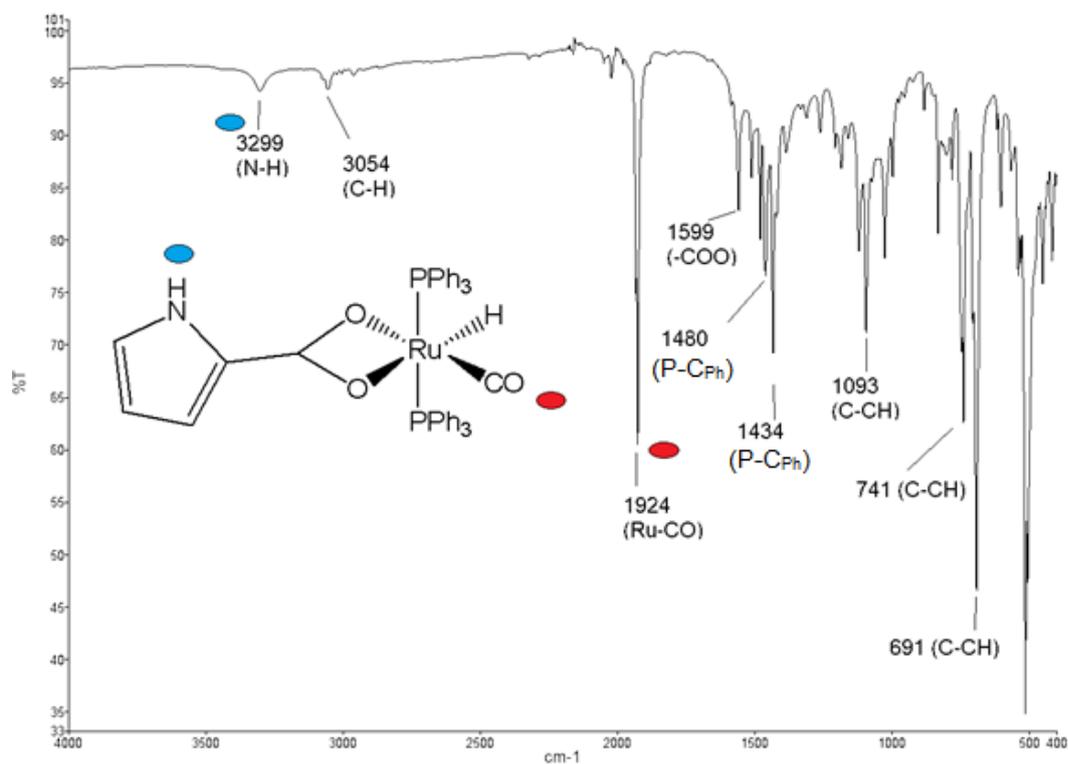


Figura 32: FTIR di $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$, valori in cm^{-1}

Per confermare la struttura e controllare la purezza del prodotto è stata eseguita l'analisi $^1\text{H NMR}$. Analizzando lo spettro $^1\text{H NMR}$ nella zona idrurica si osserva la presenza di due tripletti con un integrale diverso tra loro. Questo conferma la presenza di entrambi i complessi **2** e **3** (figura 33).

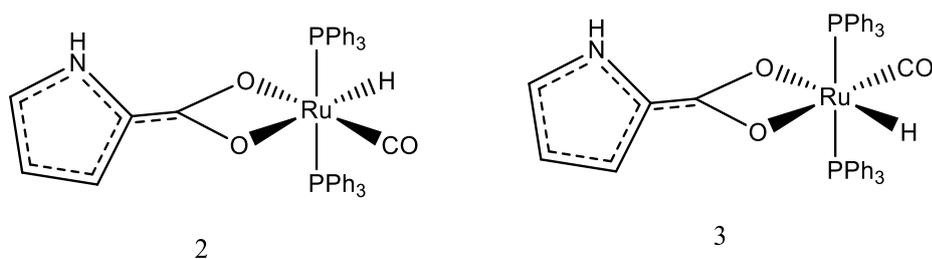


Figura 33: Struttura dei due stereoisomeri $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$

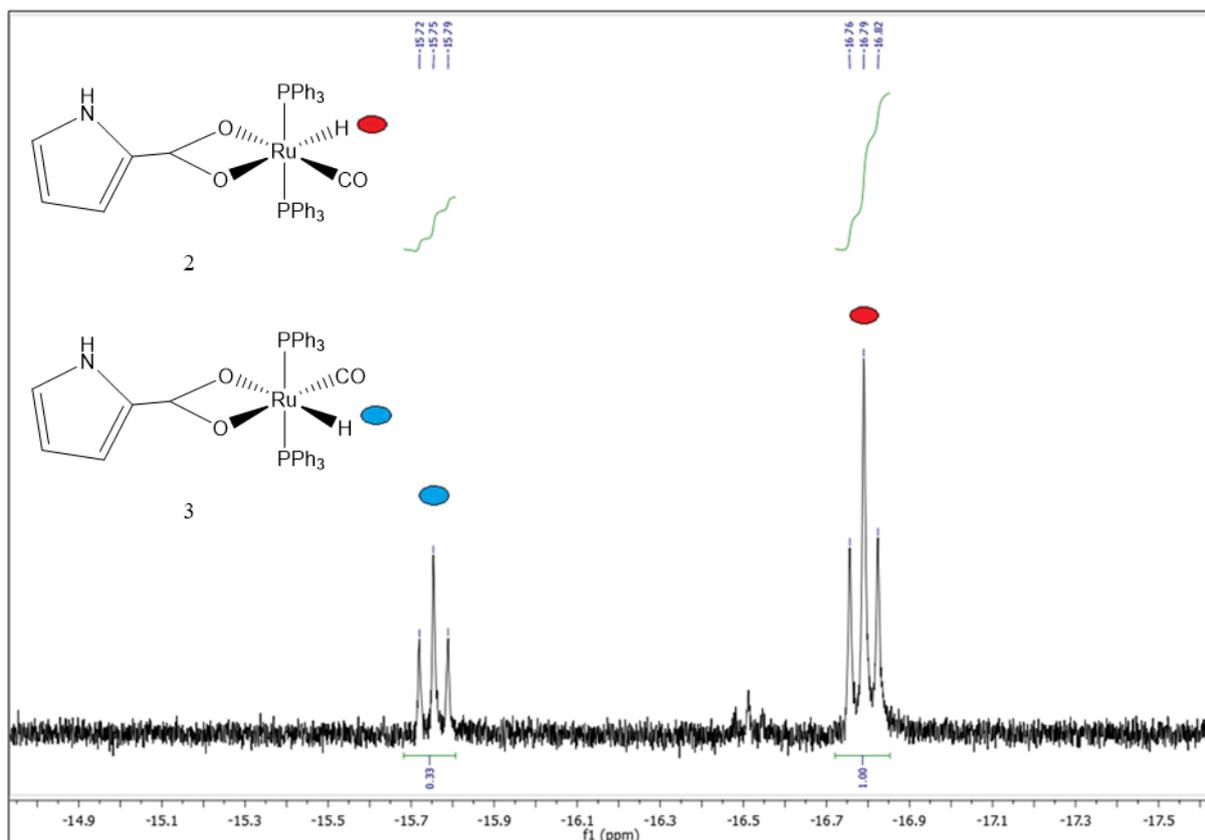


Figura 34: Zona idrurica dello spettro ^1H NMR, miscela di stereoisomeri, complessi **2,3**

Un'ulteriore conferma della presenza dei due stereoisomeri è data dallo spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR della miscela disaccoppiato al protone. Anche in questo spettro si osservano due segnali con un integrale diverso, quindi si può dedurre che le trifenilfosfine, per ognuno dei due isomeri, hanno lo stesso intorno chimico.

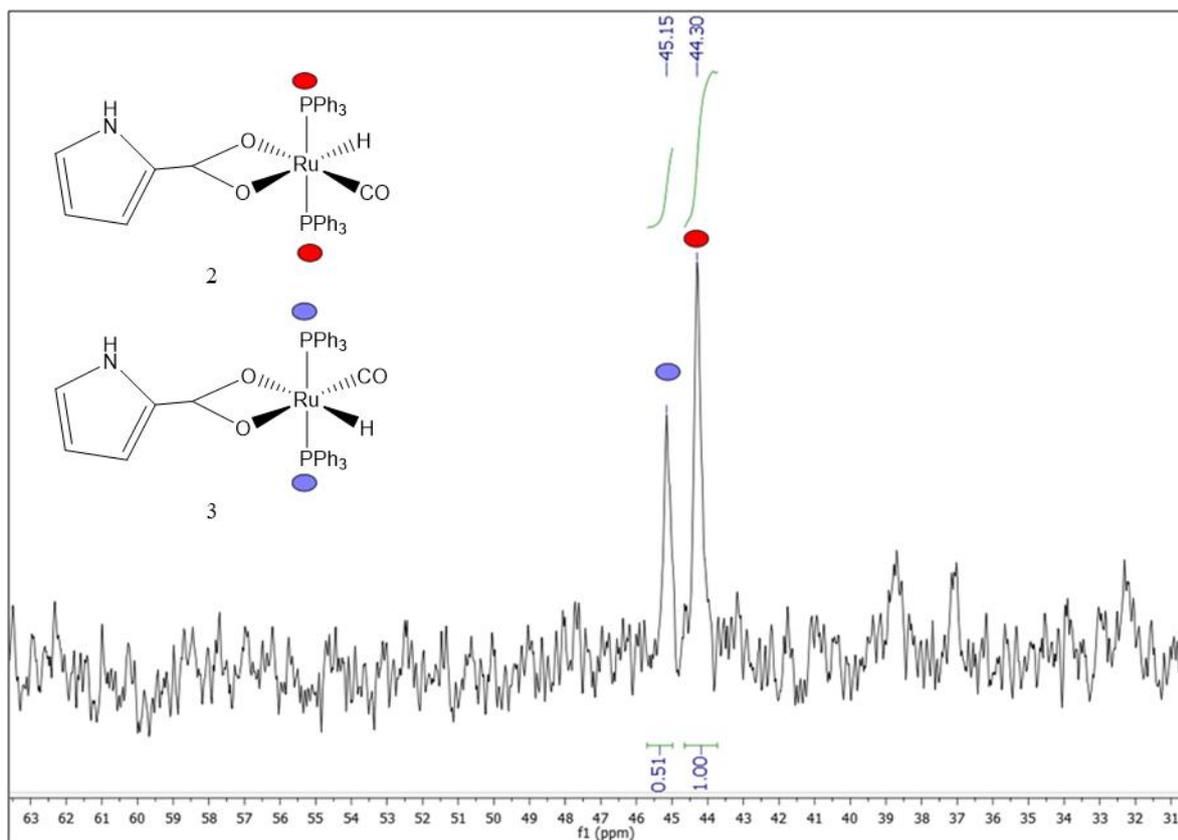


Figura 35: Spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR della miscela di isomeri dei complessi **2** e **3**

Si è svolta un'analisi NMR bidimensionale HSQC con cui è stato correlato lo spettro ^1H con lo spettro ^{13}C della miscela, allo scopo di attribuire, con certezza, i segnali caratteristici del legante. Si osservano 5 macchie raffiguranti gli accoppiamenti C–H di cui i segnali riguardanti il prodotto maggioritario (complesso **2**) sono: 6.39–119.2 ppm; 6.11–111.5 ppm; 5.83–108.3 ppm.

Le altre due macchie, che potrebbero appartenere al prodotto minoritario (complesso **3**) non vengono attribuite perché la bassa concentrazione di questo non permette di effettuare delle assegnazioni esaustive. Questo complesso verrà caratterizzato successivamente.

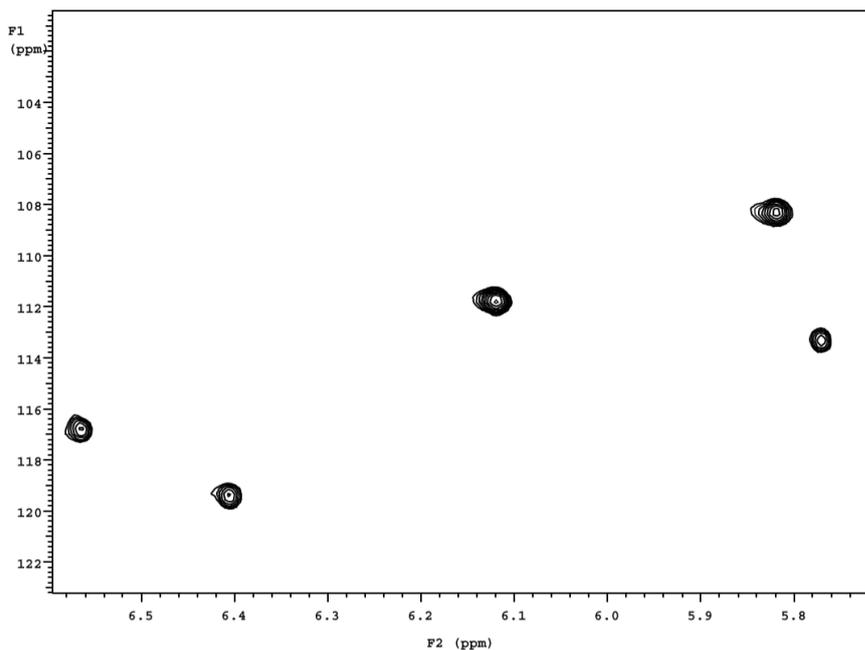


Figura 36: Spettro 2D-HSQC della miscela di isomeri

I due isomeri sono stati separati mediante un tentativo di cristallizzazione con la tecnica del doppio strato, usando una miscela 3:1 in volume di esano:diclorometano, dopo alcuni giorni precipita un singolo prodotto amorfo che non risulta adatto all'analisi a raggi X. Il complesso **2** è stato separato dalla miscela per filtrazione e caratterizzato singolarmente. Nella zona idrurica dello spettro ^1H NMR del complesso **2** (figura **37**) si osserva un solo tripletto a $-16,75$ ppm attribuibile al prodotto più abbondante della miscela.

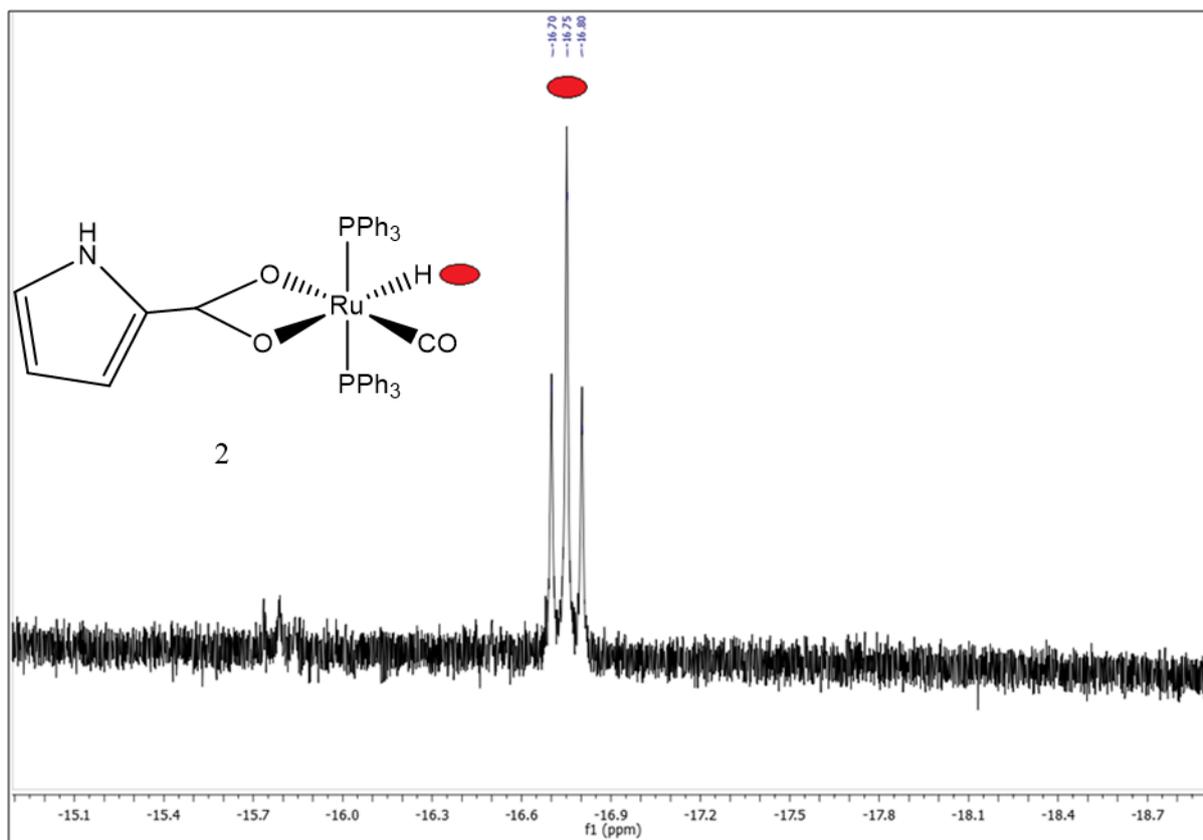


Figura 37: Zona idrurica dello spettro ^1H NMR del complesso **2**

Analizzando la zona aromatica dello spettro ^1H NMR (figura **38**) del complesso **2** si possono osservare i segnali dei protoni aromatici dell'acido pirrolico e dei fenili delle fosfine.

Il singoletto a 8,07 ppm può essere assegnato al protone amminico, i multipletti da 7,70 a 7,30 ppm sono attribuibili ai protoni dei fenili delle fosfine, mentre i tre singoletti a 6,39, 6,10 e 5,83 ppm sono attribuibili ai tre protoni del pirrolo. I segnali risultano spostati rispetto al legante organico isolato che in cloroformio presenta un multipletto a 7,03 ppm che integra 2H (2 segnali sovrapposti) e un multipletto a 6,31 ppm che integra 1H.

Nella figura **38** l'attribuzione dei 3 protoni pirrolici è stata effettuata in base al chemical shift perché i segnali sono allargati e non si distingue la molteplicità; quindi, non è possibile utilizzare le costanti di accoppiamento per confermare l'assegnazione dei segnali.

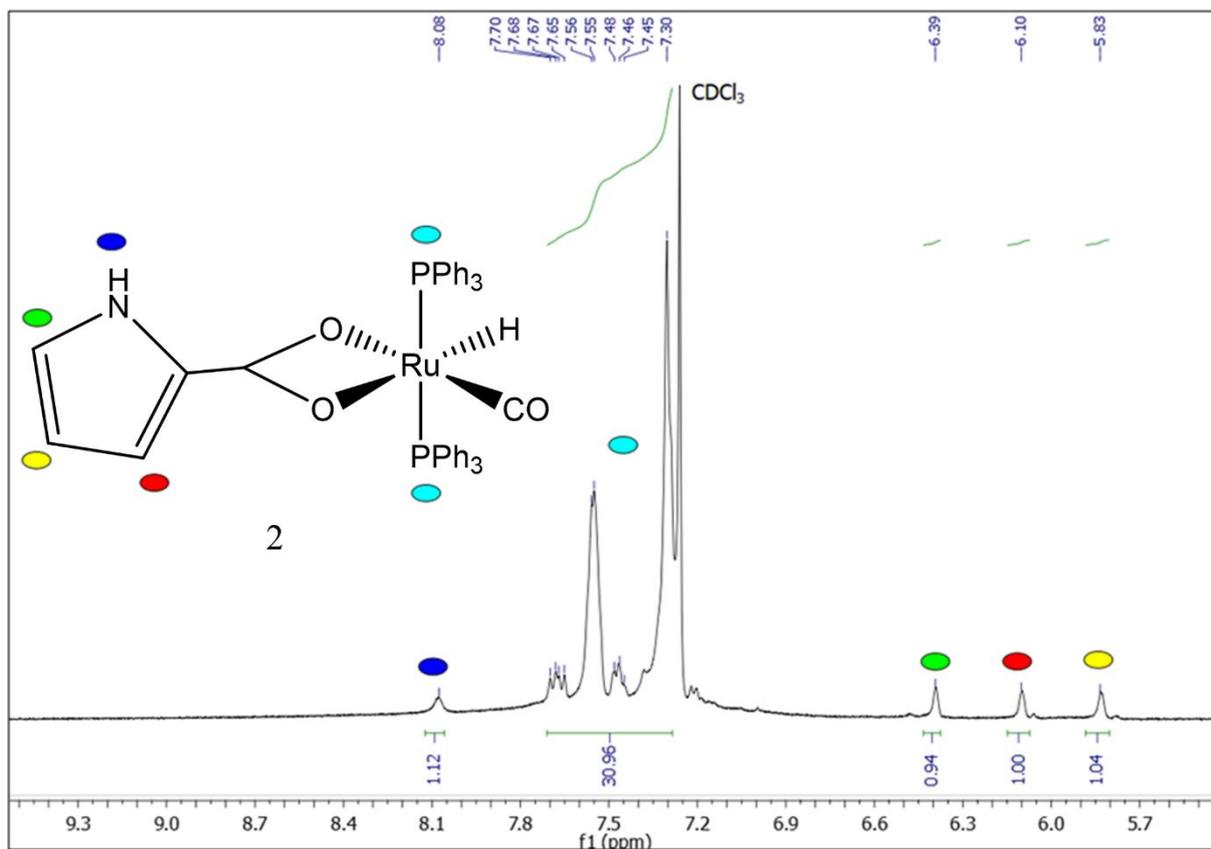


Figura 38: ^1H NMR della zona aromatica del complesso **2**

Il complesso **2** è stato caratterizzato mediante $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (figura **39**). Nella zona compresa tra 170 e 210 ppm si possono osservare due segnali di cui il più schermato a 174 ppm può essere assegnato al gruppo carbossilico del legante organico, mentre il segnale a 204 ppm viene attribuito al CO direttamente coordinato al metallo. Il CO è un tripetto perché accoppia con le due trifenilfosfine equivalenti.

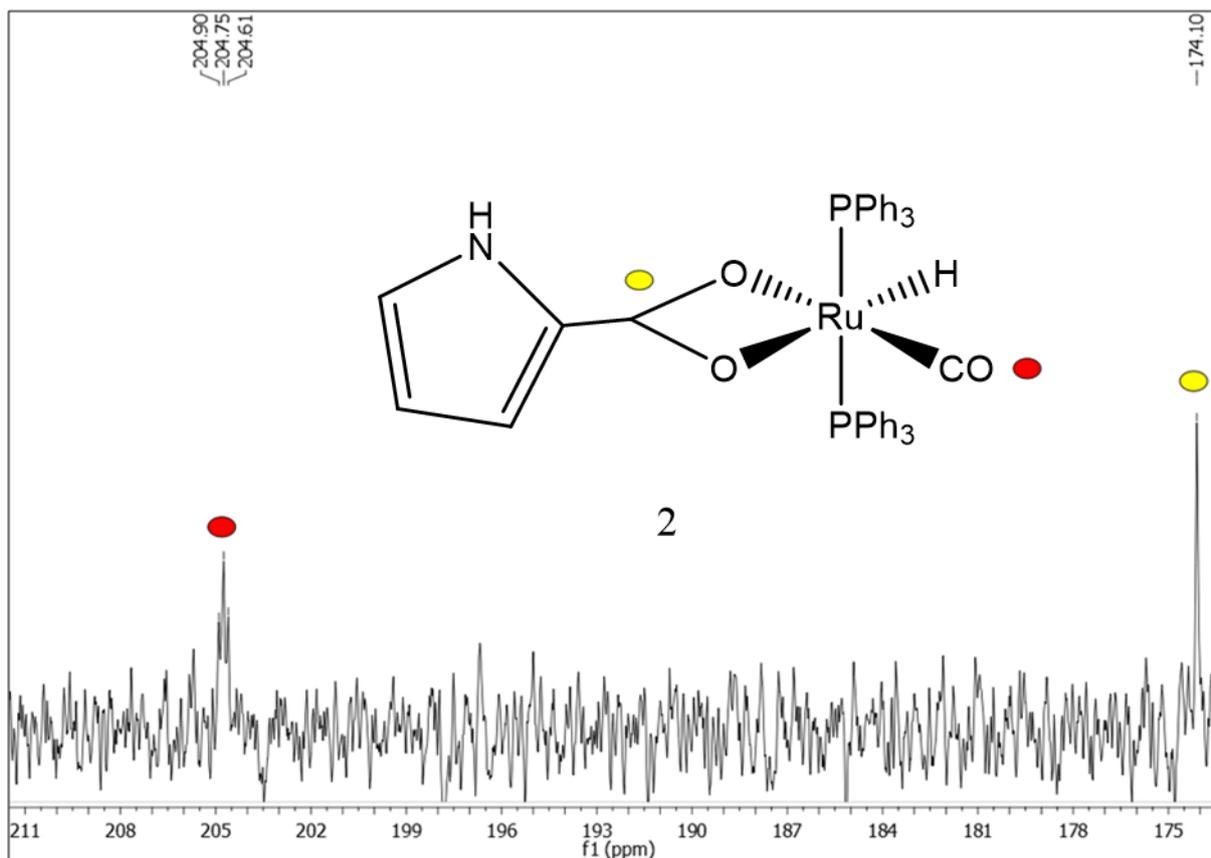


Figura 39: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso **2**, allargamento zona 170–210 ppm

Sono state effettuate varie prove di reazione variando il tempo per cercare di ottenere selettivamente i singoli prodotti. Successivamente, si è provato a condurre la reazione cambiando il solvente e la temperatura di reazione. Il rapporto tra le due specie è stato calcolato dal rapporto di integrazione dei segnali all' ^1H NMR.

Solvente	Temperatura	Tempo (minuti)	Rapporto complesso 2 / complesso 3
CPME	110°C	25	39:61
CPME	110°C	20	43:57
CPME	110°C	15	75:25
1,2-DME	95°C	15	Solo complesso 2

Tabella 3: Reazioni condotte a microonde variando il tempo di reazione

Nella tabella **3** si può osservare che diminuendo il tempo di reazione aumenta la selettività verso il complesso **2**. Sulla base di questo si può ipotizzare che il complesso **2** sia cineticamente favorito. Inoltre, la miscela cinetica in solvente clorurato (cloroformio, diclorometano) a temperatura ambiente converte spontaneamente alla

miscela termodinamica per cui è stato possibile caratterizzare singolarmente anche il complesso **3**.

Sopra (figura **33**) è stata riportata la struttura dei due isomeri **2** e **3**, il primo possiede l'idruro e l'NH pirrolico rivolti dalla stessa parte mentre il secondo ha l'idruro nella posizione opposta all'NH. Basandosi unicamente sugli spettri NMR riportati non è possibile determinare quale delle due strutture è termodinamicamente più stabile. Grazie al supporto dei calcoli di modellazione molecolare DFT è possibile ipotizzare la struttura del conformero più stabile in cui predominano il maggior numero di interazioni deboli. Le interazioni deboli possono essere del tipo dipolo-dipolo, come il π - π stacking tra i CH degli anelli aromatici e l'anello pirrolico (mediamente paralleli tra loro). Per π - π stacking si intende l'interazione attrattiva non covalente tra anelli aromatici che tendono a disporsi parallelamente tra loro per facilitare la sovrapposizione degli orbitali p di ognuno dei CH sp² dei fenili.

In altre interazioni deboli partecipano i CH fenilici perpendicolari al gruppo NH del pirrolo o agli atomi di ossigeno sp² del gruppo carbossile o all'ossigeno sp del carbonile CO legato al Ru. Maggiore è il numero e l'entità delle interazioni, maggiore è il contributo che determina l'isomero termodinamicamente più stabile.

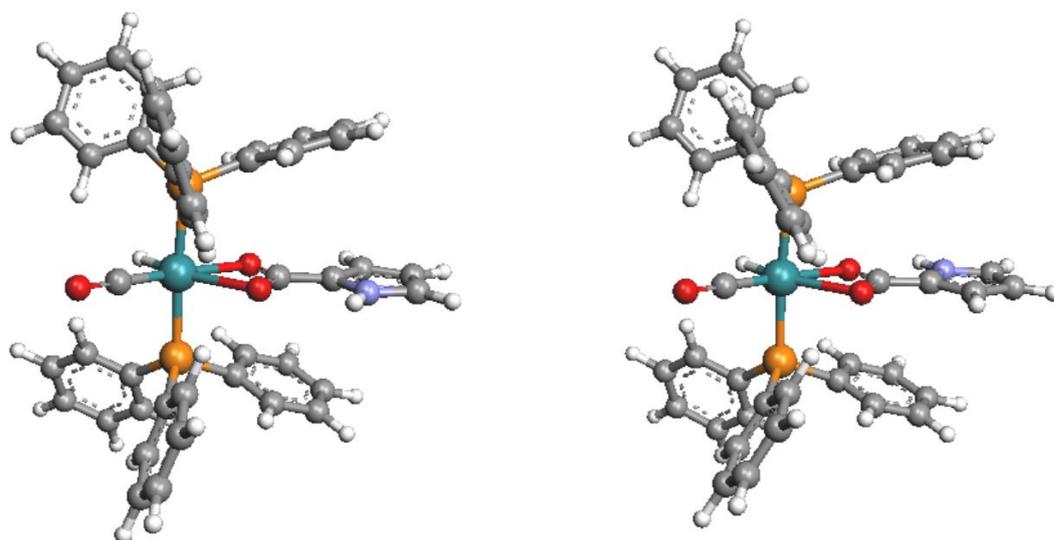


Figura 40: Strutture dei complessi **2** (a destra) e **3** (a sinistra) da calcoli DFT con effetto solvente (cloroformio)

I ΔG determinati dai calcoli DFT per i complessi **2** e **3** hanno una piccola differenza pari a 0,045kcal/mol per cui si può concludere che siano pressoché isoenergetici. Come si può osservare nella figura **40**, i calcoli DFT suggeriscono una stereogeometria

planare in cui, per ognuna delle due strutture, due fenili sono rivolti verso l'anello pirrolico.

Per la caratterizzazione del complesso **3** viene riportata nella figura 41 un'analisi NMR 2D-HSQC, le macchie non risultano molto intense, ma è possibile distinguere i 3 segnali C-H del legante: 5,75–113,14 ppm; 6,01–139,82 ppm; 6,50–116,48 ppm.

Il segnale idrurico e lo spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del singolo isomero non danno informazioni aggiuntive rispetto alle analisi della miscela riportate sopra. L'attribuzione completa dei segnali del complesso **3** è riportata nella parte sperimentale.

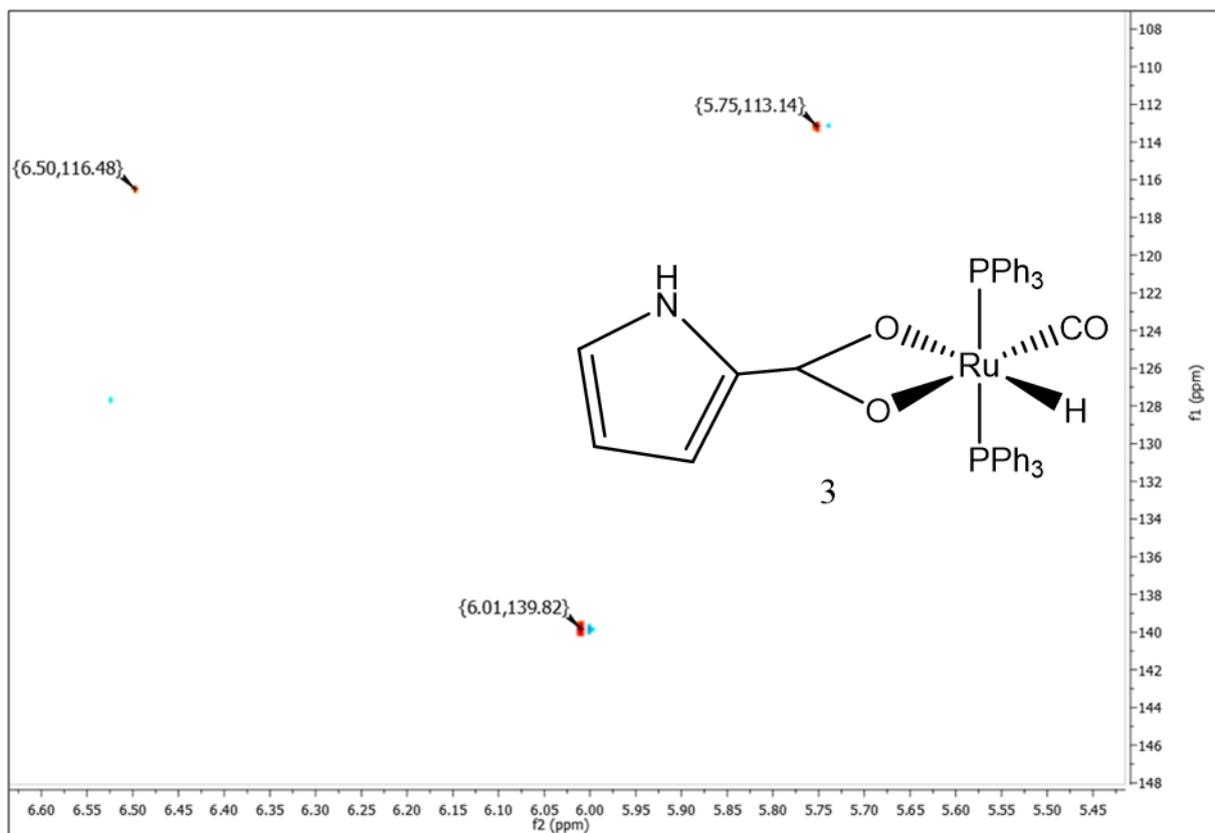


Figura 41: 2D-HSQC del complesso **3**

3.3 Caratterizzazione di $\kappa^2\text{-(O,O)}\kappa^1\text{-(O)}[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr-C(O)O})_2]$

Dopo aver sintetizzato il complesso $\kappa^2\text{-(O,O)}[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr-2COO})]$, è stata effettuata una reazione successiva per coordinare un secondo equivalente di acido pirrolo 2-carbossilico al rutenio. La reazione è stata condotta in CPME utilizzando le microonde per riscaldare la miscela di reazione. Il metallo mostra una riduzione della natura acida in seguito alla sostituzione della fosfina, rendendo molto più difficile la

coordinazione di un secondo legante pirrolico e pertanto per legare il secondo equivalente sono necessari tempi di reazione significativamente più lunghi. Quindi, si è deciso di condurre la reazione con un eccesso di legante organico per spostare l'equilibrio verso i prodotti e favorire la formazione del complesso con due molecole di acido pirrolo 2-carbossilico coordinate.

Il complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ e 4,5 equivalenti di acido pirrolo 2-carbossilico vengono sciolti in CPME e fatti reagire per 4 ore e 30 minuti a microonde. Dopodiché, la reazione è stata considerata conclusa perché scompare la banda carbonilica del reagente. Il prodotto viene successivamente lavato con esano e con etere etilico, tirato a secco sottovuoto ed analizzato tramite FTIR, $^1\text{H NMR}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR. Dallo spettro si possono notare delle bande peculiari del complesso: a 3057 cm^{-1} si osserva una banda attribuibile allo stretching dei legami C-H dei leganti organici aromatici e dei fenili delle fosfine. Si può notare che la banda del CO coordinato al metallo si è spostata da 1924 cm^{-1} nel reagente a 1936 cm^{-1} nel prodotto. Si notano inoltre due bande, di cui una più larga, rispettivamente a 1684 cm^{-1} e a 1559 cm^{-1} attribuibili all'assorbimento del gruppo carbossilico dei leganti organici. Infine, a 1435 cm^{-1} si osserva una banda assegnata allo stretching del legame P-C delle trifenilfosfine.

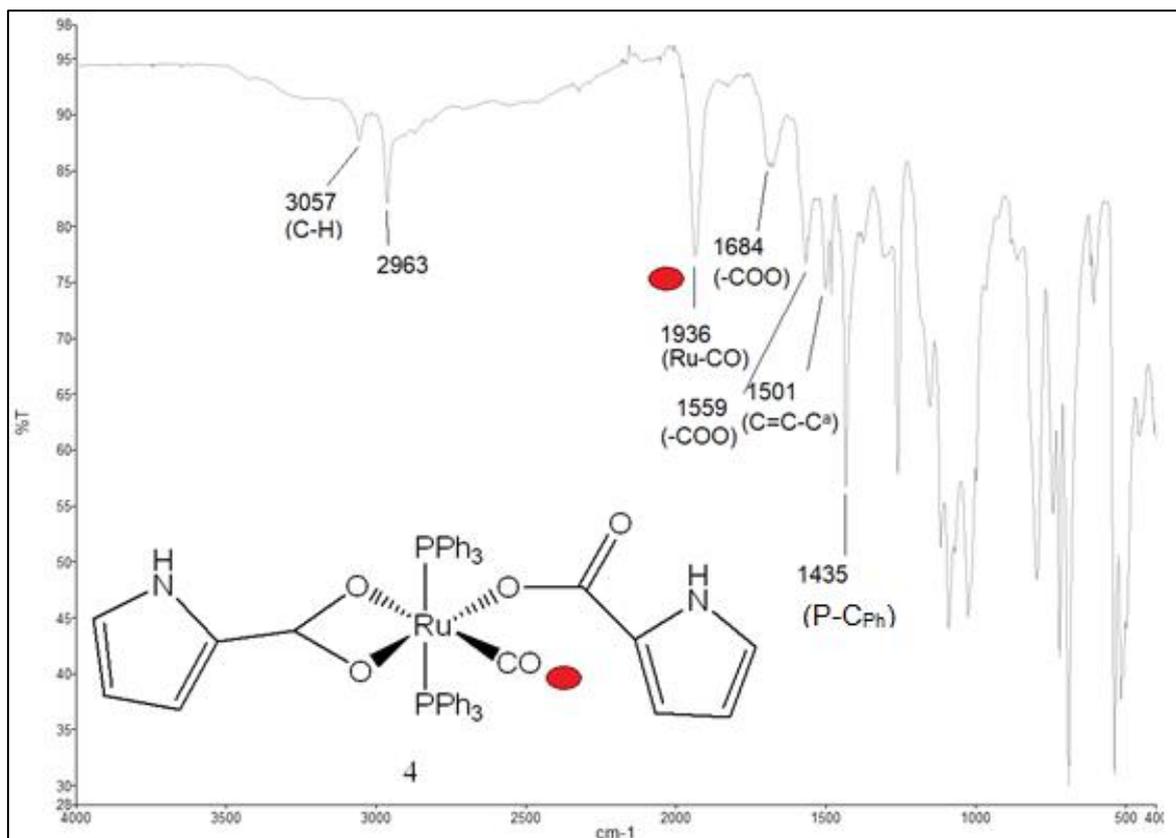


Figura 42: FTIR di $\kappa^2-(O,O)\kappa^1-(O)[Ru(CO)(PPh_3)_2(Pyr-C(O)O)_2]$, valori in cm^{-1}

La prima evidenza dell'avvenuta duplice coordinazione dell'acido pirrolo 2-carbossilico è data dallo spostamento della banda carbonilica a numeri d'onda maggiori. Una seconda prova è data dalla mancanza di segnali idrurici nello spettro ¹H NMR, mentre si possono osservare due segnali N-H a 8,94 e a 8,48 ppm (figura **43**) e 6 segnali con integrale 1 tra 5,80 e 6,60 ppm che possono essere assegnati ai CH pirrolici.

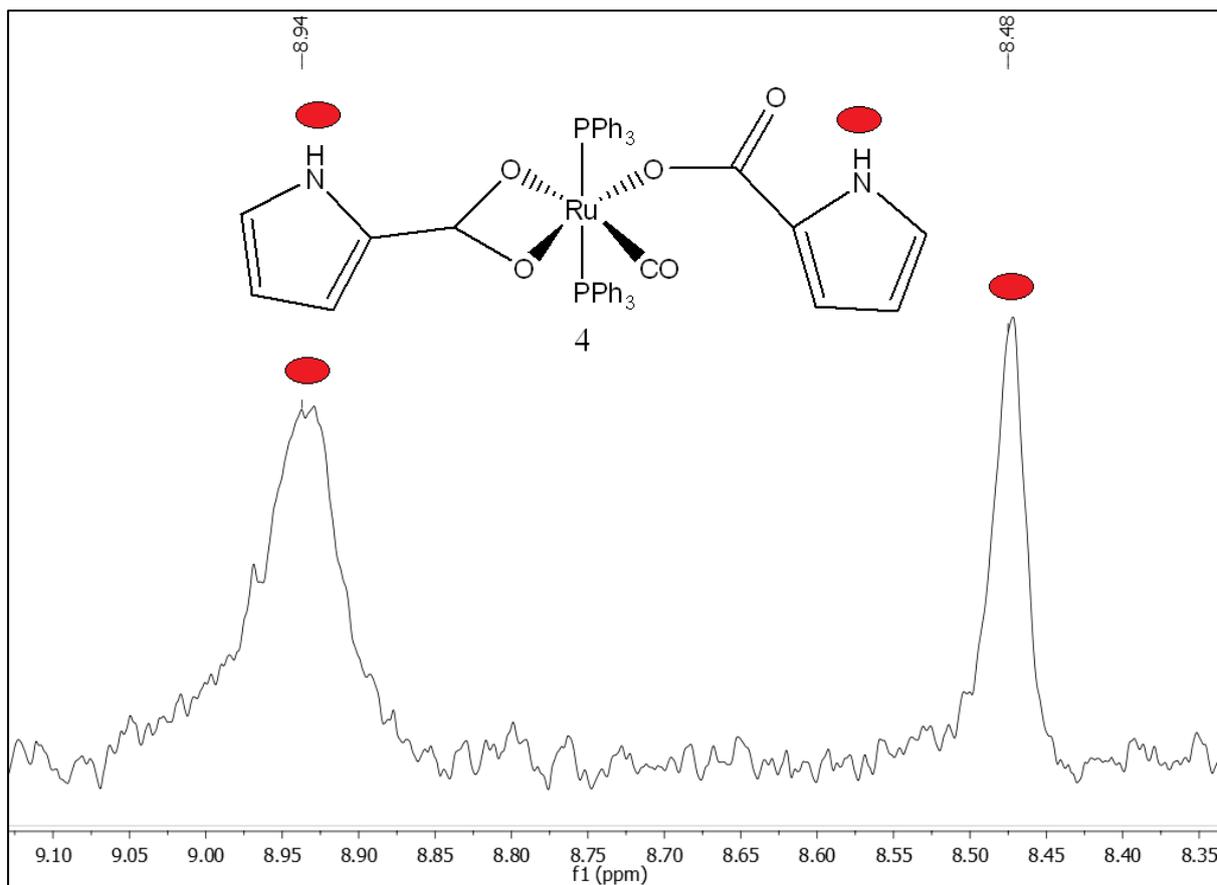


Figura 43: ^1H NMR di $\kappa^2-(\text{O},\text{O})\kappa^1-(\text{O})[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-\text{C}(\text{O})\text{O})_2]$, NH pirrolici

Il complesso è stato analizzato anche al $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (figura 44): si osservano 3 segnali con integrale diverso. Il segnale più intenso a 32,55 ppm viene attribuito al prodotto, si può quindi assumere che le due trifenilfosfine si trovano nello stesso intorno chimico. I segnali a 32,93 e a 35,14 ppm vengono attribuiti a sottoprodotti della reazione.

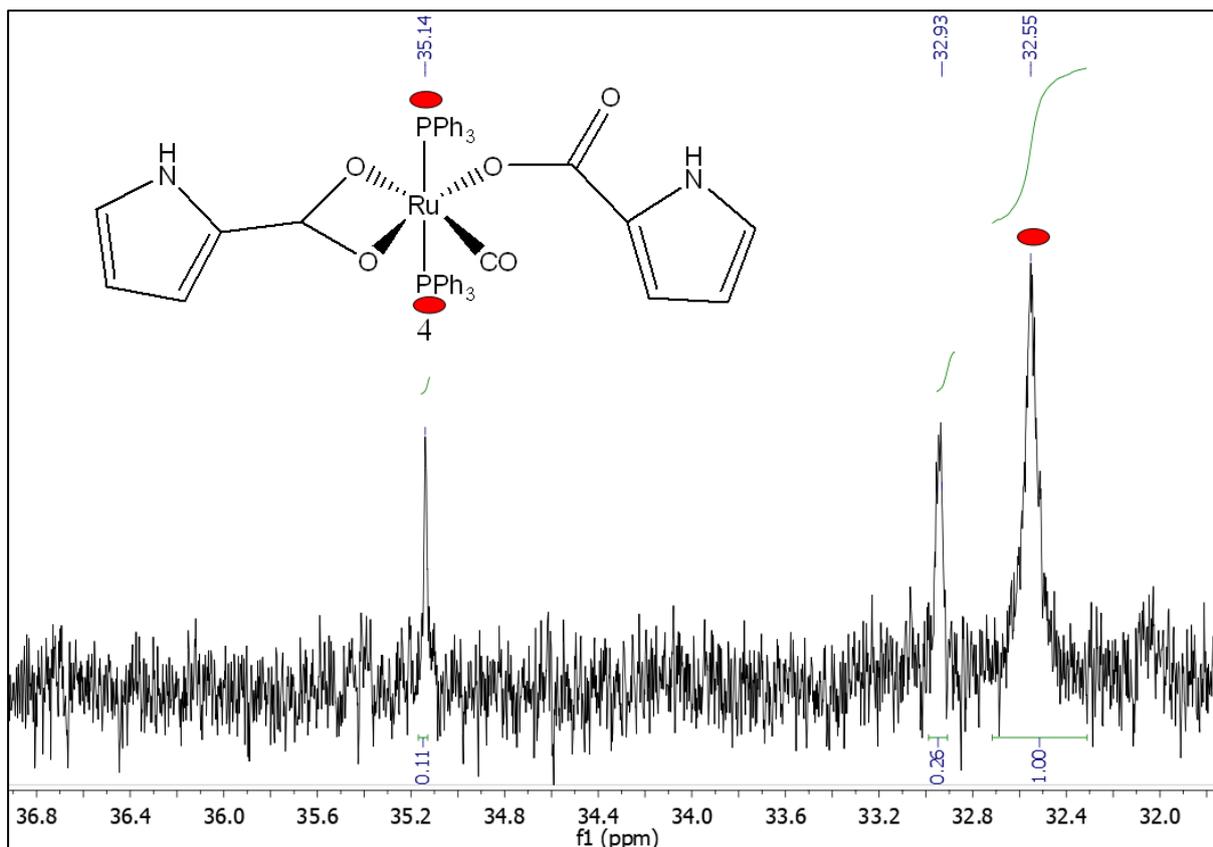


Figura 44: $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR di $\kappa^2-(\text{O},\text{O})\kappa^1-(\text{O})[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-\text{C}(\text{O})\text{O})_2]$

La reazione condotta in queste condizioni non è particolarmente selettiva. Si è provato a separare il prodotto dalle impurezze sciogliendolo in una piccola quantità di una miscela 1:1 in volume di diclorometano/etere etilico. Dopo qualche ora, è precipitato un solido che è stato separato dal liquido sovrastante. Da analisi $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR si vede che è cambiato il rapporto dei segnali però continuano ad essere presenti tutte e 3 le specie. Questa reazione deve essere ottimizzata cambiando il solvente e la temperatura di reazione. Si è provato a condurre la reazione in acetone a refluxo, ma il rapporto tra prodotto e sottoprodotti non è cambiato significativamente.

Si ipotizza che uno dei due sottoprodotti sia uno stereoisomero del complesso **4** in cui il CO e il legante organico, legato al rutenio in modo monoapto, sono invertiti di posizione nella struttura. Come riportato in precedenza, si presuppone che vi sia un parziale carattere di doppio legame C-C tra l'anello pirrolico e il gruppo carbossilico dell'acido pirrolo 2-carbossilico che chela il metallo e le due conformazioni risultano congelate.

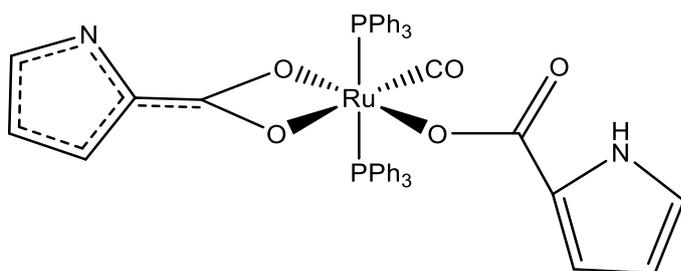


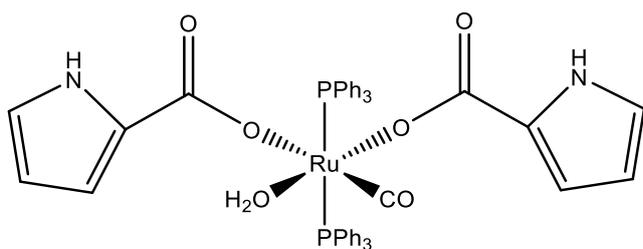
Figura 45: Stereoisomero del complesso 4

Questa ipotesi però non può essere confermata spettroscopicamente perché l'intensità dei segnali dei sottoprodotti nello spettro ^1H NMR non è sufficientemente elevata.

3.4 Caratterizzazione di $[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-2\text{COO})_2(\text{H}_2\text{O})]$

Partendo dal complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{Pyr}-2\text{COO})]$, è stata effettuata una reazione successiva per coordinare un secondo equivalente di acido pirrolo 2-carbossilico al rutenio, ma senza utilizzare un forte eccesso di reagente organico. Per facilitare la coordinazione del secondo equivalente sono stati utilizzati dei solventi coordinanti in modo da favorire l'uscita dei leganti dal complesso di rutenio. La reazione è stata condotta a riflusso con una piastra riscaldante. Dopo 5 ore di reazione si raffredda a temperatura ambiente, viene aggiunto etanolo e si riporta la miscela di reazione a riflusso. Dopo 2 ore, si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si tira a secco sottovuoto. Il prodotto viene purificato effettuando 3 lavaggi con esano e 3 lavaggi con etere etilico e tirato a secco.

Per la reazione sono stati utilizzati CH_3CN non anidro ed etanolo al 96%, quindi nella miscela di reazione è presente dell'acqua, questa può favorire un'idratazione del complesso. La coordinazione di una molecola di H_2O avviene con la rottura di uno dei due legami O-Ru con il passaggio da una coordinazione bidentata ad una monodentata del legante organico (figura 46).



5

Figura 46: struttura di $[Ru(CO)(PPh_3)_2(Pyr-2COO)_2(H_2O)]$

Il complesso **5** è stato analizzato mediante FTIR, ESI-MS, 1H NMR, $^{31}P\{^1H\}$ NMR, $^{13}C\{^1H\}$ NMR, GCOSY.

Dallo spettro FTIR (Figura 47) si nota che la banda del CO si è spostata da 1924 cm^{-1} (banda reagente $\kappa^2-(O,O)[RuH(CO)(PPh_3)_2(Pyr-2COO)]$) a 1952 cm^{-1} . Altre bande caratteristiche del complesso sono attribuibili allo stretching dei legami C-H aromatici a 3059 cm^{-1} e all'assorbimento dei gruppi carbossilici a 1684 e a 1559 cm^{-1} . A più basse frequenze si osservano due bande che possono essere attribuite ai legami P-C delle trifenilfosfine.

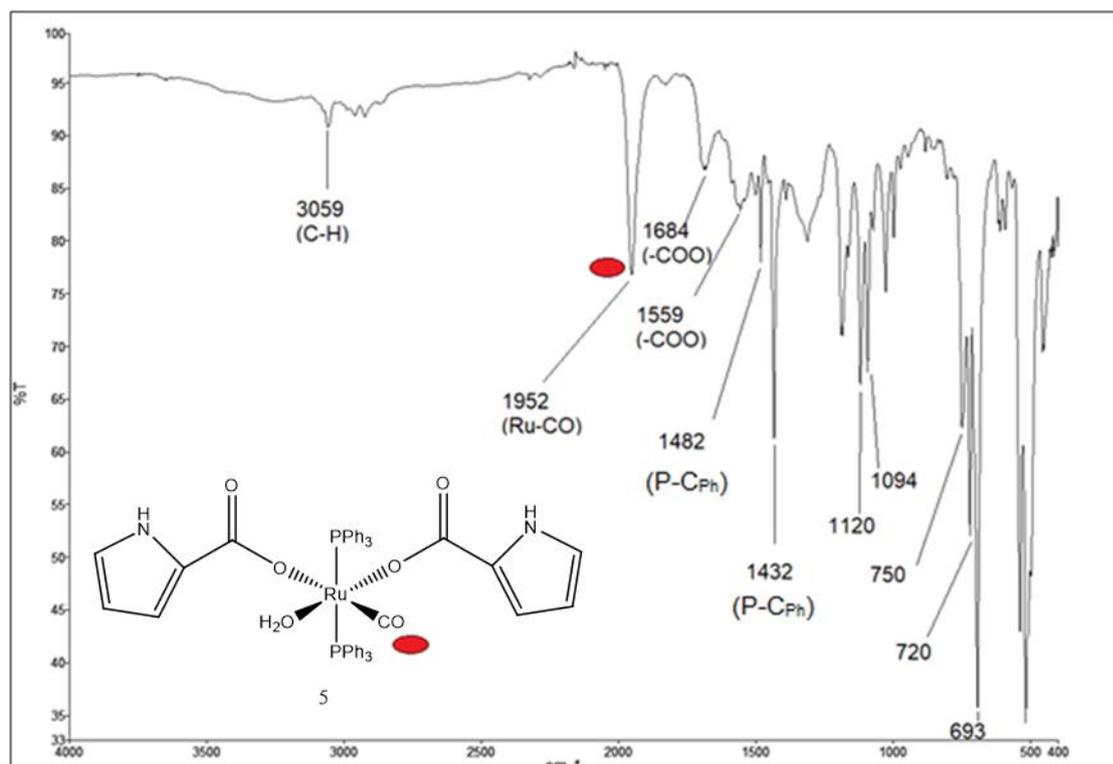


Figura 47: FTIR di $[Ru(CO)(PPh_3)_2(Pyr-2COO)_2(H_2O)]$, valori in cm^{-1}

Nello spettro FTIR, l'evidenza principale della formazione di un prodotto diverso dal complesso $\kappa^2\text{-(O,O)\kappa}^1\text{-(O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-C(O)O)}_2]$ (complesso **4**) è la banda dello stretching carbonilico che si trova a numeri d'onda più elevati.

È stata registrata un'analisi ESI-MS del complesso **5**, $[\text{Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)}_2\text{(H}_2\text{O)}]$. Le masse esatte del complesso **4** e del complesso **5** sono diverse e individuando lo ione molecolare è possibile escludere una delle due strutture. Nello spettro si può osservare il picco molecolare a 931 ($\text{M}+\text{K}^+$) del complesso coordinato con un controione di potassio metallico. Il picco molecolare poco intenso potrebbe essere dovuto ad una rapida frammentazione della molecola durante l'analisi.

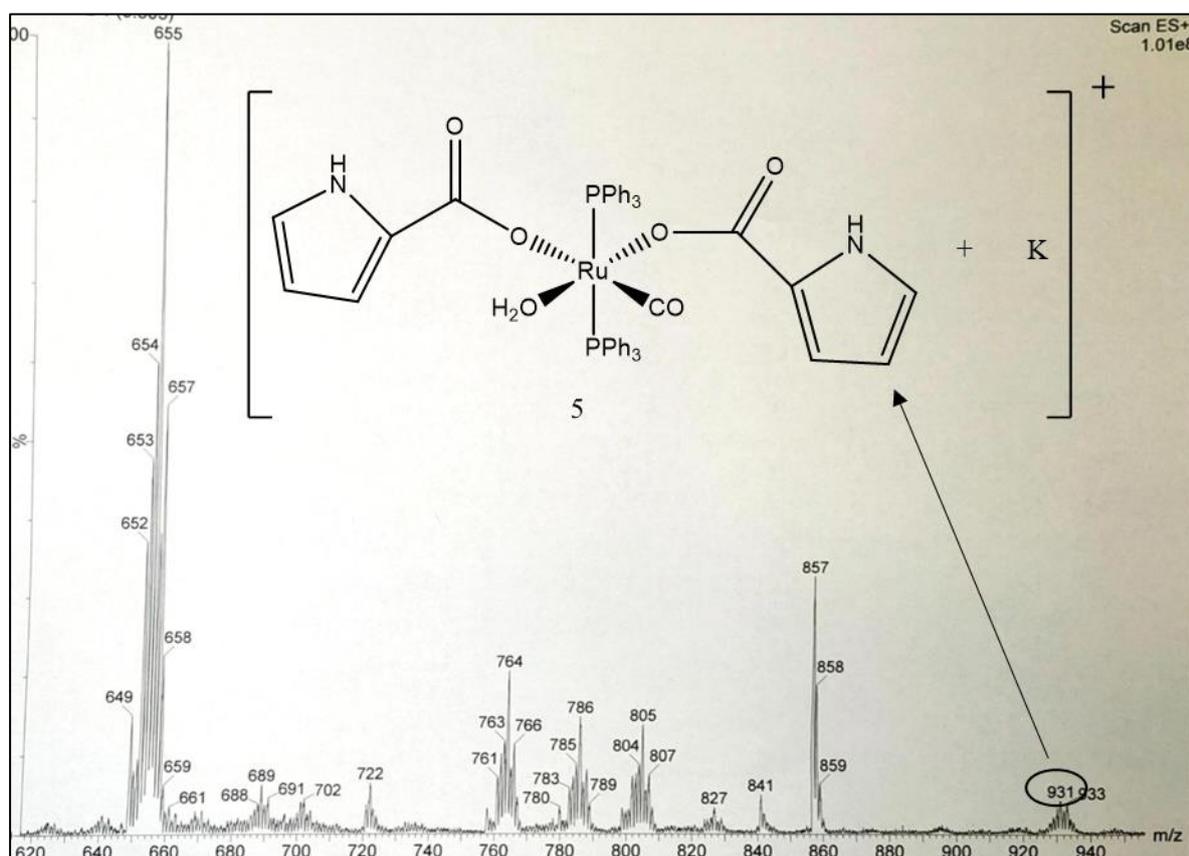


Figura 48: ESI-MS di $[\text{Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)}_2\text{(H}_2\text{O)}]$

Il complesso **5** è stato analizzato all' ^1H NMR utilizzando come solvente metanolo deuterato (figura **49**). È stato utilizzato il metanolo deuterato in quanto il complesso risulta più solubile in solventi polari rispetto ai complessi $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)}]$ e $\kappa^2\text{-(O,O)\kappa}^1\text{-(O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-C(O)O)}_2]$.

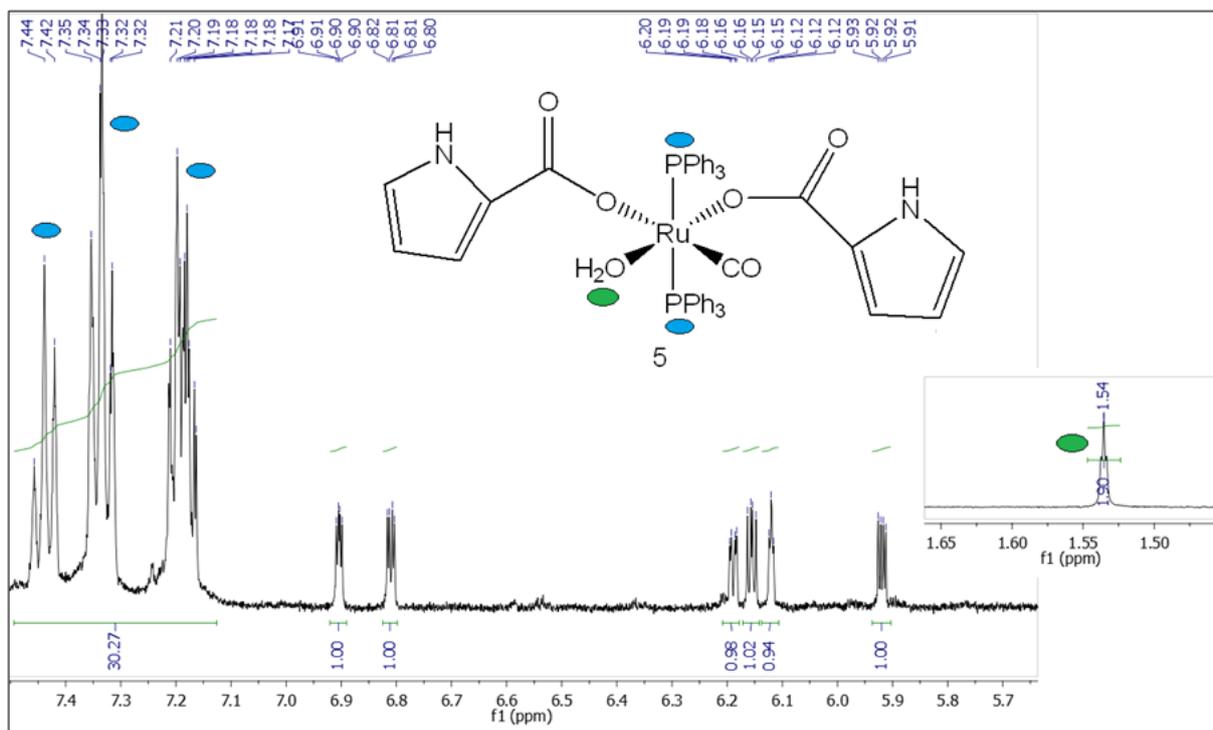


Figura 49: $^1\text{H-NMR}$ di $[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Py}-2\text{COO})_2(\text{H}_2\text{O})]$

Nella zona aromatica dello spettro $^1\text{H NMR}$ si possono osservare 3 multipletti molto intensi che globalmente integrano 30H che possono essere attribuiti alle due trifenilfosfine del complesso. Tra 5.70 e 7.00 ppm vi sono 6 segnali che integrano 1H di cui 5 sono doppietti di doppietti e uno è un tripletto, questi possono essere assegnati ai 6 CH pirrolici dei leganti. Il tripletto a 6,12 ppm è un doppietto di doppietti poco risolto; infatti, con il software “Mestre Nova” è possibile individuare entrambe le costanti di accoppiamento. In una zona più schermata dello spettro, a 1,54 ppm si trova un segnale che integra 2H, questo è stato attribuito all' H_2O coordinata al metallo centrale. Nella zona tra 0 e -20 ppm non si osservano segnali idrurici. È interessante osservare che i segnali risultano molto più risolti rispetto ai prodotti in cui vi è la coordinazione con chelazione O,O-, perché il complesso non è flussionale.

Un'ulteriore caratterizzazione del complesso **5** è stata effettuata al $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR. Si osserva un solo segnale a 32,41 ppm per cui si può concludere che le due trifenilfosfine si trovano nello stesso intorno chimico in reciproca posizione *trans*.

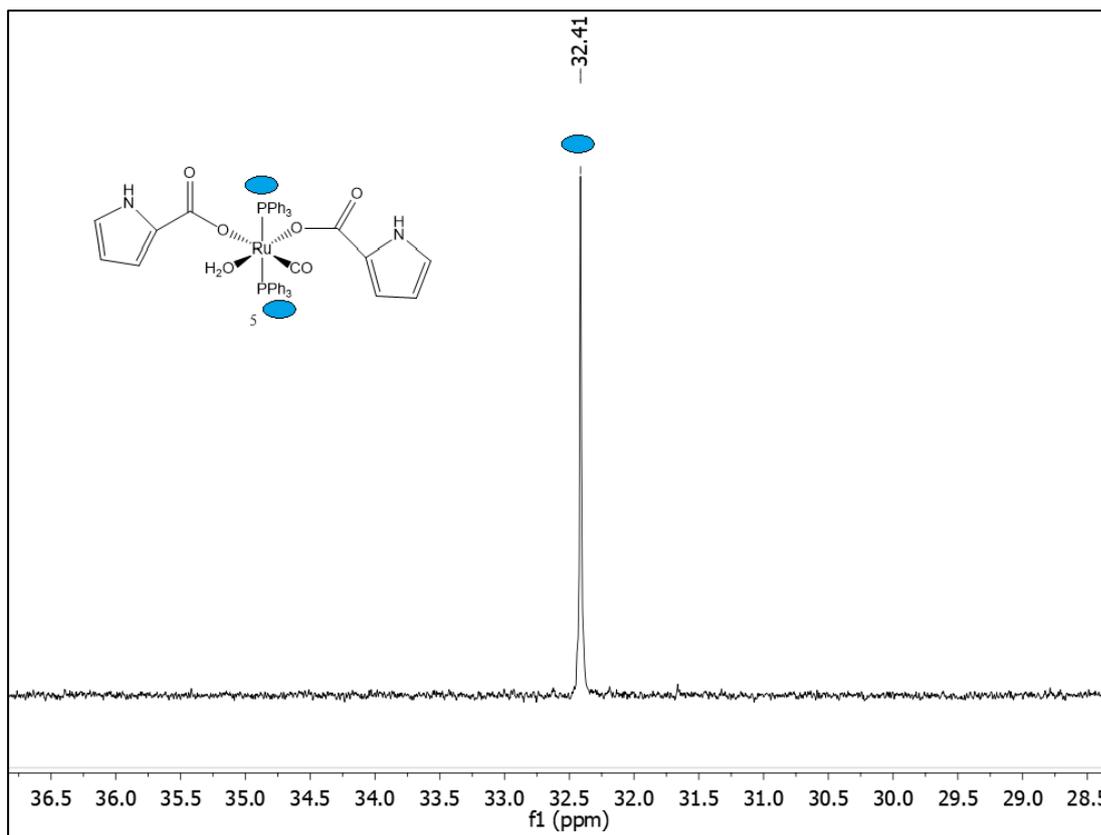


Figura 50: $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR di $[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-2\text{COO})_2(\text{H}_2\text{O})]$

Lo spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (figura 51) conferma le assegnazioni date precedentemente; infatti, nella zona compresa tra 105 e 135 ppm si possono osservare 8 segnali attribuibili agli atomi di C degli anelli pirrolici e dei segnali molto intensi che possono essere assegnati alle fosfine. I segnali più intensi non sono tutti singoletti ma hanno una molteplicità perché, anche se lo spettro è disaccoppiato al protone, si possono vedere gli accoppiamenti tra carbonio e fosforo. Alcuni dei segnali tra 127 e 135 ppm possono essere assegnati al PPh_3O (trifenilfosfinossido), questo si forma quando il complesso viene lasciato in soluzione per tempi lunghi e lo spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR è stato acquisito in 60 ore.

Il segnale a 132,55 ppm è significativamente più deschermato rispetto agli altri segnali dei carboni pirrolici, ma è stato possibile assegnarlo con il supporto dell'HSQC (figura 52). Questa analisi è stata svolta utilizzando lo stesso tubicino che è stato utilizzato per registrare lo spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR in modo da poter individuare anche i segnali C-H del PPh_3O generato per ossidazione a P(V) della fosfina rilasciata per sostituzione.

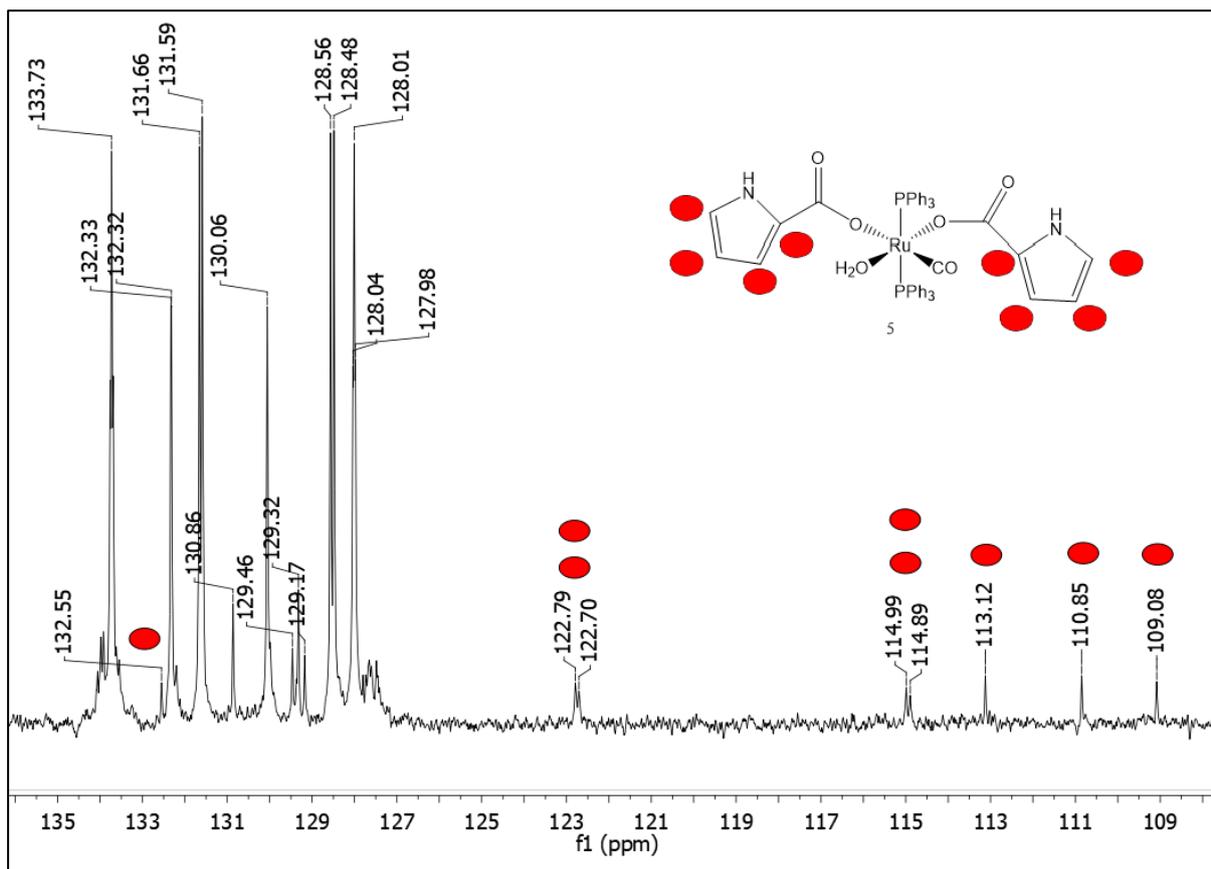


Figura 51: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso **5**, zona aromatica

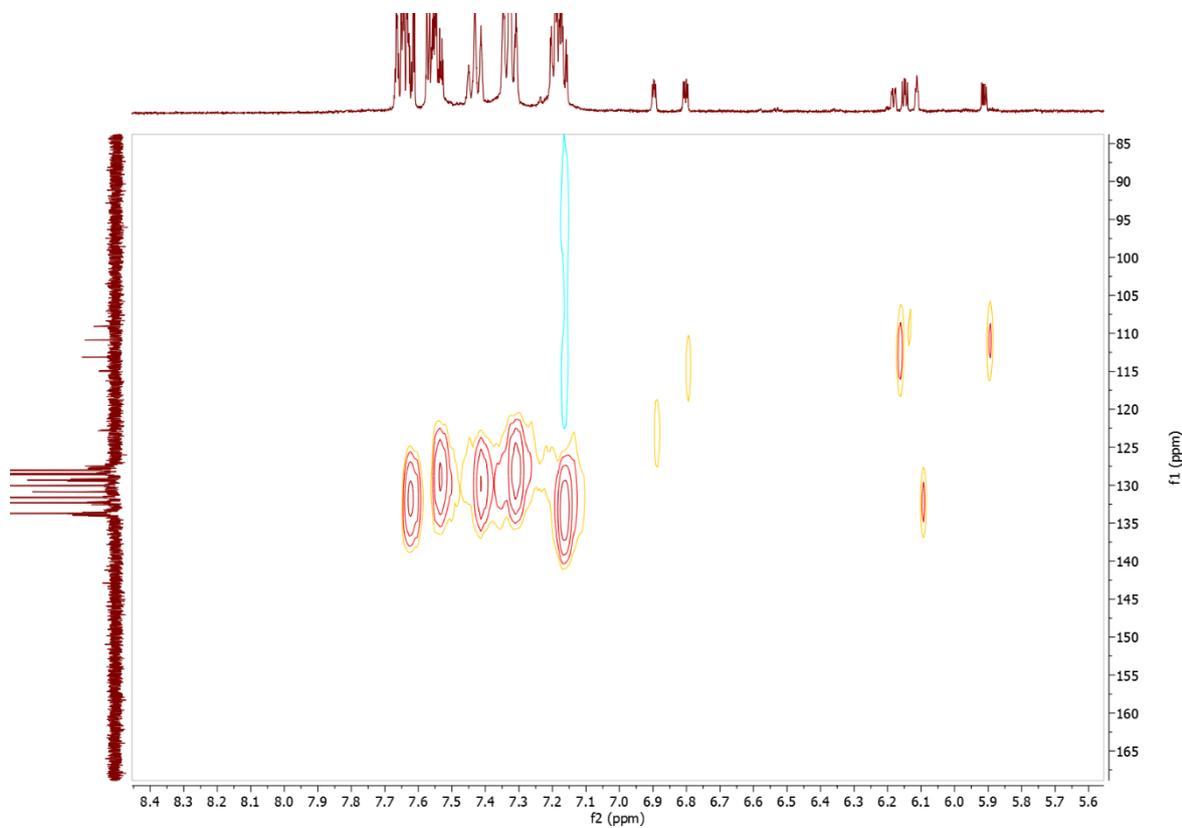


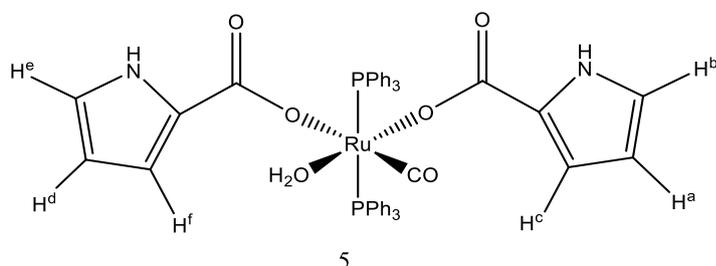
Figura 52: Analisi 2D-HSQC del complesso **5**

Nello spettro HSQC è presente del rumore e le macchie risultano allargate, ma è possibile distinguere i segnali indagati.

I segnali C–H dei leganti pirrolici sono i seguenti: 5,92–110,85 ppm; 6,11–132,55 ppm; 6,16–109,08 ppm; 6,19–113,12 ppm; 6,81–114,89 ppm; 6,90–122,79 ppm. A questo punto, per esclusione si può assegnare i segnali a 114,99 e a 122,70 ppm ai due carboni quaternari dei due anelli pirrolici.

I segnali protonici di PPh₃ e PPh₃O sono dei multipletti molto complicati e in molti casi sovrapposti per cui sono riportati solo i valori dello spettro ¹³C{¹H} NMR. I segnali C–H delle trifenilfosfine si trovano a 128,01, 130,06 e a 133,73 ppm, mentre quelli del PPh₃O si trovano a 128,52 e a 131,62 ppm. Questa assegnazione non è esaustiva, infatti, i segnali molto allargati dello spettro non permettono di ottenere altre evidenze, inoltre vi sono dei carboni quaternari che non possono essere attribuiti dalla sola analisi dello spettro HSQC.

Infine, in base alle costanti di accoppiamento sono stati individuati i due sistemi di spin dei due leganti (tabella 4). Per sistema di spin si intendono i protoni che sono accoppiati all'interno dello stesso sistema, ma non con quelli dell'altro poiché i due sistemi sono isolati tra di loro.



	Chemical shift (ppm)	Prima costante di accoppiamento	Seconda costante di accoppiamento
H ^a	5,92	³ J(H ^a H ^b)= 3,8 Hz	³ J(H ^a H ^c)= 1,8 Hz
H ^b	6,19	³ J(H ^b H ^a)= 3,8 Hz	⁴ J(H ^b H ^c)= 1,3 Hz
H ^c	6,12	³ J(H ^c H ^a)= 1,8 Hz	⁴ J(H ^c H ^b)= 1,3 Hz
H ^d	6,16	³ J(H ^d H ^f)= 3,7 Hz	³ J(H ^d H ^e)= 2,5 Hz
H ^e	6,90	³ J(H ^e H ^d)= 2,5 Hz	⁴ J(H ^e H ^f)= 1,5 Hz
H ^f	6,81	³ J(H ^f H ^d)= 3,7 Hz	⁴ J(H ^f H ^e)= 1,5 Hz

Tabella 4: Costanti di accoppiamento complesso 5, l'assegnazione dei protoni da H^a a H^f è stata data osservando le costanti di accoppiamento e il chemical shift dei segnali.

Per confermare la presenza dei due sistemi di spin è stato registrato uno spettro bidimensionale COSY. Il COSY è l'esperimento bidimensionale omocorrelato (1H, 1H) più frequentemente utilizzato, questo prevede una correlazione di chemical shift dello stesso nucleo in entrambe le dimensioni in cui la diagonale corrisponde allo spettro al protone e i segnali esterni ad essa, accoppiano con i nuclei sulla diagonale.

Lo spettro COSY del complesso **5** (figura **53**) conferma la presenza dei due sistemi di spin. I segnali H^d e H^b si trovano molto vicini nello spettro (sono distanziati da 0,03 ppm), tuttavia si riesce a distinguere le due macchie sulla diagonale.

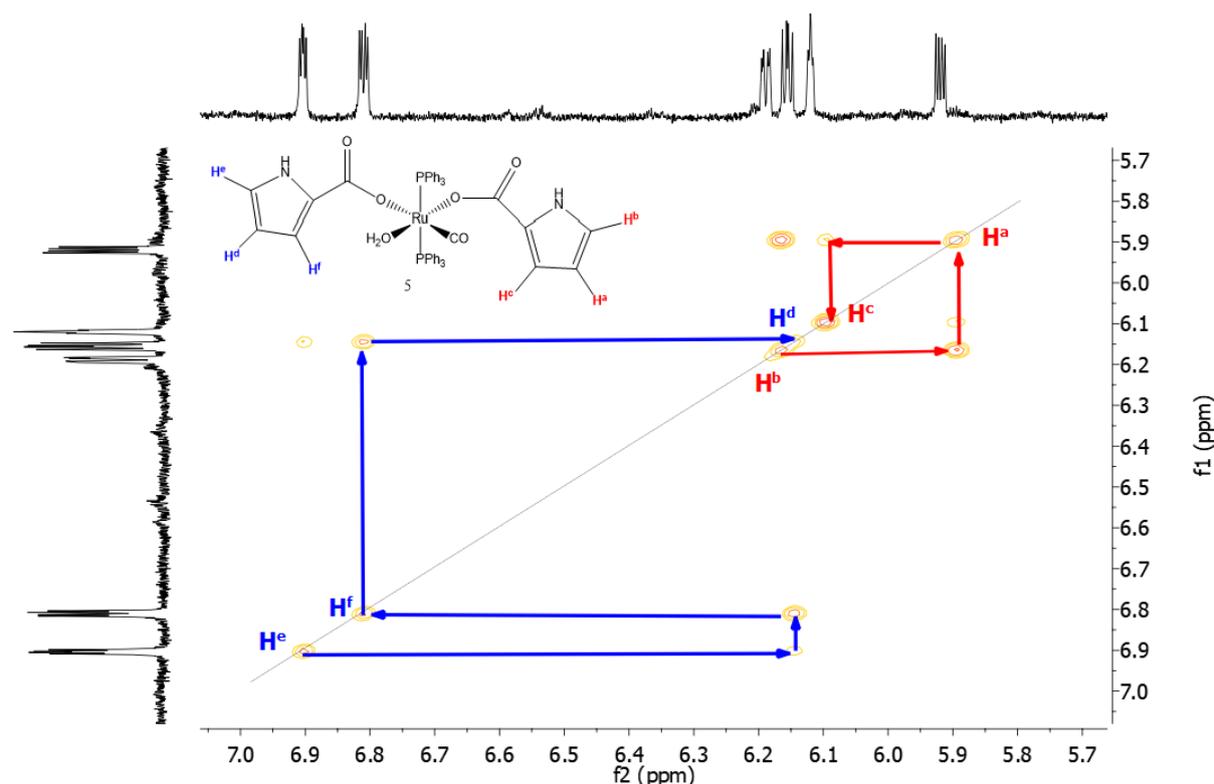


Figura 53: GCOSY del complesso **5**

3.5 Caratterizzazione di $\kappa^2\text{-(O,O)[Ru(CO)(PPh}_3\text{)(Pyr-COO)}_2\text{]}$

In linea con lo scopo di questo lavoro di ricerca, è stata indagata una reazione per sostituire due fosfine dal complesso $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ in modo da ottenere un complesso più compatibile per le indagini biologiche. La sostituzione di due fosfine per reazione con l'acido pirrolo 2-carbossilico, legante chelante O,O-, determina la formazione del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[Ru(CO)(PPh}_3\text{)(Pyr-COO)}_2\text{]}$.

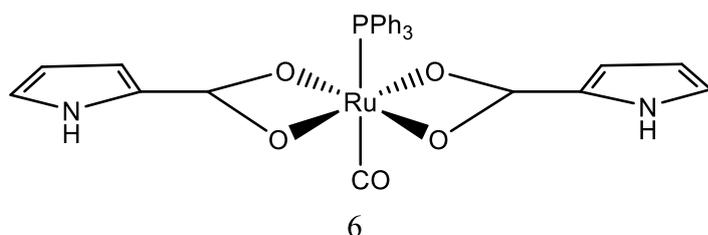


Figura 54: Complesso 6, $\kappa^2-(O,O)[Ru(CO)(PPh_3)(Pyr-COO)_2]$

In analogia a quanto riportato in precedenza, la coordinazione del secondo legante pirrolico è più difficoltosa. Inoltre, le reazioni già discusse mostrano la tendenza del secondo equivalente di acido pirrolo 2-carbossilico a formare un legame monodentato con il metallo. Queste condizioni conducono ad attribuire la precedente osservazione alla maggior energia relativa dovuta all'allontanamento della seconda fosfina come confermato dai calcoli DFT (figura 55). L'energia relativa del complesso 6 è maggiore di 35,2 kcal/mol rispetto al complesso 1. Per questi motivi l'allontanamento della seconda fosfina richiede condizioni ancora più drastiche.

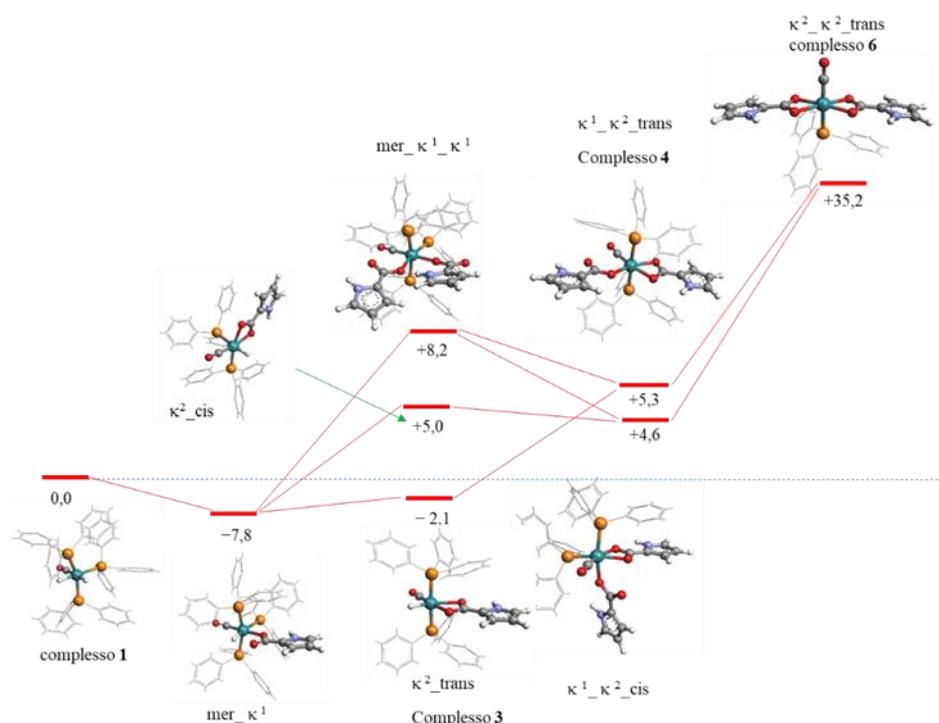


Figura 55: Calcoli delle energie relative in kcal/mol, le energie non sono in scala. I calcoli evidenziano la difficoltà di ottenere il prodotto $\kappa^2-(O,O)[Ru(CO)(PPh_3)(Pyr-COO)_2]$ perché è a maggiore energia rispetto agli altri prodotti.

La reazione è stata condotta a microonde in 1,2-dimetossietano scaldando la miscela di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ e 2 equivalenti di acido pirrolo 2-carbossilico per 12 ore. Il prodotto viene filtrato su celite, tirato a secco e analizzato tramite FTIR ATR e ^1H NMR.

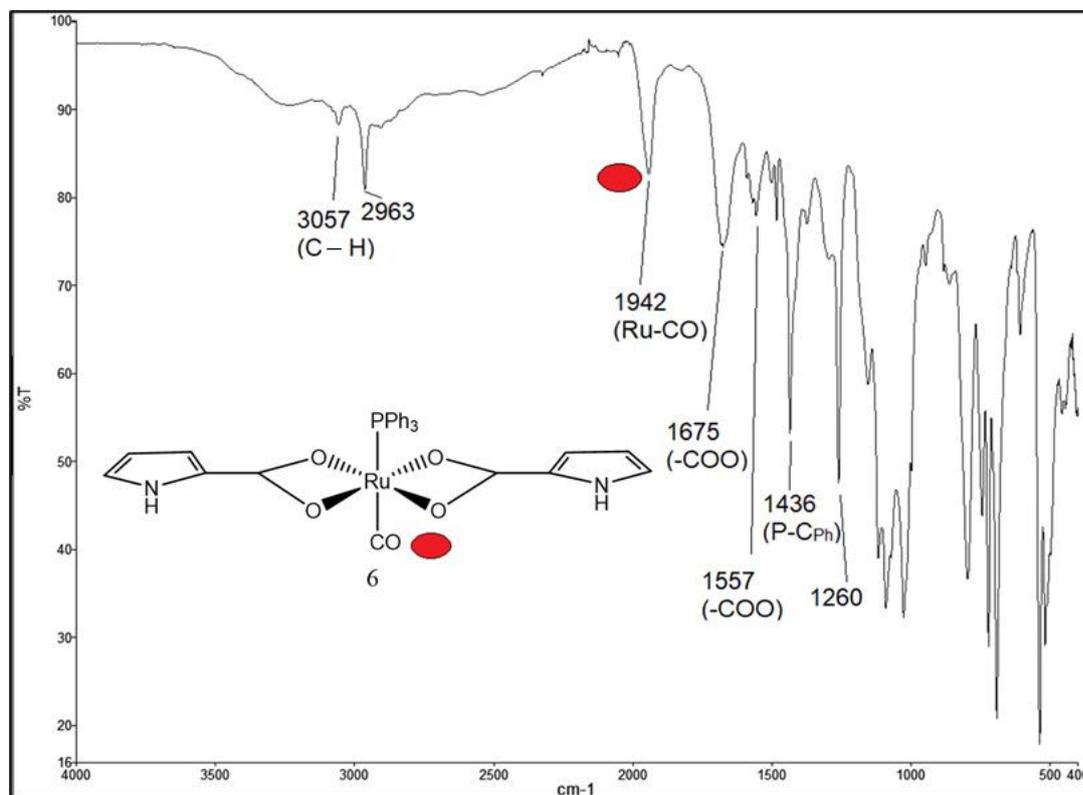


Figura 56: FTIR del complesso **6**

Dallo spettro FTIR (Figura **56**) si nota che la banda del CO si è spostata a 1942 cm^{-1} . Il numero d'onda dello stretching del CO non corrisponde a nessuno dei complessi precedentemente trattati, per cui è un complesso con una struttura differente caratterizzato da una diversa retrodonazione da parte del metallo a orbitali di antilegame del CO.

Il complesso **6** è stato analizzato all' ^1H NMR. Tra 5,90 ppm e 6,60 ppm si trovano 3 singoletti che possono essere attribuiti ai CH pirrolici e a 8,41 ppm si trova un segnale che può essere attribuito al protone amminico NH. Si osservano solo 4 segnali perché il complesso è simmetrico (gruppo puntuale C_2V) e gli atomi dei due leganti organici si trovano nello stesso intorno chimico. Inoltre, non si osserva la presenza di idruri tra 0 e -20 ppm. Nella figura **57** l'attribuzione è stata effettuata solo in base al chemical shift perché, in analogia al complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{Pyr-2COO})]$ i segnali sono allargati e non si distingue la molteplicità.

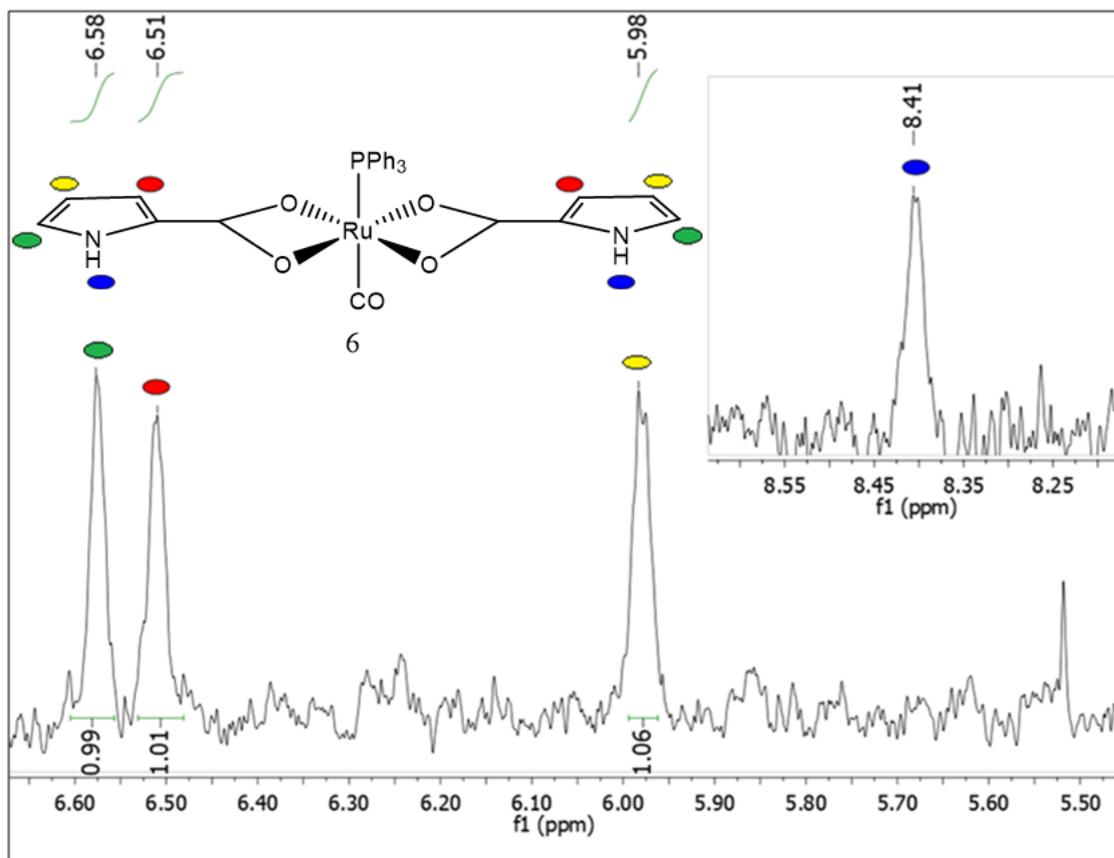


Figura 57: Spettro ^1H NMR del complesso **6**

Si può ipotizzare che la trifenilfosfina e il CO si trovino in reciproca posizione *trans* e che i segnali dei due leganti organici si trovano nello stesso intorno chimico a causa della simmetria del complesso.

Non sono state effettuate altre analisi del complesso **6** a causa della scarsa quantità di prodotto (resa del 34%), inoltre degrada rapidamente in presenza di solventi clorurati come il cloroformio e il diclorometano. Basandosi unicamente sull'analisi FTIR e ^1H NMR non si può affermare con certezza che il complesso abbia la struttura proposta, questa è da ritenersi unicamente come un'ipotesi che necessita di ulteriori studi per essere avvalorata.

3.6 Caratterizzazione di $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-AMF)]}$

Il legante organico utilizzato per la reazione con il complesso $[\text{Ru(H)}_2\text{(CO)(PPh}_3)_3]$ è una base di Schiff, questa è stata sintetizzata per reazione del pirrol-2-aldeide con il 2-amminofenolo in etanolo a refluxo.

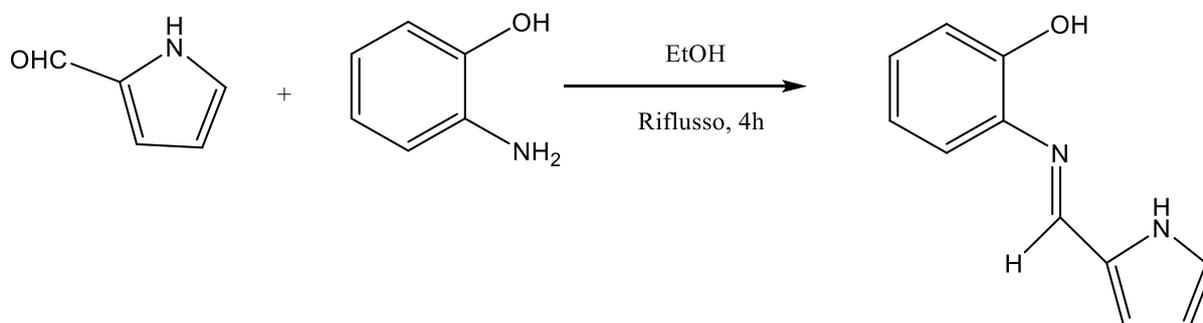


Figura 58: Sintesi della base di Schiff

L'immina è stata purificata per cromatografia su colonna e successivamente ricristallizzata a -20°C . Si ottiene un solido cristallino arancione che viene filtrato e caratterizzato con FTIR e $^1\text{H NMR}$.

Lo spettro FTIR dell'immina è mostrato nella figura **59**. Gli assorbimenti dovuti allo stretching dei legami N-H e O-H sono stati identificati rispettivamente a 3333 cm^{-1} e a 3276 cm^{-1} . Inoltre, si può osservare la banda a 1622 cm^{-1} del gruppo azometinico C=C=N caratteristico delle basi di Schiff.

Nello spettro $^1\text{H NMR}$ si possono osservare 9 segnali che integrano 1H. I due segnali più deschermati sono stati attribuiti rispettivamente al protone dell'OH a 9,29 ppm e al gruppo H-C=N a 8,46 ppm. Le assegnazioni nella figura **60** sono state date in base al chemical shift e alle costanti di accoppiamento.

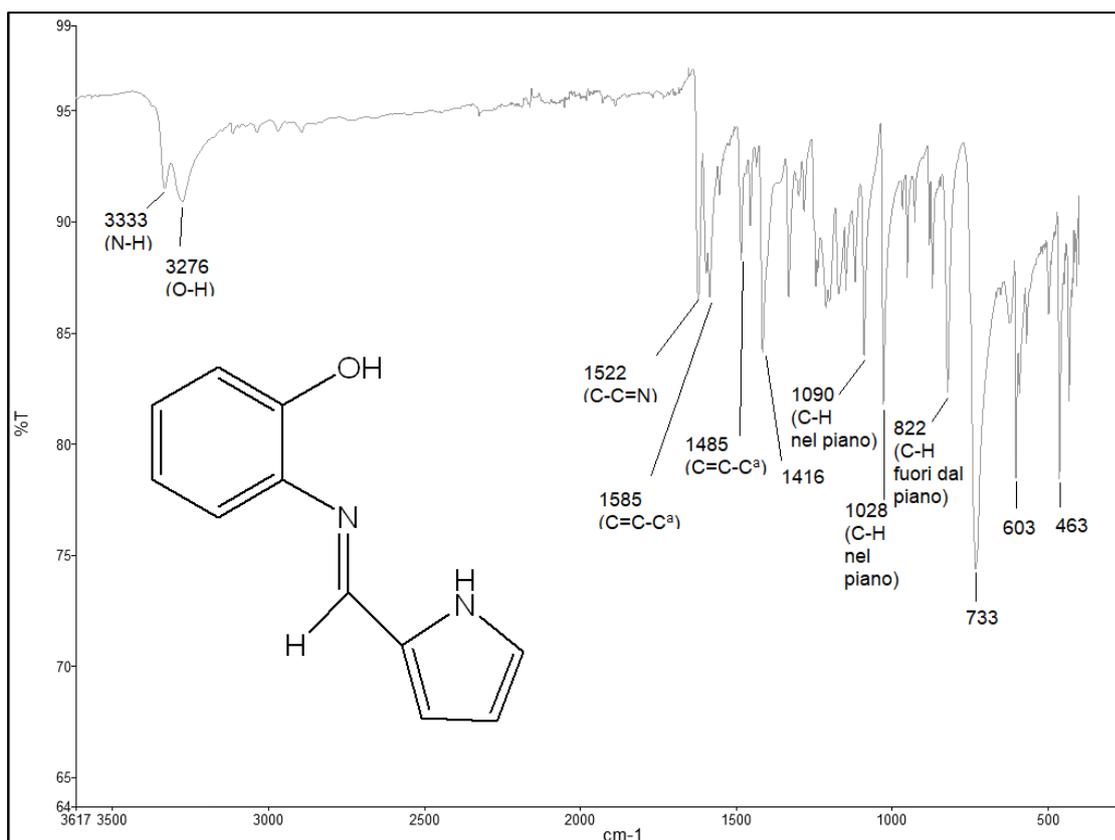


Figura 59: FTIR della base di Schiff, valori in cm^{-1}

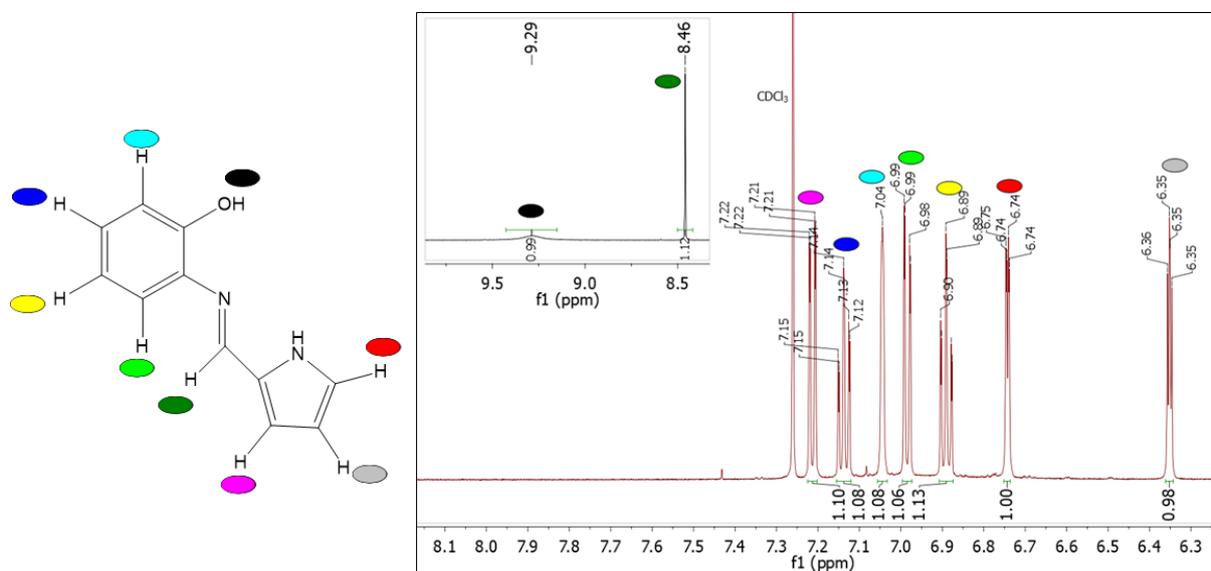


Figura 60: Spettro ^1H NMR della base di Schiff

Il prodotto metallorganico è stato sintetizzato per reazione del complesso $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ con la base di Schiff in diossano. La miscela di reazione viene portata a refluxo scaldando con una piastra riscaldante. Dopo 40 minuti, si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela sottovuoto.

In seguito all'aggiunta di esano, precipita un solido rosso che viene filtrato su celite, eluito con etere etilico e tirato a secco.

La base di Schiff sintetizzata contiene due atomi di azoto e un atomo di ossigeno. Per reazione con il complesso $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ i tre eteroatomi possono coordinarsi al metallo portando alla formazione di 3 diverse strutture (figura 61). L'immina può chelare il metallo con tutti e 3 gli eteroatomi con la formazione di un complesso N,N,O-, oppure può formare un legame N,N- oppure eteroleptico N,O-.

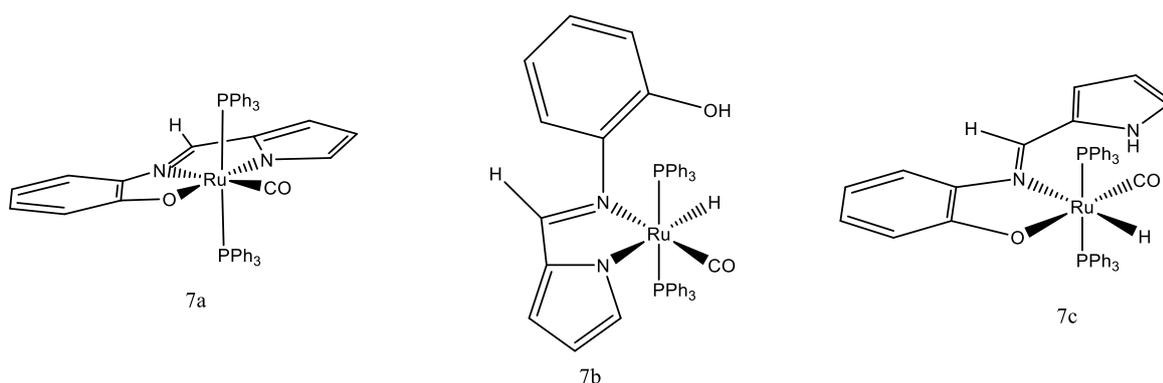


Figura 61: Possibili coordinazioni della base di Schiff

Per determinare la struttura e la purezza del prodotto ottenuto, questo è stato analizzato con ESI-MS, FTIR, ^1H NMR, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR e tecniche bidimensionali eterocorrelate.

L'analisi ESI-MS (figura 62) indica la massa dello ione molecolare con un controione H^+ a 841 m/z. Questa analisi conferma che è stata coordinata l'immina e permette di escludere la coordinazione N,N,O- poiché la massa esatta del complesso trischelato (7a) è minore. Il picco molecolare a 841 m/z è compatibile sia con la struttura 7b che 7c per cui non permette di ottenere ulteriori informazioni sulla coordinazione della base di Schiff.

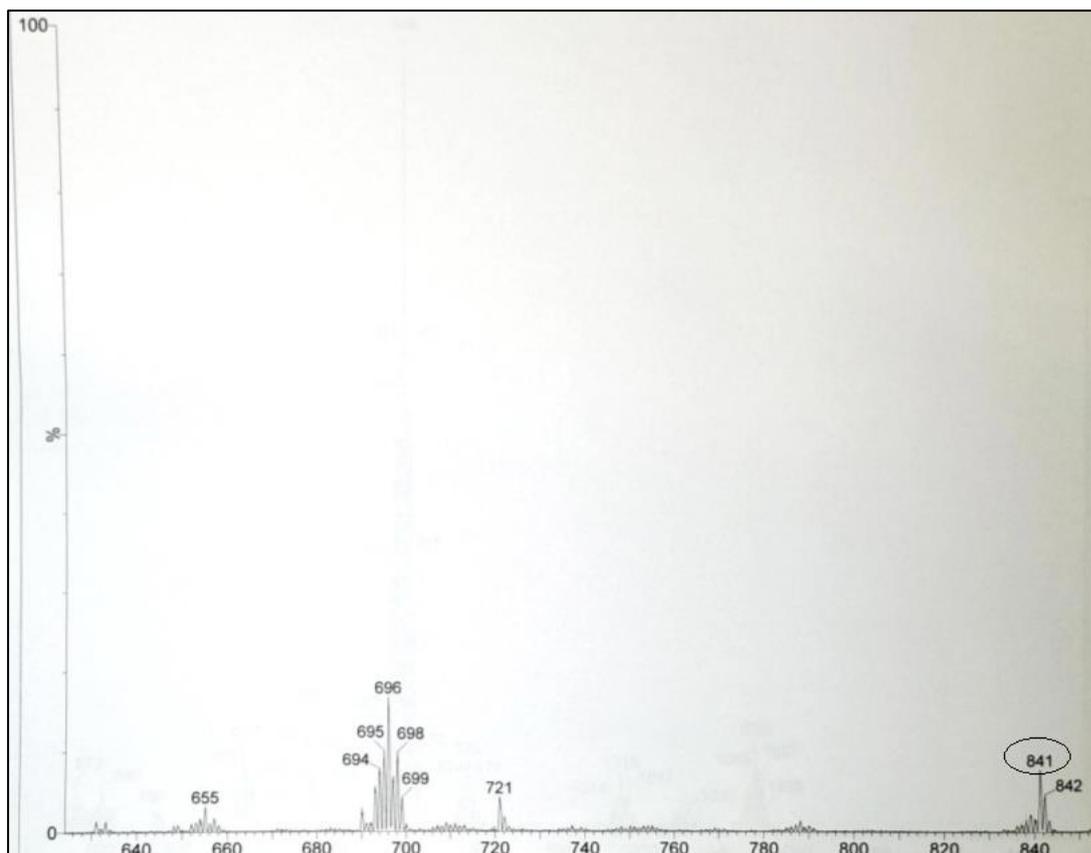


Figura 62: Analisi ESI-MS, ascissa: m/z

L'analisi FTIR (figura **63**) permette di ottenere molte informazioni sulla struttura del complesso. Lo spettro FTIR del complesso mostra una banda dello stretching N-H a 3301 cm^{-1} , mentre nel legante isolato questa si trova a 3333 cm^{-1} . A 1996 cm^{-1} è presente una banda che può essere assegnata allo stretching Ru-H e a 1920 cm^{-1} si trova una banda molto intensa dell'assorbimento Ru-CO. Lo stretching del gruppo azometinico si sposta da 1522 cm^{-1} nel legante isolato a 1559 cm^{-1} nel complesso, inoltre si possono osservare due bande che possono essere attribuite alla vibrazione del legame P-C a 1480 e a 1432 cm^{-1} .

Lo spostamento della banda dello stretching N-H a 3301 cm^{-1} e la scomparsa della banda dello stretching O-H permettono di ipotizzare la coordinazione N,O-dell'immina con il centro metallico, quindi il complesso sintetizzato viene attribuito alla struttura **7c**.

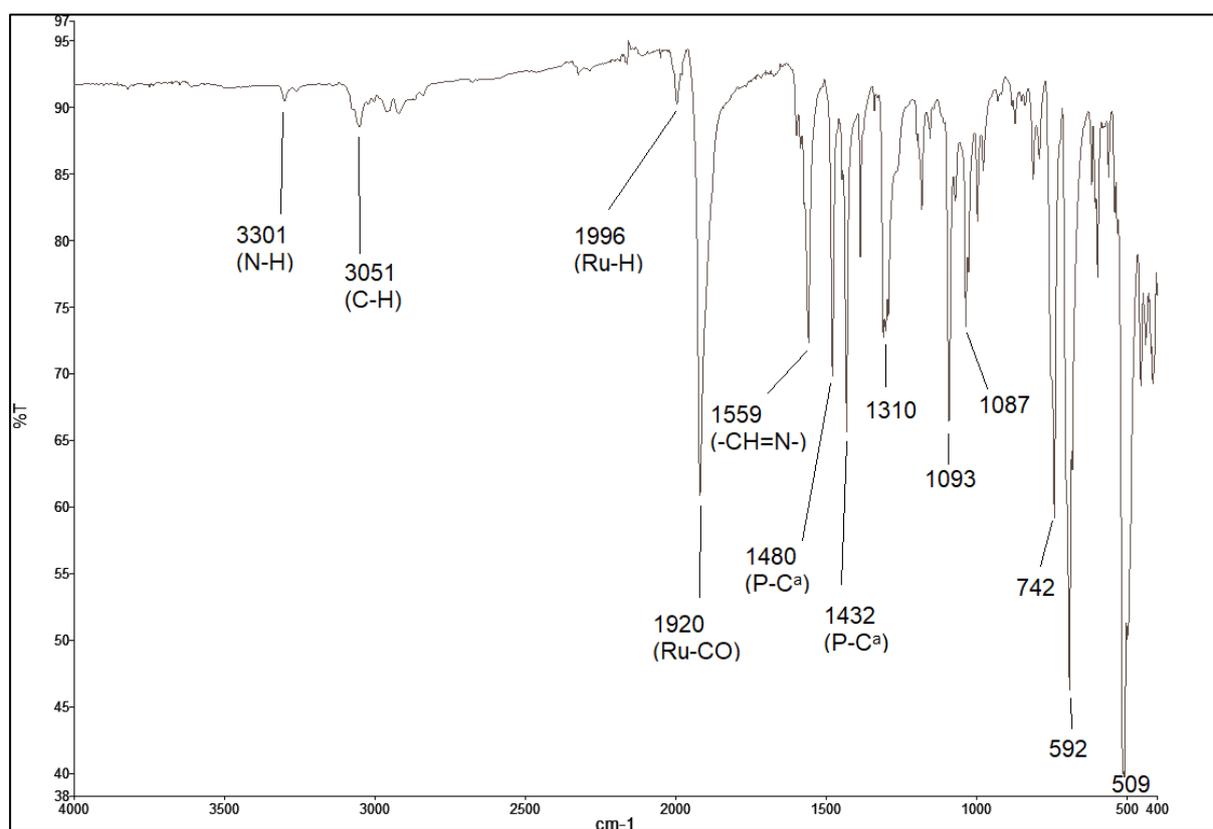


Figura 63: Spettro FTIR del complesso **7c**

Le analisi NMR hanno permesso di confermare la struttura del complesso sintetizzato. Nella zona idrurica dello spettro ^1H NMR (figura **64**) si osserva un tripletto molto risolto a -11.67 ppm. Nella zona aromatica tra 5.70 e 7.30 ppm (figura **65**) si osservano 6 segnali che possono essere assegnati al fenile e all'anello pirrolico della base di Schiff coordinata e un multipletto molto allargato che integra 30H che può essere attribuito alle due trifenilfosfine coordinate. Si può notare che i segnali nello spettro del prodotto metallorganico si sono spostati rispetto a quelli dell'immina non coordinata.

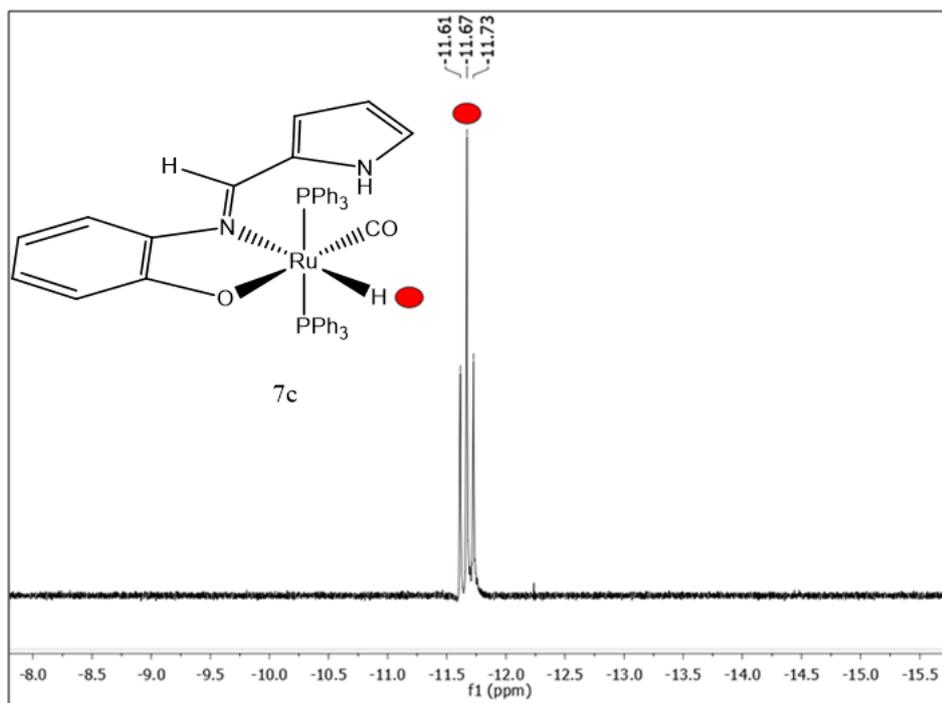


Figura 64: Spettro ^1H NMR del complesso **7c**, zona idrurica

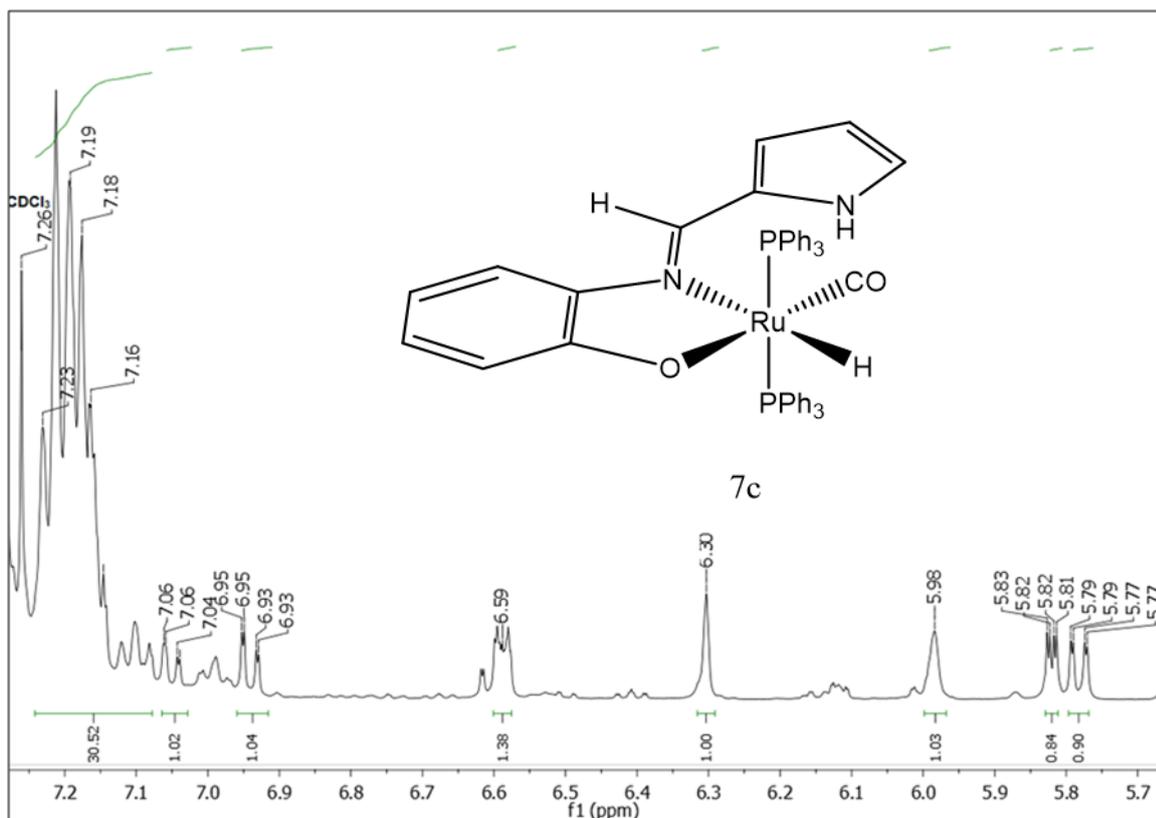


Figura 65: Spettro ^1H NMR complesso **7c**, zona aromatica

Nello spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR sono stati identificati 11 segnali che possono essere assegnati all'immina coordinata e un segnale poco intenso a 233,02 ppm che può

essere attribuito al CO direttamente legato al metallo. Tra 127 e 137 ppm vi sono i segnali delle trifenilfosfine.

Per distinguere i carboni quaternari dagli altri segnali dello spettro ^{13}C è stato registrato uno spettro 2D-HSQC (figura 67). Per esclusione dei segnali C-H si evince che i 3 carboni quaternari della base di Schiff coordinata si trovano a 149,67 ppm, 142,03 ppm e 119,96 ppm. Inoltre, l'HSQC permette di distinguere il protone del gruppo H-C=N dai segnali delle trifenilfosfine, questo si trova a 7,38–157,11 ppm

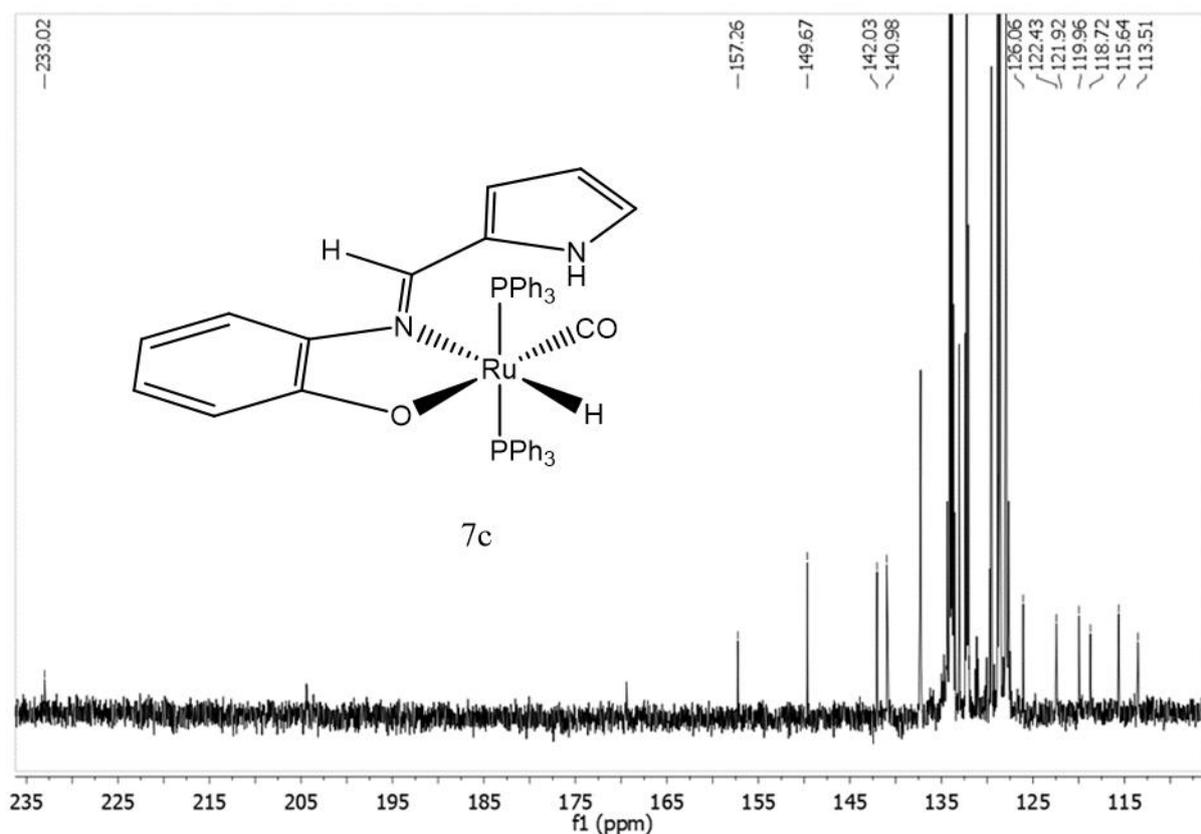


Figura 66: Spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso 7c

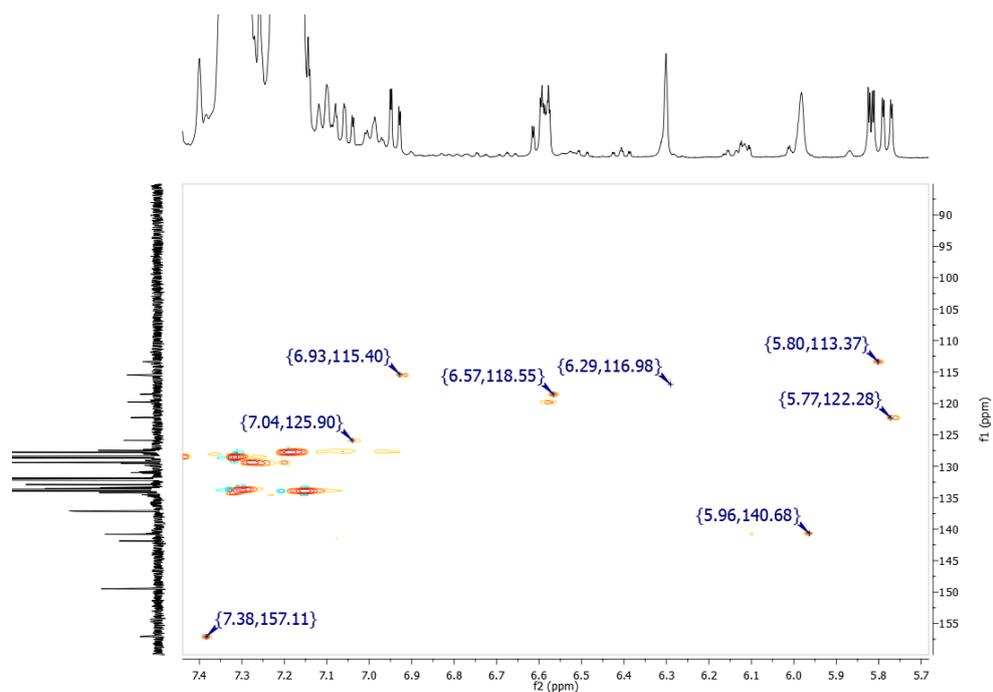


Figura 67: 2D-HSQC del complesso **7c**

Infine, il prodotto **7c** è stato caratterizzato mediante $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (figura **68**). Lo spettro presenta due segnali di cui il più intenso è un doppietto a 43,00 ppm attribuibile ai fosfori della trifenilfosfina presenti nel complesso, in dimostrazione del fatto che sono magneticamente equivalenti, si trovano in posizione *trans* e accoppiano con l'idruro direttamente legato al metallo. Il secondo segnale a 30,53 ppm, di minore intensità, è stato attribuito ad un prodotto secondario.

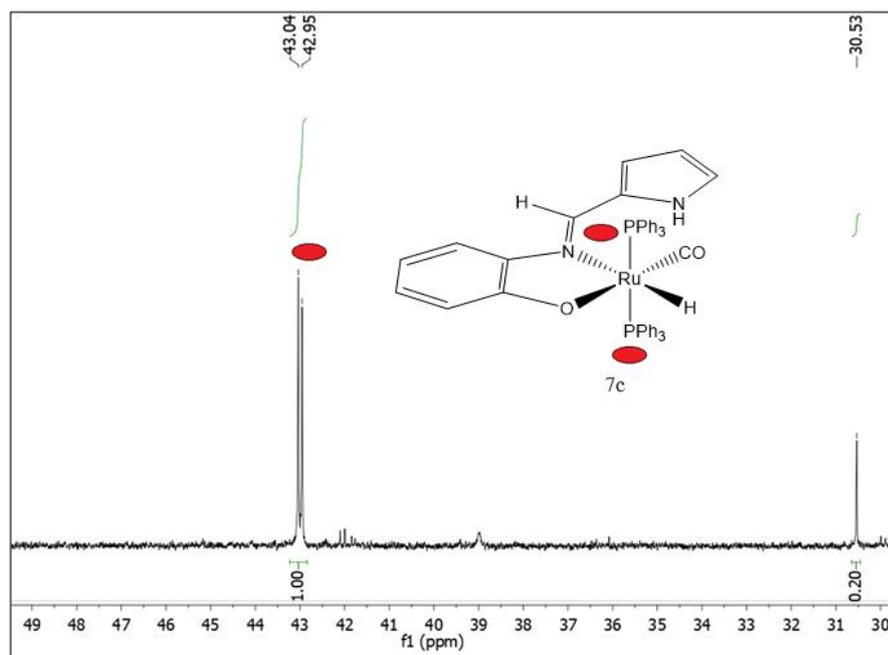


Figura 68: $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso **7c**

3.7 Caratterizzazione di $\kappa^2\text{-(N,O) [RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$

Il legante organico utilizzato per la sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ è il 5-idrossi-L-triptofano (figura 69).

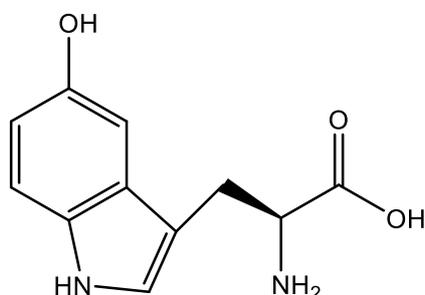


Figura 69: Struttura del 5-HTP

Il 5-HTP isolato è stato caratterizzato mediante FTIR e $^1\text{H NMR}$ per confrontare gli spettri con quelli del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$. Il 5-HTP è un composto molto studiato per la sua attività biologica e la descrizione del suo spettro FTIR è riportata in letteratura.²⁴

Lo spettro FTIR del legante 5-HTP (figura 70) mostra le tipiche vibrazioni associate al gruppo N-H dell'indolo e al gruppo O-H rispettivamente a 3385 cm^{-1} e a 3245 cm^{-1} . A 3114 cm^{-1} si può osservare una banda del gruppo NH^{3+} dovuta alla forma zwitterionica della molecola. Si osservano la vibrazione $\delta(\text{CH}_2) + \nu(\text{CO})$ a 1432 cm^{-1} , lo stretching C-N dell'indolo a 1351 cm^{-1} e la banda dell'O-H del gruppo carbossilico a 1221 cm^{-1} .

Lo spettro $^1\text{H NMR}$ è stato registrato in CD_3OD perché il 5-HTP è poco solubile in CDCl_3 . Nello spettro $^1\text{H NMR}$ si possono osservare 6 segnali perché due idrogeni sono diastereotopici. I 4 segnali tra 7,40 e 6,60 ppm possono essere attribuiti agli idrogeni dell'indolo, mentre i 3 segnali tra 3,90 e 3,00 ppm ai C-H della catena alifatica.

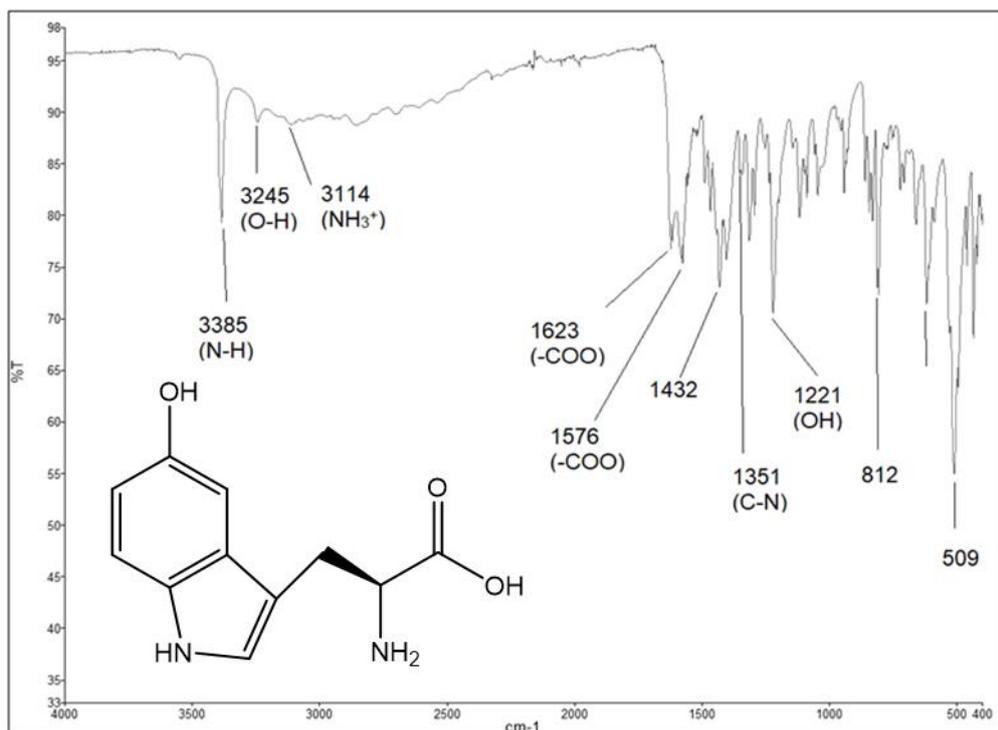


Figura 70: Spettro FTIR del 5-HTP, asse y in %T

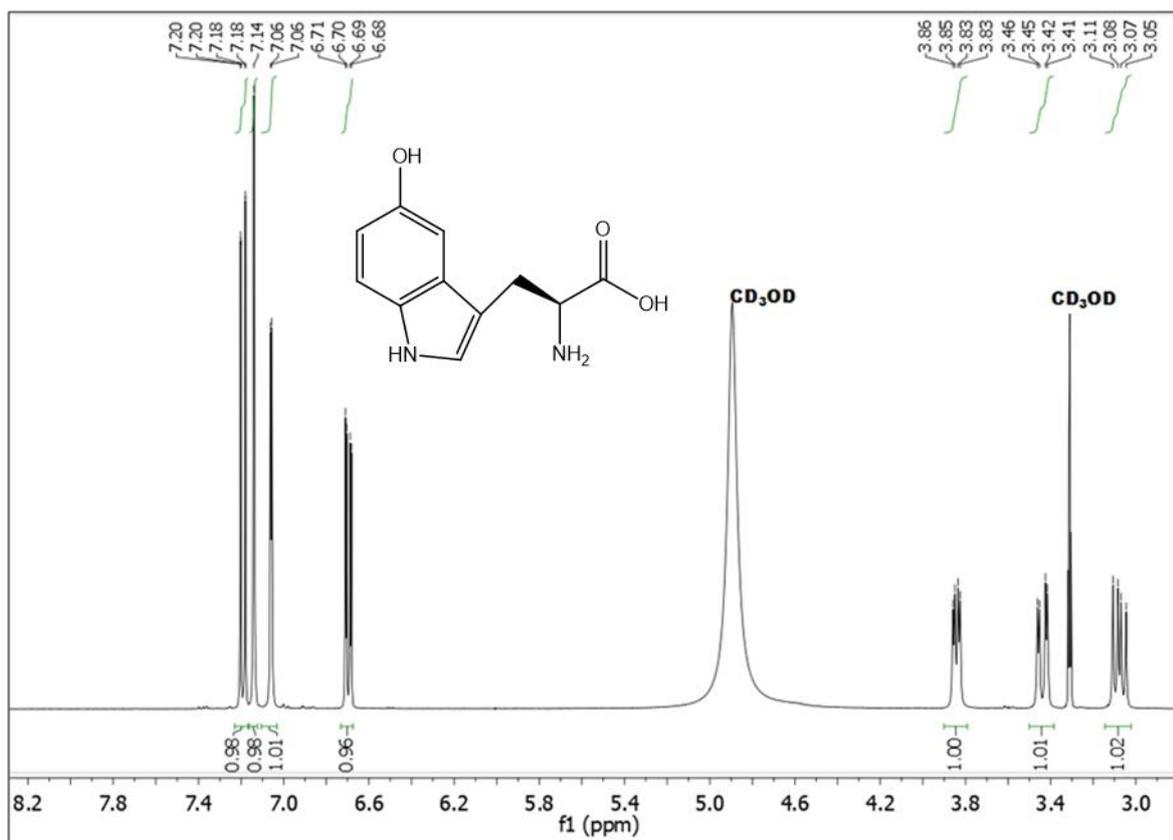


Figura 71: ¹H NMR 5-HTP in CD₃OD

Il complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ è stato sintetizzato per reazione di $[\text{Ru(H)}_2\text{(CO)(PPh}_3)_3]$ con il 5-HTP in etanolo a refluxo. Dopo 4 ore, si lascia raffreddare e si riduce il volume della miscela sottovuoto. Dopo l'aggiunta di etere etilico precipita un solido bianco che viene filtrato e lavato con esano, etere etilico e diclorometano.

Il prodotto viene caratterizzato mediante FTIR, ESI-MS, $^1\text{H NMR}$, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR, 2D-HSQC, NOESY1D ed NMR a temperatura variabile.

Dallo spettro FTIR si possono notare delle bande caratteristiche peculiari del complesso sintetizzato. Le bande a 3339 e a 3280 cm^{-1} sono attribuibili rispettivamente allo stretching N-H e O-H del legante organico coordinato. La banda a 3053 cm^{-1} viene attribuita allo stretching dei legami C-H dell'indolo e dei fenili delle fosfine. La banda a 1959 cm^{-1} può essere assegnata all'assorbimento Ru-H mentre quella a 1922 cm^{-1} all'assorbimento Ru-CO. La banda del gruppo carbossilico si sposta da 1623 cm^{-1} nel legante isolato a 1594 cm^{-1} nel complesso. Infine, a 1480 e a 1433 cm^{-1} sono presenti due bande che possono essere assegnate all'assorbimento P-C.

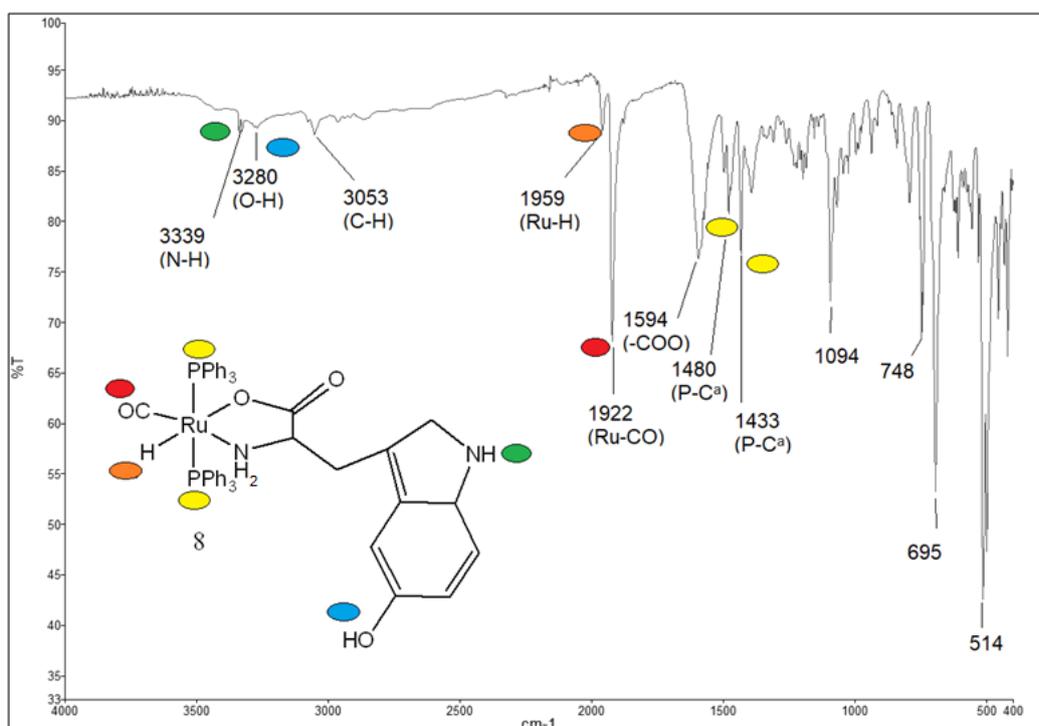


Figura 72: Spettro FTIR complesso 8, valori in cm^{-1}

L'analisi ESI-MS del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ indica lo ione molecolare con un controione Na^+ . Si può notare il picco molecolare a 897 m/z che è stato cerchiato nella figura **73**.

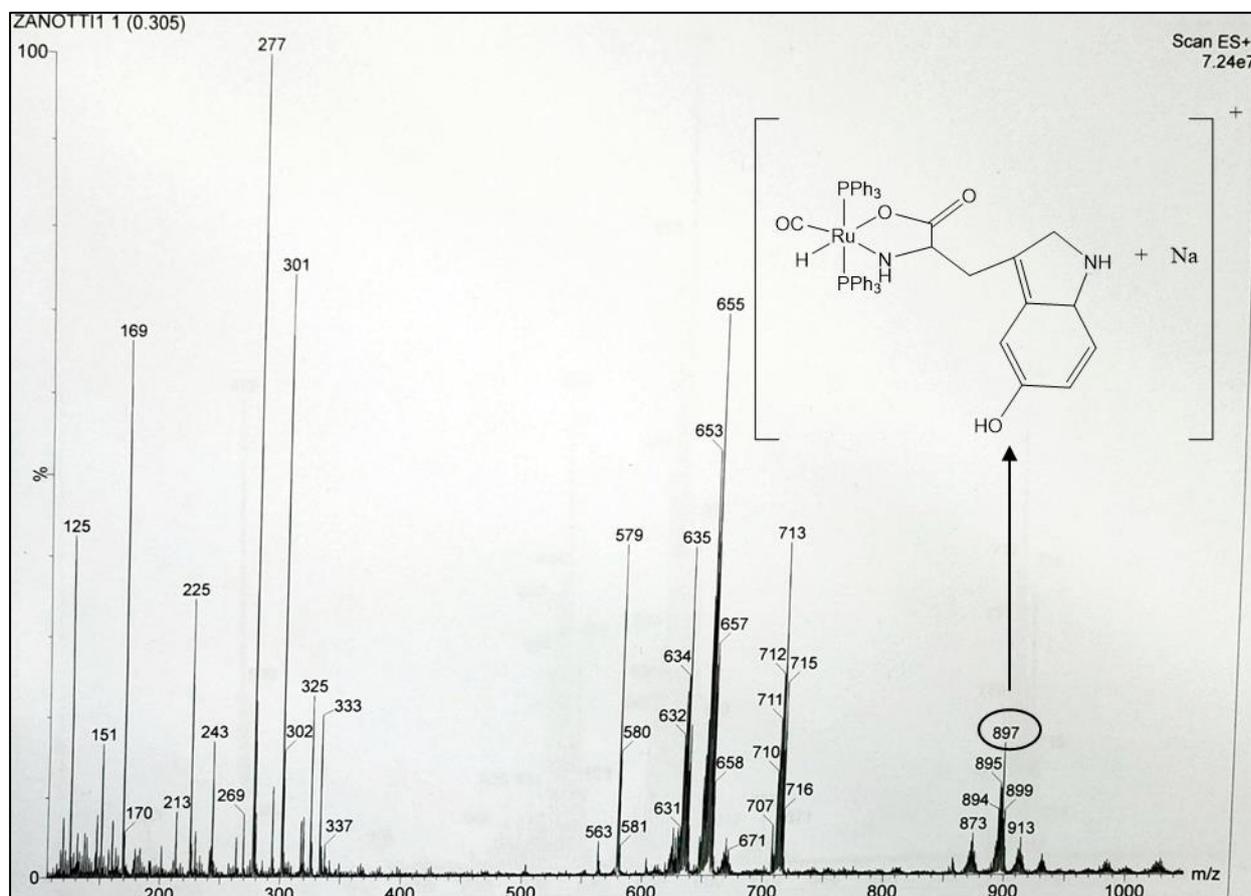


Figura 73: Analisi ESI-MS del complesso **8**

Nella zona idrurica dello spettro $^1\text{H NMR}$ del complesso **8** in metanolo deuterato (figura **74**) si può osservare un tripletto molto risolto a $-10,84$ ppm.

Nella zona aromatica dello spettro $^1\text{H NMR}$ (figura **75**) tra 6.25 e 7.20 si notano 4 segnali che possono essere attribuiti agli idrogeni dell'indolo e tra 7.25 a 7.70 sono presenti i segnali delle trifenilfosfine che sono dei multipletti che integrano 30H. Dalla molteplicità e dalle costanti di accoppiamento i 4 idrogeni dell'indolo possono essere attribuiti singolarmente.

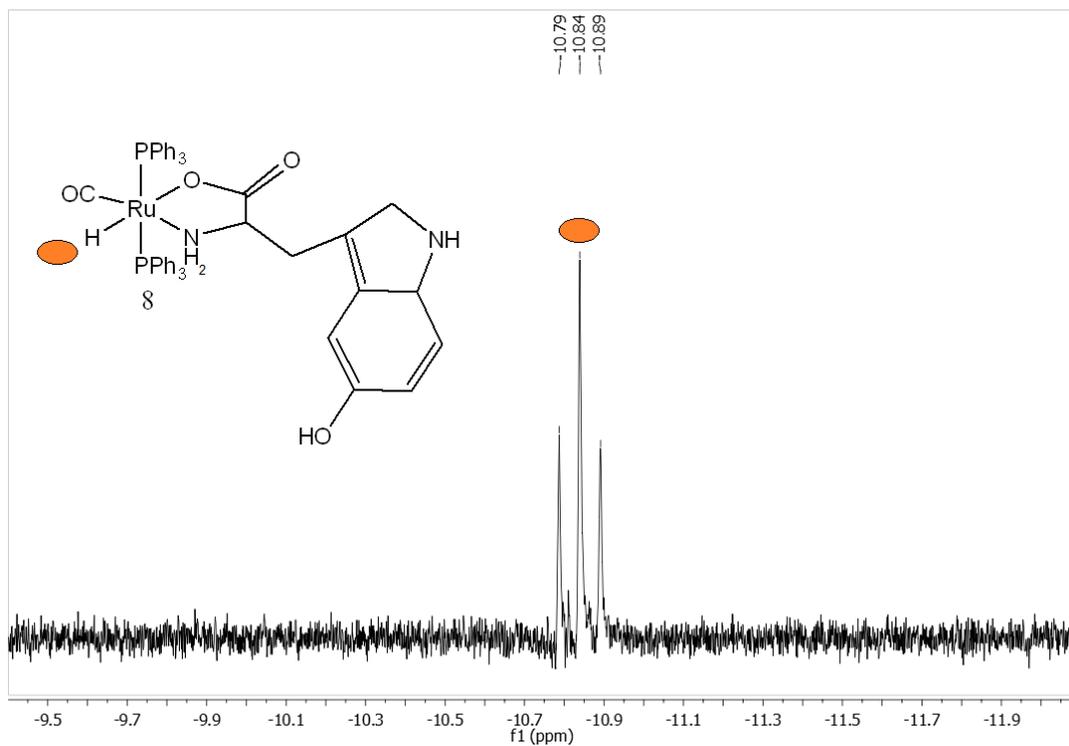


Figura 74: ^1H NMR del complesso **8** in CD_3OD , zona idrurica

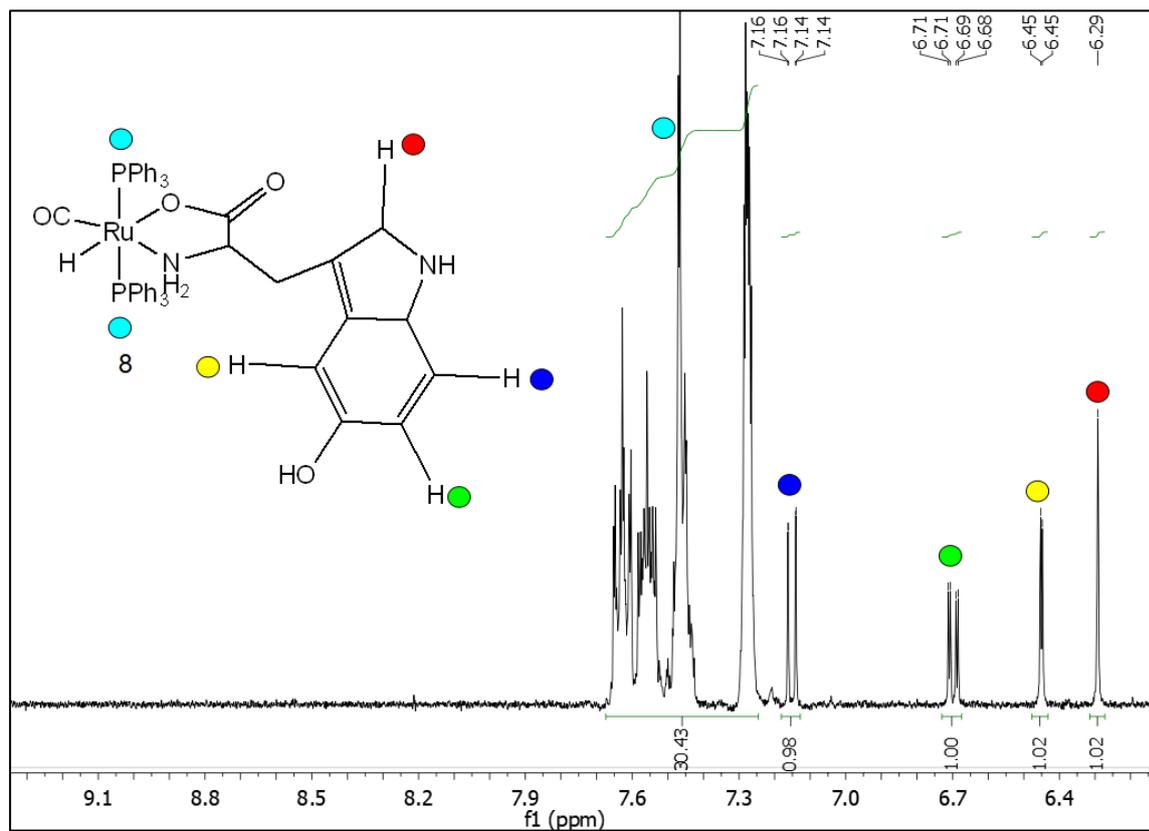


Figura 75: ^1H NMR del complesso **8** in CD_3OD , zona aromatica

È interessante osservare come i segnali aromatici del complesso hanno mantenuto la stessa molteplicità rispetto al legante libero ma risultano spostati (figura 76).

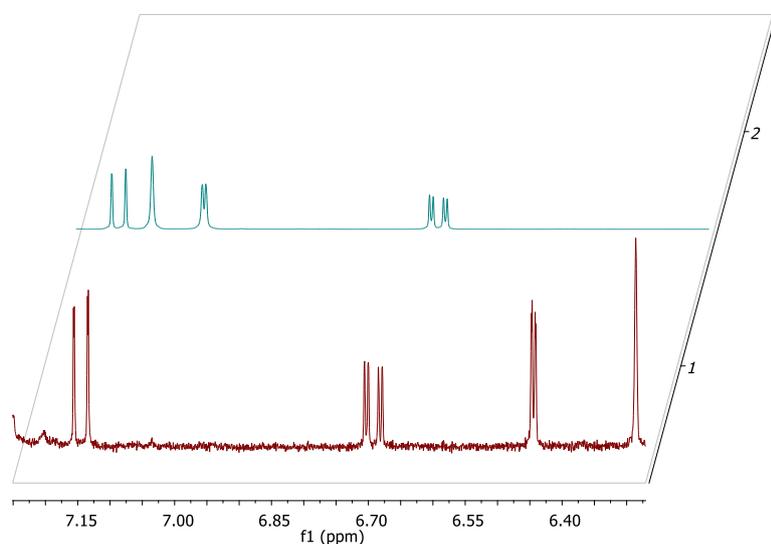


Figura 76: Zona aromatica dello spettro ^1H NMR del complesso **8** (rosso, in basso) e 5-HTP (azzurro, in alto)

Nella zona compresa tra 1,40 e 3,00 ppm dello spettro ^1H NMR del complesso **8** (figura 77) si possono individuare gli ultimi 3 segnali a 2,82, 1,93 e a 1,44 ppm. I due idrogeni a 2,80 ppm e a 1,44 ppm sono diastereotopici e tutti e tre i segnali sono dei doppi doppietti perché i tre idrogeni accoppiano tra di loro. Per confermare l'attribuzione degli idrogeni diastereotopici è stata effettuata un'analisi 2D-HSQC (figura 78) in cui si può osservare che i due idrogeni, i cui segnali si trovano a 2,80 ppm e a 1,44 ppm, sono legati allo stesso carbonio. Le macchie nello spettro 2D-HSQC sono poco intense e sono state cerchiare per una più facile comprensione.

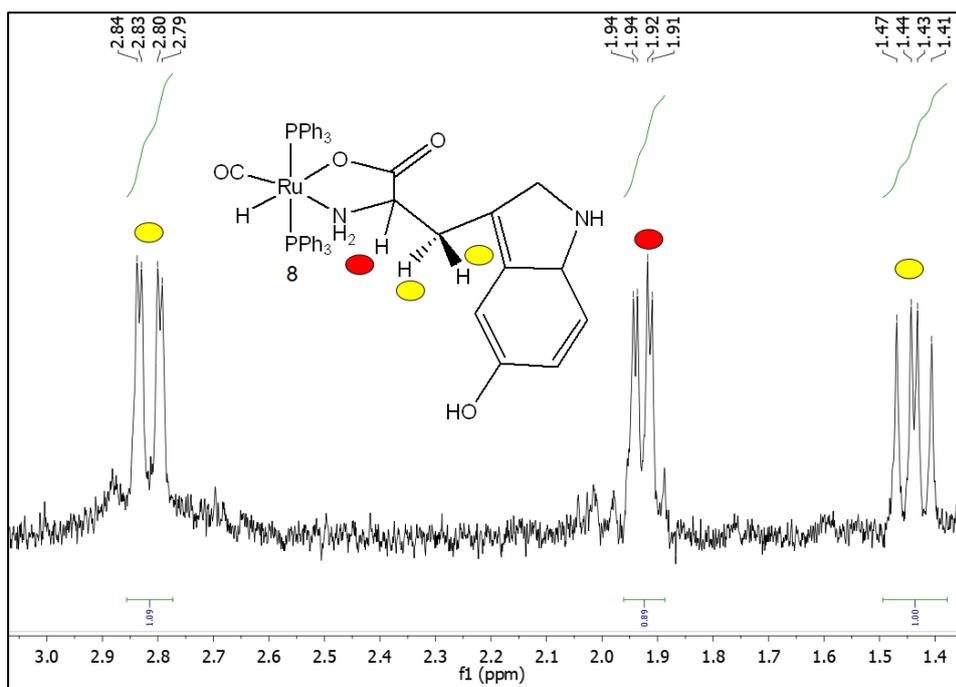


Figura 77: ^1H NMR del complesso **8**, zona 1,40–3,00 ppm

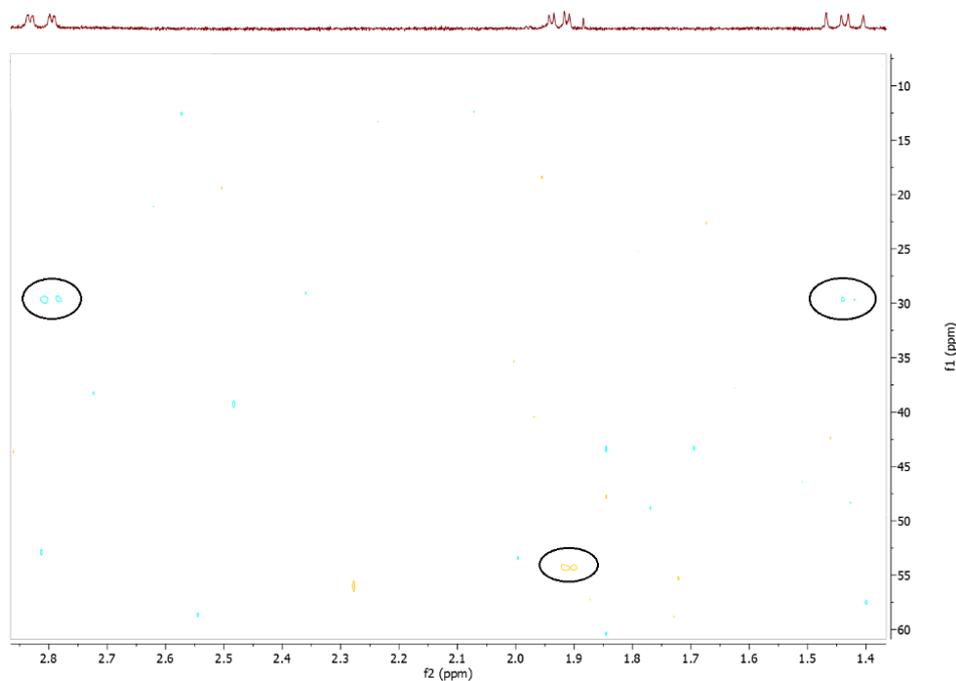


Figura 78: 2D-HSQC del complesso **8**, zona 1,40–3,00 ppm

Nello spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (figura **79**) si possono osservare 2 doppi doppietti. Quindi, si può dedurre che i due fosfori non sono magneticamente equivalenti in quanto il 5-HTP non è planare e quindi in ogni istante durante la sua rotazione gli atomi di fosforo delle fosfine apicali sono da considerare distinti, P^{a} e P^{b} , avvertono 2 intorni molecolari differenti. La costante di accoppiamento più piccola ($^2\text{J}_{\text{P-H}} = 19,1\text{Hz}$) è

dovuta all'accoppiamento tra il fosforo e l'idruro, mentre la costante di accoppiamento più grande (${}^2J_{P-P_{trans}}=300,9$ Hz) è data dall'accoppiamento tra i due fosfori in reciproca posizione *trans*. Il valore della costante di accoppiamento di 300,9 Hz, in linea con altri spettri ${}^{31}P\{^1H\}$ NMR riportati in letteratura,³⁷ è proporzionale alla differenza di δ espressa in Hz. Pertanto, la similarità tra i valori di chemical shift e quelli relativi alla costante di accoppiamento rende il sistema di spin come un unico doppio doppietto che risente di un considerevole effetto di secondo ordine ("effetto tetto").

Lo spettro nella figura 79 è disaccoppiato al protone ma è possibile osservare la costante di accoppiamento ${}^2J_{P-H}$ perché l'idruro cade al di fuori del range di frequenze del disaccoppiatore. Inoltre, nonostante le costanti di accoppiamento tra P e H risultano uguali per entrambi i segnali, il tripletto osservabile nello spettro 1H NMR (figura 74) è in realtà un doppio doppietto con due righe centrali casualmente coincidenti.

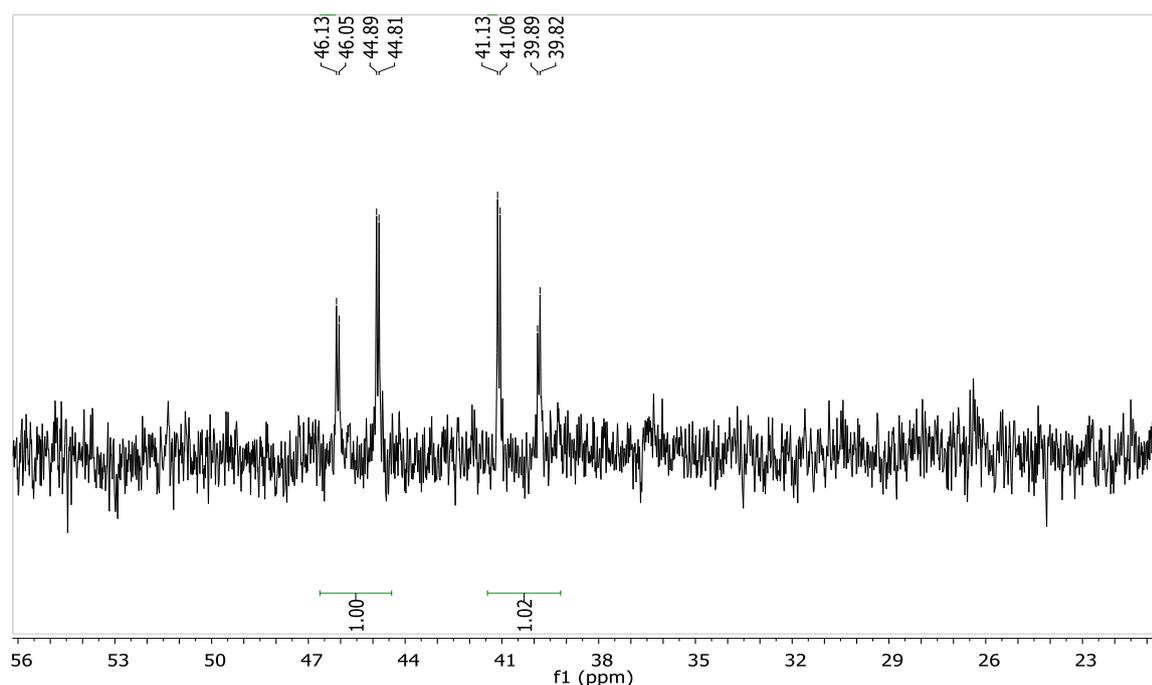


Figura 79: ${}^{31}P\{^1H\}$ NMR del complesso 8

La geometria del complesso in soluzione è stata studiata mediante analisi NOESY1D che mostra quali idrogeni si trovano vicini nello spazio. Il "Nuclear Overhauser Effect" (nOe) è particolarmente importante per lo studio della struttura tridimensionale delle molecole, ovvero, per stabilire le relazioni spaziali fino a 5 Å. Con l'esperimento NOESY1D viene studiata la variazione dell'intensità di una risonanza NMR che si

verifica quando un'altra è saturata dall'irradiazione con un campo elettromagnetico a frequenze radio. La variazione dell'intensità di risonanza di un nucleo è una diretta conseguenza della vicinanza del nucleo nello spazio a quelli direttamente colpiti dalla perturbazione. Si ottiene perciò una differenza di segnale in proporzione alla distanza del segnale soggetto a saturazione.

È importante notare che le molecole con un peso molecolare compreso tra 600–900 g/mol, come nel caso del complesso in esame, solitamente danno origine a NOE poco intensi. Sono stati irradiate le risonanze NMR a 2,82 (H^b), 1,93 (H^c) e a 1,44 ppm (H^a).

Irraggiando H^b a 2,82 ppm (figura 80) appaiono due segnali uno più intenso a 1,44 ppm e uno meno intenso a 1,93 ppm. Il segnale a 1,44 ppm è caratterizzato da un'integrazione maggiore perché è legato allo stesso carbonio del protone irradiato e si trova più vicino nello spazio.

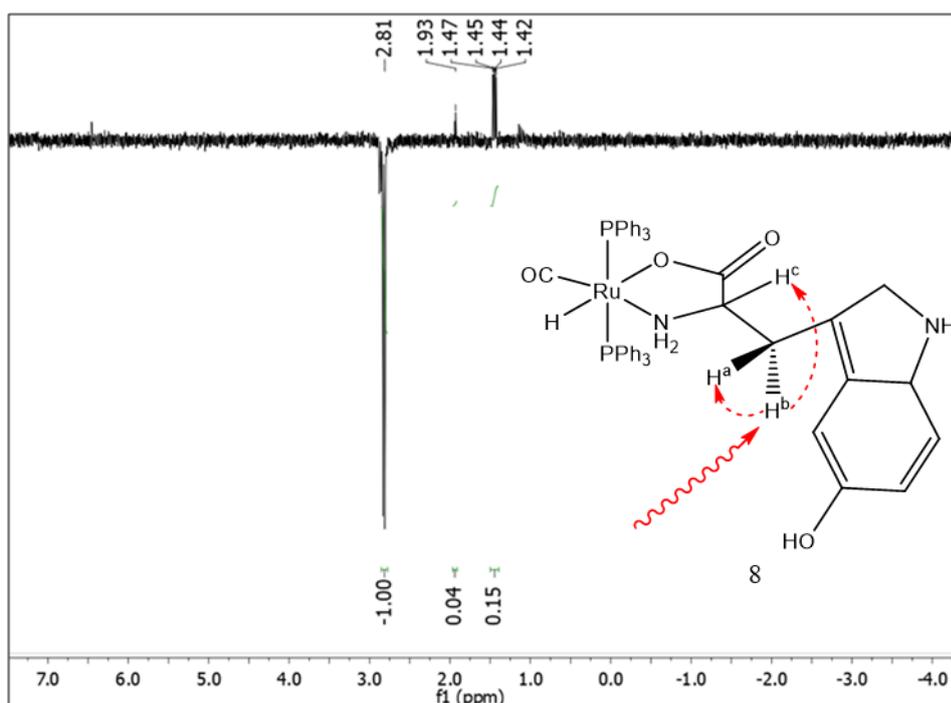


Figura 80: Spettro NOESY1D del complesso **8**, irraggiamento sul protone a 2,82 ppm

Irraggiando H^c a 1,93 ppm (figura 81) appare un solo segnale a 2,82 ppm. Quindi, si può ipotizzare che il protone H^c è vicino nello spazio ad uno solo dei due protoni diastereotopici (H^b).

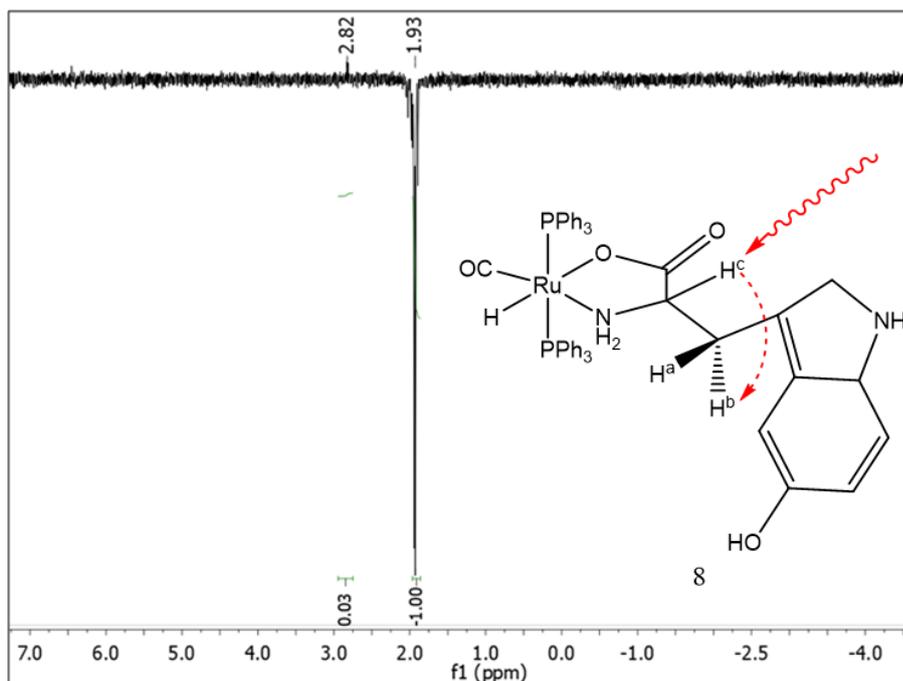


Figura 81: Spettro NOESY1D del complesso **8**, irraggiamento sul protone a 1,93 ppm

Infine, per confermare le conclusioni tratte dai primi due spettri NOESY1D è stato irraggiato H^a a 1,44 ppm (figura **82**). Come da aspettativa si osserva il segnale dell'altro protone diastereotopico a 2,82 ppm, ma è possibile osservare un secondo segnale a 6,29 ppm precedentemente attribuito al C-H dell'anello pirrolico dell'indolo (H^d). Quindi, il protone H^a si trova distante dal protone H^c, ma è vicino nello spazio al protone H^d.

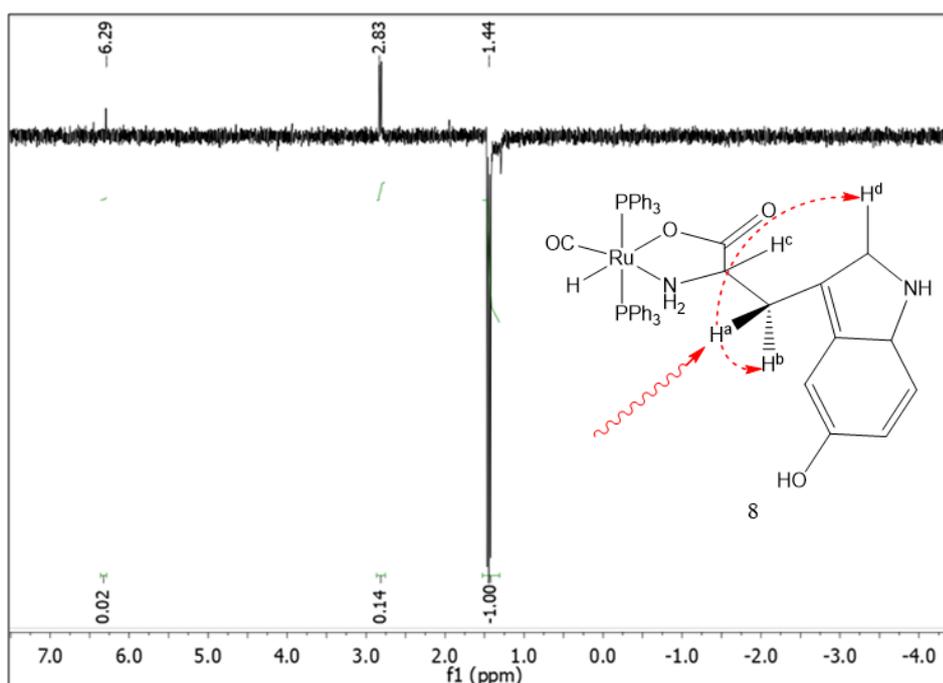


Figura 82: Spettro NOESY1D del complesso **8**, irraggiamento sul protone a 1,44 ppm

Infine, il complesso **8** è stato analizzato per 2 volte, a conferma della validità del dato, mediante NMR dinamico a temperatura variabile da 25°C a -85°C, scendendo di temperatura a intervalli di 10°C. Gli spettri sono stati acquisiti in metanolo deuterato. Nella figura **83** si può osservare che viene raggiunta la coalescenza, ma a causa della temperatura di congelamento del solvente utilizzato non è possibile scendere ulteriormente di temperatura. Non è stato quindi possibile determinare l'energia di attivazione della rotazione intorno ai legami singoli C–C del legante organico.

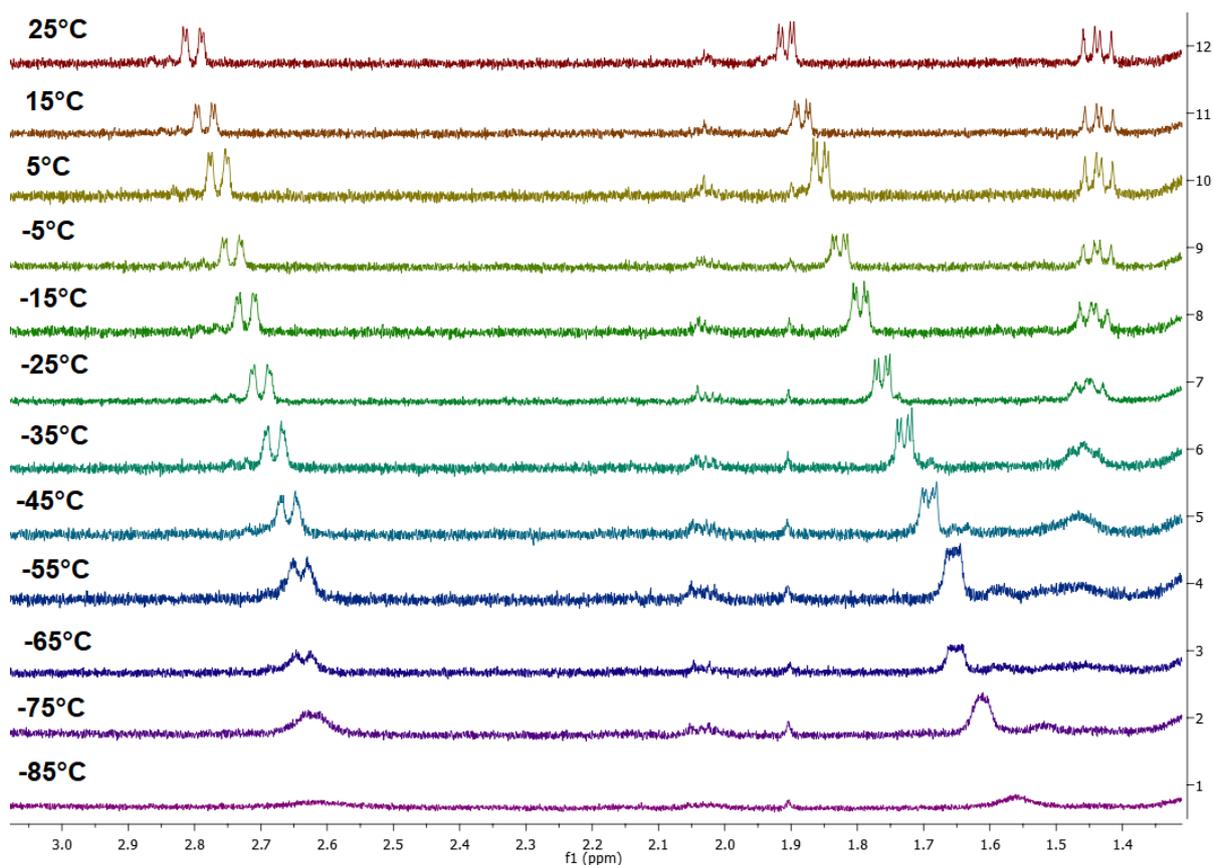


Figura 83: Analisi ^1H NMR a temperatura variabile da 25°C a -85°C

La sintesi in etanolo riportata è selettiva verso uno solo prodotto, ma in altre condizioni sono stati ottenuti due diastereoisomeri del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(5\text{-HTP)]}$.

I due diastereoisomeri del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(5\text{-HTP)]}$ sono dati dall'inversione di posizione del CO e dell'idruro (figura **84**). Il complesso **8a** possiede l'idruro e il gruppo NH_2 legati al metallo rivolti dalla stessa parte, mentre il complesso **8b** ha l'idruro nella posizione opposta al gruppo NH_2 .

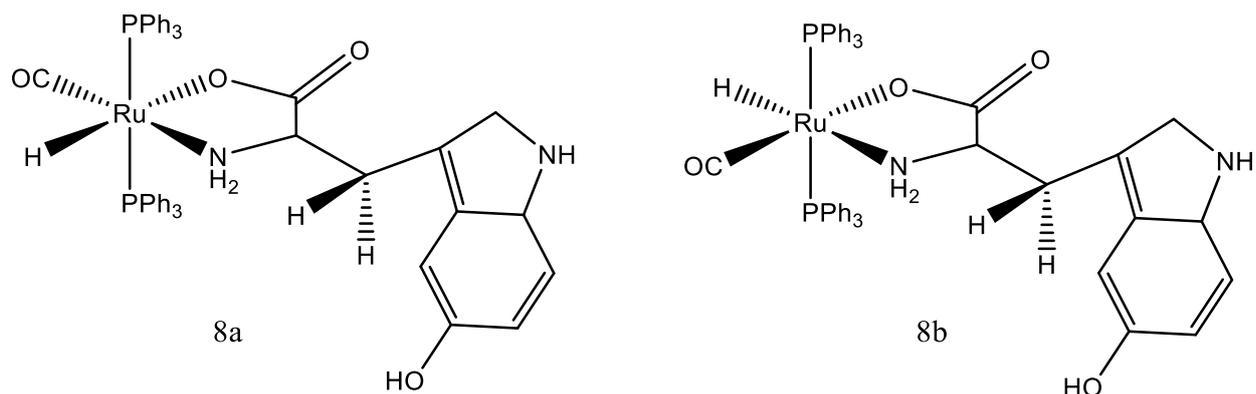


Figura 84: Due diastereoisomeri del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$

La reazione condotta in CPME a refluxo per 4 ore determina la formazione di entrambi i diastereoisomeri; infatti, nello spettro $^1\text{H NMR}$ sono presenti due segnali idrurici uno più intenso e uno meno intenso (figura 85).

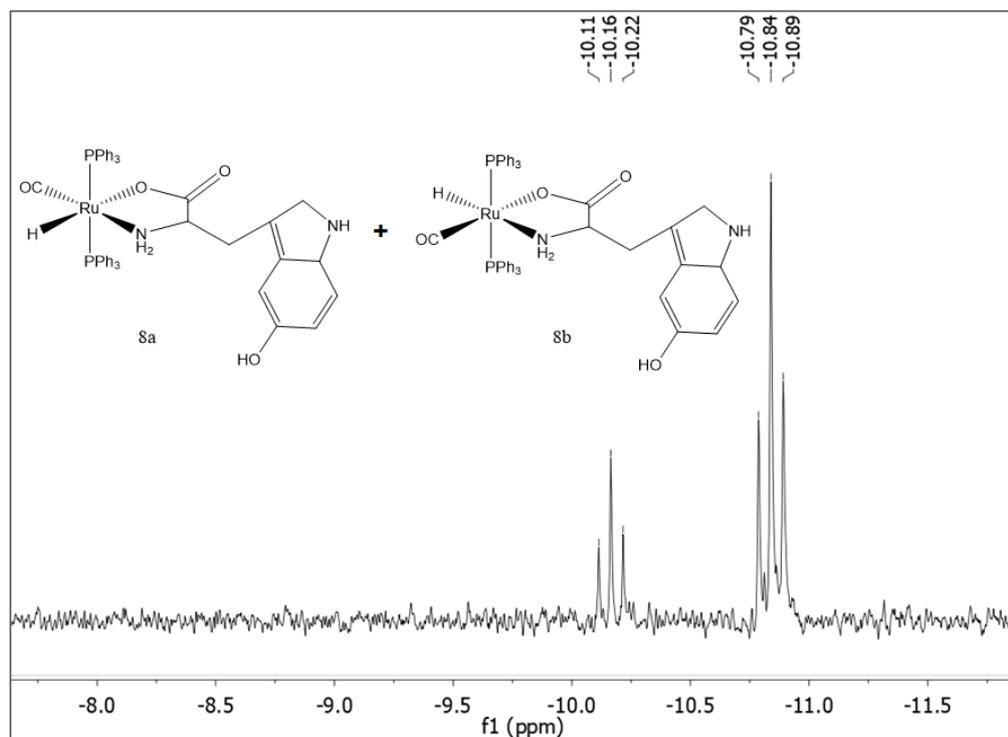


Figura 85: $^1\text{H NMR}$, segnali idrurici dei diastereoisomeri del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$

I ΔG determinati dai calcoli DFT nel vuoto per i complessi 8a e 8b hanno una piccola differenza pari a 1,02kcal/mol.

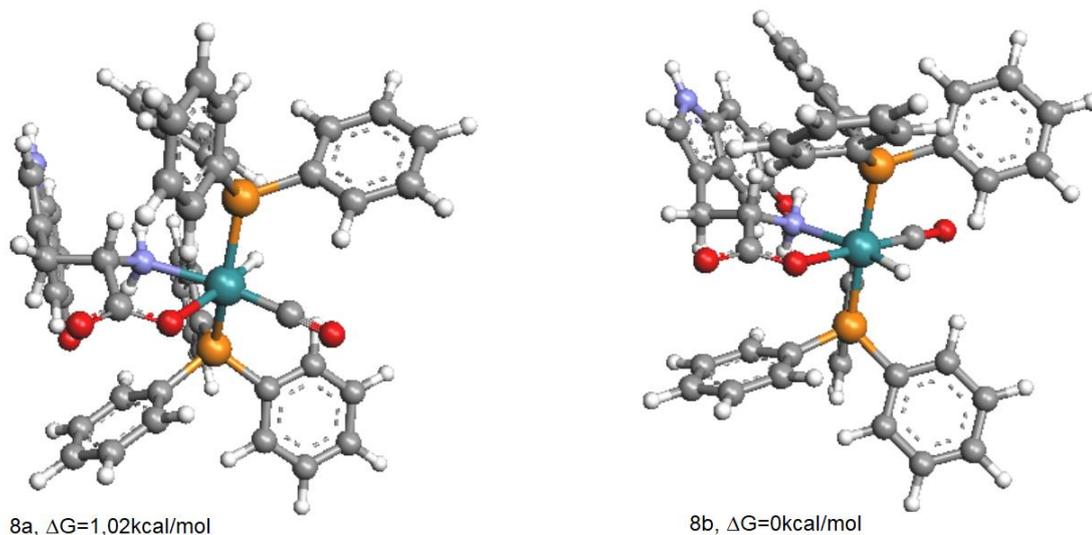


Figura 86: Strutture dei diastereoisomeri **8a** e **8b** da calcoli DFT nel vuoto, energie relative

3.8 Caratterizzazione di $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{asp})]$

Dalla combinazione del substrato di Ru(II) $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ con l'amminoacido L-asparagina è stato ottenuto un complesso in cui il legante organico chela il metallo con una coordinazione del tipo N,O-. La reazione è stata condotta in etanolo a refluxo per un'ora, dopodiché precipita un solido che è stato filtrato su celite, lavato con esano ed etere etilico ed eluito con diclorometano. Il prodotto è stato tirato a secco e caratterizzato.

La struttura di $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{asp})]$ è riportata nella figura **87**.

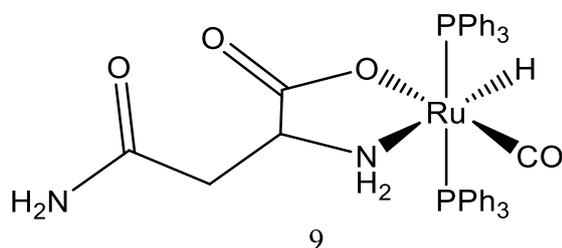


Figura 87: Struttura del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{asp})]$

Lo spettro FTIR del prodotto conferma l'avvenuta coordinazione dell'amminoacido. Lo stretching N-H dell'ammina primaria alifatica si sposta da 3355 cm^{-1} nel legante libero a 3350 cm^{-1} nel complesso. A 3050 cm^{-1} e a 2963 cm^{-1} sono presenti le bande di stretching rispettivamente dei C-H dei fenili delle fosfine e dei C-H alifatici. A 1917

cm^{-1} si può osservare lo stretching del CO direttamente legato al metallo. A 1616 cm^{-1} è presente la banda dell'assorbimento del gruppo carbossilico. Infine, a 1481 e a 1436 cm^{-1} si possono osservare le bande dei gruppi $\text{P}-\text{C}^{\text{aromatico}}$.

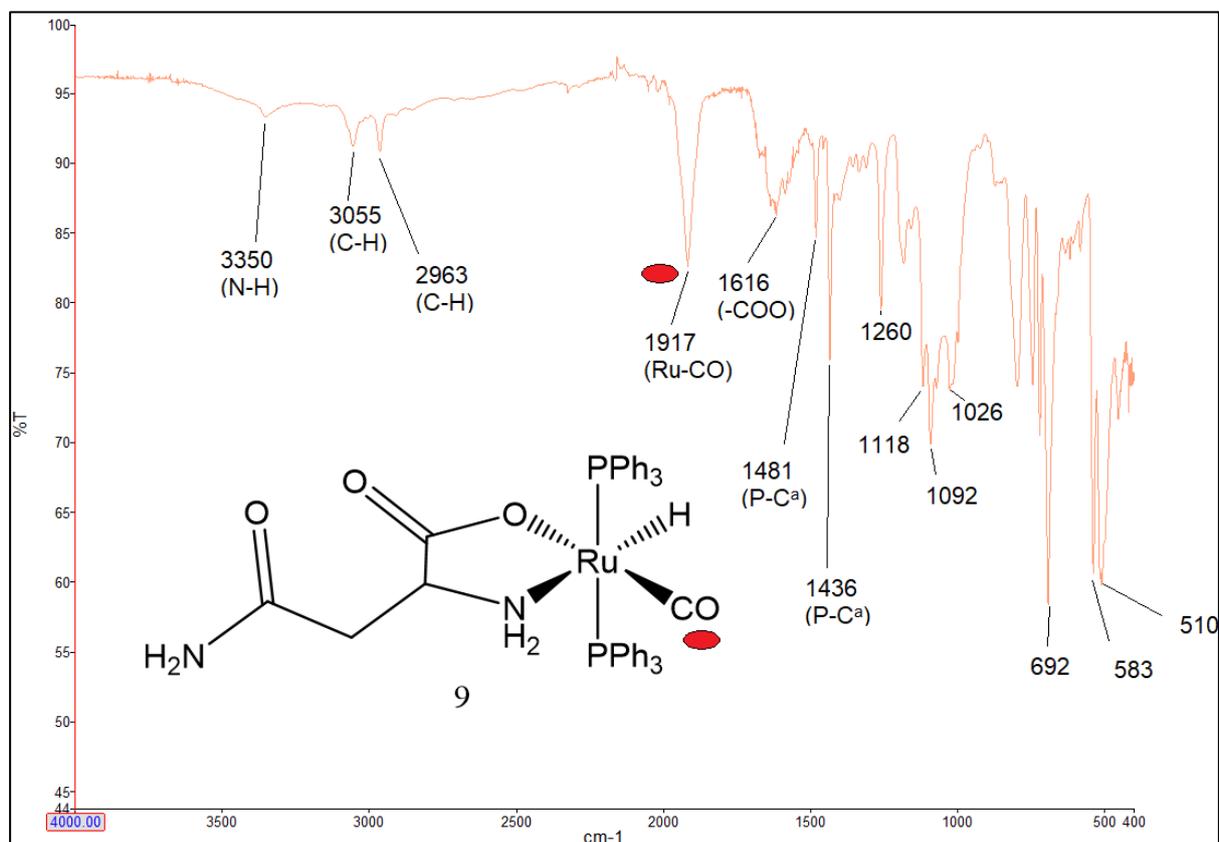


Figura 88: FTIR del complesso $\kappa^2-(N,O)[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{asp})]$, valori in cm^{-1}

Il prodotto **9** è stato caratterizzato mediante analisi ESI-MS che indica lo ione molecolare con un controione Na^+ . Si può notare il picco molecolare a 809 m/z che è stato cerchiato nella figura **89**.

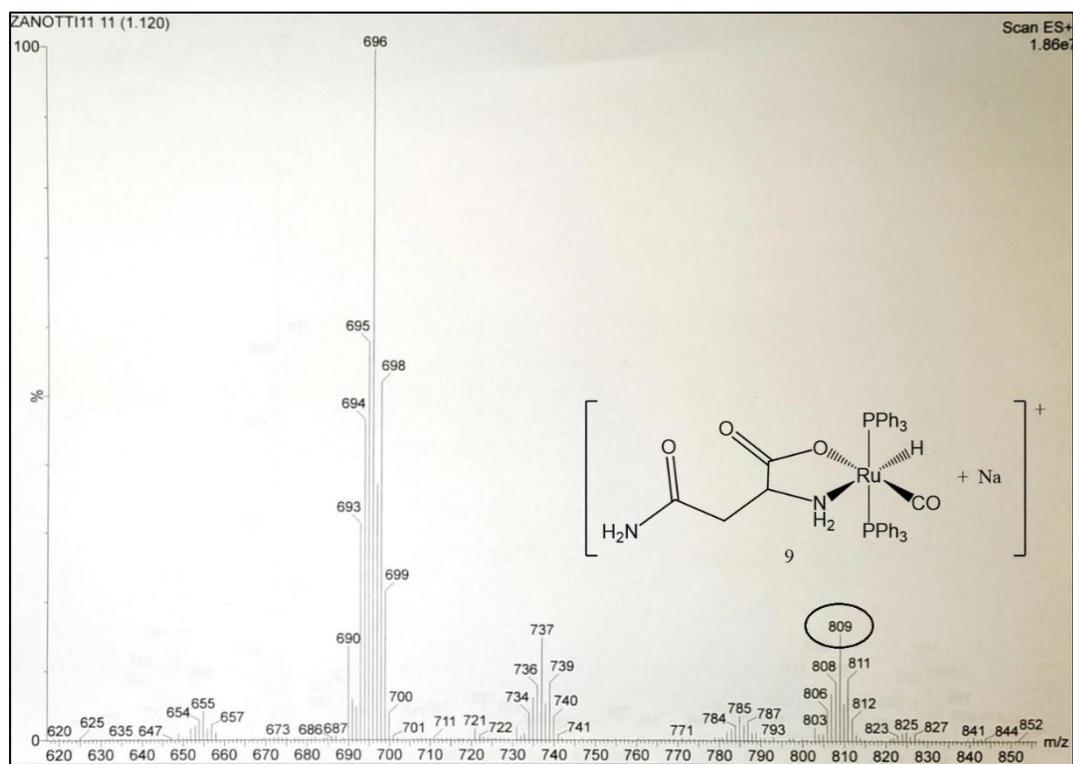


Figura 89: Analisi ESI-MS del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(asp)]}$

Nello spettro $^1\text{H NMR}$ del complesso **9** (figura **90**) è presente un solo segnale idrurico a $-10,91$ ppm, si può quindi affermare che è stato sintetizzato un singolo diastereoisomero. Si può osservare che, in analogia agli altri complessi con chelanti N,O- sintetizzati, il segnale dell'idruro nello spettro $^1\text{H NMR}$ si trova tra $-10,00$ e $-12,00$ ppm.

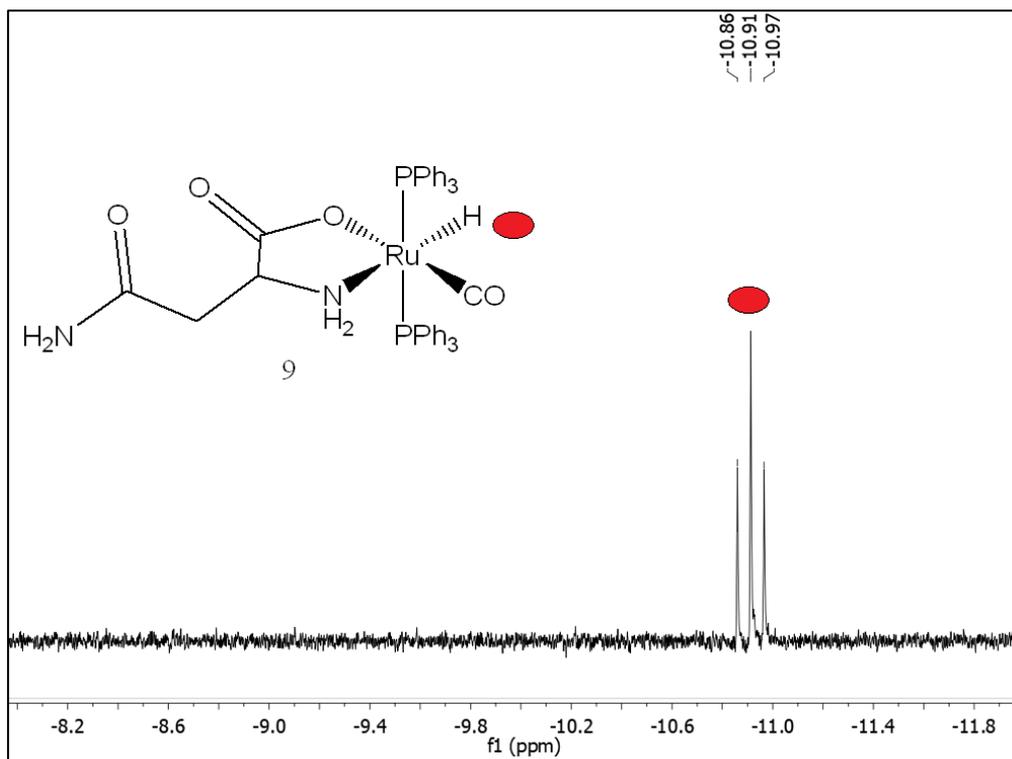


Figura 90: Spettro ^1H NMR in CD_3OD del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{asp})$, zona idruri

I 3 idrogeni nella catena alifatica della L-asparagina coordinata si trovano tra 1.00 e 2.50 ppm nello spettro ^1H NMR (figura 91) e tutti e 3 i segnali sono dei doppi doppietti. Si possono osservare 3 segnali perché vi sono due idrogeni diastereotopici. Il segnale a 1,29 ppm può essere attribuito ad un residuo di solvente.

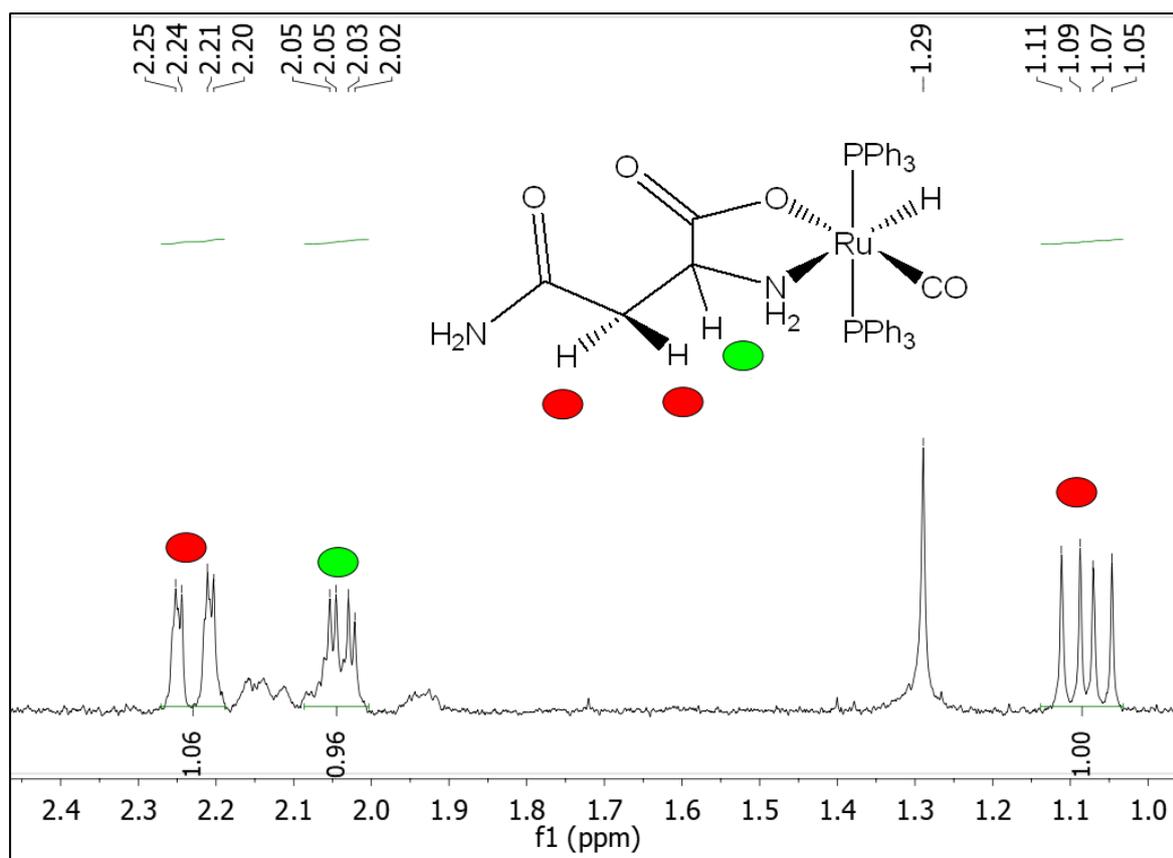


Figura 91: Spettro ^1H NMR in CD_3OD del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{asp})$, zona 1.00–2.50 ppm

Per confermare l'attribuzione degli idrogeni diastereotopici è stato registrato uno spettro NMR bidimensionale HSQC (figura 92) da cui si evince che gli idrogeni i cui segnali NMR si trovano a 1,08 e a 2,22 ppm sono legati allo stesso carbonio mentre il segnale a 2,03 ppm può essere attribuito all'idrogeno legato al carbonio stereogenico.

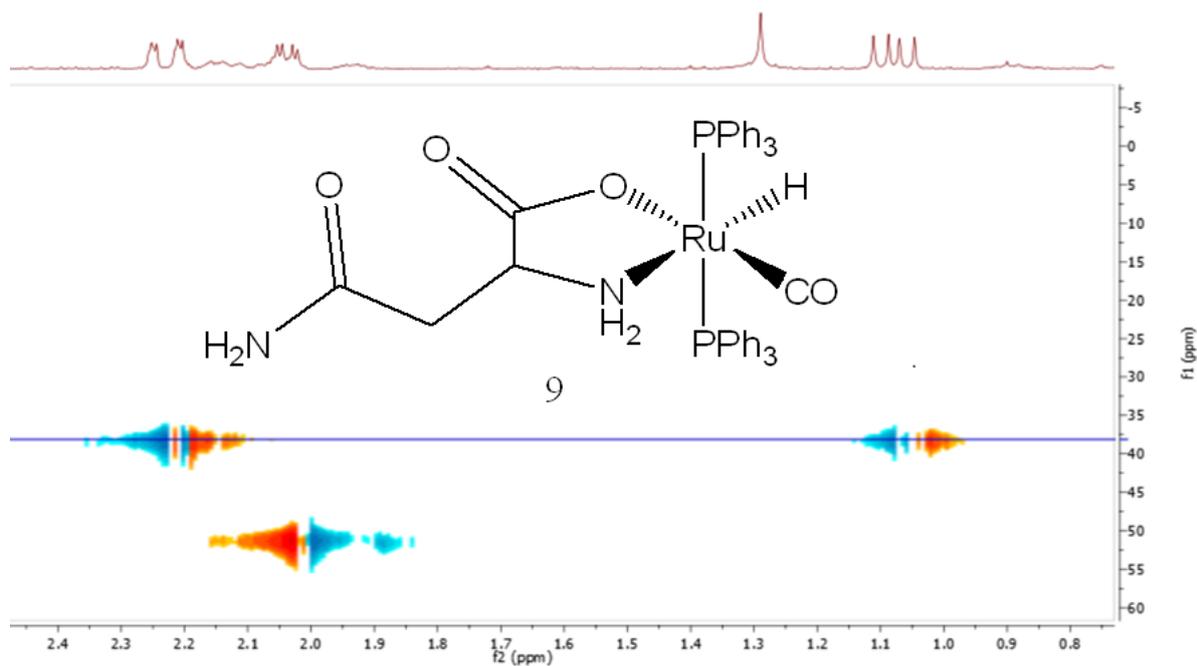


Figura 92: Analisi 2D-HSQC in CD_3OD del complesso $\kappa^2-(N,O)[RuH(CO)(PPh_3)_2(asp)]$, zona 1.00–2.50ppm

Infine, è stato registrato uno spettro $^{31}P\{^1H\}$ NMR del complesso $\kappa^2-(N,O)[RuH(CO)(PPh_3)_2(asp)]$ in metanolo deuterato. Nello spettro $^{31}P\{^1H\}$ NMR del complesso **9** nella figura **93**, si possono osservare due doppi doppietti con una costante di accoppiamento grande dovuta all'accoppiamento tra i due nuclei di fosforo e una piccola dovuta all'accoppiamento con l'idruro. In analogia al complesso **8**, le due trifenilfosfine si trovano in un diverso intorno chimico e la costante di accoppiamento $^2J_{P-P_{trans}}$ di 300,2 Hz conferma la reciproca posizione *trans*. Inoltre, nello spettro si può notare la presenza di un "effetto tetto" e, nonostante lo spettro sia stato acquisito disaccoppiando il protone, l'accoppiamento $^2J_{P-H}$ è osservabile poiché l'idruro è molto schermato a causa della vicinanza al metallo ricco di elettroni. Infine, a 32,43 ppm è presente un singoletto che può essere assegnato al PPh_3O .

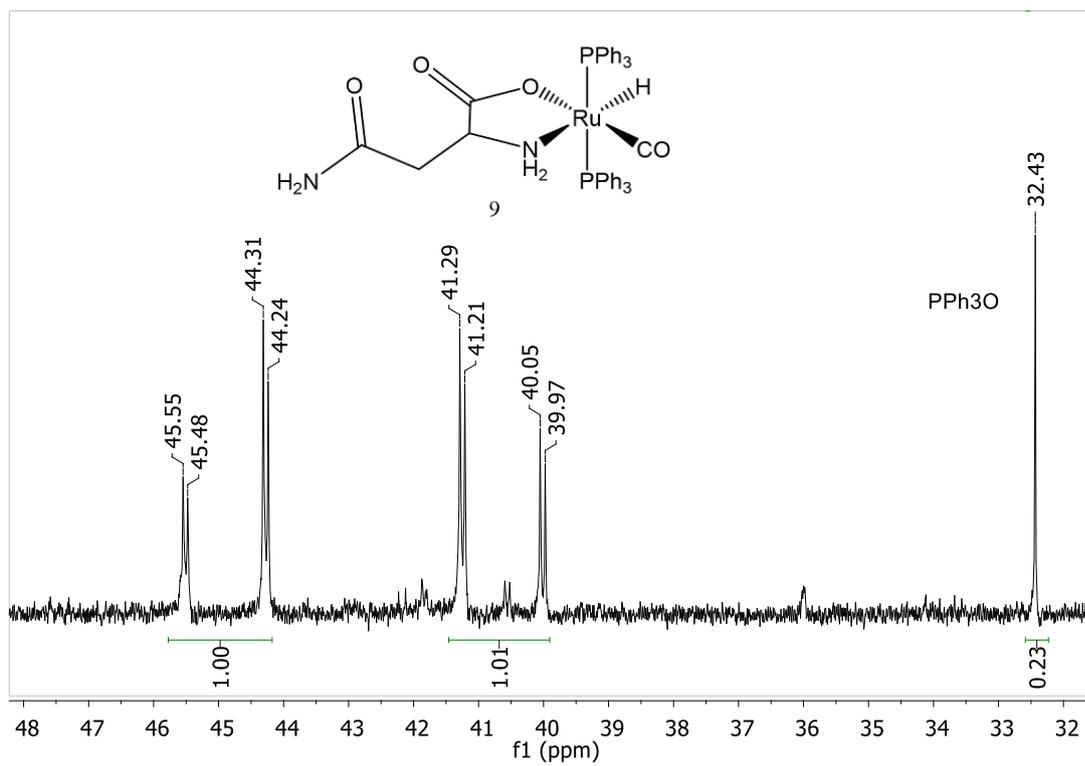


Figura 93: $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(asp)]}$ in metanolo deuterato

4. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

In questo studio, sono stati sintetizzati complessi di rutenio con i seguenti leganti: acido pirrolo 2-carbossilico, 2-[(H-pirrol-2-il)metilene]amminofenolo, L-asparagina e 5-idrossi-L-triptofano.

- La reazione di **1** con l'acido pirrolo 2-carbossilico in CPME ha condotto alla sintesi del derivato $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ in due distinti isomeri conformazionali (in dipendenza dalla reciproca posizione dei leganti H/CO legati al Ru). Il rapporto tra i due isomeri nella miscela cinetica varia in dipendenza dal tempo di reazione e dalla natura del solvente. Il tempo di permanenza in solventi clorurati incentiva la trasformazione della miscela cinetica (ad esempio 75:25) in un unico prodotto termodinamico. La reazione condotta in 1,2-dimetossietano per 15 minuti a microonde permette di ottenere selettivamente un singolo isomero.
- Partendo dal complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ è stato coordinato un secondo equivalente di acido pirrolo 2-carbossilico. Inizialmente, il secondo equivalente si coordina in modo monapto con il rilascio di idrogeno molecolare e per tempi di reazione più lunghi chela il metallo in modo O,O-incentivando la perdita di una trifenilfosfina.
- È stata sintetizzata un'immina per reazione tra il pirrol-2-aldeide e il 2-amminofenolo. La reazione di **1** in 1,4-diossano con la base di Schiff, dopo 40 minuti ha condotto alla formazione del derivato $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-AMF)]}$ con una resa del 77%.
- Per reazione del complesso **1** con il 5-HTP e con la L-asparagina sono stati sintetizzati rispettivamente gli analoghi complessi $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ e $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(asp)]}$.
 - L'analogia tra chemical shift di P^a e P^b e la reciproca costante di accoppiamento rendono i segnali relativi ai due leganti fosfinici come un unico sistema di spin, composto da due doppi doppietti con un evidente effetto tetto. Tale segnale è relativo alla diversa natura di P^a e P^b dovuto alla non planarità del legante (N,O) chelante delle due fosfine apicali che avvertono in ogni istante sempre un diverso intorno molecolare.

- L'analisi nOe del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ ha evidenziato la geometria della conformazione più stabile, in particolare la corrispondente posizione spaziale dei due protoni vicinali diastereotopici del carbonio metilenico relativamente al protone del centro stereogenico e al protone del ciclo a 5 dell'indolo.
L'analisi a temperatura variabile non ha tuttavia condotto ai risultati attesi, in quanto pur avendo raggiunto la coalescenza per tutti e tre i protoni H^a, H^b e H^c, non è stato possibile osservare alla più bassa temperatura raggiunta (-85°C) la crescita dei segnali relativi ad una alternativa conformazione congelata del 5-HTP del complesso **8**.
- Le analisi IR e NMR confermano la coordinazione bidentata O,O- o monodentata dell'acido pirrolo 2-carbossilico e la coordinazione bidentata N,O- per gli altri 3 leganti organici.
- Nonostante i molteplici tentativi non sono stati ottenuti cristalli adatti alla diffrazione ai raggi X e non è stato possibile indagare la struttura allo stato solido dei complessi.

Partendo dagli obiettivi raggiunti da questo studio di ricerca, si propone come prospettive future:

- Ottimizzare le condizioni di reazione per la sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[Ru(CO)(PPh}_3\text{)(Pyr-COO)}_2\text{]}$ raggiungendo la conversione completa riducendo i tempi di reazione ed il dispendio energetico, ma conservando la massima selettività; studiare le caratteristiche di delocalizzazione dei 2 anelli pirrolicarbossilato, avente il sito centrale di Ru come atomo intermediatore del trasferimento di densità elettronica.
- Coordinare un secondo equivalente di legante organico ai complessi $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-AMF)]}$, $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ e $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(asp)]}$ e studiare la stereochimica dei prodotti ottenuti.
- Valutare in vitro l'attività antitumorale dei nuovi complessi sintetizzati.
- Effettuare analoghe reazioni con il 4_L-HTP per studiare l'eventuale interazione intramolecolare col legame a idrogeno della funzione alcolica sull'indolo e le fosfine in reciproca posizione apicale.

- Occorre ottenere cristalli adatti per il complesso κ^2 - $(\text{N,O})[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(5\text{-HTP})]$ per dimensione e regolarità alla diffrazione ai raggi X. Questo consentirebbe di ottenere un'immagine puntuale della struttura più stabile.

5. PARTE SPERIMENTALE

Premessa

La manipolazione dei complessi inorganici sensibili all'aria e le reazioni sono state condotte sotto atmosfera inerte di argon. Le reazioni a riflusso sono state svolte in schlenk o palloni a due colli dotati di rubinetto di vetro. Le reazioni a microonde sono state condotte all'interno di appositi tubi di teflon all'interno dei quali è stato flussato del gas inerte per qualche minuto prima della chiusura.

Le pesate dei reagenti e dei prodotti sono state effettuate utilizzando una bilancia analitica. Tutte le rese sono state effettuate evaporando completamente il solvente, le tracce di acqua e di umidità dal prodotto con l'ausilio della pompa da vuoto, questo viene poi trasferito in un vial che per il minore volume riduce l'errore sulla pesata.

Gli spettri infrarossi (IR) sono stati ottenuti su Spectrum Two Perkin Elmer, utilizzando per gli spettri in fase liquida una cella di NaCl (spessore 1,0mm). Gli spettri in fase solida sono stati registrati con un'analisi diretta del campione utilizzando la tecnica FTIR-ATR (Attenuated total reflectance) su cristallo di diamante. Per la descrizione delle intensità relative degli assorbimenti IR verranno usate le seguenti abbreviazioni: vs "very strong", s "strong", m "medium", w "weak", br "broad".

Gli spettri NMR sono stati acquisiti su spettrometri Mercury 400 MHz e Inova 600 MHz. per le acquisizioni al ^{13}C , ^{31}P e temperatura variabile è stato usato un probe diretto broadband (ATB); per le 2D un probe inverso a tripla risonanza (Triple) $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$.

I campioni sono stati mantenuti in atmosfera inerte per tutta la durata delle analisi. Per la descrizione della molteplicità verranno usate le seguenti abbreviazioni: s "singlet", d "doublet", t "triplet", q "quartet", quint "quintet", m "multiplet" (denota pattern complessi), dd "doublet of doublets", dt "doublet of triplets", td "triplet of doublets", br "broad signal" (denota segnali allargati di cui non è possibile determinare la molteplicità).

Gli spettri $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR sono stati registrati disaccoppiando il protone, nonostante ciò, verranno riportate le molteplicità dei segnali poiché, gli idruri direttamente legati al rutenio non rientrano nella finestra utilizzata per il disaccoppiamento.

Gli spettri di massa e ionizzazione (ESI-MS) sono stati acquisiti mediante Waters ZQ-4000. I campioni prima delle analisi sono stati disciolti in metanolo.

I calcoli DFT sono stati effettuati utilizzando il software Molpro 2010.

Ricristallizzazione Trifenilfosfina

Vengono pesati 10,44g di PPh_3 e trasferiti in un pallone a due colli da 250mL immerso in un bagno di olio silconico e provvisto di refrigerante e ancorotta magnetica. Si dissolve il solido in 40mL di EtOH, la soluzione risultante è di colore giallo pallido. Si scalda fino alla temperatura di riflusso, si raffredda fino a T ambiente e trascorse 4 ore il solido viene filtrato su filtro buchner.

ATR (cm^{-1}): 3067 m $\nu(\text{C-H})$, 3061 s (C-H), 3048 s (C-H), 3027 s $\nu(\text{C-H})$, 1583 s (C-C)_{aromatico}, 1570 m (C-C)_{aromatico}, 1567m (C-C)_{aromatico}, 1476 vs (C-C)_{aromatico}, 1436 vs (C-C)_{aromatico}, 1431 vs (C-C)_{aromatico}, 1329 m (C-C)_{aromatico}, 1323 (C-C)_{aromatico}.

Segnali PPh_3 :

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,29–7,44 (m, 15H).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -4,84 (s, 1P).

Segnali PPh_3O :

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,71 (m), 7,56 (m), 7,22 (m).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 29,69(s).

Il rapporto di integrazione delle due specie ($\text{PPh}_3/\text{PPh}_3\text{O}$), determinato mediante spettroscopia NMR varia da 20:1 a 50:1 in seguito alla ricristallizzazione della trifenilfosfina.

Preparazione di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$

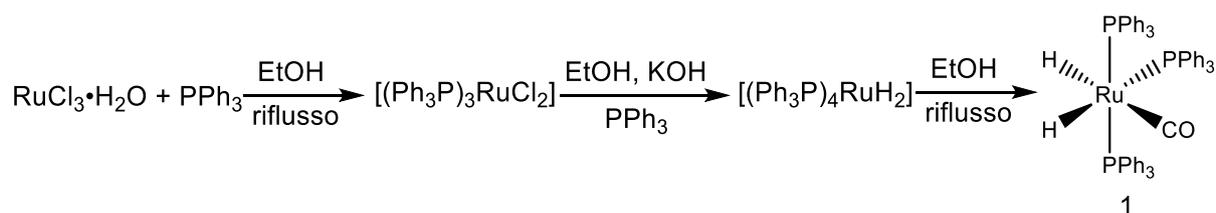


Figura 94: Schema di reazione, sintesi per via termica

Prima sintesi

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMoli (mmol)	Resa %
RuCl₃ • 3H₂O	261,43	504	/	1,93	/
PPh₃	262,29	2039	/	7,77	/
Etanolo	46,07	/	50,0	/	/
KOH	56,11	1030	/	18,36	/
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	1273	/	1,39	72%

Tabella 5: Prima sintesi di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$, reagenti usati, prodotto e resa

Seconda sintesi

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMoli (mmol)	Resa %
RuCl₃ • 3H₂O	261,43	522	/	2,00	/
PPh₃	262,29	2008	/	7,66	/
Etanolo	46,07	/	50,0	/	/
KOH	56,11	1002	/	21,75	/
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	1403	/	1,53	77%

Tabella 6: Seconda sintesi di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$, reagenti usati, prodotto e resa

Terza sintesi

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMoli (mmol)	Resa %
RuCl₃ • 3H₂O	261,43	507	/	1,93	/
PPh₃	262,29	2001	/	7,63	/
Etanolo	46,07	/	50,0	/	/
KOH	56,11	999	/	17,80	/
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	1447	/	1,57	81%

Tabella 7: Terza sintesi [Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃], reagenti usati, prodotto e resa

Procedura prima sintesi

Un pallone a due colli da 250mL dotato di ancoretta magnetica e refrigerante a bolle viene posto in un bagno di olio silicico. All'interno del pallone vengono aggiunti 50mL di etanolo assoluto e RuCl₃•3H₂O. La miscela viene agitata a riflusso sotto atmosfera di argon per 10 minuti per disaerare, successivamente si raffredda a T ambiente e viene introdotta PPh₃. Si agita sotto riflusso in atmosfera di argon per 1 ora.

Dopo un'ora si ottiene una sospensione scura di [(Ph₃P)RuCl₂] che viene lasciata raffreddare a temperatura ambiente e successivamente trattata con KOH in pellets. La miscela viene agitata per un'ora a temperatura ambiente e successivamente per un'altra ora alla temperatura di 60°C. Durante questo tempo la miscela passa da un colore marrone scuro a verde ed infine giallo. La miscela viene poi agitata a riflusso per 14 ore.

Si raffredda a temperatura ambiente e il precipitato viene filtrato in aria con filtro buchner e lavato con 3 aliquote da 20mL di etanolo, 3 aliquote da 20mL di acqua deionizzata e con altre 3 aliquote da 20mL di etanolo.

Infine, il solido [Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃] viene seccato sottovuoto.

Il complesso viene caratterizzato con:

ATR (cm⁻¹): 3048 m (CH), 1962 w (Ru-H); 1939 s u(CO); 1902 w (Ru-H), 1478 s (P-C); 1432 s (C=C).

^1H NMR (400,0 Mhz, CDCl_3) δ (ppm): 6,60–7,60 (m, 45H, PPh_3); -6,88 (tdd, Ru-H, $J = 30,5, 15,1, 6,4$ Hz, 1H), -8.84 (dtd, Ru-H, $J = 74,1, 28,3, 6,4$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (100,6 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 208,1 (bs, CO).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 57,70 (m, 2P); 45,30 ppm (m, 1P).

Procedura seconda e terza sintesi

Le reazioni vengono condotte come nel primo caso ma le acque di lavaggio vengono ridotte a piccolo volume, si lascia decantare il solido per circa un'ora dopodiché il precipitato viene filtrato in aria con filtro buchner. Il solido recuperato viene poi lavato con 3 aliquote da 10mL di etanolo, 3 aliquote da 10mL di acqua deionizzata e 3 aliquote da 10mL di etanolo.

La resa rispetto alla prima sintesi è maggiore ma il prodotto presenta un'impurezza visibile spettroscopicamente che viene attribuita al complesso $[(\text{PPh}_3)_2\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})_2]$. Il prodotto $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ risulta spettroscopicamente puro al 95%.

L'impurezza può essere facilmente identificata nello spettro IR ($\nu(\text{CO})$ a 1946 cm^{-1}), ^1H NMR (tripletto a $-4,50$ ppm, 2H) e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (singoletto a 39,70 ppm).

L'impurezza viene rimossa mediante filtrazione su allumina ed estraendo il prodotto con diclorometano.

Sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{Pyr-2COO})]$ in 1,2-Dimetossietano

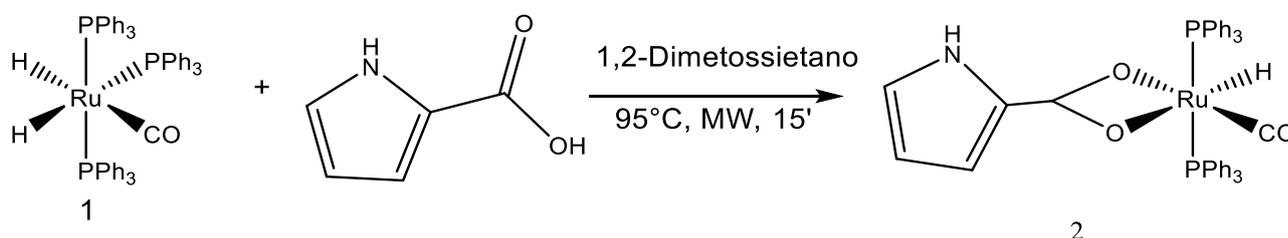


Figura 95: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{Pyr-2COO})]$ in 1,2-Dimetossietano a microonde

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	132	/	0,14	/
Pyr-2-COO	111,10	19	/	0,17	/
1,2-Dimetossietano	/	/	15	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)]	764,73	93	/	0,12	87%

Tabella 8: Reagenti usati, prodotto e resa

Il complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ viene sintetizzato nella reazione tra il complesso **1** e l'acido pirrolo 2-carbossilico.

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancoretta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 15mL di 1,2-Dimetossietano. La soluzione viene scaldata per 15 minuti a 95°C riscaldandola attraverso un sistema a microonde. Dopo 15 minuti, la soluzione di colore viola scuro viene analizzata tramite IR per verificare che la banda carbonilica del complesso di partenza sia scomparsa.

Si lascia raffreddare la miscela a temperatura ambiente e si riduce a piccolo volume sottovuoto. In seguito all'aggiunta di 20mL di esano precipita un solido che viene filtrato su celite ed eluito con etere etilico.

Infine, si tira a secco sottovuoto e il solido viene pesato.

Il complesso **2** viene caratterizzato con:

IR (grezzo, 1,2-dimetossietano, cm^{-1}): 1930 (CO).

ATR (cm^{-1}): 3299 w (NH), 3054 s (C-H), 1924 vs (CO), 1559 m (-COO), 1480 (P-C_{Ph}), 1434 s (P-C_{Ph}), 1093 s (C-CH), 741 m (C-CH), 691 m (C-CH).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,17 (s, N-H), 7,50-7,28 (m 30H, PPh₃); 6,39 (bs, C-H); 6,11 (bs, C-H); 5,83 (bs, C-H); -16,76 (t, J=20,0Hz, 1H).

¹H NMR (400 MHz, Acetone D₆) δ (ppm): 7,64-7,25 (m 30H, PPh₃) 6,50 (m, C-H); 6,02 (m, C-H); 5,74 (m, C-H); -16,34 (t, J=20Hz, 1H).

¹³C{¹H} NMR (101 MHz, CD₂Cl₂) δ (ppm): 204,75 (t, J = 14,7 Hz, CO), 174,10 (s), 119,89 (s), 111,87 (s), 110,81 (s), 108,42 (s).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 44,95 (bs, PPh_3 , 2P).

ESI- MS^+ (MeOH; m/z; %): 804 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

Sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ in CPME

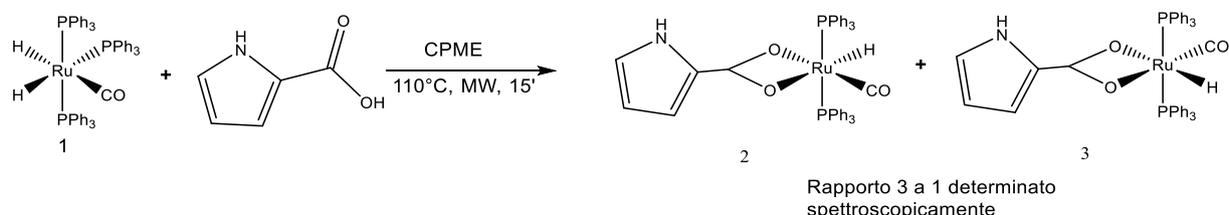


Figura 96: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ in CPME a microonde

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	193	/	0,21	/
Pyr-2-COO	111,10	23	/	0,21	/
CPME	/	/	15	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)]	764,73	106	/	0,14	67%

Tabella 9: Reagenti usati, prodotto e resa

La miscela dei complessi **2** e **3** viene sintetizzata nella reazione tra il complesso **1** e l'acido 2-pirrolcarbossilico.

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancoretta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 15mL di CPME. La soluzione viene scaldata per 15 minuti a 110°C riscaldandola attraverso un sistema a microonde. Dopo 20 minuti, la soluzione di colore viola scuro viene analizzata tramite IR per verificare che la banda carbonilica del complesso di partenza sia scomparsa.

Si lascia raffreddare la miscela a temperatura ambiente e si riduce a piccolo volume sottovuoto. In seguito all'aggiunta di 20mL di esano precipita un solido che viene filtrato su celite ed eluito con etere etilico.

È stata effettuata una prova di cristallizzazione con una miscela 1:3 diclorometano/esano. Non si ha la formazione di un cristallo singolo e precipita un solido che viene separato per filtrazione. Dall'analisi ^1H NMR del solido si nota che è precipitato un singolo isomero (complesso **2**). Il complesso **3** rimane in soluzione per cui è stato possibile caratterizzarli separatamente.

La miscela dei due isomeri viene analizzata con IR, ^1H NMR, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR.

IR (grezzo, CPME, cm^{-1}): 1930 (CO).

ATR (cm^{-1}): 3299 w (NH), 3054 s (C-H), 2022w (Ru-H), 1926 vs (CO), 1559 m (-COO), 1511 m (C=C-C_{aromatici}) 1480 m (P-C_{Ph}), 1434 s (P-Ph), 1094 s (C-CH), 741 m (C-CH), 691 s (C-C).

I segnali ^1H NMR e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso **2** sono stati riportati sopra.

I segnali ^1H NMR e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso **3** sono i seguenti:

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8,32 (s, N-H); 7,71–7,16 (m 45H, PPh_3); 6,49 (bs, C-H); 6,01 (bs, C-H), 5,75 (bs, C-H), -15,76 (bs, t, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (100,6 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm): 205,76 (bs, CO), 170,15 (s, COO), 140,47 (s, C), 116,90 (s, CH), 113,33 (s, C-H), 112,00 (s, C-H).

Sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)}\kappa^1\text{-(O)}[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr-COO})_2]$ a microonde in 2 step

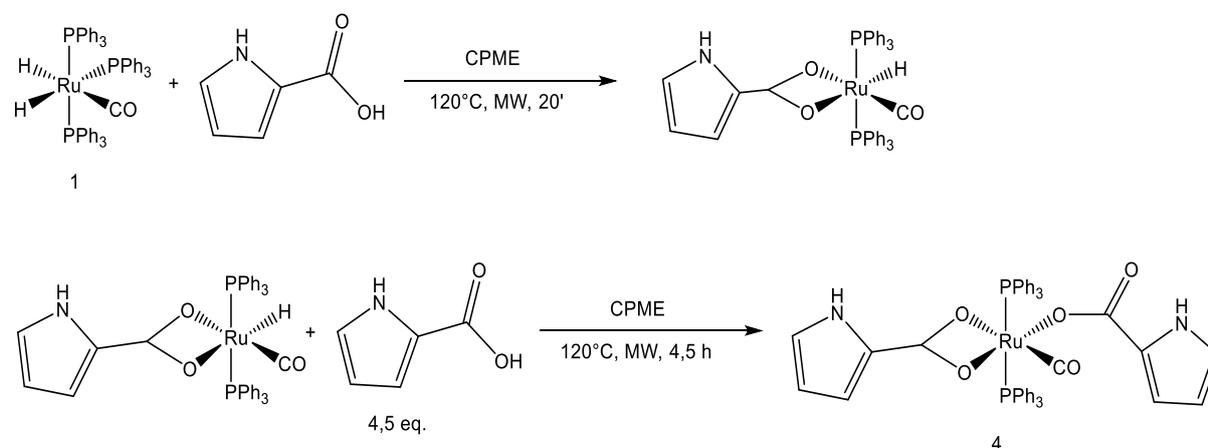


Figura 97: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(O,O)}\kappa^1\text{-(O)}[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr-COO})_2]$ in due step a microonde

Primo step

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	124	/	0,14	/
Pyr-2-COO	111,10	18	/	0,16	/
CPME	/	/	15	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)]	764,73	69	/	0,09	64%

Tabella 10: Reagenti usati, prodotto e resa del primo step

Secondo step

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)]	764,73	69	/	0,09	/
Pyr-2-COO	111,10	45	/	0,41	/
CPME	/	/	15	/	/
[Ru(CO)(PPh₃)₂(Pyr-COO)₂]	873,86	35	/	0,04	44%

Tabella 11: Reagenti usati, prodotto e resa del secondo step

Procedura primo step

Il complesso $\kappa^2\text{-(O,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-2COO)]}$ viene sintetizzato nella reazione tra il complesso **1** e l'acido pirrolo 2-carbossilico.

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancoretta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 15mL di CPME. La soluzione viene scaldata per 20 minuti a 120°C attraverso un sistema a microonde. Dopo 20 minuti, la soluzione di colore viola scuro viene analizzata tramite IR per verificare che la banda carbonilica del complesso di partenza sia scomparsa.

La miscela di reazione viene ridotta a piccolo volume e dopo l'aggiunta di 20mL di esano precipita un solido che viene filtrato su celite ed eluito con etere etilico.

Prima di proseguire con la seconda reazione si controlla la purezza del complesso ottenuto registrando uno spettro IR del solido.

Procedura secondo step

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancoretta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 15mL di CPME, viene flussato argon per qualche minuto prima della chiusura del tubo. Viene utilizzato un eccesso di reagente organico (4,5 equivalenti).

La soluzione viene scaldata a microonde e seguita registrando degli spettri IR della miscela di reazione a vari tempi. Siccome è stato utilizzato un sistema a microonde, per registrare uno spettro IR è necessario interrompere il riscaldamento e lasciare raffreddare la miscela di reazione. Per seguire l'andamento della reazione il riscaldamento è stato interrotto dopo 20 minuti, dopo 1 ora e 50 minuti, dopo 3 ore e 20 minuti e infine dopo 4 ore e 30 minuti. Dopodiché la reazione è stata considerata conclusa perché è scomparsa la banda carbonilica del reagente.

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si tira a secco sottovuoto. Il solido marrone scuro ottenuto viene purificato effettuando 5 lavaggi con 5mL di esano e con 5 lavaggi con 5mL di etere etilico, quindi tirato a secco e pesato.

Il complesso viene caratterizzato con:

ATR (cm^{-1}): 3057 s (CH), 1935 vs (CO), 1558 s ($-\text{COO}$), 1501 s ($-\text{C}-\text{CH}$ nel piano), 1435 vs ($\text{P}-\text{C}_{\text{Ph}}$), 1091 s (C-CH).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8,94 (s, NH, 1H), 8,49 (s, NH, 1H), 6,66 (bs, CH, 1H), 6,51 (bs, CH, 1H), 6,40 (bs, CH, 1H), 6,23 (bs, CH, 1H), 5,98 (bs, CH, 1H), 5,89 (bs, CH, 1H).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 32,55 (PPh_3 , 1P).

Sintesi del complesso $\kappa^2-(\text{O},\text{O})\kappa^1-(\text{O})[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-\text{COO})_2]$ a riflusso in uno step

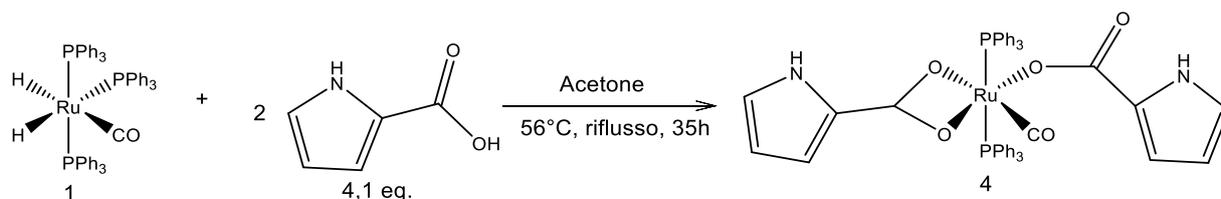


Figura 98: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2-(\text{O},\text{O})\kappa^1-(\text{O})[\text{Ru}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-\text{COO})_2]$ in acetone a riflusso

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	127	/	0,14	/
Pyr-2-COO	111,10	64	/	0,58	/
Acetone	/	/	30	/	/
[Ru(CO)(PPh₃)₂(Pyr-COO)₂]	873,86	52	/	0,06	43%

Tabella 12: Reagenti usati, prodotto e resa

Un pallone a due colli da 100mL dotato di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio siliconico. Il complesso **1** e un eccesso di acido 2-pirrolcarbossilico (4,1 eq.) vengono introdotti nel pallone e disciolti in 30mL di acetone. Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. La reazione viene monitorata effettuando degli IR in soluzione, dopo 1 ora e 30 minuti si osserva la scomparsa della banda carbonilica del complesso **1** e dopo 35h si osserva solo la banda carbonilica del complesso $\kappa^2-(O,O)\kappa^1-(O)[Ru(CO)(PPh_3)_2(Pyr-COO)_2]$.

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si tira a secco sottovuoto. Il solido marrone scuro ottenuto viene purificato effettuando 5 lavaggi con 5mL di esano e con 5 lavaggi con 5mL di etere etilico, quindi tirato a secco e pesato.

Sintesi del complesso $[Ru(CO)(PPh_3)_2(Pyr-2COO)_2(H_2O)]$

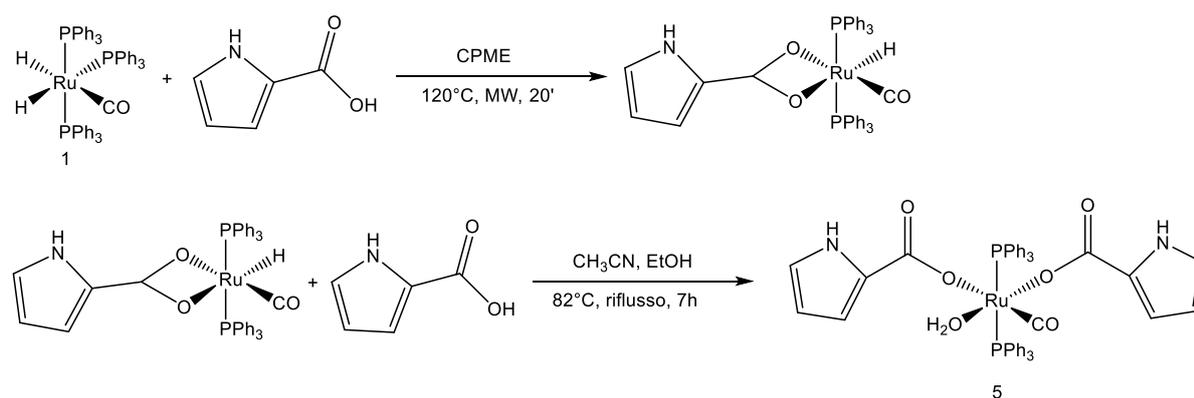


Figura 99: Schema di reazione, sintesi del complesso $[Ru(CO)(PPh_3)_2(Pyr-2COO)_2(H_2O)]$ in due step

Primo step

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	320	/	0,34	/
Pyr-2-COO	111,10	42	/	0,38	/
CPME	/	/	15	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)]	764,73	160	/	0,21	62%

Tabella 13: Reagenti usati, prodotto e resa

Secondo step

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)]	764,73	44	/	0,06	/
Pyr-2-COO	111,10	7	/	0,06	/
Acetonitrile	/	/	40	/	/
Etanolo (96%)	/	/	10	/	/
Ru(CO)(PPh₃)₂(Pyr-2COO)₂(H₂O)	891,86	35	/	0,04	68%

Tabella 14: Reagenti usati, prodotto e resa

Procedura primo step

Il complesso $\kappa^2-(O,O)[RuH(CO)(PPh_3)_2(Pyr-2COO)]$ viene sintetizzato nella reazione tra il complesso **1** e l'acido 2-pirrolcarbossilico.

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancoretta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 15mL di CPME. La soluzione viene scaldata per 20 minuti a 120°C attraverso un sistema a microonde. Dopo 20 minuti, la soluzione di colore viola scuro viene analizzata tramite IR per verificare che la banda carbonilica del complesso di partenza sia scomparsa.

La miscela di reazione viene ridotta a piccolo volume e dopo l'aggiunta di 20mL di esano precipita un solido che viene filtrato su celite ed eluito con etere etilico.

Prima di proseguire con la seconda reazione si controlla la purezza del complesso ottenuto registrando uno spettro IR del solido.

Procedura secondo step

Un pallone a due colli da 100mL dotato di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio silconico. Vengono pesati 44 mg del complesso $[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{Pyr}-2\text{COO})]$ e 7 mg di acido pirrolo 2-carbossilico. I due reagenti vengono inseriti nel pallone e disciolti in 40mL di CH_3CN .

Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. Dopo 5 ore di reazione si raffredda a temperatura ambiente, vengono aggiunti 10mL di etanolo e si riporta la miscela di reazione a riflusso.

Dopo 2 ore, si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si tira a secco sottovuoto. Il solido marrone chiaro ottenuto viene purificato effettuando 3 lavaggi con 10mL di esano e con 3 lavaggi con 10mL di etere etilico, quindi tirato a secco e pesato.

Il complesso **5** viene caratterizzato con:

ATR (cm^{-1}): 3059 m (C-H), 1952 s (CO), 1684 m (COO), 1559 m (COO), 1482 s (P-C_{Ph}), 1434 vs (P-C_{Ph}), 1094 s (C-CH nel piano), 750 m (C-C fuori dal piano), 693 s (C-C nel piano).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 7,45 – 7,16 (m, PPh₃, 30H), 6,90 (dd, J = 2,5, 1,5 Hz, 1H), 6,81 (dd, J = 3,7, 1,5 Hz, 1H), 6,19 (dd, J = 3,8, 1,3 Hz, 1H), 6,16 (dd, J = 3,7, 2,5 Hz, 1H), 6,12 (dd, J = 1,8, 1,3 Hz, 1H), 5,92 (dd, J = 3,8, 1,8 Hz, 1H), 1,54 (s, 2H, Ru-OH₂).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (151 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 173,97 (s, COO), 132,55 (s, C), 122,80 (s, C-H), 122,70 (s, C), 114,99 (s, C), 114,89 (s, CH), 113,12 (s, CH), 110,85 (s, CH), 109,08 (s, CH).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 32,41 (s).

ESI-MS⁺ (MeOH; m/z; %): 931 [M+K]⁺.

Sintesi complesso $\kappa^2-(O,O)[Ru(CO)(PPh_3)(Pyr-COO)_2]$

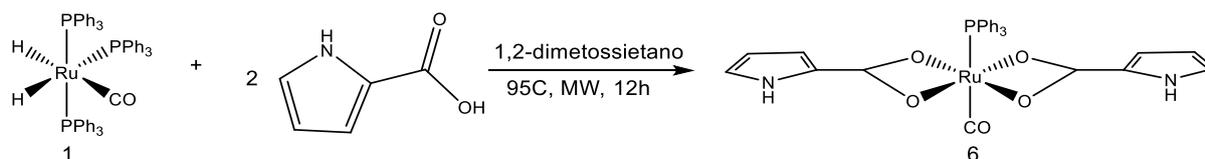


Figura 100: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2-(O,O)[Ru(CO)(PPh_3)(Pyr-COO)_2]$ in 1,2-dimetossietano a microonde

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	123	/	0,13	/
Pyr-2-COO	111,10	30	/	0,27	/
1,2-dimetossietano	/	/	15	/	/
[Ru(CO)(PPh₃)(Pyr-COO)₂]	611,57	31	/	0,05	38%

Tabella 15: Reagenti usati, prodotto e resa

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancorotta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 15mL di 1,2-dimetossietano, viene flussato argon per qualche minuto prima della chiusura del tubo. Dopo 12h si tira a secco con la pompa da vuoto. Il solido ottenuto viene filtrato su celite, precedentemente inumidita con Et₂O, sulla quale viene applicato il prodotto **5** che viene lavato con 5 aliquote da 5mL di esano e 5 aliquote da 5mL di Et₂O e infine eluito con 10mL di diclorometano.

Il prodotto viene tirato a secco e pesato.

Il complesso viene caratterizzato con:

ATR (cm⁻¹): 3057 m (C-H), 1942 s (CO), 1574 m (-COO), 1556 m (-COO), 1435 s (P-C_{Ph}).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,40 (NH, 2H), 6,57 (2H), 6,51 (2H), 5,98ppm (2H).

Preparazione della base di Schiff

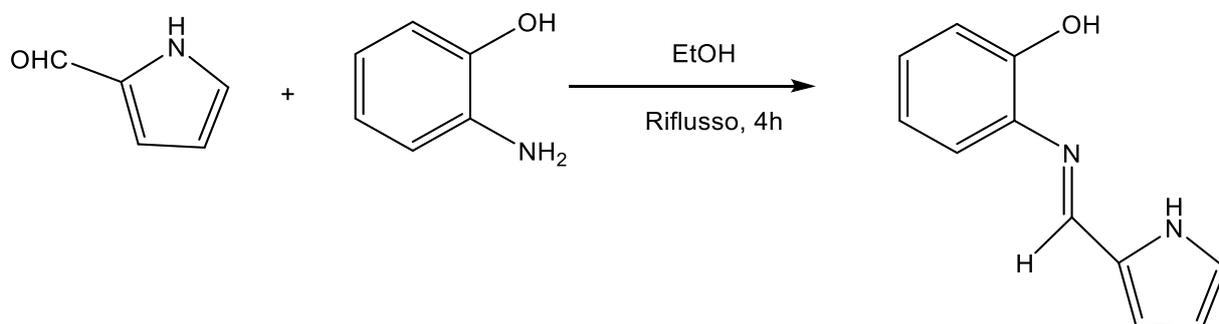


Figura 101: Schema di reazione, sintesi della base di Schiff in Etanolo a riflusso

La base di Schiff è stata preparata per reazione tra il pirrol-2-aldeide e il 2-amminofenolo seguendo la procedura proposta da R.V.Jagadeesh et al.²⁷

Vengono disciolte 0,01 moli di pirrol-2-aldeide in 20mL di etanolo, 0,01 moli di 2-amminofenolo in 20mL di etanolo, le due soluzioni vengono miscelate e si fa reagire a riflusso per 4 ore.

La miscela di reazione viene ridotta a piccolo volume e raffreddata. Precipita un solido arancione che viene filtrato. La base di Schiff viene separata dai reagenti mediante cromatografia su colonna usando come eluente una miscela 1:1 di etil acetato ed etere di petrolio.

Il prodotto viene purificato ulteriormente tramite ricristallizzazione sciogliendolo nella minima quantità di etanolo, portando a riflusso e infine lasciandolo in freezer per circa 14 ore.

Si ottiene un solido cristallino arancione che viene filtrato e caratterizzato con:

ATR (cm^{-1}): 3333 m (N-H), 3276 b (O-H), 1622 s (C=N), 1584 m (C=C-C^a), 1484 m (C=C-C^a), 1090 s (C-H nel piano), 1028 s (C-H nel piano), 822 s (C-H fuori dal piano).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,29 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,21 (dd, $J = 7,9, 1,4$ Hz, 1H), 7,14 (td, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,98 (dd, $J = 8,1, 1,3$ Hz, 1H), 6,89 (td, $J = 7,7, 1,3$ Hz, 1H), 6,74 (dd, $J = 3,6, 1,2$ Hz, 1H), 6,35 (dd, $J = 3,5, 2,7$ Hz, 1H).

Sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-AMF)]}$

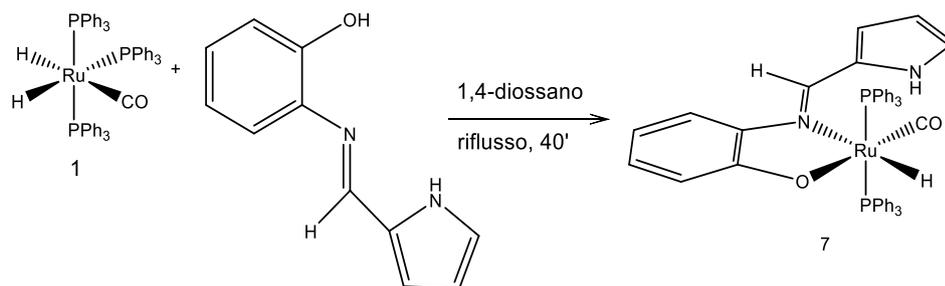


Figura 102: Schema di reazione, sintesi di $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(Pyr-AMF)]}$ in 1,4-diossano

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	121	/	0.13	/
Base di Schiff	186,21	25	/	0,13	/
1,4-diossano	/	/	20	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(Pyr-AMF)]	839,86	85	/	0,10	77%

Tabella 16: Reagenti usati, prodotto, resa

Un pallone a due colli da 100mL dotato di ancoretta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio silconico. Il complesso **1** e la base di Schiff vengono introdotti nel pallone e disciolti in 20mL di diossano. Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. La reazione viene monitorata effettuando degli IR in soluzione, dopo 40 minuti si osserva la scomparsa della banda carbonilica del complesso **1**.

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela sottovuoto. Dopo l'aggiunta di 20mL di esano precipita un solido rosso che viene filtrato su celite ed eluito con 3 aliquote da 10mL di etere etilico.

Il prodotto viene tirato a secco e pesato.

Il complesso **7** viene caratterizzato con:

ATR (cm⁻¹): 3301 m (N-H), 3053 m (C-H), 1921 m (CO), 1559 m (CH=N), 1480 s (P-C^a), 1432 s (P-C^a), 1026 s (C-H nel piano), 1087 s (C-H nel piano), 742 s (C-H fuori dal piano).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,23 – 7,07 (m, PPh_3 , 30H), 7,33 (s, 1H), 7,05 (dd, $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1H), 6,94 (dd, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 1H), 6,59 (m, 1H), 6,30 (s, 1H), 5,98 (s, 1H), 5,82 (dd, $J = 3,8, 1,6$ Hz, 1H), 5,78 (dd, $J = 7,8, 1,5$ Hz, 1H), -11,67 (t, $J = 22,3$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 233,02 (bs, Ru-CO), 157,26 (s), 149,67 (s), 142,03 (s), 140,98 (s), 126,06 (s), 122,43 (s), 121,92 (s), 119,96 (s), 118,72 (s), 115,64 (s), 113,58 (s).

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 42,99 (d, $^2J_{\text{P-H}} = 21,2$ Hz, PPh_3 , 2P).

ESI-MS⁺ (MeOH; m/z; %): 841 [M+H]⁺.

Sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(5\text{-HTP)]}$ a microonde in CPME

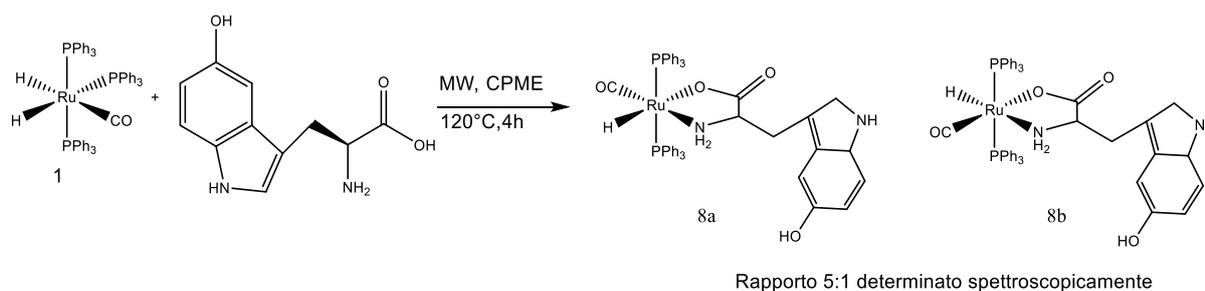


Figura 103: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(5\text{-HTP)]}$ a microonde

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	298	/	0,32	/
5-HTP	220,23	77	/	0,35	/
CPME	/	/	20	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(5-HTP)]	873,91	116	/	0,13	41%

Tabella 1: Reagenti usati, prodotto e resa

All'interno di un tubo di teflon provvisto di ancoretta magnetica e piastrina piezoelettrica si dissolvono i reagenti in 20mL di CPME, viene flussato argon per qualche minuto prima della chiusura del tubo.

La miscela (rapporto 1:1) di $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ e 5-idrossi-L-triptofano in CPME viene scaldata per 4 ore a 120°C a microonde. Al termine della reazione la miscela viene concentrata a piccolo volume e raffreddata. Dopo l'aggiunta di 15mL di etere etilico precipita un solido bianco che viene filtrato in atmosfera inerte di argon. Il prodotto viene lavato con 10mL di esano per 3 volte, tirato a secco e pesato.

La miscela dei due diastereoisomeri **8a** e **8b** viene analizzata con IR in soluzione, ATR, ^1H NMR, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR, ESI MS⁺.

IR (grezzo, CPME, cm^{-1}): 1928 (-CO).

ATR (cm^{-1}): 3268 b (O-H), 3054 m (C-H), 2051 vs (Ru-H), 1918 s (-CO), 1601 (-COO), 1583 m (-COO), 1433 (P-C_{Ph}), 1385 (C-N).

ESI-MS⁺ (MeOH; m/z): 897 [M+Na]⁺.

I segnali ^1H NMR del complesso **8a** sono i seguenti:

^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7,72 (bs, NH), 7,65–7,40 (m, PPh₃, 30H). 7,15 (d, $J = 8,7$ Hz, CH, 1H), 6,70 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, CH, 1H), 6,45 (d, $J = 2,0$ Hz, CH, 1H), 6,29 (s, CH, 1H), 2,82 (dd, $J = 15,3, 3,3$ Hz, CH, 1H), 1,93 (dd, $J = 10,8, 3,2$ Hz, CH, 1H), 1,44 (dd, $J = 15,4, 10,9$ Hz, CH, 1H), -10,81 (t, $J = 21,0$ Hz, Ru-H, 1H).

I segnali ^1H NMR e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso **8b** sono i seguenti:

^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7,16 (CH, 1H), 6,75 (CH, 1H), 6,51 (CH, 1H), 6,48 (CH, 1H), -10,17 (Ru-H, 1H).

Non è possibile identificare i 3 doppi doppietti più schermati. Si ipotizza che si trovino sotto i segnali del complesso **8a** e non risultino visibili in quanto la concentrazione del complesso **8b** nel campione è molto bassa.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (243 Mhz, CD₃OD, ppm): 32,40 (1P), 45,08 (1P).

Sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ in etanolo a riflusso

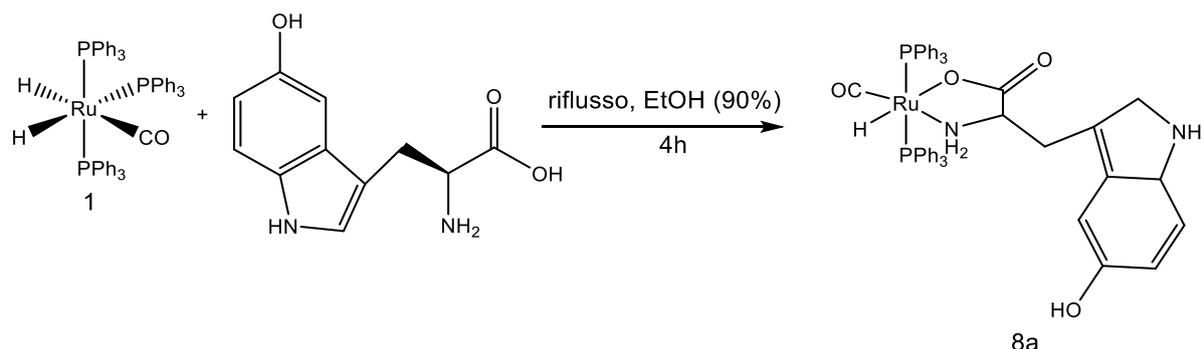


Figura 104: Schema di reazione, sintesi del complesso $\kappa^2\text{-(N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(5-HTP)]}$ in etanolo a riflusso

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃]	917,97	110	/	0,12	/
5-L-HTP	220,23	27	/	0,12	/
Etanolo (90%)	/	/	50	/	/
[RuH(CO)(PPh₃)₂(5-HTP)]	873,91	53	/	0,06	51%

Tabella 18: Reagenti usati, prodotto e resa

Un pallone a due colli da 100mL dotato di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio siliconico. Il complesso **1** e il reagente 5-idrossi-L-triptofano vengono introdotti nel pallone e disciolti in 50mL di etanolo al 90%. Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. Il pallone viene mantenuto in atmosfera inerte di argon fino al termine della reazione. La reazione viene monitorata effettuando degli IR in soluzione, dopo 4 ore si osserva la scomparsa della banda carbonilica del complesso **1**.

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela sottovuoto. Dopo l'aggiunta di 15mL di etere etilico precipita un solido bianco che viene filtrato in atmosfera inerte di argon. Il solido viene purificato effettuando 3 lavaggi del solido con 5mL di esano, 3 lavaggi con 5mL di etere etilico e un lavaggio con 5mL di diclorometano. Il prodotto viene tirato a secco e pesato.

Il prodotto **8a** viene caratterizzato con:

ATR (cm⁻¹): 3339 s (N-H), 3270 b (O-H), 3078 m (C-H), 2962 m (C-H), 1958 s (Ru-H), 1922 vs (CO), 1594 m (-COO), 1433 s (P-C_{Ph}), 1399 m (-COO).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7,72 (bs, NH), 7,65–7,40 (m, PPh₃, 30H). 7,15 (d, *J* = 8,7 Hz, 0.5Hz 1H), 6,70 (dd, *J* = 8,8, 2.4 Hz, 1H), 6,45 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6,29 (s, 1H), 2,82 (dd, *J* = 15.3, 3.3 Hz, 1H), 1,93 (dd, *J* = 10.8, 3.2 Hz, 1H), 1,44 (dd, *J* = 15.4, 10.9 Hz, 1H), -10,81 (t, *J* = 21.0 Hz, Ru-H, 1H).

¹³C{¹H} NMR (151 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 31,1 (s, CH₂), 56,7 (s, CH), 104,2 (s, CH), 110,4 (s, CH), 124,8 (s, CH), 112,7 (s, CH), 170,0 (s, -COO), 182,3 (bs, Ru-CO).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 45,47 (dd, *J* = 300,9, 19,1 Hz, 1P), 40,48 (dd, *J* = 301,0, 18,8 Hz, 1P).

Sintesi del complesso κ²-(N,O)[RuH(CO)(PPh₃)₂(asp)]

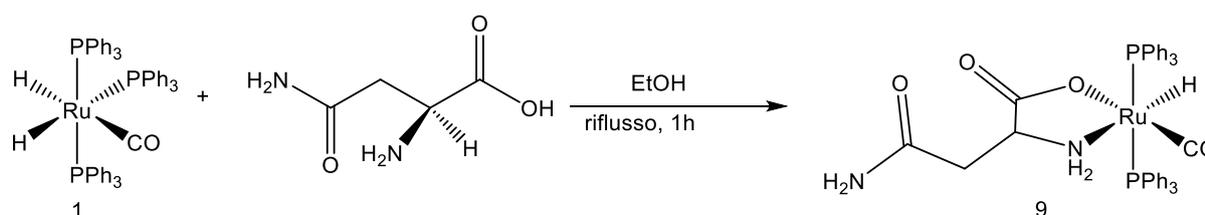


Figura 105: Schema di reazione, sintesi del complesso κ²-(N,O)[RuH(CO)(PPh₃)₂(asp)]

	Massa molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	mMol (mmol)	Resa%
[Ru(H) ₂ (CO)(PPh ₃) ₃]	917,97	177	/	0,19	/
Asp	132,11	30	/	0,23	/
Etanolo (96%)	/	/	50	/	/
[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (Asp)]	785,77	28	/	0,04	19%

Tabella 2: Reagenti usati, prodotto e resa

Il complesso κ²-(N,O)[RuH(CO)(PPh₃)₂(asp)] è stato sintetizzato per reazione del complesso 1 con la L-asparagina.

Vengono inseriti i due reagenti e il solvente all'interno di un pallone a due colli da 250 mL dotato di refrigerante a bolle e ancoretta magnetica. La miscela viene portata a riflusso in atmosfera inerte di argon. Dopo 1 ora, la miscela viene filtrata su celite e

vengono effettuati 3 lavaggi con 10mL di esano, 3 lavaggi con 10mL di etere etilico. Infine, il prodotto viene eluito con diclorometano e tirato a secco.

Il complesso **9** viene caratterizzato con:

ATR (cm^{-1}): 3350 m (-NH₂), 3055 m (C-H), 2963 m (C-H) 1917 m (Ru-CO), 1617 b (-COO), 1479 s (P-C^a), 1432 s (P-C^a), 693 s (C-C fuori dal piano).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7,68-7,42 (m, PPh₃, 30H), 2,23 (dd, $J = 16,4, 3,3$ Hz, 1H), 2,04 (dd, $J = 9,7, 3,2$ Hz, 1H), 1,08 (dd, $J = 16,3, 9,7$ Hz, 1H), -10,91 (t, $J = 21,2$ Hz, 1H).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 44,89 (dd, $J = 300,2, 17,7$ Hz, 1P), 40,63 (dd, $J = 300,3, 18,8$ Hz, 1P).

ESI-MS⁺ (MeOH; m/z, %): 809 [M+Na]⁺.

BIBLIOGRAFIA

1. Pereira de Lima A, Aurélio Pinheiro Almeida M, Mello-Andrade F, et al. Ru(II)-Based Amino Acid Complexes Show Promise for Leukemia Treatment: Cytotoxicity and Some Light on their Mechanism of Action. *Springer*. 2020;197:123-131. doi:10.1007/s12011-019-01976-0/Published
2. Zeng L, Gupta P, Chen Y, et al. The development of anticancer ruthenium(II) complexes: From single molecule compounds to nanomaterials. *Chemical Society Reviews*. 2017;46(19):5771-5804. doi:10.1039/c7cs00195a
3. Chris Orvig, Michael J. Abrams. Medicinal Inorganic chemistry introduction. *Chemical review*. 1999;99:2201-2203.
4. Rosenberg B, Camp LV, Krigas T. Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature*. 1965;205:698-699.
5. Riddell IA, Lippard SJ. Cisplatin and oxaliplatin: Our current understanding of their Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents actions. In: *Metal Ions in Life Sciences*. Vol 18. Walter de Gruyter GmbH; 2018:1-42. doi:10.1515/9783110470734-001
6. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews*. 2007;7(8):573-584. doi:10.1038/nrc2167
7. Michael Frezza et al. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. *Curr Pharm Des*. 2010;16(16):1813-1825.
8. Muhammad N, Guo Z. Metal-based anticancer chemotherapeutic agents. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2014;19(1):144-153. doi:10.1016/j.cbpa.2014.02.003
9. Bratsos I, Jedner S, Gianferrara T, Alessio E. Ruthenium anticancer compounds: Challenges and expectations. *Chimia*. 2007;61(11):692-697. doi:10.2533/chimia.2007.692
10. Blunden BM, Stenzel MH. Incorporating ruthenium into advanced drug delivery carriers - an innovative generation of chemotherapeutics. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2015;90(7):1177-1195. doi:10.1002/jctb.4507
11. Allardyce CS, Dorcier A, Scolaro C, Dyson PJ. Development of organometallic (organo-transition metal) pharmaceuticals. In: *Applied Organometallic Chemistry*. Vol 19. ; 2005:1-10. doi:10.1002/aoc.725
12. Guo W, Zheng W, Luo Q, et al. Transferrin serves as a mediator to deliver organometallic ruthenium(II) anticancer complexes into cells. *Inorganic Chemistry*. 2013;52(9):5328-5338. doi:10.1021/ic4002626
13. Wee HA, Dyson PJ. Classical and non-classical ruthenium-based anticancer drugs: Towards targeted chemotherapy. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2006;(20):4003-4018. doi:10.1002/ejic.200600723
14. Pizarro AM, Sadler PJ. Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. *Biochimie*. 2009;91(10):1198-1211. doi:10.1016/j.biochi.2009.03.017

15. Heffeter P, Böck K, Bihter •, et al. Intracellular protein binding patterns of the anticancer ruthenium drugs KP1019 and KP1339. *J Biol Inorg Chem*. 2010;15:737-748. doi:10.1007/s00775-010-0642-1
16. Thota S, Rodrigues DA, Crans DC, Barreiro EJ. Ru(II) Compounds: Next-Generation Anticancer Metallotherapeutics? *Journal of Medicinal Chemistry*. 2018;61(14):5805-5821. doi:10.1021/acs.jmedchem.7b01689
17. Huang H, Zhang P, Yu B, et al. Targeting Nucleus DNA with a Cyclometalated Dipyridophenazineruthenium(II) Complex. *J Med Chem*. 2014;57. doi:10.1021/jm501095r
18. Djukic JP, Sortais JB, Barloy L, Pfeffer M. Cycloruthenated compounds - Synthesis and applications. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2009;(7):817-853. doi:10.1002/ejic.200801016
19. Morris RE, Aird RE, del Socorro Murdoch P, et al. Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2001;44(22):3616-3621. doi:10.1021/jm010051m
20. Chen J, Wang J, Deng Y, et al. Ru(II) Complexes Bearing O, O-Chelated Ligands Induced Apoptosis in A549 Cells through the Mitochondrial Apoptotic Pathway. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. Published online 2020. doi:10.1155/2020/8890950
21. Barton TJ, Roth RW, Verkade JG. Directions of the Dipole Moments of Aromatic Heterocyclopentadienes. *Journal of the American Chemical Society*. 1972;94(25):8854-8857.
22. Lee H, Lee J, Lee S, et al. A Novel Class of Highly Potent, Selective, and Non-Peptidic Inhibitor of Ras Farnesyltransferase (FTase). Vol 11.; 2001:3069-3072.
23. Bhardwaj V, Gumber D, Dhiman S, Sharma P. Pyrrole: A Resourceful Small Molecule in Key Medicinal Hetero-Aromatics. Vol 5.; 2015:15233-15266.
24. Londoño-Lemos ME, Martínez-Bulit P, López-Sandoval H, et al. Transition metal coordination compounds of an antiobesity serotonergic ligand: spectroscopic characterization and adipogenesis activity. *Transition Metal Chemistry*. 2017;42(7):587-596. doi:10.1007/s11243-017-0163-7
25. Tsai YW, Chen YF, Li YJ, Chen KH, Lin CH, Huang JH. Structural determination of ruthenium complexes containing bi-dentate pyrrole-ketone ligands. *Molecules*. 2018;23(1):1-11. doi:10.3390/molecules23010159
26. Salvini A, Frediani P, Giannelli C, Rosi L. On the behaviour of Ru(I) and Ru(II) carbonyl acetates in the presence of H₂ and/or acetic acid and their role in the catalytic hydrogenation of acetic acid. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2005;690(2):371-382. doi:10.1016/j.jorganchem.2004.09.048
27. Jagadeesh R v., Karthikeyan P, Nithya P, et al. Development of an efficient ruthenium catalyzed synthetic process and mechanism for the facile conversion of benzothiazoles to orthanilic acids. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. 2010;328(1-2):99-107. doi:10.1016/j.molcata.2010.06.006
28. Wan M, Ding L, Wang D, Han J, Gao P. Serotonin: A Potent Immune Cell Modulator in Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2020;11. doi:10.3389/fimmu.2020.00186

29. Costa B, Matos R, Amorim I, Gärtner F, Vale N. New insight into breast cancer cells involving drug combinations for dopamine and serotonin receptors. *Applied Sciences (Switzerland)*. 2021;11(13). doi:10.3390/app11136082
30. Amer A, Breu J, McDermott J, Wurtman RJ, Maher TJ. 5-Hydroxy-L-tryptophan suppresses food intake in food-deprived and stressed rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2004;77(1):137-143. doi:10.1016/j.pbb.2003.10.011
31. Ceci F, Cangiano C, Cairella M, et al. *Journal of Neural Transmission The Effects of Oral 5-Hydroxytryptophan Administration on Feeding Behavior in Obese Adult Female Subjects*. Vol 76.; 1989.
32. Maffei ME. 5-hydroxytryptophan (5-htp): Natural occurrence, analysis, biosynthesis, biotechnology, physiology and toxicology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(1):1-25. doi:10.3390/IJMS22010181
33. Schlü A, Bieber K, Sheldrick WS. Preparation, structure and coordination properties of (h 6-p-cymene)ruthenium(II) sandwich complexes of catechol and 5-hydroxyindole derivatives. *Inorg Chim Acta*. 2002;340:35-43. www.elsevier.com/locate/ica
34. Almeida MAP, do Nascimento FB, Graminha AE, et al. Structural features and cytotoxic activities of [Ru(AA-H)(dppb)(bipy)] PF6 complexes. *Polyhedron*. 2014;81:735-742. doi:10.1016/j.poly.2014.07.024
35. Lima AP, Pereira FC, Almeida MAP, et al. Cytotoxicity and apoptotic mechanism of ruthenium(II) amino acid complexes in sarcoma-180 tumor cells. *PLoS ONE*. 2014;9(10). doi:10.1371/journal.pone.0105865
36. Samouei H, Grushin V v. New, highly efficient, simple, safe, and scalable synthesis of [(Ph 3P)3Ru(CO)(H)2]. *Organometallics*. 2013;32(15):4440-4443. doi:10.1021/om400461w
37. Li R-X, Wong N-B, Li X-J, Mak TCW, Yang Q-C, Tin K-C. Synthesis and characterization of ruthenium complexes of 1,8-bis(diphenylphosphinomethyl)naphthalene (BDNA) and their catalytic hydrogenation reactions to h,i-unsaturated aldehydes. *Journal of Organometallic Chemistry*. 1998;571:223-229.