

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Dipartimento di Chimica Industriale “Toso Montanari”

Corso di Laurea Magistrale in

Chimica Industriale

Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

CHIMICA DI COMPLESSI DI RUTENIO CON LEGANTI BASI DI SCHIFF CHELANTI

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Lorenzo Bajo

RELATORE

Chiar.mo Prof. Silvia Bordoni

CORRELATORE

Dr. Giacomo Drius

Anno Accademico 2023-2024

Sinossi

La presente tesi sperimentale ha come obiettivo la sintesi e la caratterizzazione di nuovi complessi organometallici di Rutenio, coordinati a leganti basi di Schiff con potenziali applicazioni farmacologiche come agenti antitumorali ed antimicrobici. Il lavoro è incentrato sulla progettazione, ottimizzazione di processi di sintesi di complessi di Rutenio e la loro caratterizzazione, utilizzando leganti polidentati biocompatibili, che permettono stabilità nei solventi polari e controllo sulla loro potenziale attività biologica.

I complessi sono stati caratterizzati attraverso spettroscopia IR, NMR, UV-VIS, ESI-MS, con particolare attenzione alla loro stabilità in soluzioni fisiologiche, come soluzione tampone fosfato (PBS), che simulano le condizioni biologiche. I risultati hanno evidenziato che i complessi di Rutenio con leganti bidentati o tridentati presentano caratteristiche promettenti per l'uso in campo farmacologico, grazie alla loro capacità di coordinarsi covalentemente al centro metallico in un ambiente fisiologico.

Abstract

The present experimental thesis describes the synthesis and characterization of novel Ruthenium organometallic complexes, coordinating biocompatible p-extended polydentate ligands Schiff base ligands with substituents as pyrrole, indole, phenyl or phenolic groups, showing potential pharmacological applications as anticancer or antimicrobial activity. The work focuses on the design and optimization of the synthetic procedures which allow stability in biological conditions and the control over their chemical and potential biological effectiveness.

The complex structures were validated by ESI-MS, IR, NMR, and UV-Vis spectroscopy, particularly concerning their stability in PBS (Phosphate Buffer Solution) physiological solutions, simulating biological conditions. The results highlighted that Ruthenium complexes with bidentate or tridentate ligands present promising features for the use in pharmaceutical field, thanks to their ability to effectively coordinate to the metal center maintaining the stability in physiological environments.

<i>1.INTRODUZIONE</i>	5
1.1 Rutenio.....	5
1.2 Basi di Schiff: sintesi e reattività.....	6
1.3 Attività biologica dei metalli	8
1.4 Il cis-platino come agente antitumorale.....	8
1.5 Ferro e Rutenio a confronto	9
1.6 Attività biologica del Rutenio.....	10
1.7 Complessi di Rutenio approvati per i test clinici.....	12
1.8 L'importanza dei leganti multidentati	14
1.9 Sintesi di Basi di Schiff come leganti polidentati	15
1.10 Scelta dei leganti selezionati:	18
<i>2.SCOPO DELLA TESI</i>	21
<i>3. RISULTATI E DISCUSSIONE</i>	22
3.1 Caratterizzazione k^3 -(N,N,O)[Ru(CO)(PPh ₃) ₂ (E)]; k^2 -(NN)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (E)]....	23
3.1.1 k^3 -(N,N,O)[Ru(CO)(PPh ₃) ₂ (E)]	26
3.1.2 k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (E)]	35
3.2 Caratterizzazione del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (F)]	38
3.2.1 k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (F)]	43
3.3 Caratterizzazione del k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (G)]	52
3.3.1 k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (G)].....	54
3.4 Caratterizzazione del k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (H)]	61
3.4.1 k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (H)].....	65
<i>4. PARTE SPERIMENTALE</i>	71
4.1 Ricristallizzazione Trifenilfosfina	72
4.2 Sintesi del precursore [(PPh ₃) ₃ Ru(CO)(H ₂)]	73
4.3 Preparazione della base di Schiff "E"	74
4.3.1 Sintesi dei complessi k^3 -(N,N,O)[Ru(CO)(PPh ₃) ₂ (E)] e k^3 - (N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (E)].....	76
4.3.3 k^2 -(N,N)[Ru(CO)(PPh ₃) ₂ (E)]	78
4.4 Preparazione della base di Schiff "F"	79

4.4.1 Sintesi del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (F)]	80
4.5 Preparazione della base di Schiff "G"	82
4.5.1 Sintesi del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (G)].....	83
4.6 Preparazione della base di Schiff "H"	85
4.6.1 Sintesi del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (H)].....	86
5. <i>CONCLUSIONE E PROSPETTIVE FUTURE</i>	88

1.INTRODUZIONE

1.1 Rutenio

Il rutenio (Fig.1) è un elemento chimico con numero atomico 44 e simbolo Ru. Situato nel gruppo 8 del sistema periodico, tra il ferro e l'osmio, fa parte del blocco d ed è un elemento di transizione della seconda serie (5° periodo). Questo raro metallo, come altri del gruppo del platino, si trova nei minerali insieme al platino e viene utilizzato in lega con esso come catalizzatore. Grazie alla sua capacità di indurire platino e palladio, il rutenio è impiegato in leghe con questi metalli per produrre contatti elettrici molto resistenti all'usura. L'aggiunta dello 0,1% di rutenio al titanio ne aumenta la resistenza alla corrosione fino a 100 volte.

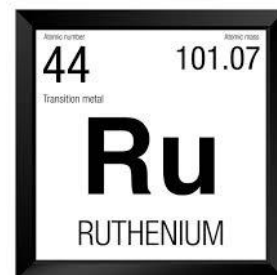


Figura 1. Rutenio

Esso è un catalizzatore versatile: è usato per reazioni di idrogenazione, con un'efficienza superiore a quella del rodio (Fig.2). Molto utilizzato nell'idrogenazione asimmetrica di aldeidi, chetoni e immine, garantendo un alto grado di stereoselezione.

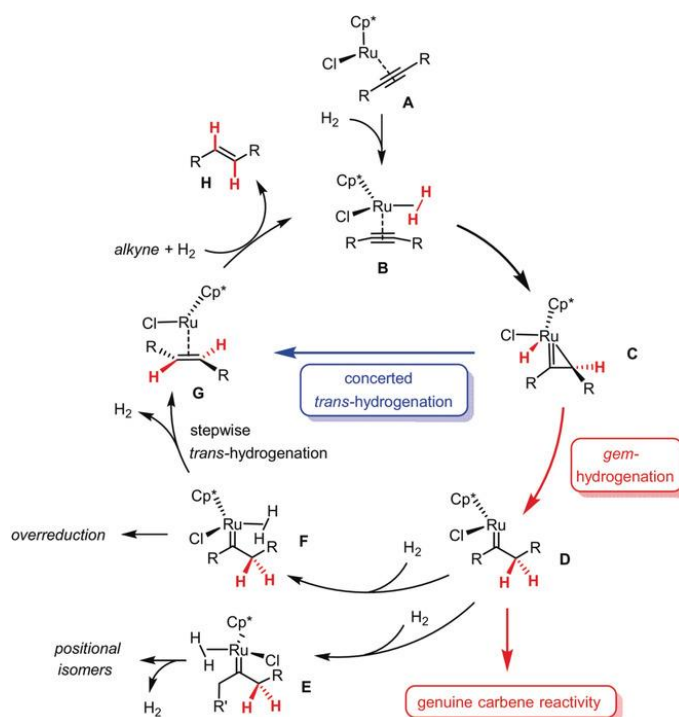


Figura 2. Esempio di attività catalitica del rutenio Rutenio

I complessi organometallici tra Ru-carbene, così come quelli tra Ru-allenilidene e Ru-basi di Schiff, si sono rivelati catalizzatori molto efficienti per la metatesi delle olefine, con importanti applicazioni nella sintesi di composti organici e molecole di interesse farmaceutico. Inoltre, alcuni complessi organometallici del rutenio hanno dimostrato proprietà antitumorali, portando allo sviluppo di farmaci sperimentali. Altri complessi, per la loro capacità di assorbire la luce di tutto lo spettro visibile, sono oggetto di ricerca nello sviluppo di tecnologie solari. Alcune leghe di rutenio-iridio sono utilizzate da aziende produttrici di accessori di lusso come Mont Blanc e Rolex.

1.2 Basi di Schiff: sintesi e reattività

Negli ultimi anni si è manifestato un grande interesse per la sintesi e la caratterizzazione di complessi di metalli di transizione contenenti basi di Schiff come leganti, a causa della loro importanza come catalizzatori per molte reazioni. Sebbene ci sia una vasta quantità di informazioni disponibili sui complessi di metalli di transizione con basi di Schiff, queste sono per lo più confinate ai metalli della prima serie, in particolare ferro, cobalto e nichel. Una novità degli ultimi anni riguardanti le basi di Schiff, è la compatibilità che queste hanno sui complessi di rutenio. I complessi di Ru(II) e (III) hanno mostrato risultati positivi negli studi antitumorali e antimicrobici^{1,2}.

Le basi di Schiff sono prodotte dalla condensazione di ammine primarie con composti contenenti un gruppo carbonilico (Fig.3).

La caratteristica strutturale di questi composti è il gruppo azometinico $-(H)C=N-$. Esse hanno formula generale $RHC=NR_1$, dove R e R_1 sono gruppi alchilici, arilici, cicloalchilici o eterociclici. Possono anche avere formula $RR'C=NR_1$. Strutturalmente, note anche come immine o azometinesono un analogo azotato di un'aldeide o chetone in cui il gruppo carbonilico è sostituito da un gruppo imminico (chiamato anche azometinico). Sono basi deboli che in presenza di acidi in condizioni anidre formano sali. In soluzioni acide acquose danno luogo a idrolisi formando un'ammina e un'aldeide. Sono stabili in soluzioni basiche^{3,4}.

Come accennato nel paragrafo precedente, a causa del doppietto elettronico solitario presente sull'azoto le basi di Schiff sono ottimi leganti: l'atomo di carbonio del legame C=N-R- immina è suscettibile all'addizione nucleofila, mentre l'atomo di azoto possiede una coppia di elettroni liberi altamente reattiva che può formare complessi stabili con ioni metallici.

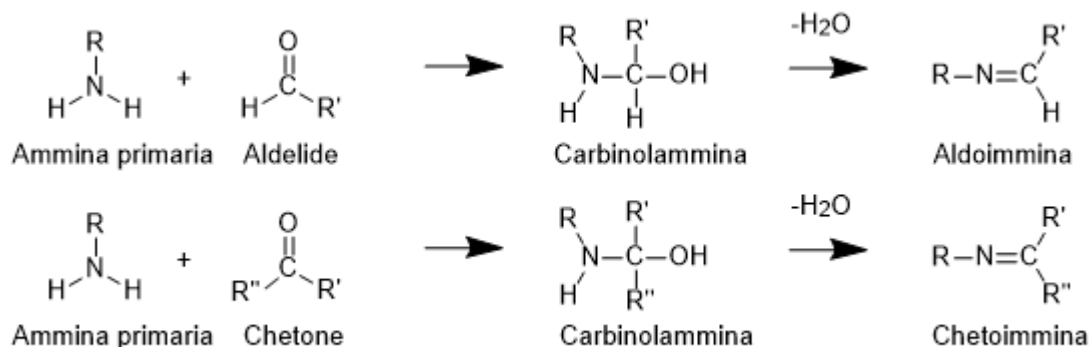


Figura 3. Sintesi delle basi di Schiff

La presenza di una coppia solitaria di elettroni nel gruppo azometinico dell'azoto ha un'importanza chimica e biologica poiché, avendo ibridazione sp^2 , interferisce nei processi cellulari normali attraverso legami idrogeno con i centri attivi dei costituenti cellulari⁵. Inoltre, nei sistemi biologici, l'azoto azometinico delle basi di Schiff fornisce un sito di legame per gli ioni metallici per legarsi a varie biomolecole come proteine e amminoacidi, dimostrando così la sua capacità biologica.

Tra le proprietà esibite da alcune basi di Schiff c'è la luminescenza, che è attribuita alla transizione $n \rightarrow \pi^*$ del legame immico. Questa proprietà è vantaggiosa per monitorare l'efficacia dei vettori farmacologici, evitando l'uso di fluorocromi. Inoltre, il legame presente nelle basi di Schiff è un legame covalente dinamico che presenta reversibilità contro fattori esterni come il pH. La stabilità di questi legami diminuisce con la diminuzione del pH, una caratteristica utile al momento del rilascio del farmaco attraverso un pH specifico. D'altra parte, varie indagini hanno mostrato che i composti derivati dalle basi di Schiff presentano attività farmacologica come agenti antinfiammatori, analgesici, antimicrobici, anticonvulsivanti, antitubercolari, antitumorali e antiossidanti. Tuttavia, i meccanismi d'azione precisi delle basi

di Schiff non sono ancora completamente definiti e pertanto continuano ad essere oggetto di indagine^{1,6}

1.3 Attività biologica dei metalli

La chemioterapia è uno dei principali metodi di trattamento utilizzati per curare i tumori e si avvale di farmaci sia organici che inorganici. La maggior parte dei farmaci antitumorali, sono molecole organiche, mentre i farmaci a base di metalli sono piuttosto rari. Nonostante i metalli siano ancora poco utilizzati come medicinali, essi rivestono un ruolo cruciale negli esseri viventi poiché, in forma cationica, gli ioni metallici poveri di elettroni tendono a interagire con molecole biologiche ricche di elettroni, come le proteine e il DNA. Questi ioni metallici partecipano a molte funzioni biologiche essenziali, come il trasporto di elettroni e di ossigeno. Poiché la natura ha sfruttato ampiamente gli ioni metallici nei sistemi biologici, è cresciuto l'interesse dei ricercatori nello sviluppo di composti di coordinazione che potrebbero essere utilizzati come agenti antitumorali.

1.4 Il cis-platino come agente antitumorale

Tra questi metalli emergono, l'argento il quale ha proprietà antimicrobiche, l'oro, che è utilizzato come antireumatico e il platino, impiegato nei trattamenti chemioterapici. In particolare, la scoperta del cisplatino (Fig.4) rivoluzionò il campo della chemioterapia, portando all'uso di questo farmaco e dei suoi analoghi per il trattamento di molti tipi di tumore per lungo tempo.

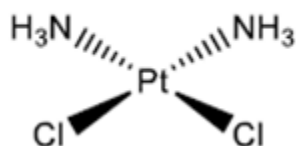


Figura 4. Struttura del *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] (cisplatino)

Scoperto casualmente da Barnett Rosenberg nel 1965, ha rivoluzionato il trattamento del cancro grazie alla sua capacità di interferire con la replicazione del DNA nelle cellule tumorali. Questo composto di platino si lega al DNA, provocando danni che impediscono la replicazione delle cellule cancerose, portandole alla morte.

Il meccanismo d'azione del cisplatino implica un'attivazione intracellulare dovuta alla solvatazione del complesso, che avviene con l'uscita di uno o di entrambi i gruppi cloruro. Successivamente, il complesso solvatato si lega covalentemente al DNA, formando addotti e attivando varie vie di segnalazione, tra cui quelle coinvolte nel riconoscimento e nella riparazione del danno al DNA, nell'arresto del ciclo cellulare e nella morte cellulare^{7,8}.

La comunità scientifica iniziò a interrogarsi sugli effetti collaterali associati all'utilizzo di queste specie. Si scoprì che, oltre alle cellule tumorali, anche le cellule a rapida riproduzione, come quelle dei capelli o dei reni, erano colpite. Inoltre, alcune cellule sviluppavano forme di resistenza al farmaco, riducendone o persino inibendone l'efficacia. Questo ha portato alla necessità di studiare complessi alternativi con altri metalli di transizione che potessero offrire una migliore tollerabilità e minori effetti collaterali. Una grande intuizione è stata quella di utilizzare specie metalliche che potessero imitare e riprodurre quelle già presenti all'interno del nostro corpo^{1,2}.

1.5 Ferro e Rutenio a confronto

Nel corpo umano, il ferro è mediamente presente in quantità di 4-5 grammi. Sebbene sia presente nel nostro organismo in piccole quantità, ha funzioni fondamentali. Il ferro si lega a due proteine essenziali: l'emoglobina nei globuli rossi, che trasporta l'ossigeno a tutti i tessuti, e la mioglobina, che conserva l'ossigeno nei muscoli, facilitando l'ossigenazione dei tessuti e degli organi. Inoltre, svolge un'importante funzione di riserva: si accumula in organi come il fegato, la milza e il midollo osseo, ed è pronto per essere utilizzato in caso di un improvviso aumento del fabbisogno dell'organismo (ad esempio, durante un'emorragia). Proprio per la bassa citotossicità dovuta alla capacità di imitare il ferro nella formazione di legami con le biomolecole, in particolare con l'albumina e la transferrina all'interno del corpo umano, tra i principali metalli oggetto di studio, compare il rutenio. Esso è il secondo metallo di transizione

meno comune dopo il rodio e non è presente nei sistemi biologici. Tuttavia, i suoi complessi chimici hanno proprietà molto rilevanti per l'attività biologica. I suoi stati di ossidazione più comuni (II), (III) e (IV), sono valutati come promettenti agenti antitumorali sia grazie alla loro inerzia a scambiare leganti, sia grazie alla loro bassa citotossicità e genotossicità su cellule sane, nonché per la loro modalità di azione: essi hanno l'abilità di scambiare elettroni con composti O⁻ e N⁻ donatori e di legarsi agli acidi nucleici. Infine, la geometria ottaedrica permette di disporre i leganti in uno spazio tridimensionale che consente numerose opportunità sintetiche per la regolazione dell'attività biologica⁹.

1.6 Attività biologica del Rutenio

A causa della struttura ottaedrica dei complessi di Ru(II) e Ru(III), in contrasto con la geometria planare quadrata di Pt(II), i complessi antitumorali di rutenio operano in modo diverso rispetto al cisplatino, che sembra piegare il DNA incrociando le guanine adiacenti, causando l'adesione di una classe di proteine leganti il DNA al sito. 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. Secondo quella che è diventata nota come l'ipotesi dell' 'attivazione per riduzione', i complessi di Ru(III) funzionano da profarmaci che vengono attivati per riduzione *in vivo*, a Ru(II), stato ossidativo in cui si manifesta l'attività farmacologica del composto di coordinazione, dopo aver raggiunto il tessuto tumorale. Poiché i tumori utilizzano rapidamente l'ossigeno e altri nutrienti, vi è solitamente un contenuto di O₂ più basso (ipossia) nelle cellule tumorali¹⁰. Di conseguenza, le cellule cancerose dipendono maggiormente dalla glicolisi per l'energia e generano un eccesso di acido lattico, che abbassa il pH nelle cellule tumorali^{9,10,11}. A causa di queste differenze metaboliche, il potenziale elettrochimico relativo all'interno dei tumori è generalmente inferiore rispetto al tessuto normale circostante. Queste differenze nel metabolismo delle cellule tumorali rispetto a quelle normali dovrebbero favorire la produzione di Ru(II) a partire dal Ru(III)¹². I sistemi con ammine o immine, (Fig.5): [(H₂O)(NH₃)₅Ru(II)]²⁺ (A), [Cl(NH₃)₅Ru]²⁺ (B), *trans*-[(Im)₂Cl₄Ru] (C), e *trans*-[(Im)(DMSO)Cl₄Ru] (D) , si legano facilmente ai gruppi nitrosi imidazolici accessibili sulla superficie di diverse proteine. Nella circolazione sanguigna, sia l'albumina che

la transferrina sono responsabili della maggior parte del legame, e la transferrina sembra facilitare l'ingresso del rutenio nelle cellule. Tuttavia, sia la cinetica che l'equilibrio dell'assorbimento e del rilascio del rutenio dipendono fortemente dal tipo di complesso coinvolto⁷.

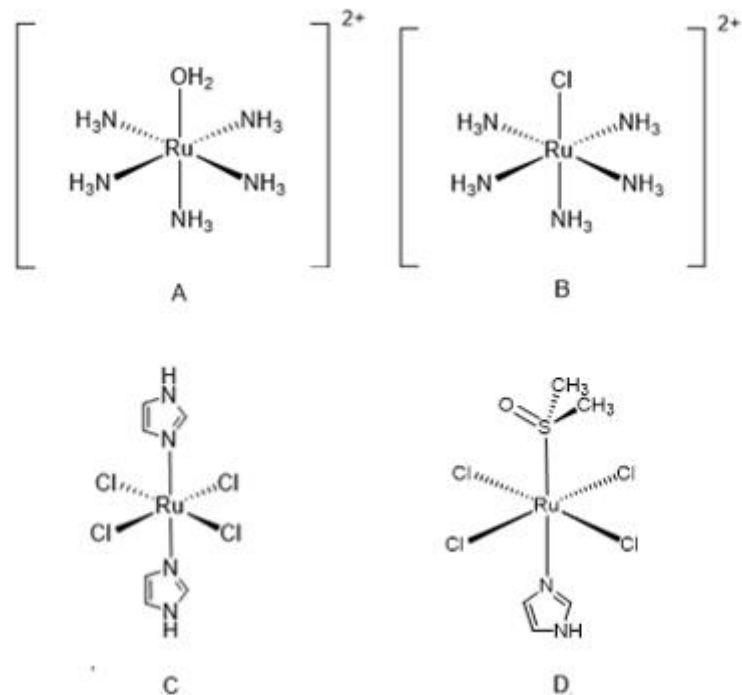


Figura 5. Esempi di complessi imminici di Ru con la capacità di legarsi a gruppi nitrosi imidazolici accessibili sulla superficie delle proteine.

1.7 Complessi di Rutenio approvati per i test clinici

Numerosi complessi di rutenio sono considerati promettenti farmaci antitumorali; almeno quattro di questi sono stati testati clinicamente. I composti che hanno raggiunto i test clinici includono specie di Ru(III) e Ru(II) come NAMI-A, KP109, KP1339 e TLD1433 (Rispettivamente Fig.6,7,8)

Il NAMI-A, $H^+[trans-RuCl_4(DMSO)Im]^-$, è un innovativo farmaco antitumorale a base di Ru(III), scoperto e sviluppato interamente a Trieste. È stato il primo complesso di rutenio a superare la fase di sperimentazione di laboratorio e a raggiungere i test clinici sull'uomo. Nel complesso $H^+[trans-RuCl_4(DMSO)Im]^-Im$, il rutenio è coordinato a un legante imidazolo, un DMSO e quattro ioni cloruro, stabilizzato da un controione imidazolico. Ha una buona solubilità in acqua, è attivo contro una vasta gamma di tumori e risulta molto meno tossico per i tessuti sani rispetto al cisplatino. Tuttavia, la sperimentazione ha rivelato un'efficacia limitata, impedendo un ulteriore sviluppo clinico.

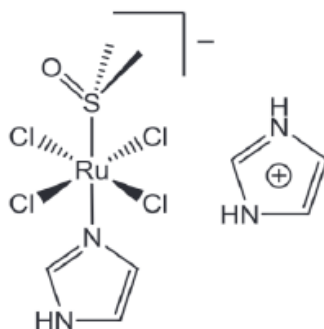


Figura 6. Struttura NAMI-A

Il secondo metallofarmaco di Ru(III), $H^+[RuCl_4(ind)_2]^-Ind$ (KP1019), non ha superato la sperimentazione clinica a causa della sua bassa solubilità nei fluidi fisiologici. Tuttavia, il suo sale di sodio più solubile, KP1339, è attualmente in fase di sperimentazione clinica. Mentre KP1339 si localizza principalmente nel nucleo, il principale target di KP1019 è il citosol. Analisi di spettrometria di massa hanno mostrato che la formazione di complessi ad alto peso molecolare è essenziale per l'effetto terapeutico di questi composti, suggerendo che la loro tossicità sia legata ai legami con le proteine¹³.

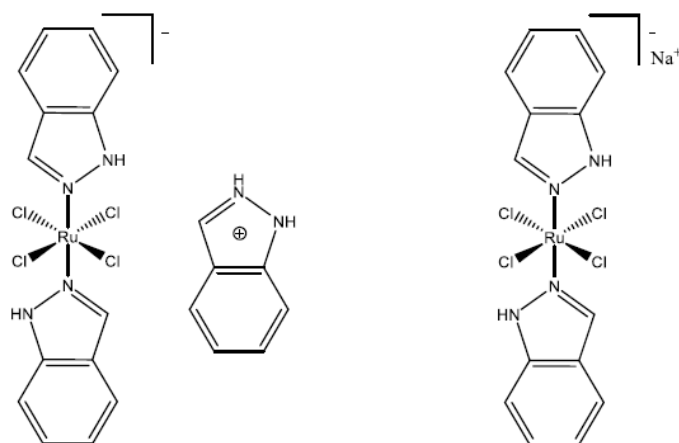


Figura 7. Struttura KP1019 e KP1339

Il complesso di Ru(II), TLD1433, ha superato la prima fase di sperimentazione clinica ed è attualmente nella seconda fase per il trattamento del cancro alla vescica. Esso è un complesso di coordinazione e fotosensibilizzatore a base di rutenio non tossico, con potenziale attività antineoplastica in seguito a terapia fotodinamica (PDT).¹⁴ In seguito a somministrazione intravesicale, il composto fotodinamico attivato dalla luce (PDC) TLD-1433 prende di mira e si lega alla transferrina (Tf) e viene successivamente assorbito dai recettori Tf che si trovano sulle cellule tumorali. In seguito all'esposizione alla luce verde (525 nm), TLD-1433 si attiva localmente e induce la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS)¹⁵. Il rilascio di radicali liberi può indurre l'apoptosi e distruggere le cellule tumorali. Al momento, solo due composti di rutenio, KP1339 e TLD1433, rimangono in fase di test clinici. Sono necessarie ulteriori ricerche per modificare la struttura di questi complessi e migliorarne l'efficacia. Lo sviluppo di nuovi farmaci è una sfida significativa, con il 95% degli antitumorali testati clinicamente che falliscono, rispetto al 90% nelle altre aree terapeutiche.

Tuttavia è auspicabile che le terapie a base di rutenio possano entrare nel mercato come supporto ai chemioterapici a base di platino^{1,3}.

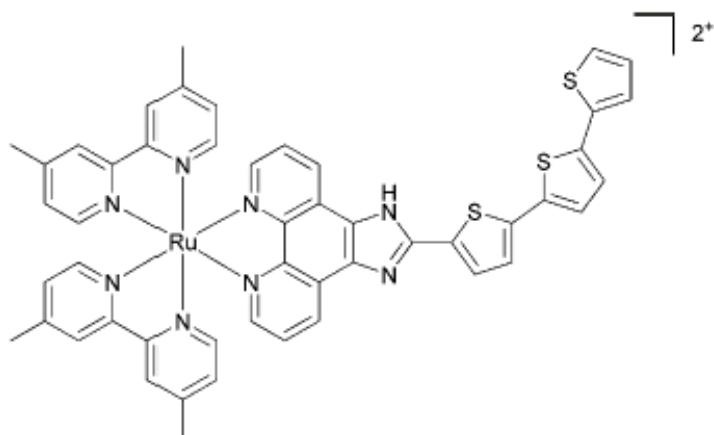


Figura 8. Struttura TLD1433

1.8 L'importanza dei leganti multidentati

Attualmente, esiste una grande diversità di studi biologici sui complessi metallici di quasi tutta la serie dei metalli di transizione e del gruppo principale, includendo sia complessi di coordinazione che organometallici, tra i quali spiccano i complessi con leganti bidentati, tridentati e tetradentati, conferendo maggiore stabilità a queste molecole nei sistemi biologici e permettendo loro di essere selettivi. La varietà di leganti multidentati ha portato a catalogarli in diversi tipi secondo le loro conformazioni e strutture. Ad esempio, troviamo i leganti tridentati "pincer", che offrono tre siti di legame ai centri metallici; questi siti sono generalmente separati l'uno dall'altro da due atomi.¹⁶ Come risultato dell'effetto chelante, i leganti pincer formano complessi molto stabili con i metalli di transizione, prevenendo la decomposizione in ambiente fisiologico. I complessi contenenti questo tipo di leganti sono risultati sempre più interessanti per applicazioni biologiche, motivo per cui il numero di studi correlati è aumentato negli ultimi anni¹. I complessi pincer (Fig.9) di tipo CNS-Pt(II) derivati dagli iminofosforani hanno mostrato attività antitumorale, con valori di IC₅₀ inferiori al cisplatino, mentre i complessi di tipo NCN-Pd(II) derivati da peptidi, di tipo NNN-Ni(II) derivati da bis-pirazolil-s-triazinei tipo SNN-Cu(II) derivati da tiossemicarbazoni, hanno mostrato attività antimicrobica^{6,7}. La presente mostra le strutture dei complessi pincer riportati, evidenziando la presenza di gruppi funzionali biologicamente attivi, ad esempio derivati di immine, pirimidine o imidazoli con una nota attività antimicrobica, arrivando persino a strutture bimetalliche di oro e palladio che hanno mostrato buone attività citotossiche. In questo senso, le basi di Schiff (SBs) sono tra i leganti

con la capacità di avere molteplici siti di coordinazione. Esse hanno un'unità azometinica (HC=N-) con una coppia solitaria di elettroni sull'atomo di azoto che fornisce un sito di legame agli ioni metallici. Oltre a legarsi tramite l'azoto, le basi di Schiff possono connettersi ai metalli attraverso altri eteroatomi come l'ossigeno e/o lo zolfo^{2,6}.

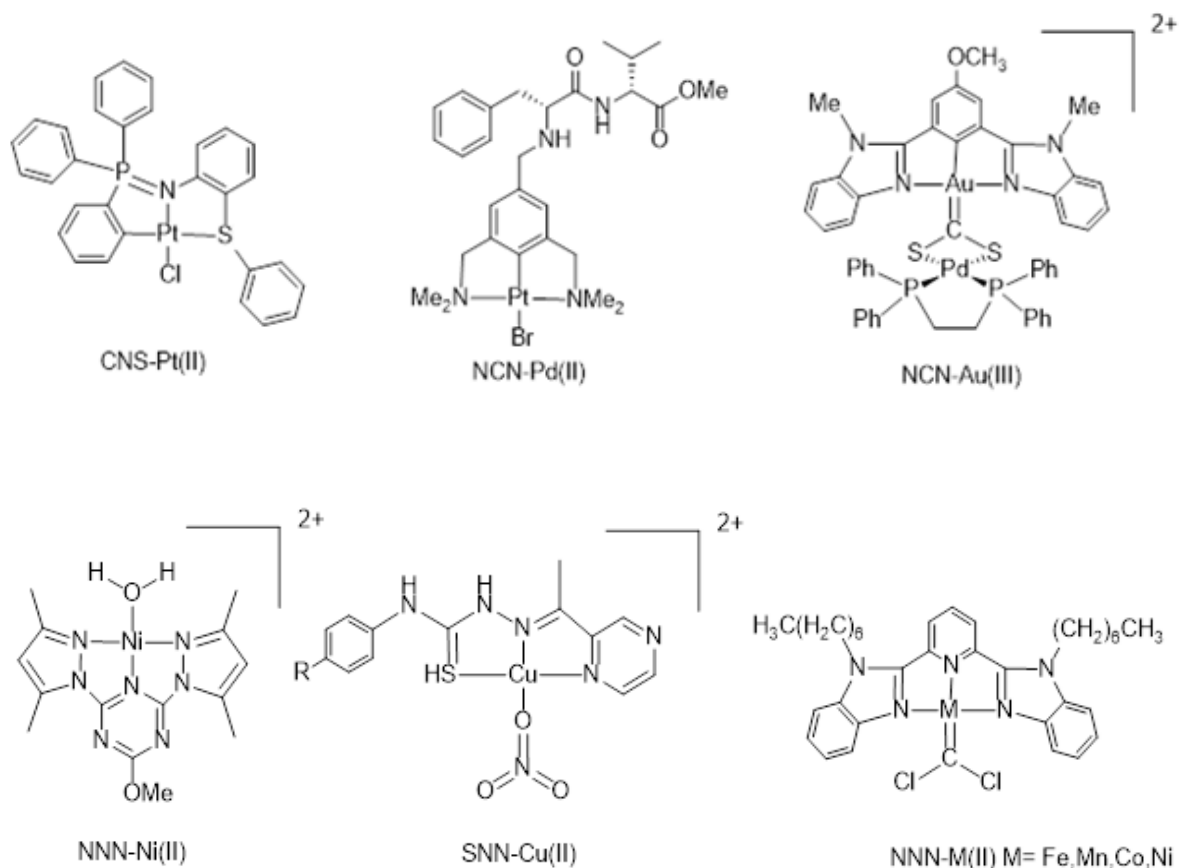


Figura 9. Strutture dei complessi pincer, in presenza di gruppi funzionali biologicamente attivi

1.9 Sintesi di Basi di Schiff come leganti polidentati

Grazie alla loro sintesi altamente modulare, che consente di controllare la natura degli atomi donatori, la denticità e la capacità chelante, nonché le loro proprietà elettroniche e steriche, le basi di Schiff (SB) sono considerate "leganti privilegiati". Il legame con il centro metallico dipende in larga misura dalla natura degli atomi donatori che agiscono come siti di coordinazione, cioè dalla presenza di eteroatomi donatori, che generalmente compaiono nelle

loro strutture come molecole di azoto e ossigeno. In questo modo, è possibile ottenere complessi altamente stabili con ioni metallici in diversi stati di ossidazione, modulando la loro azione farmacologica.

Nell'ultimo decennio sono stati sviluppati complessi metallici con SB trichelanti che hanno mostrato proprietà elettroluminescenti, fluorescenti e biologiche come antitumorali, antivirali, antibatteriche, antiapoptotiche, antifungine, antinfiammatorie e come inibitori dell'ureasi¹. Hanno anche suscitato grande interesse per le loro applicazioni come materiali polimerici, sensori, materiali organici per fotovoltaico, materiali energetici, materiali nucleari in medicina e come componenti di prodotti farmacologicamente attivi¹⁷.

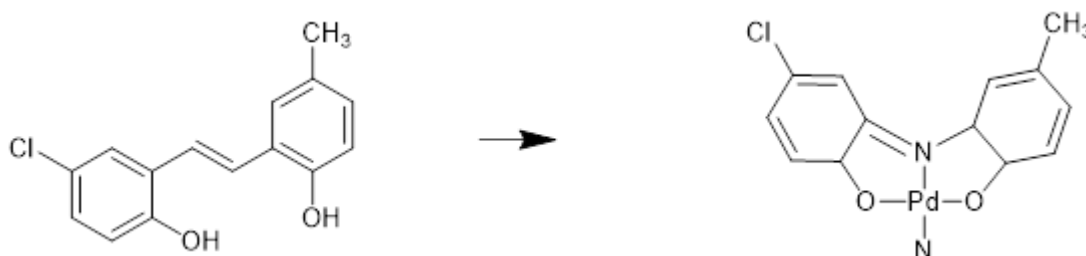


Figura 10. Complesso metallico derivato dalla coordinazione di una base di Schiff

Per preparare i complessi metallici derivati dalle basi di Schiff (SB), si utilizza generalmente la trietilammina per garantire un mezzo basico e quindi favorire la deprotonazione dei leganti, mentre il metallo viene protetto aggiungendo acidi deboli che impediscono la precipitazione⁶ (Fig.11).

I complessi di SB generalmente sono preparati direttamente miscelando sali metallici e una SB selezionata nel solvente appropriato. La miscela viene agitata e reflussata, e il complesso viene poi lavato e seccato. Questo metodo è di gran lunga il più utilizzato ed è stato impiegato per preparare numerosi complessi metallici con basi di Schiff (SB) tridentate, che sono stati oggetto

di diverse recensioni negli ultimi anni. Questo metodo è stato utilizzato per preparare una serie di complessi di Cu(II), Co(II), Ni(II) e Zn(II).



Figura 11. Preparazione di complessi derivanti di basi di Schiff

Normalmente per alcuni metalli tra cui il Ru, si utilizzano precursori di Ru(II), ottenuti a partire da RuCl₃ (Fig.12).

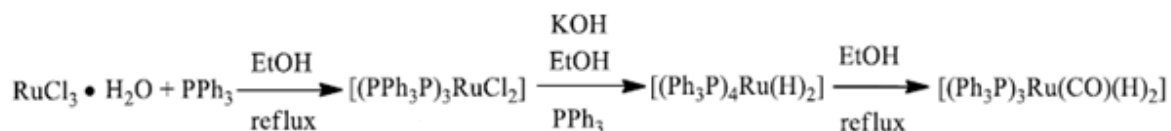
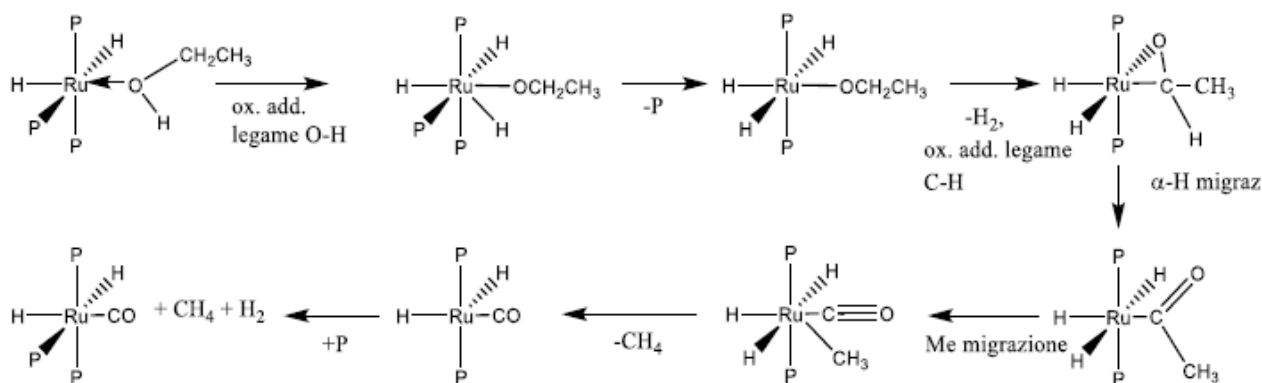


Figura 12. Intermedi coinvolti nella sintesi di $[(\text{PPh}_3)_3\text{Ru}(\text{CO})(\text{H})_2]$

Il solvente EtOH partecipa alla reazione attraverso un'addizione ossidativa sul metallo, seguita da un α -migrazione del CO sul rutenio, formando così il legame Ru-CO, con svolgimento di CH₄ e H₂, (Schema 1).



Schema 1. Addizione ossidativa dell'EtOH e α -migrazione dell'H e del CH₃ dell'EtOH

Il precursore (Schema 1) è utilizzato per questo lavoro di tesi è coordinato con tre molecole di trifenilfosfina, che sono leganti stabili dal punto di vista termodinamico ma abbastanza labili

tutte strutture basate sulla porfirina tetrapirrolica. Gli eterocicli contenenti azoto hanno ricevuto notevole attenzione grazie alle loro significative proprietà biologiche e al loro ruolo di farmacofori.

Il pirrolo ha una struttura planare pentagonale con l'azoto e i carboni ibridati sp^2 , ed è una base debole perché la sua protonazione comporta la perdita dell'aromaticità. I momenti dipolari del composto contribuiscono alla stabilità della molecola; infatti, una differenza di dipolo troppo accentuata sull'eteroatomo ridurrebbe la capacità di delocalizzare la carica negativa nell'anello, rendendolo meno stabile. Il pirrolo come subunità si trova all'interno di diversi composti bioattivi, compresi alcuni agenti antitumorali.^{20, 21}.

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.

L'uso della chimica combinatoria sia per la generazione che per l'ottimizzazione di composti biologicamente attivi (fig.14) è diventato onnipresente nell'industria farmaceutica. In un periodo di tempo relativamente breve, sono state sviluppate o ridefinite diverse metodologie per l'uso nella rapida sintesi parallela.

Uno degli approcci per la sintesi di librerie di composti per lo screening biologico è stato quello di concentrarsi su metodologie per la sintesi di scaffold eterociclici che permettano la variazione delle funzionalità aggiunte. Particolare attenzione è data alla formazione di legami carbonio-carbonio, e un approccio "library from library" permette di raggiungere la massima efficienza^{22,23, 24}.

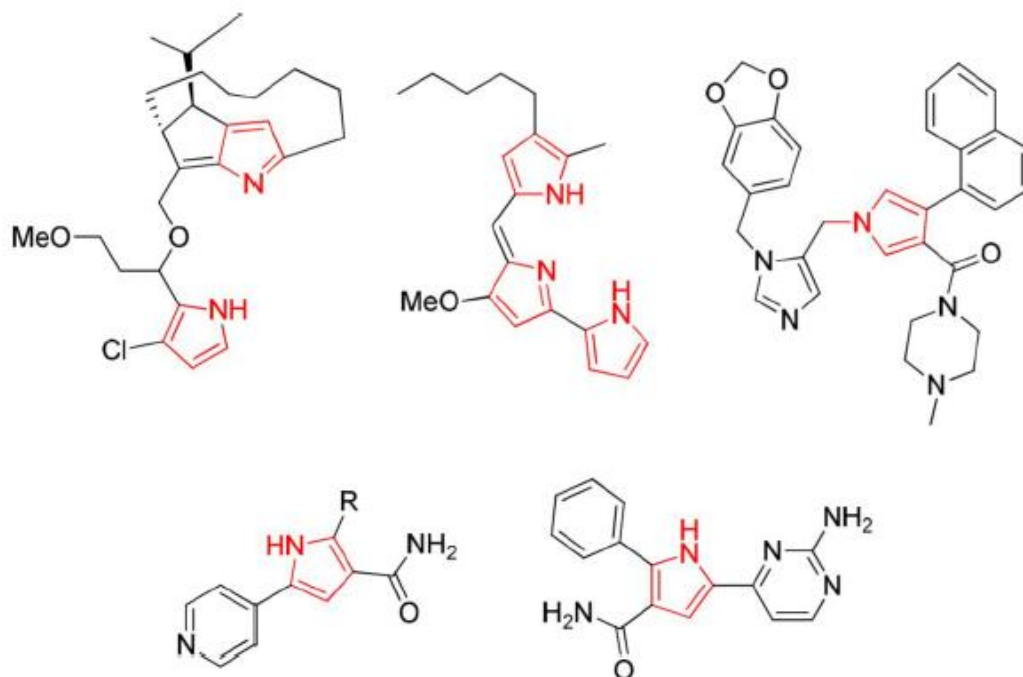
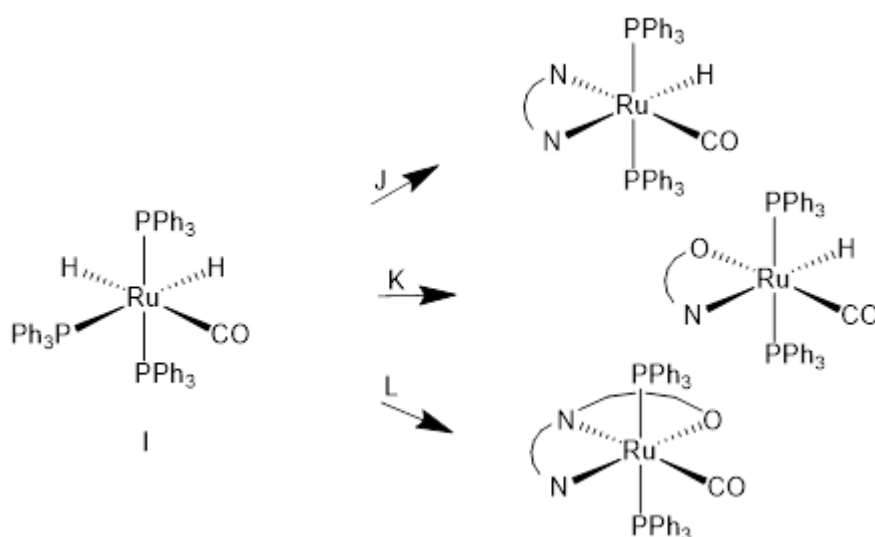


Figura 14. Esempi di composti contenenti subunità di pirrolo che mostrano attività antitumorale

2. SCOPO DELLA TESI

Considerando quanto premesso, questa tesi sperimentale ha l'obiettivo di progettare, sintetizzare e caratterizzare nuovi complessi organometallici di rutenio, i quali potrebbero avere un'attività farmacologica. Essi sono basati sulla coordinazione di molecole attive al centro metallico.

Per iniziare, il complesso di rutenio $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$ è stato sintetizzato secondo le linee guida della sintesi riportata da Grushin nel 2013²⁵, con alcune modifiche al metodo di precipitazione per migliorare la resa del prodotto desiderato. Successivamente, sono state esaminate le reazioni con leganti biocompatibili bidentati e tridentati di tipo N,N-/ N,O-/ N,N,O (Schema 2) con l'intento di ottenere composti che siano stabili in solventi polari.



Schema 2. Struttura dei complessi: I. $[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$; J. $k^2\text{-(N,O)}[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$; K. $k^2\text{-(N,N)}[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$; L. $k^3\text{-(N,N,O)}[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$;

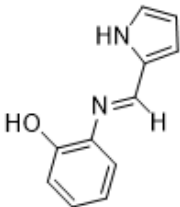
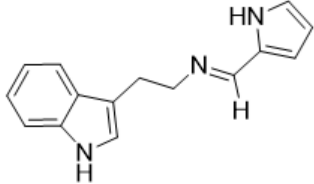
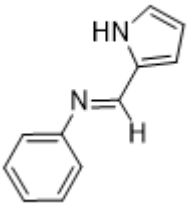
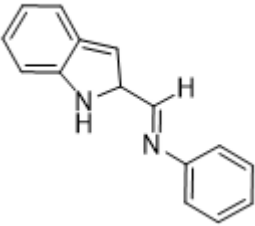
In seguito alla scelta dei leganti, sono state investigate e valutate le condizioni ottimali per la coordinazione di questi ultimi al centro metallico di rutenio.

I prodotti sintetizzati sono stati caratterizzati utilizzando le tecniche spettroscopiche e strutturali standard: spettrometria di massa con ionizzazione elettrospray (ESI-MS), spettroscopia infrarossa (IR), risonanza magnetica nucleare multinucleare (NMR), tecniche bidimensionali

di correlazione eteronucleare, spettrofotometria UV-VIS e qualora la bontà dei cristalli ottenuti lo consentano, anche tecniche diffrattometriche a Raggi X.

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

Tabella 1. Abbreviazioni utilizzate

<i>Categoria</i>	<i>Nome</i>	<i>Abbreviazione</i>
R		E
R		F
R		G
R		H
R	Trifenilfosfina	PPh₃
S	Tetraidrofurano	THF

S	Diclorometano	DCM
S	Ciclopentametilere	CPME
T	Spettroscopia infrarossa	IR
T	Spettroscopia di risonanza magnetica (Protone, Carbonio, Fosforo)	¹H-NMR, ¹³C-NMR, ³¹P-NMR
T	Spettroscopia di massa	ESI-MS

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

3.1 Caratterizzazione di $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$ e $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$

Il legante base di Schiff **E** (Fig. 15), utilizzato per la reazione con il precursore “**T**” nello schema 2, è stato sintetizzato in etanolo, reazione catalizzata da un goccia di acido acetico glaciale per 12h a riflusso²¹.

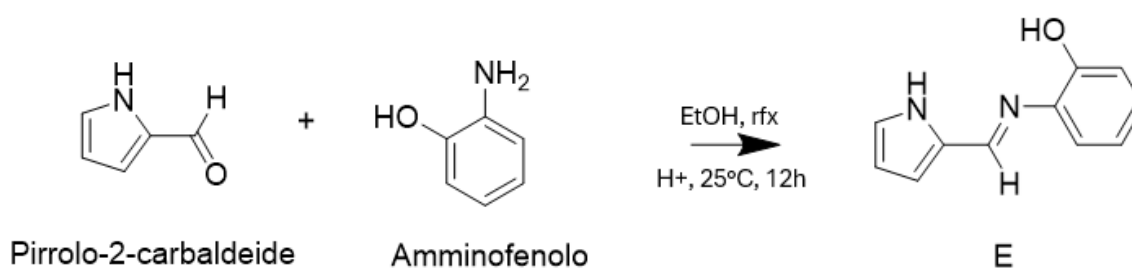


Figura 15. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff “**E**”

L’acido (solitamente acido acetico) permette la protonazione dell’ossigeno al carbonile del pirrolo. Così facendo, aumenta il carattere elettrofilo del carbonio legato ad esso e il carattere nucleofilo dell’azoto dell’amminofenolo.

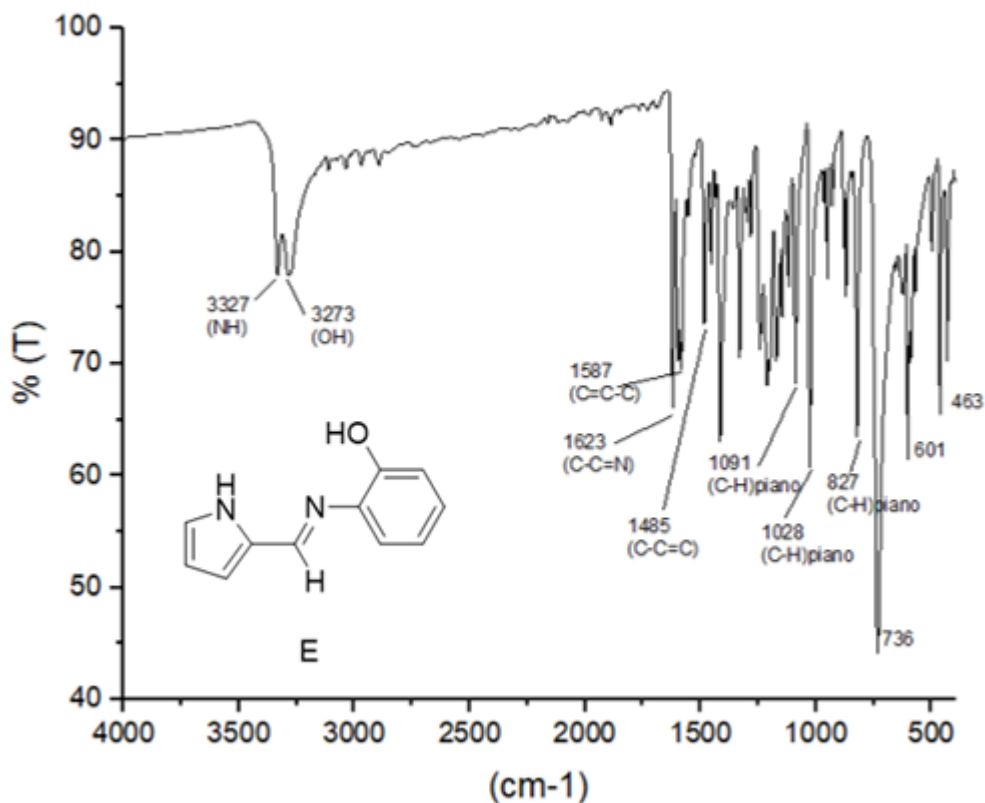


Figura 16. Caratterizzazione IR della base di Schiff "E", valori in cm⁻¹

L'immina "E" è stata purificata per cromatografia su colonna e successivamente ricristallizzata in DCM : Esano 1:30 a -15°C per 72h. In seguito sono stati effettuati lavaggi con acqua distillata così da aumentare la precipitazione e facilitare la filtrazione. Si ottiene un solido cristallino arancione che viene filtrato e caratterizzato con tecnica IR e ¹H NMR.

Lo spettro IR (fig.16) dell'immina, possiede assorbimenti dovuti allo stretching dei legami N-H e O-H, essi sono stati identificati rispettivamente a 3327 cm⁻¹ e a 3273 cm⁻¹. Inoltre, si può osservare la banda a 1623 cm⁻¹ del gruppo azometinico C=C=N caratteristico delle basi di Schiff.

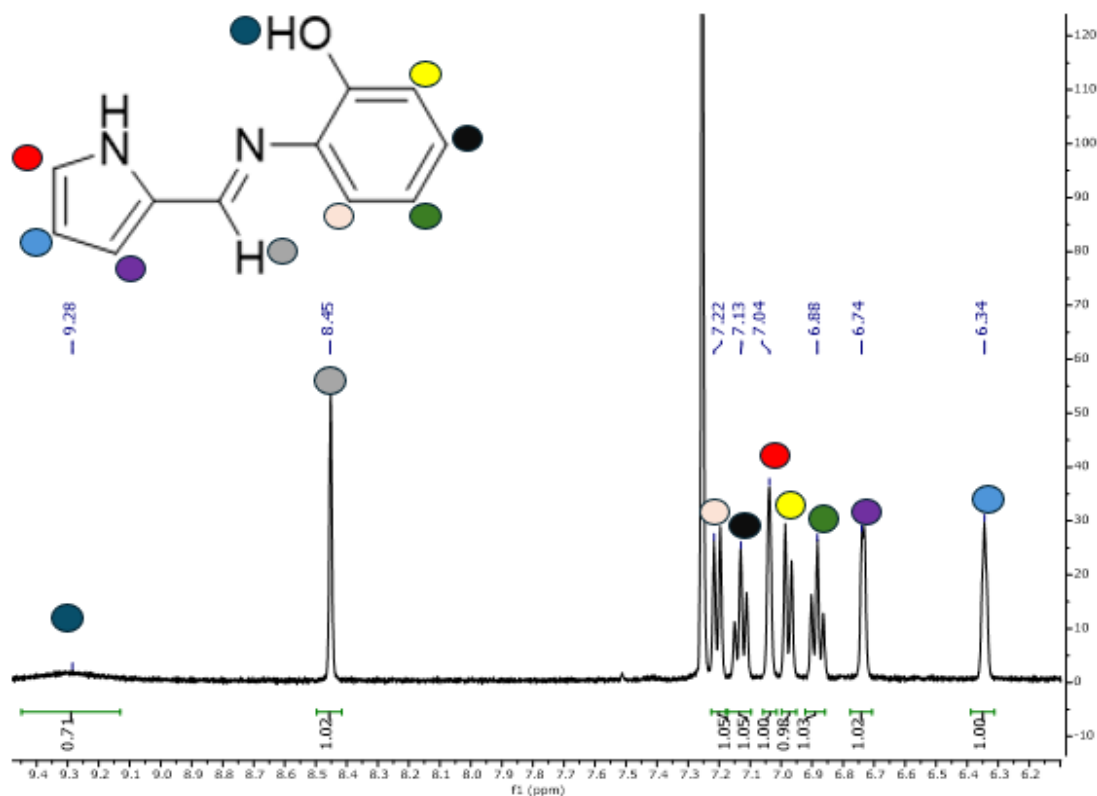


Figura 17. Spettro ¹H NMR della base di Schiff "E"

Nello spettro ¹H NMR (fig.17) si possono osservare 9 segnali che integrano 1H. I due segnali più deschermati, sono stati attribuiti rispettivamente al protone dell'OH a 9,28 ppm e al gruppo H-C=N a 8,45 ppm. Le assegnazioni, sono state date in base al chemical shift e alle costanti di accoppiamento.

Una volta sintetizzata l'immina "E", quest'ultima è stata coordinata al precursore di rutenio(II) "P". La miscela di reazione viene portata a riflusso in 1,4 Diossano scaldando con una piastra riscaldante. Dopo 24 ore, si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela applicando il vuoto. La base di Schiff sintetizzata contiene due atomi di azoto e un atomo di ossigeno, per reazione con il complesso [Ru(H)₂(CO)(PPh₃)₃] i tre eteroatomi possono coordinarsi al metallo portando alla formazione di due diverse strutture (fig.18 e 19). L'immina può chelare il metallo con tutti e 3 gli eteroatomi con la formazione di un complesso k³-N,N,O-, oppure può formare un legame k²-N,N-.



Figura 18. Complesso k^3 -(N,N,O)[Ru(CO)(PPh₃)₂(E)] Figura 19. Complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)]

I componenti della miscela di reazione sono stati accuratamente separati tramite colonna cromatografica utilizzando come fase fissa il gel di silice e come miscela eluente DCM : Etere etilico in rapporto rispettivamente 3:1. Per determinare la struttura e la purezza del prodotto ottenuto, questo è stato analizzato con ESI-MS, IR, ¹H NMR, ¹³C{¹H} NMR, ³¹P{¹H} NMR e tecniche bidimensionali eterocorrelate.

3.1.1 k^3 -(N,N,O)[Ru(CO)(PPh₃)₂(E)]

Lo spettro IR (fig.20) del complesso k^3 - N,N,O- (fig.18) mostra una banda dello stretching N-H a 3363 cm⁻¹, mentre nel legante isolato questa si trova a 3327 cm⁻¹. A 3056 cm⁻¹ è presente la banda di assorbimento dello stretching C-H degli anelli aromatici delle trifenilfosfine. A 1921 cm⁻¹ si trova una banda molto intensa dell'assorbimento Ru-CO. È possibile tenere in considerazione questo segnale per monitorare la reazione, ovvero quando quest'ultimo rimane nel tempo definito e nella stessa $1/\lambda$ la reazione può essere considerata conclusa. Lo stretching del gruppo azometinico si sposta da 1623 cm⁻¹ nel legante isolato a 1563 cm⁻¹ nel complesso, inoltre si può osservare una banda che può essere attribuita alla vibrazione del legame P-C a 1433 cm⁻¹.

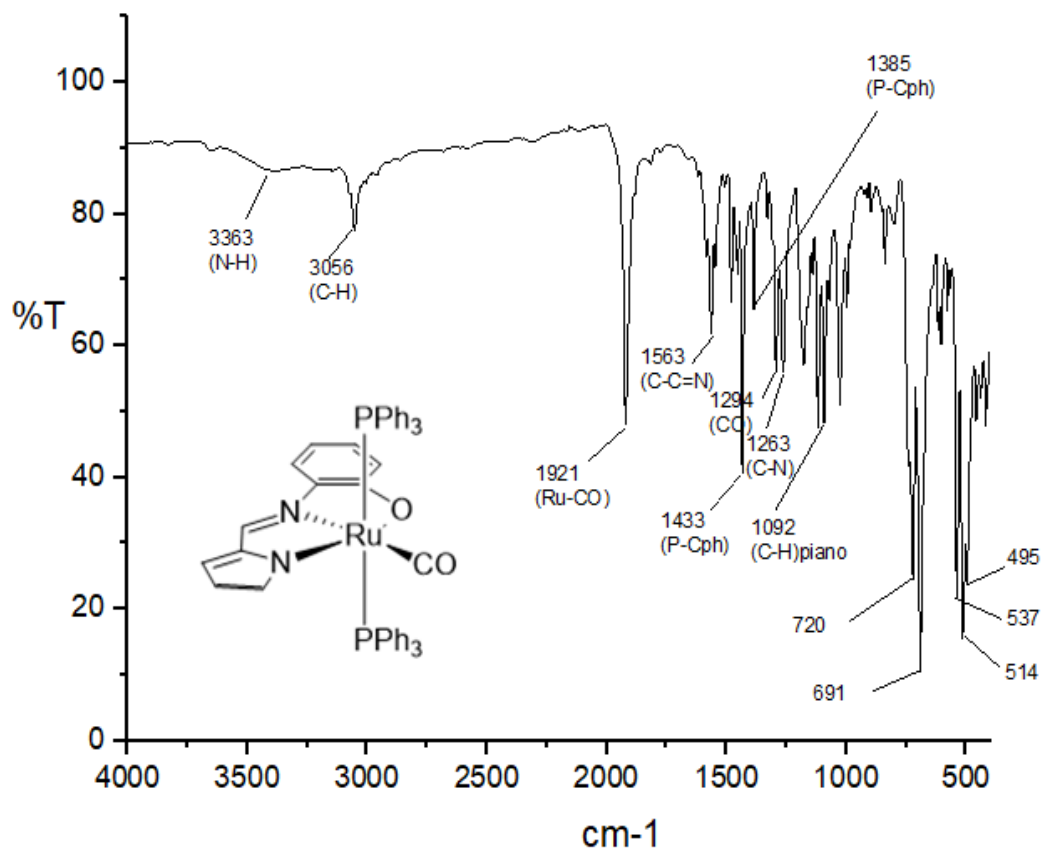


Figura 20. Caratterizzazione IR del complesso derivante dalla coordinazione della base di Schiff "E" e al precursore di rutenio(II) "I", valori in cm⁻¹.

All'interno dello spettro H-NMR (fig.21) l'influenza elettronica del gruppo Ru e dei sostituenti vicini porta a uno spostamento chimico specifico dei segnali a campi alti. Ogni spostamento chimico riflette le interazioni elettroniche uniche e gli effetti sterici dei gruppi vicini nel complesso di Ru. La corretta assegnazione degli spostamenti ai rispettivi protoni permette di comprendere meglio la struttura e le proprietà elettroniche del complesso.

I segnali dall'¹H-NMR di k³-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh₃)₂(E)] (fig.21) rispetto a quelli dell'immina presa singolarmente (fig.17) si riducono a 8. Il motivo è dato dall'OH (presente a 9.28ppm in fig.17) che perde il protone coordinandosi al rutenio.

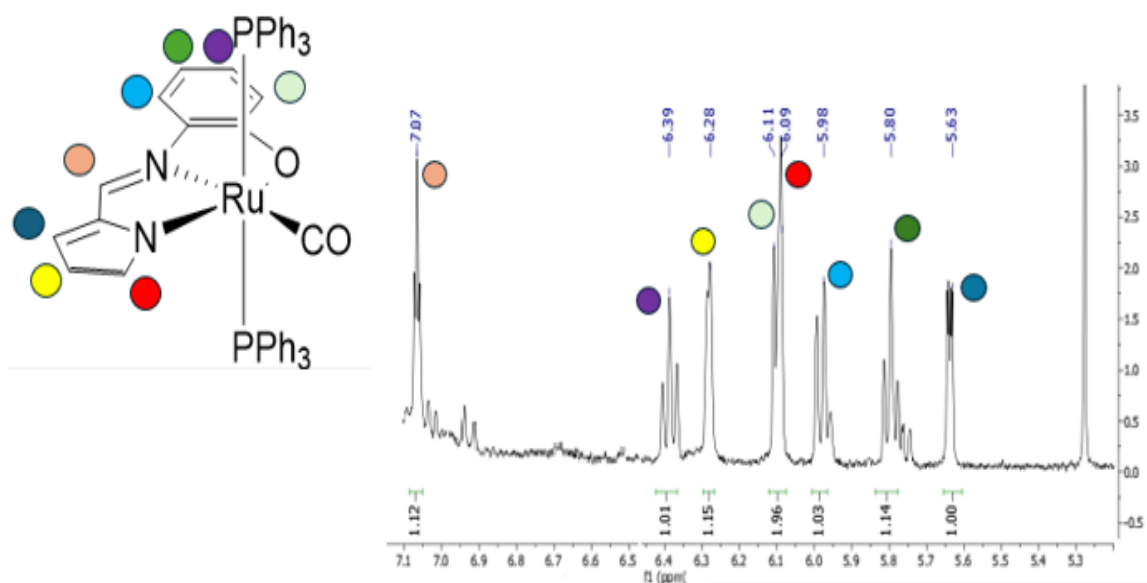


Figura 21. Caratterizzazione $^1\text{H-NMR}$ del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$

Nello spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (fig.22) sono stati identificati 12 segnali distintivi. Di questi, 11 segnali possono essere attribuiti all'immina coordinata, mentre il dodicesimo segnale, situato a 206,45 ppm, è associato al carbonio del CO direttamente legato al metallo. Questa distinzione è cruciale per comprendere la struttura del complesso e le interazioni chimiche in gioco. In aggiunta ai segnali provenienti dal legante, si osservano chiaramente anche i segnali dei carboni degli anelli aromatici delle trifenilfosfine, che si trovano in un intervallo compreso tra 127 e 137 ppm.

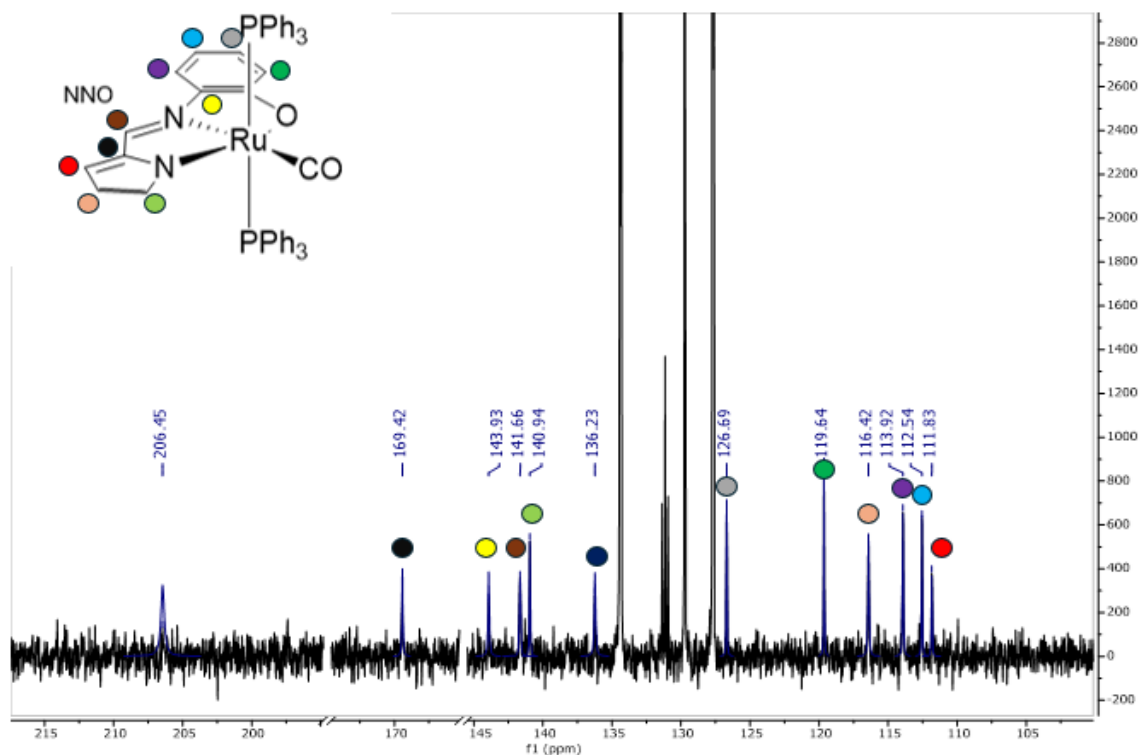


Figura 22. Spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$

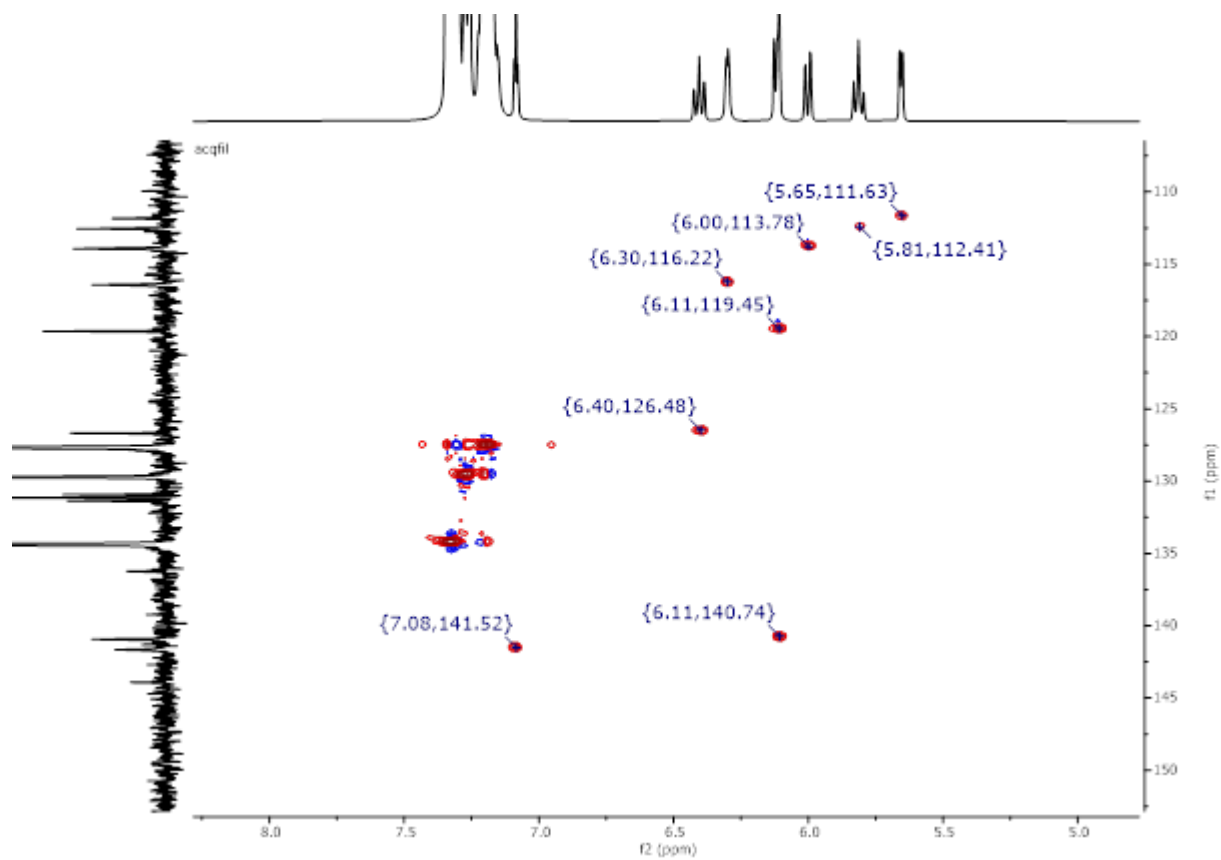


Figura 23. Spettro 2D-HSQC del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$

Per distinguere i carboni quaternari dagli altri segnali dello spettro $^{13}\text{C}\{1\text{H}\}$ NMR è stato registrato uno spettro 2D-HSQC (fig.23). Per esclusione, confrontando lo spettro bidimensionale e lo spettro al carbonio dei segnali C-H si evince che i 3 carboni quaternari della base di Schiff coordinata si trovano a 136,23 ppm, 143,97 ppm, 169,42 ppm. Inoltre, l'HSQC permette di distinguere il protone del gruppo H-C=N dai segnali delle trifenilfosfine, questo si trova a 7,07 ppm ed è un singoletto-141,52 ppm

Per essere certi della sostituzione prevista del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$, è necessario in aggiunta, monitorare le trifenilfosfine: se nello spettro al fosforo $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ NMR (fig. 24) compare un singoletto molto intenso, significherà che le due fosfine saranno magneticamente equivalenti in posizione trans tra di loro.

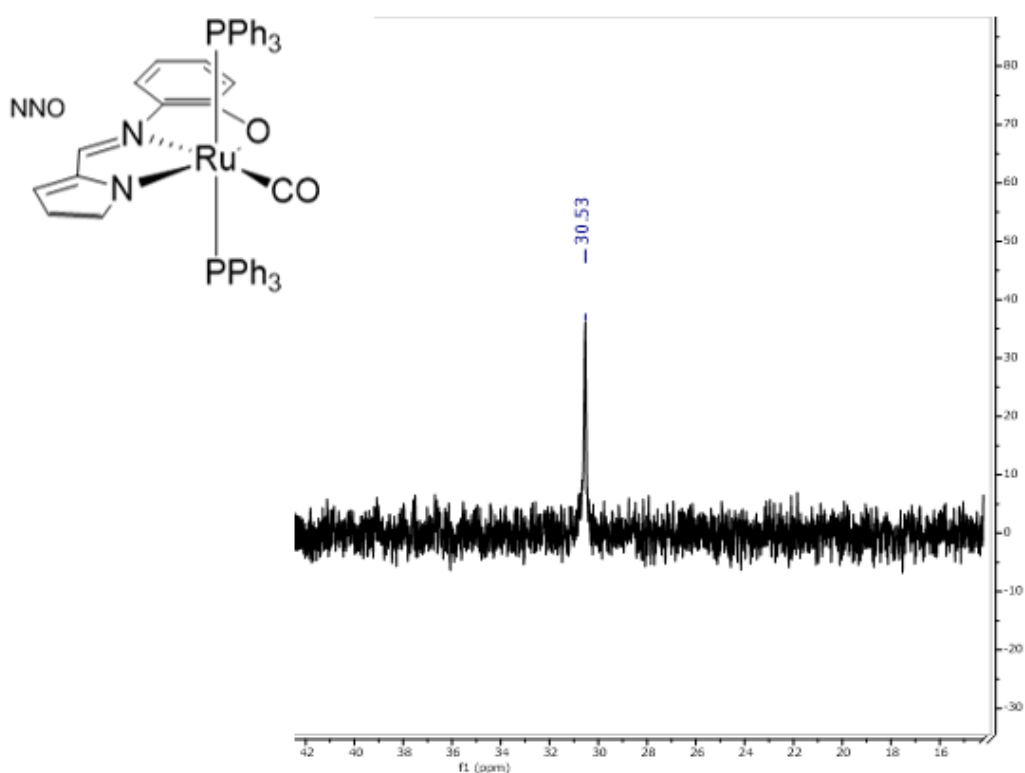


Figura 24. $^{31}\text{P}\{1\text{H}\}$ NMR del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$

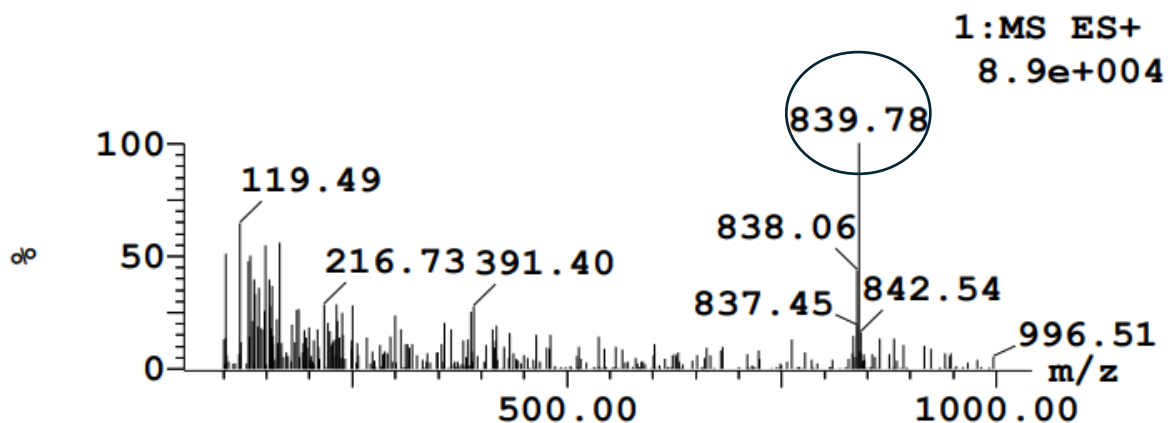


Figura 25. Analisi ESI-MS, ascissa: m/z ; complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{E})]$

L'analisi ESI-MS del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{E})]$ (fig.25) indica lo ione molecolare più H^+ : si può notare il picco molecolare a $839,78\text{ m/z [M+H]}^+$ cerchiato.

Una volta verificata l'entità dei complessi di rutenio sintetizzati, sono stati acquisiti spettri UV (Fig.26) per i complessi a quattro diverse concentrazioni.

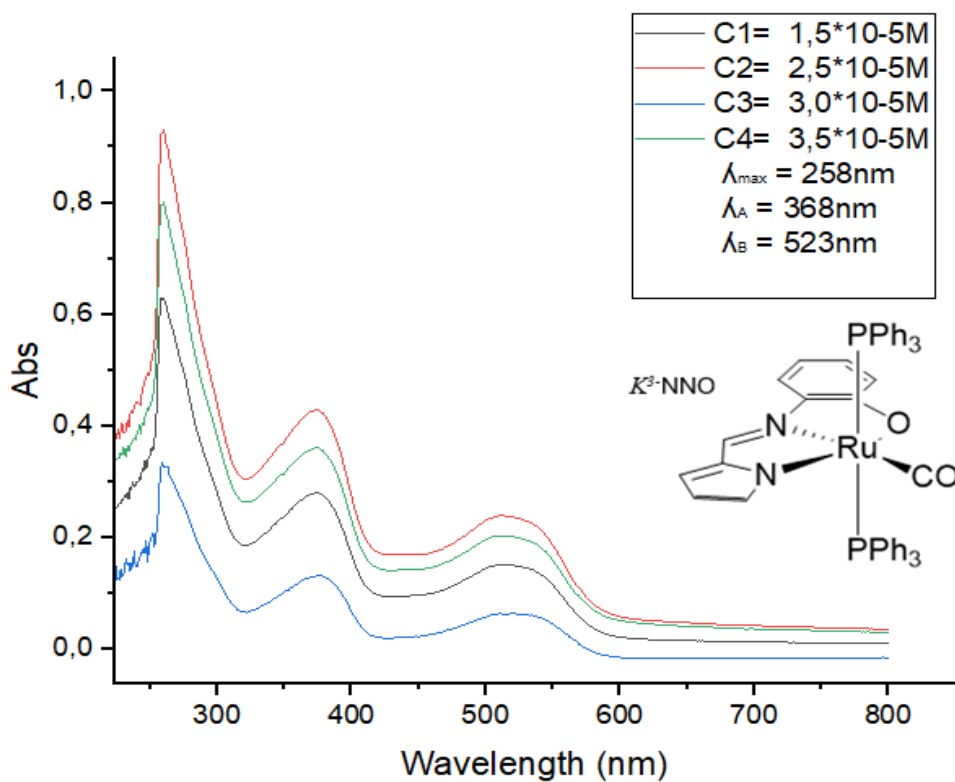


Figura 26. Spettro UV di $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{E})]$

Gli assorbimenti nello spettro UV-VIS del complesso N,N,O in Fig.27 di sono attribuiti a:

- Transizioni metal-to-ligand charge transfer MLCT (368-523 nm): Queste transizioni avvengono quando gli elettroni vengono trasferiti dal metallo (Ru) verso orbitali vuoti della base di Schiff (legante π -acido).
- Transizioni intra-ligando π - π^* (256 nm): Sono tipiche della parte organica del complesso, come la base di Schiff. Avvengono tra gli orbitali molecolari del ligando e si osservano in genere nella regione UV.

Successivamente, è stata costruita una retta di calibrazione tracciando un grafico con l'asse x rappresentante le concentrazioni dei campioni e l'asse y corrispondente all'assorbanza massima registrata all'UV. Questa retta di calibrazione permette di correlare le concentrazioni alle assorbanze osservate.

La legge di Lambert-Beer, utilizzata per l'analisi spettroscopica, stabilisce la relazione tra l'assorbanza (A) di una soluzione e le sue caratteristiche. La legge è espressa dalla seguente formula:

$$A = \epsilon bc$$

- A rappresenta l'assorbanza misurata,
- ϵ è il coefficiente di assorbimento molare (o estinzione molare), che indica l'efficacia del composto nell'assorbire la luce a una specifica lunghezza d'onda,
- c è la concentrazione della soluzione,
- b è la lunghezza del cammino ottico, ovvero la distanza percorsa dalla luce attraverso il campione (espressa in cm, in questo caso specifico 1cm).

Dalla retta di calibrazione ottenuta (Fig.27), è stato possibile estrapolare il coefficiente di assorbimento molare “ ϵ ” pari a 29789 M/cm^{-1} del complesso. Tale valore, caratteristico del composto e della lunghezza d’onda utilizzata, riflette la sua capacità di assorbire luce a quella particolare lunghezza d’onda “ λ_{max} ” = 256 nm..

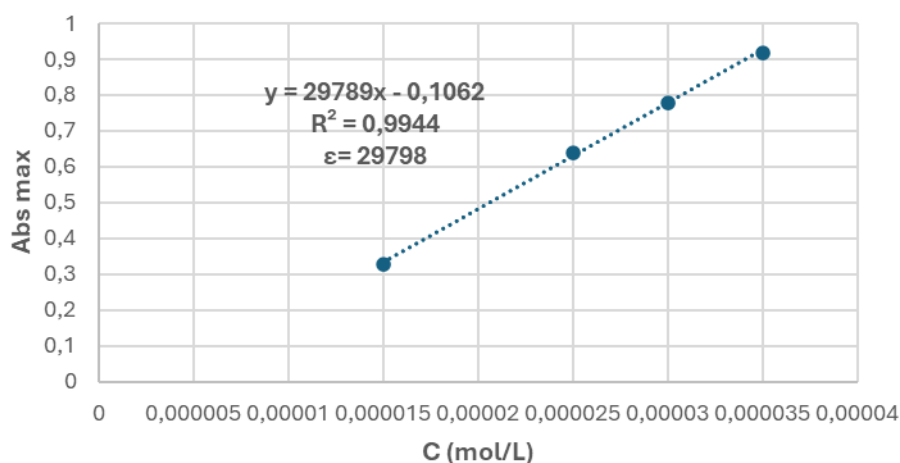


Figura 27. Retta di calibrazione di $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$ con relativo ϵ

Per verificare la stabilità nel tempo del complesso sintetizzato, è importante monitorare le variazioni spettrali dei prodotti utilizzando la spettroscopia UV-VIS in una soluzione di PBS (soluzione tampone fosfato pH= 7,4 con una concentrazione di complesso di 10^{-5}M). La PBS è una soluzione comunemente utilizzata in biologia e biochimica per mantenere un pH stabile, essenziale per esperimenti biologici, poiché imita le condizioni fisiologiche.

Si confrontano gli spettri ottenuti prima e dopo l’incubazione in stufa a 37°C a distanza di 24h. Qualsiasi variazione significativa nella posizione o nell’intensità dei picchi di assorbimento potrebbe indicare una degradazione del complesso o una reazione indesiderata. Se non ci sono variazioni significative, si può concludere che il complesso è stabile nel tempo nelle condizioni testate. Eventuali spostamenti dei picchi o la comparsa di nuovi picchi potrebbero suggerire la formazione di prodotti di degradazione o reazioni secondarie.

Monitorare la stabilità di un complesso sintetizzato attraverso l’analisi UV-VIS in PBS è cruciale per valutare la sua applicabilità in contesti biologici. Questo approccio fornisce un

metodo rapido e non distruttivo per analizzare i cambiamenti chimici e garantire che il complesso rimanga attivo e funzionale per l'uso previsto.

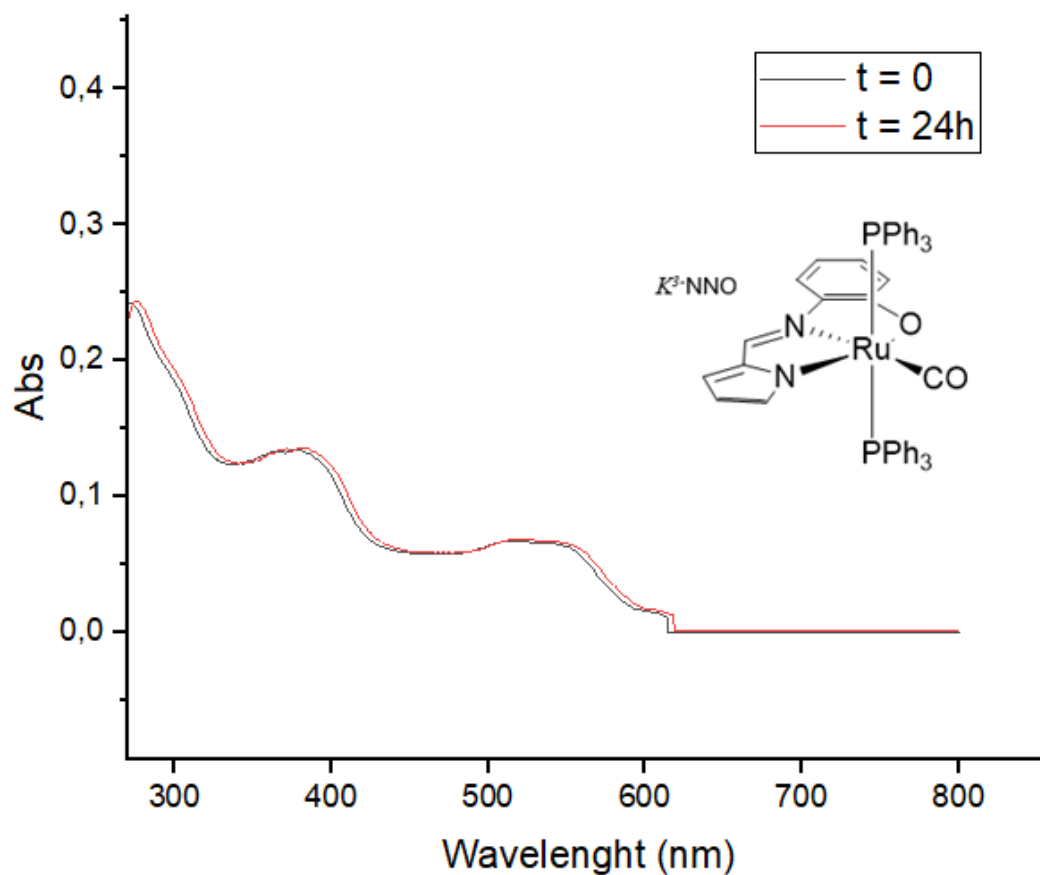


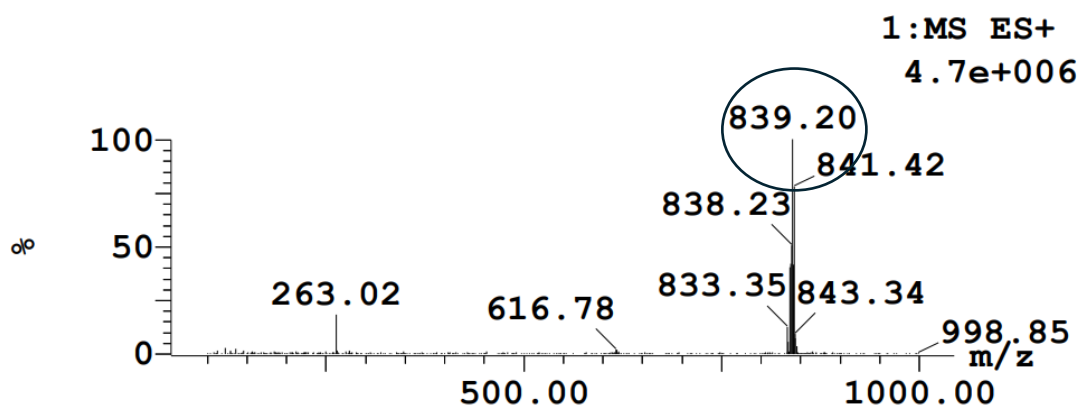
Figura 28. Stabilità in PBS 95% e DMSO al 5% del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{E})]$

È possibile definire il complesso di rutenio $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{E})]$ stabile nelle condizioni testate (Fig.28).

3.1.2 k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)]

La differenza tra i due isomeri (k^3 -N,N,O e k^2 -N,N) separati mediante cromatografia su colonna risiede nel loro modo di coordinarsi al rutenio. Il composto k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)] (fig. 19) si coordina al centro metallico tramite l'atomo di azoto imminico, sostituendo una delle fosfine in posizione equatoriale e donando così un doppietto elettronico. Preferibilmente quest'ultimo essendo maggiormente donatore, per effetto "Push pull" si posiziona in posizione trans al CO. Il secondo atomo di azoto, caricato negativamente all'interno dell'anello pirrolico, dona un elettrone, facilitando la fuoriuscita di H₂. Il complesso finale NN, come nel prodotto NNO, mantiene lo stato di ossidazione (II) e contiene 18 elettroni totali donando buona stabilità al sistema.

L'analisi ESI-MS (fig. 29) indica la massa dello ione molecolare privato del controione H⁺ a 839 m/z ([M-H]⁺). Ciò non permette di ottenere ulteriori informazioni sulla coordinazione della base di Schiff.



. Figura 29. Analisi ESI-MS, ascissa: m/z; complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)]

Un'ulteriore indagine che è possibile eseguire, è quella di verificare la presenza dell'idruro direttamente legato al rutenio nel prodotto k^2 -N,N- nel rispettivo spettro ^1H NMR. Quest'ultima può essere controllata considerando la regione compresa tra 0 ppm e -30 ppm, in questo specifico caso a -11,68 ppm (fig. 30). In quella regione è presente un tripletto dovuto al nucleo H che accoppia con le due trifenilfosfine equivalenti direttamente legate al metallo.

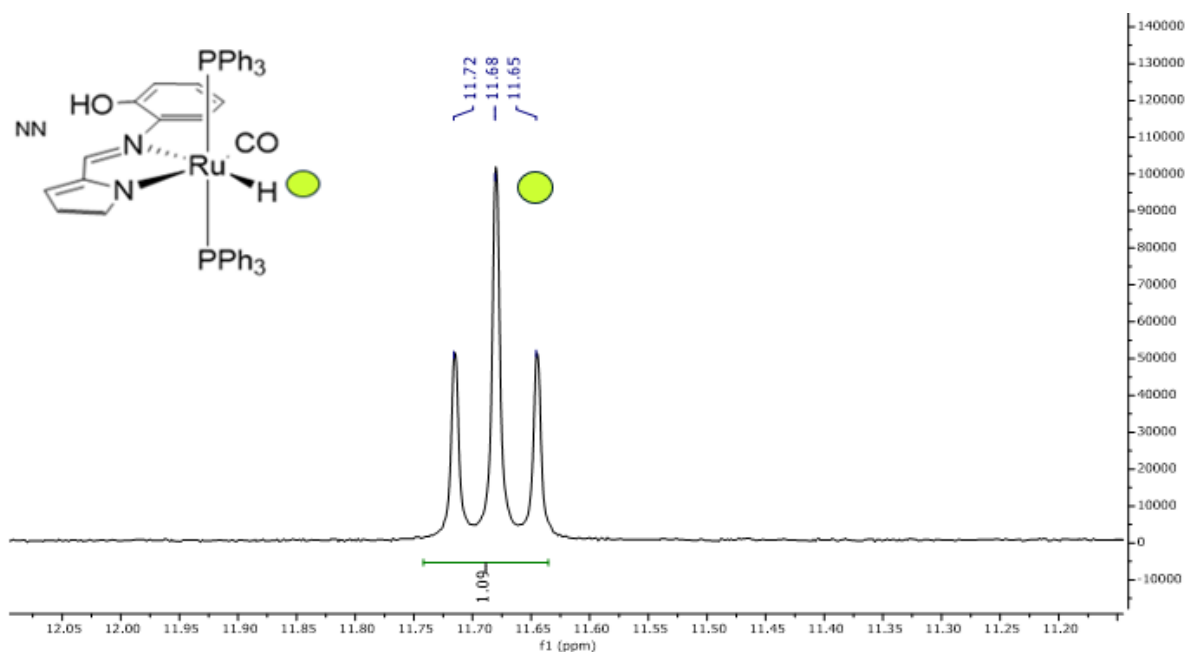


Figura 30. Caratterizzazione ^1H NMR con focus sulla regione dell'idruro del complesso k^2 - $(N,N)[\text{RuH}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2(\text{E})]$

In aggiunta, un indizio che permette di caratterizzare il complesso k^2 -N,N- è la conferma da parte dello spettro $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (fig.31). Visualizzando lo spettro, a differenza di quello dell' k^3 -N,N,O- esso è caratterizzato da un doppietto tra 42,98 ppm e 42,93 ppm risultante dall'accoppiamento delle due fosfine con l'idruro.

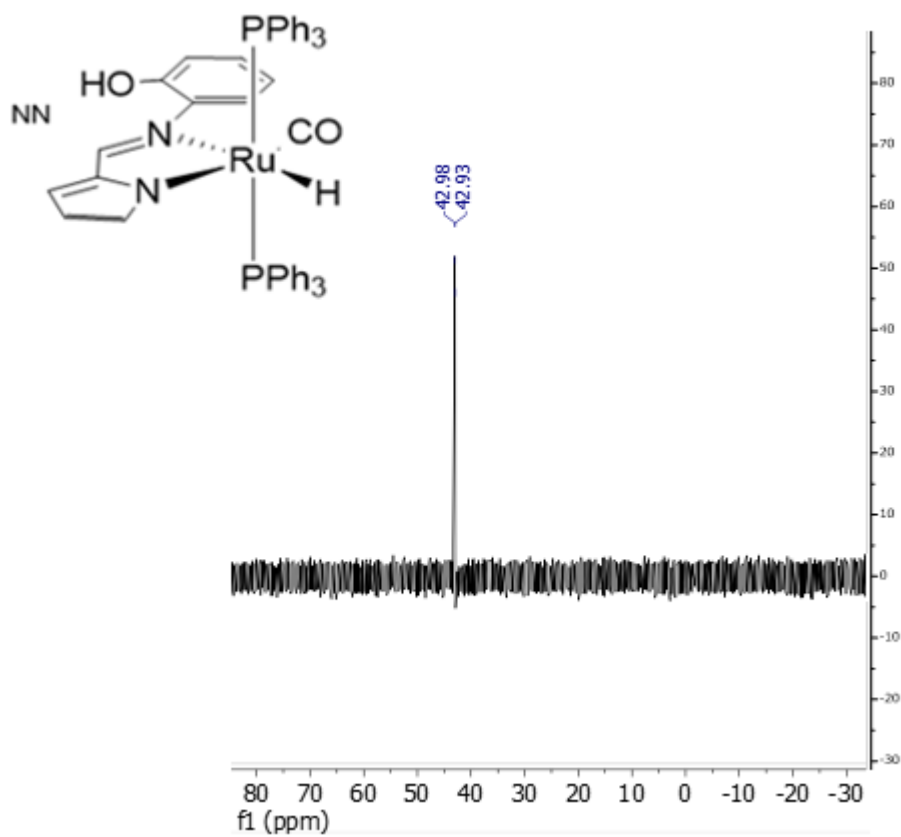
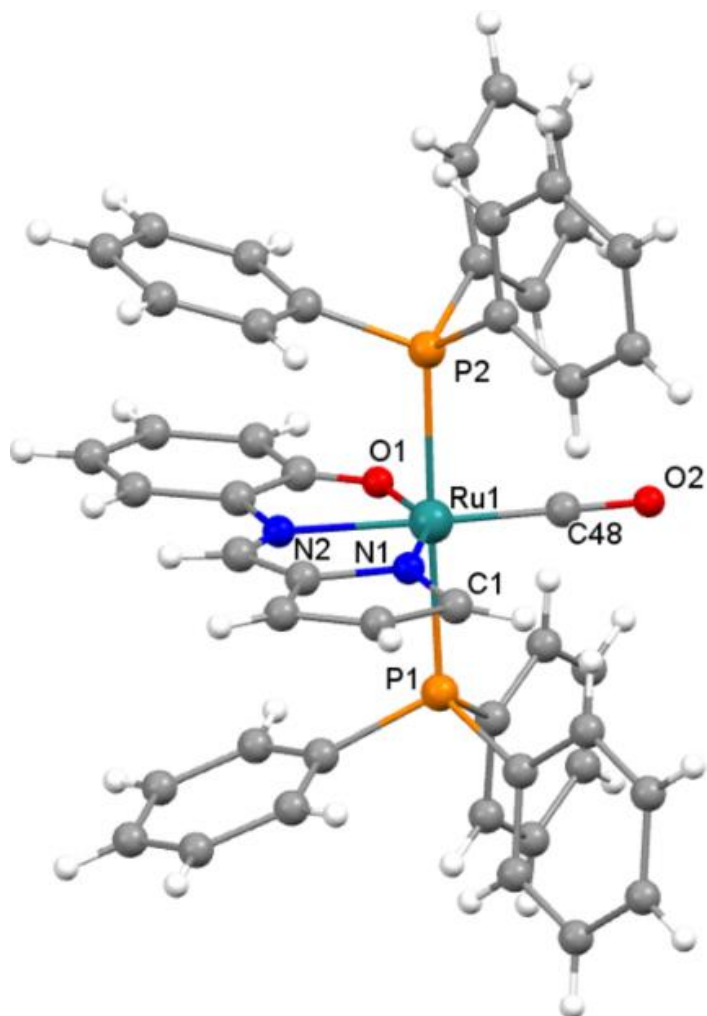
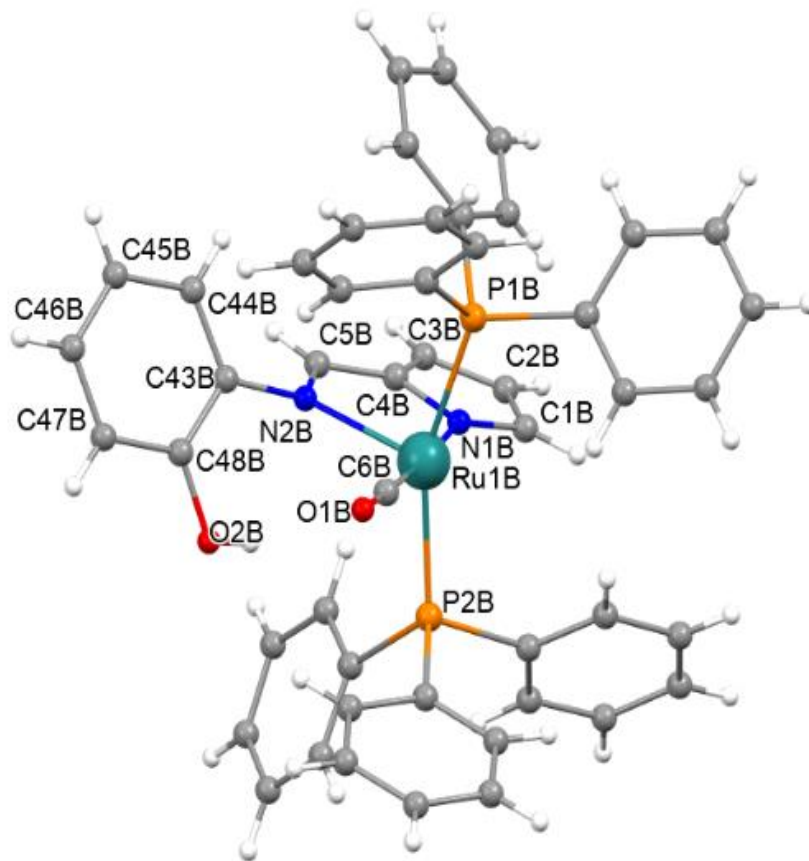


Figura 31. $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso k^2 - (N,N) [RuH(CO)(PPh₃)₂]**(E)**



Ru (1) -C(48)	1.788(12)
Ru (1) -N(2)	2.043(8)
Ru (1) -O(1)	2.086(10)
Ru (1) -N(1)	2.143(9)
Ru (1) -P(2)	2.3772(18)
Ru (1) -P(1)	2.3780(18)

Figura 32. Struttura ai raggi X di $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$ con relative lunghezze di legame



Ru(1A)-C(6A)	1.838(5)
Ru(1A)-N(1A)	2.128(3)
Ru(1A)-N(2A)	2.254(3)
Ru(1A)-P(2A)	2.3445(12)
Ru(1A)-P(1A)	2.3646(12)
Ru(1A)-H(111)	1.571(19)

Figura 33. Struttura ai raggi X di k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)] con relative lunghezze di legame

In entrambi i due complessi contenenti il legante N-(2'-idrossifenil)pirrolo-2-aldimmina il rutenio adotta una geometria ottaedrica distorta essendo coordinato da due fosfine in posizione *trans* assiale mentre sul piano equatoriale si osservano due distinti modi di coordinazione (N,N) e (N,N,O) del legante potenzialmente tridentato e completamento della sfera di coordinazione da parte di un idruro in *trans* a N(immina) e di un CO in *trans* a N(pirrolo) o di un solo CO in *trans* all'azoto imminico nel secondo caso (fig. 32 e fig. 33). Nella struttura cristallina del complesso in cui il legante è bidentato sono presenti due conformeri che differiscono nell'angolo diedro tra l'anello fenolico e il metallaciclo $\text{RuN}_1\text{C}_4\text{C}_5\text{N}_2$ che è $51,9^\circ$ e $56,3^\circ$, rispettivamente e di conseguenza l'angolo P-Ru-P si discosta dalla linearità in misura maggiore nel secondo conformero (162° e 157° , rispettivamente) per alleviare l'ingombro sterico. In entrambi i conformeri la distanza Ru-N₁(pirazolo) è più corta della distanza Ru-N₂(immina) [2,128(3) e 2,254(3) vs 2,125(4) e 2,254(4) Å].

Nel complesso in cui il legante è tridentato (N,N,O) e quindi dianionico tutti gli atomi del legante sono coplanari con l'atomo di Ru e il CO e la distanza Ru-N più corta è quella con l'azoto imminico che è in posizione centrale. (Purtroppo la presenza di disordine cristallografico impedisce un'analisi rigorosa dei parametri cristallografici.)

3.2 Caratterizzazione del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$

Prima della sintesi e caratterizzazione del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$, è stata sintetizzata l'immina "F" (Tab.34) in etanolo per 48 ore a temperatura ambiente.

Al termine delle 48 ore, la miscela di reazione è stata purificata tramite separazione liquido-liquido aggiungendo all'interno dell'imbutto separatore DCM e acqua distillata. La frazione di interesse (DCM) è stata seccata con un solfato anidro (Na_2SO_4) filtrata e tirata a secco tramite Rotavapor¹⁶.

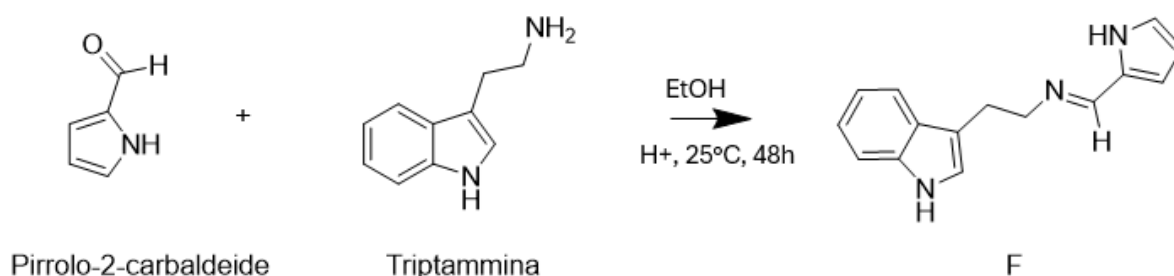


Figura 34. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff "F"

Affidandosi allo spettro $^1\text{H NMR}$ dell'immina "F" sintetizzata (Fig.35), è possibile verificare che effettivamente la reazione sia andata a buon fine: si possono osservare 9 segnali che integrano 1H e due segnali che integrano 2H, a 3,08 ppm e 3,83 ppm. Questa situazione è dovuta alle due coppie di protoni legate rispettivamente al carbonio in alfa e a quello in beta all'azoto del gruppo imminico, gli unici alifatici. Il segnale più deschermato, è stato attribuito al gruppo H-C=N a 7.96 ppm.

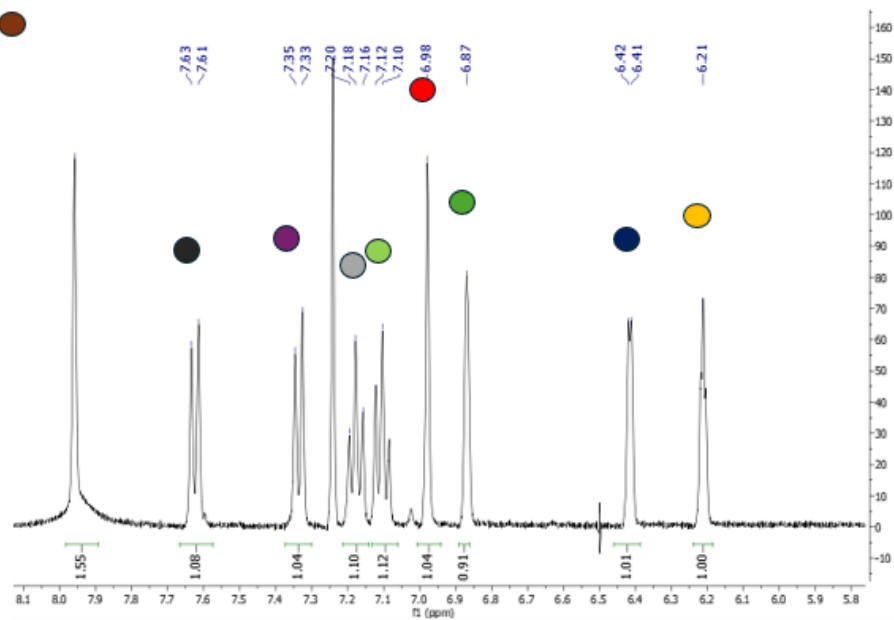
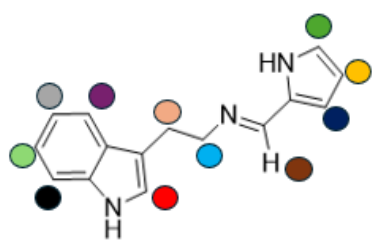
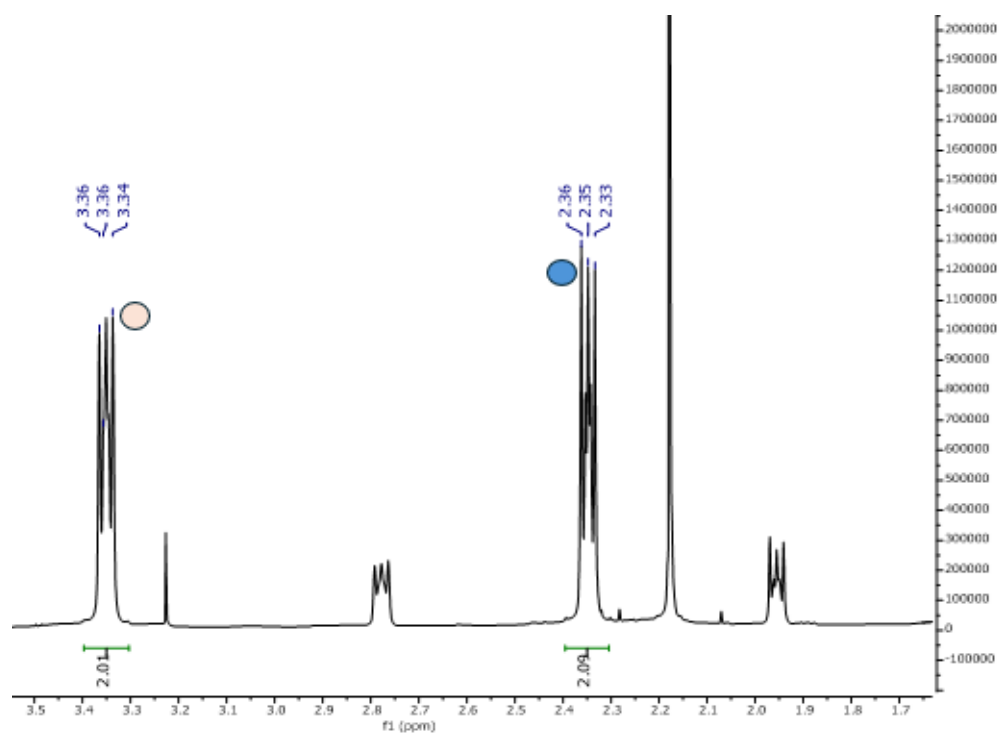


Figura 35. Spettro ^1H NMR della base di Schiff "F"

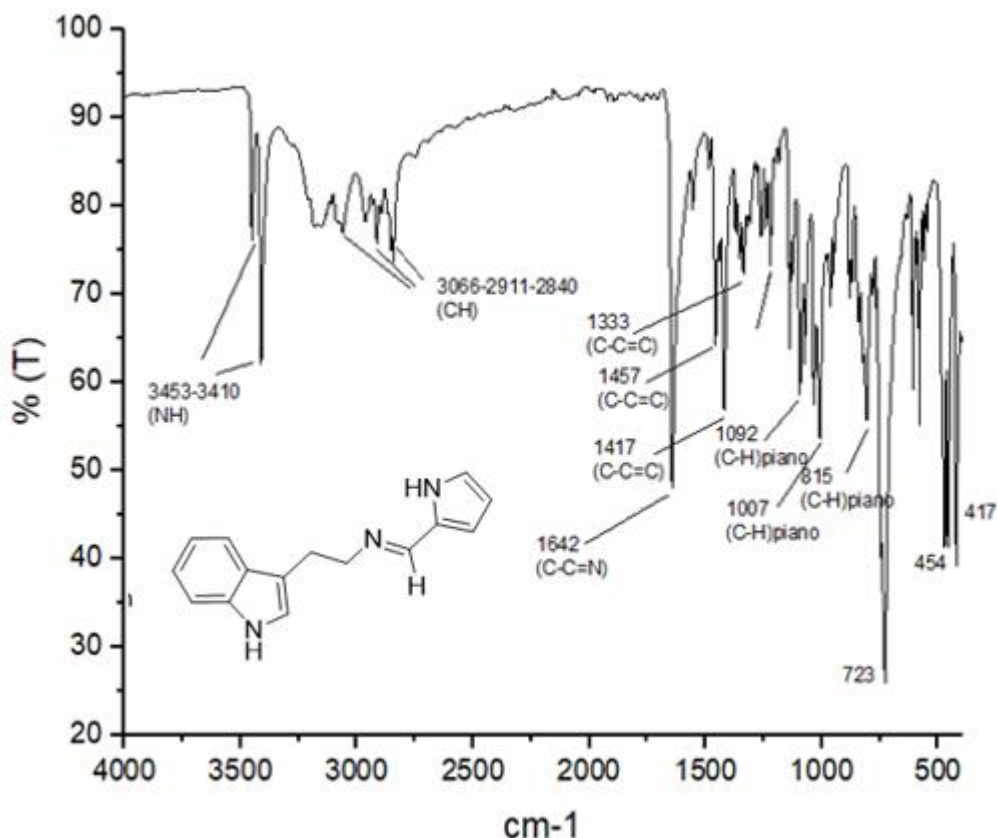


Figura 36. Caratterizzazione IR della base di Schiff "F", valori in cm^{-1}

Lo spettro IR (fig.36) dell'immina, possiede assorbimenti dovuti allo stretching dei legami N-H identificati a 3453 cm^{-1} e a 3410 cm^{-1} . Inoltre, si può osservare la banda a 1642 cm^{-1} del gruppo azometinico C=C=N caratteristico delle basi di Schiff.

3.2.1 $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$

In seguito, l'immina "F", è stata coordinata al precursore di rutenio(II), (complesso mostrato in fig. 37). Le condizioni di reazione prevedono l'utilizzo di 1,2 Dimetossietano a riflusso come solvente. Il sistema viene quindi mantenuto a 85°C per circa 1 ora sotto atmosfera inerte (Ar). Al termine della reazione, eseguendo IR, si può notare il segnale dovuto al CO carbonilico direttamente legato al centro metallico a 1913 cm^{-1} . Monitorando questo picco nel tempo, si nota che non ha variazione di posizione. Con questo si può definire conclusa la reazione.

Per purificare la miscela di reazione, quest'ultima, viene sciolta in un minimo volume di DCM e fatta precipitare dopo l'aggiunta di Etere di petrolio freddo (4°C). Il filtro viene lavato per 3 volte con 10mL di non solvente freddo.

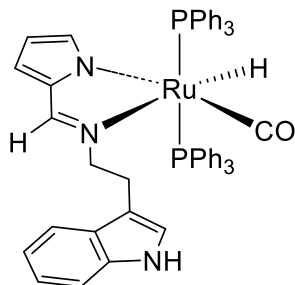


Figura 37. Complesso di Ru(II) k^2 -(NN)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)]

Dallo spettro IR (fig.38) si può notare lo stretching dell'NH non coordinato a 3417 cm⁻¹: per motivi sterici e di orientamento dei legami singoli è poco probabile la coordinazione dell'immina al metallo mediante l'azoto dell'indolo. Come citato precedentemente, a 1913 cm⁻¹ è presente lo stretching del legame Ru-CO visionato per monitorare l'andamento della reazione.

Oltre all'utilità appena spiegata, lo stesso segnale a 1913 cm⁻¹ permette di comprendere la purezza del prodotto: il picco non è perfettamente definito e la banda è piuttosto larga: determinato dalla presenza di altri prodotti secondari costituiti da un gruppo carbonilico. È necessario eseguire un'ulteriore pratica di purificazione quale la colonna cromatografica. La separazione è stata eseguita con gel di silice come fase stazionaria e DCM come eluente; il prodotto si è distinto grazie alla sua colorazione gialla intensa raccolta in seguito all'eluizione di DCM.

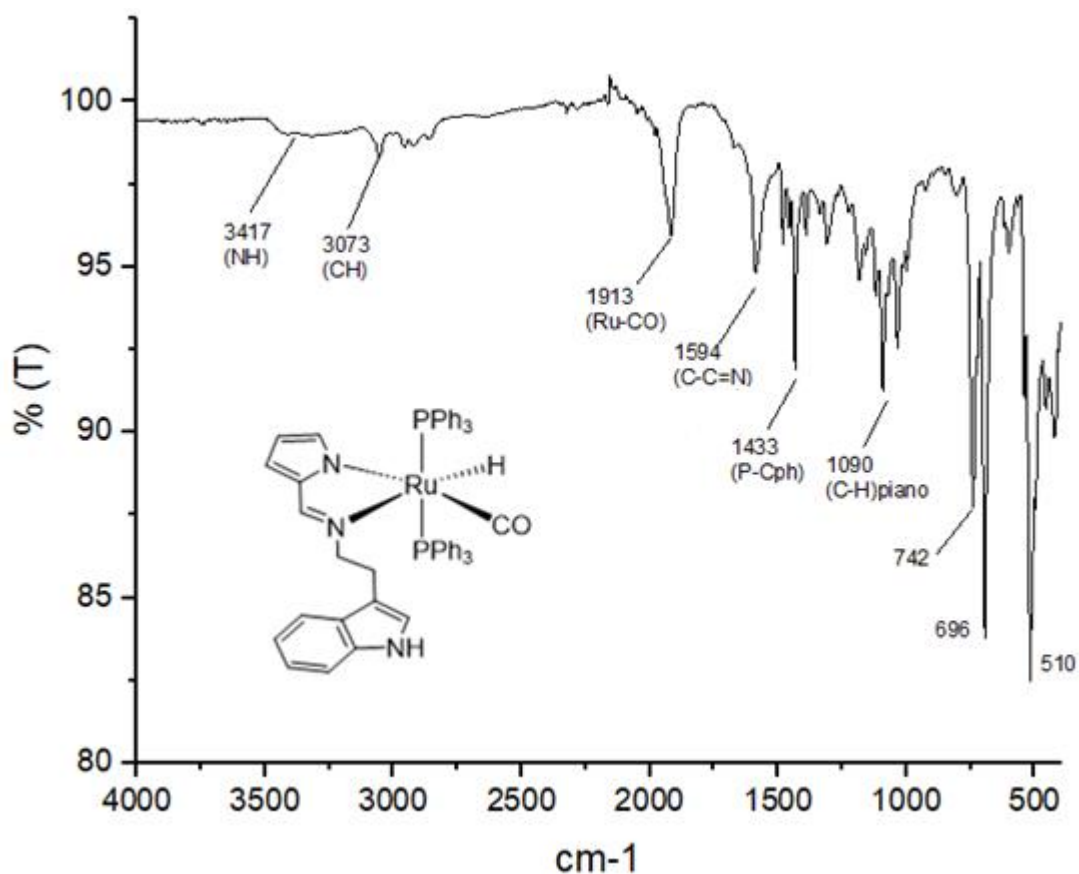


Figura 38. Caratterizzazione IR del complesso derivante dalla coordinazione della base di Schiff "F" e al precursore di rutenio(II) "I", valori in cm^{-1} .

All'interno dello spettro $^1\text{H-NMR}$ di $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$ (fig. 39), è possibile individuare il tripletto dell'idruro direttamente legato al centro metallico a 10,69 ppm. Oltre a quest'ultimo, è presente a 11,33 ppm un secondo tripletto legato all'idruro del rispettivo isomero di struttura. Dal confronto degli integrali dei picchi legati agli idruri e della zona alifatica, è possibile definire il rapporto tra i due prodotti: 3 a 1.

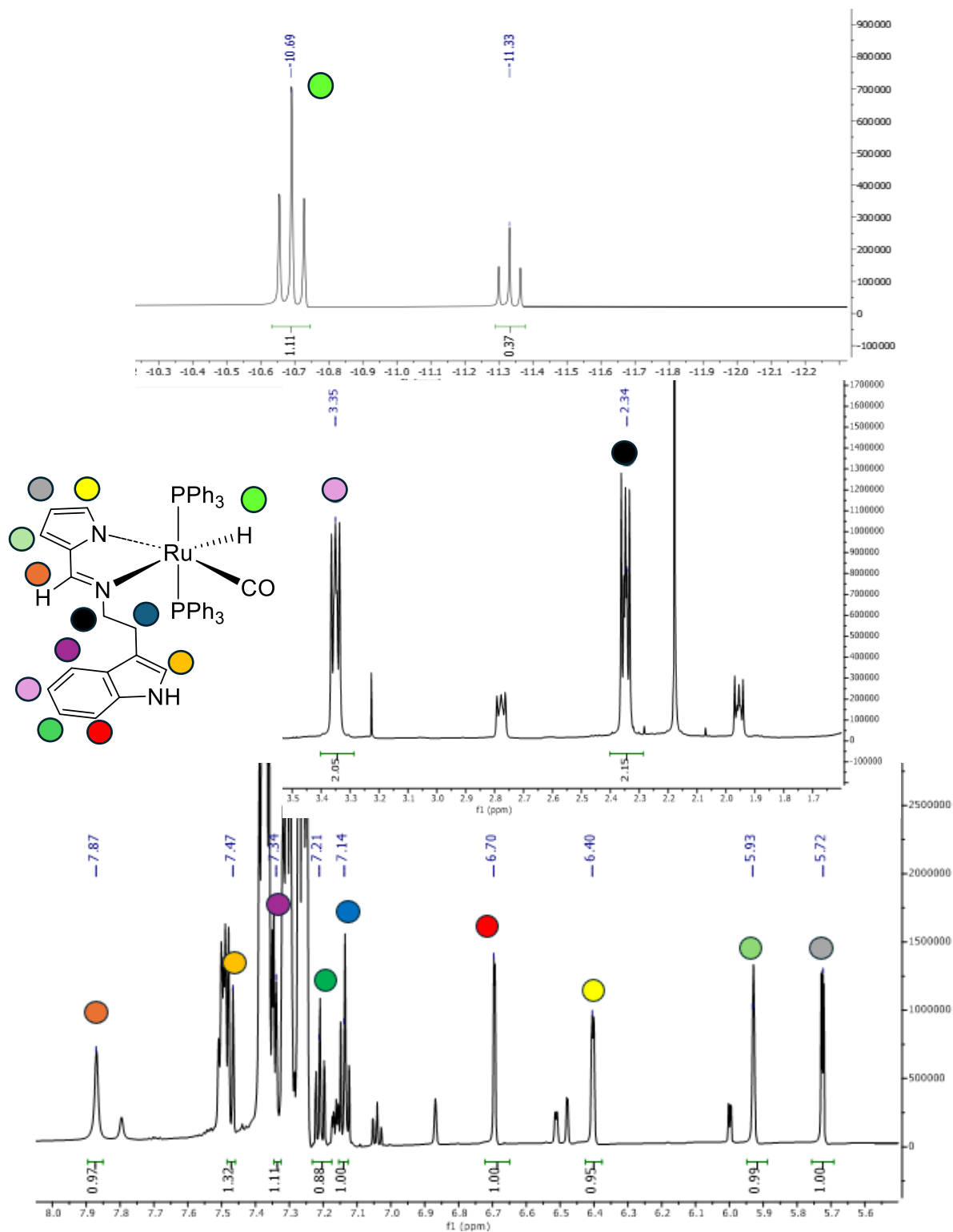


Figura 39. Caratterizzazione $^1\text{H-NMR}$ del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$

Valutando lo spettro 2D-HSQC (fig. 40) emergono due aspetti: il singoletto a 7,37 ppm è celato dai segnali delle trifenilfosfine quindi non è individuabile dall' $^1\text{H-NMR}$; inoltre, Osservando il segnale relativo al protona a 7.87 ppm non si osservano corrispondenze con segnali dello spettro

al carbonio. L'unica soluzione è che l'H sia legato ad un nucleo non identificabile dal 2D-HSQC: l'azoto N della zona triptamminica.

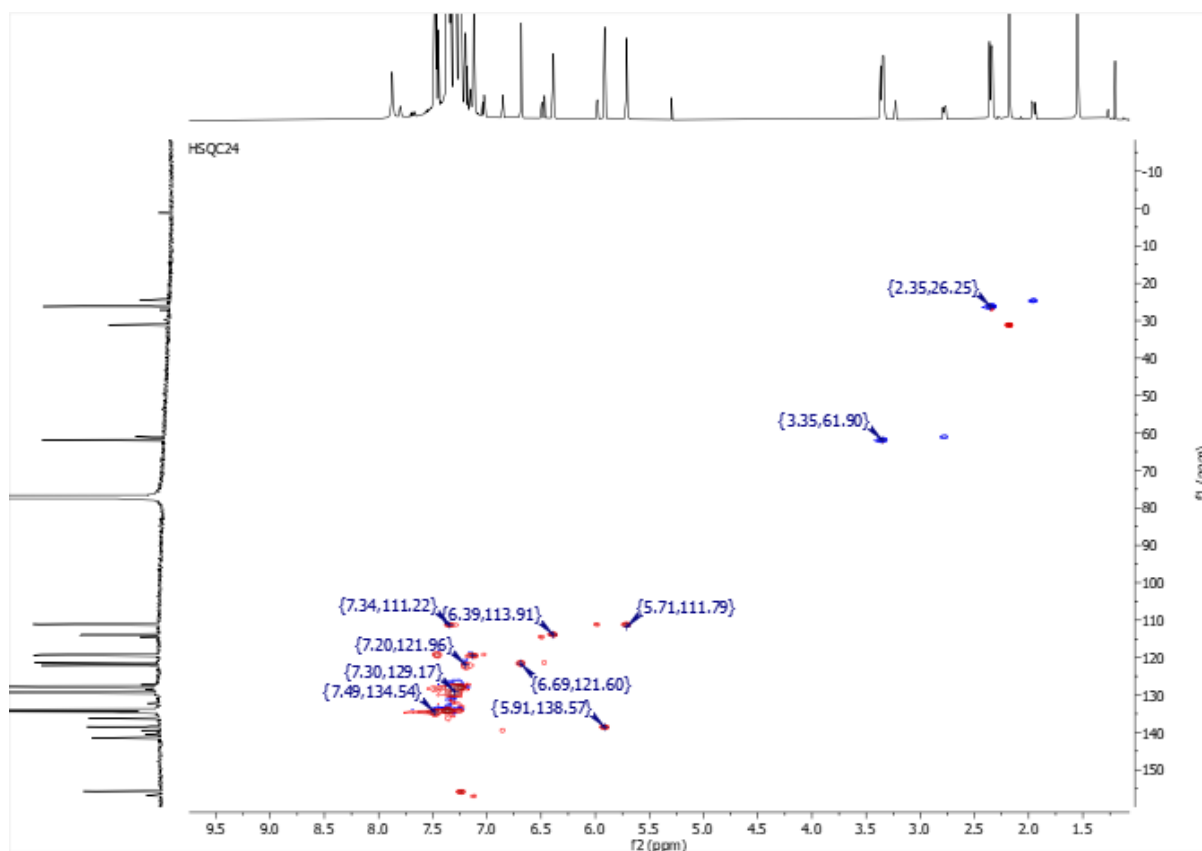


Figura 40. 2D-HSQC del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$

Per esclusione, i restanti segnali al $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (fig.41) corrispondono ai carboni quaternari:

- 141,49 ppm
- 129,51 ppm
- 136,22 ppm
- 155,70 ppm

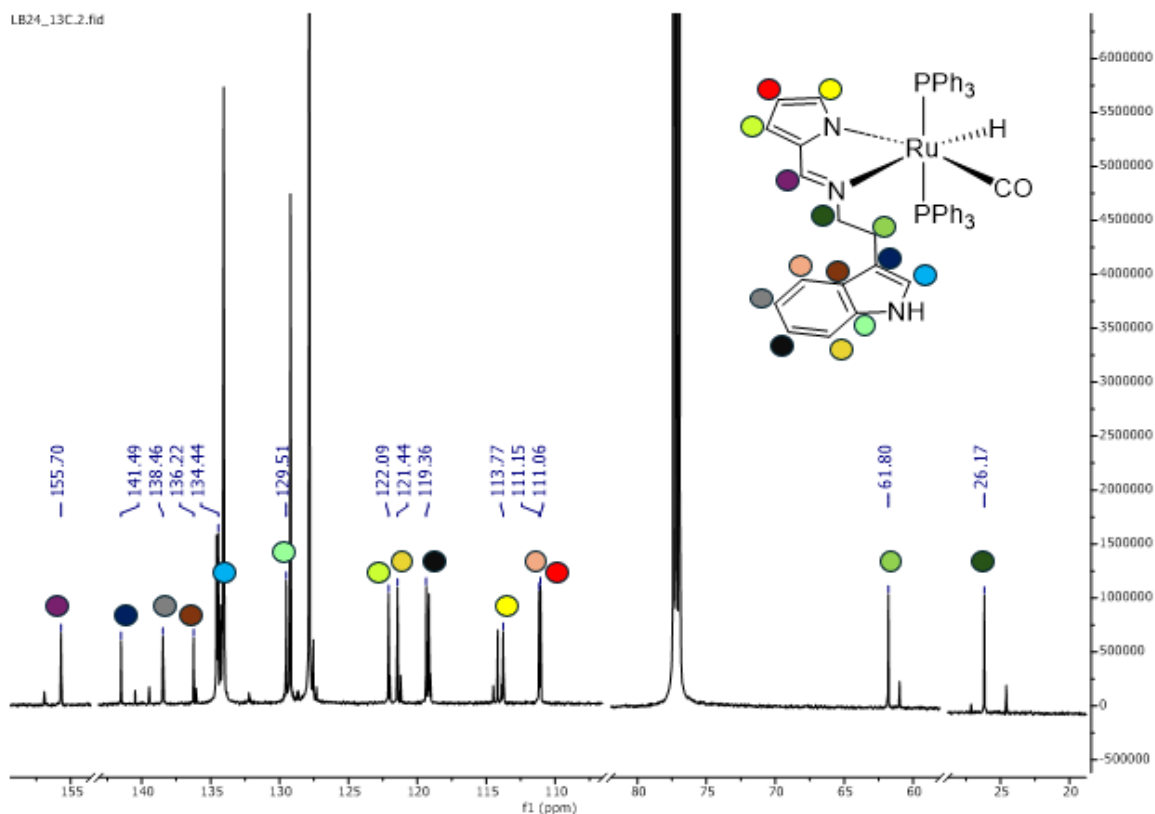


Figura 41. Spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{F})]$

Come nel caso del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{E})]$, si esegue la stessa analisi $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR di $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{F})]$ (fig. 43). La differenza è che in questo caso emerge tra 46,58 ppm e 46,59 ppm un doppietto dovuto all'accoppiamento dell'idruro direttamente legato al centro metallico con i due nuclei P chimicamente equivalenti. Oltre ad esso, è presente a 45,68 ppm un secondo segnale legato all'isomero citato nella figura 42.

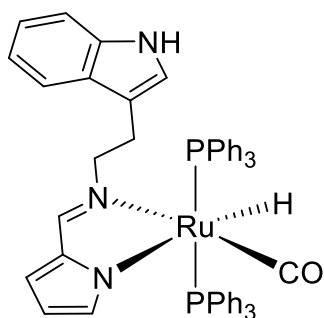


Figura 42. Isomero di $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{F})]$

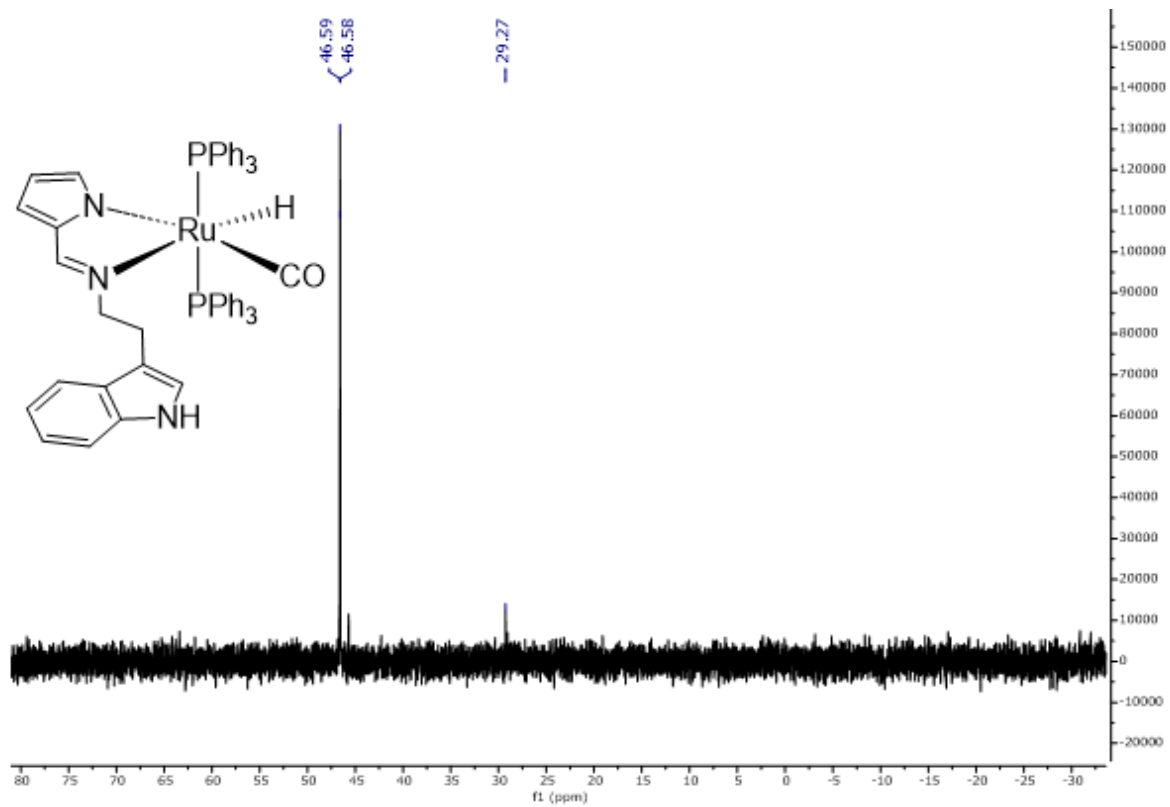


Figura 43. $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{F})]$

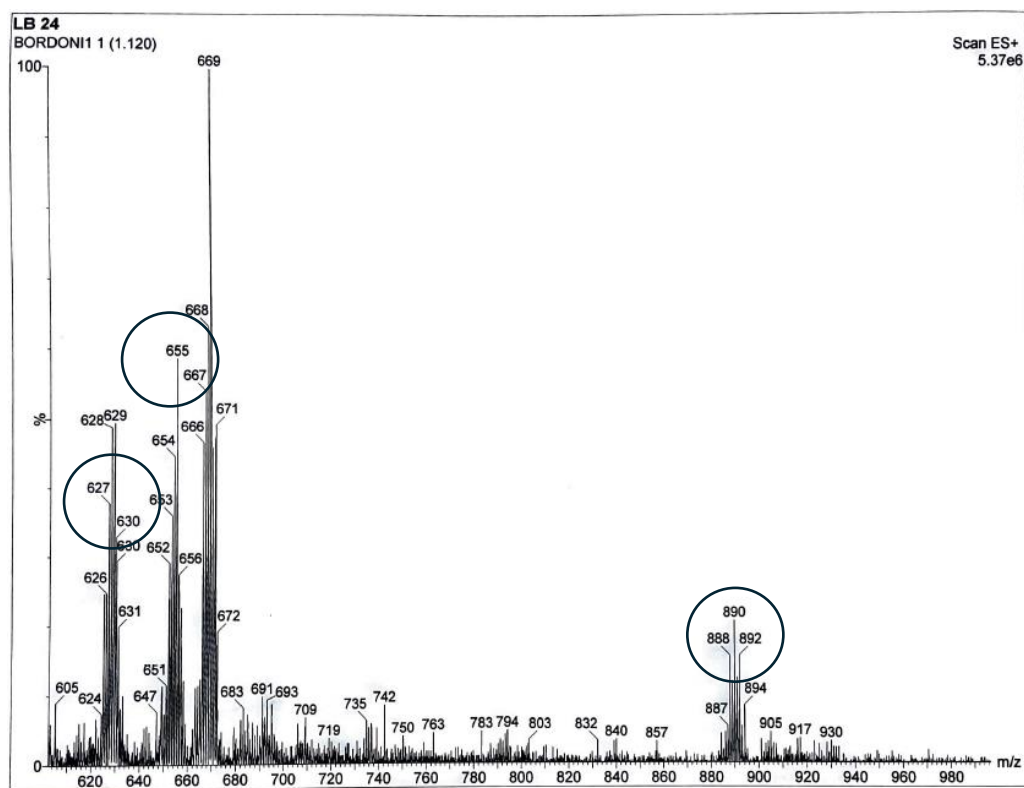


Figura 44. Analisi ESI-MS, ascissa: m/z ; complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\text{F})]$

L'analisi ESI-MS del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)] (fig.44) indica lo ione molecolare privato del H⁻ : si può notare il picco molecolare a 890 m/z [M-H]⁺ che è stato cerchiato nella figura 37. Oltre ad esso, a 655 m/z e a 627 m/z sono rispettivamente [M-F]⁺ e [M-F-CO]⁺.

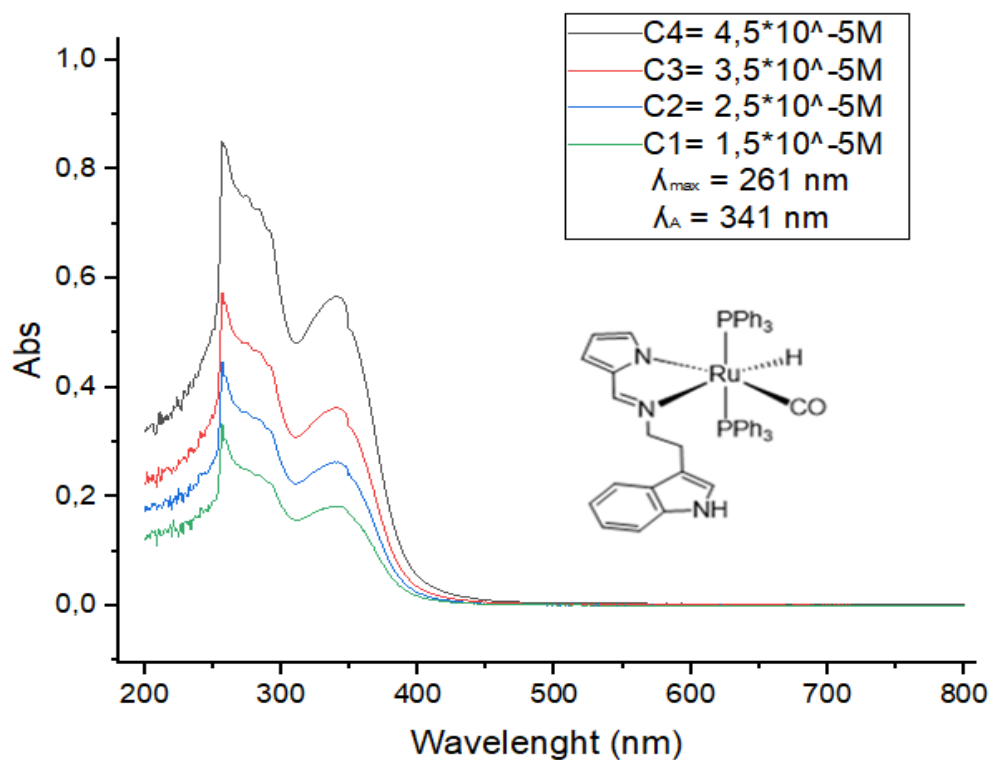


Figura 45. Spettro UV-VIS di k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)]

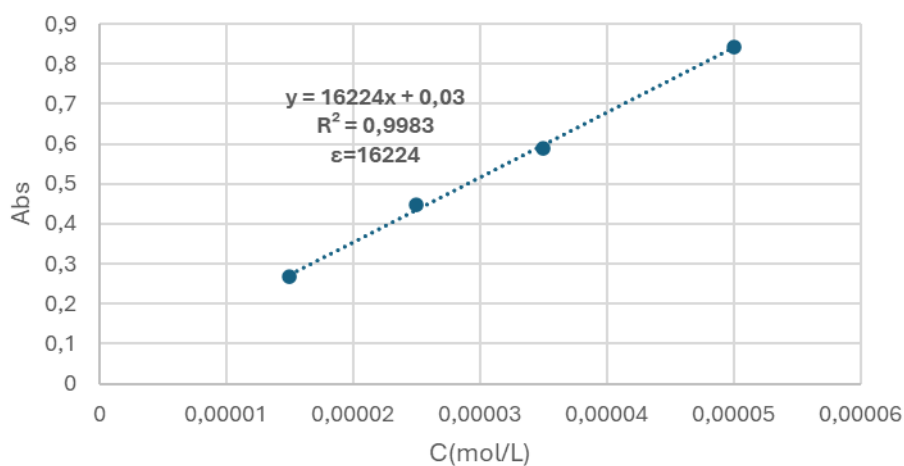


Figura 46. Retta di calibrazione di k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)] con relativo ϵ

Dallo spettro UV-VIS caratteristici del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$ (fig. 45) e dalla retta di calibrazione ottenuta (fig. 46), è stato possibile estrapolare il coefficiente di assorbimento molare “ ϵ ” pari a 16224 M/cm^{-1} . Tale valore, caratteristico del composto e della lunghezza d’onda utilizzata, riflette la sua capacità di assorbire luce a quella particolare lunghezza d’onda” $\lambda_{\text{max}} = 262 \text{ nm}$.

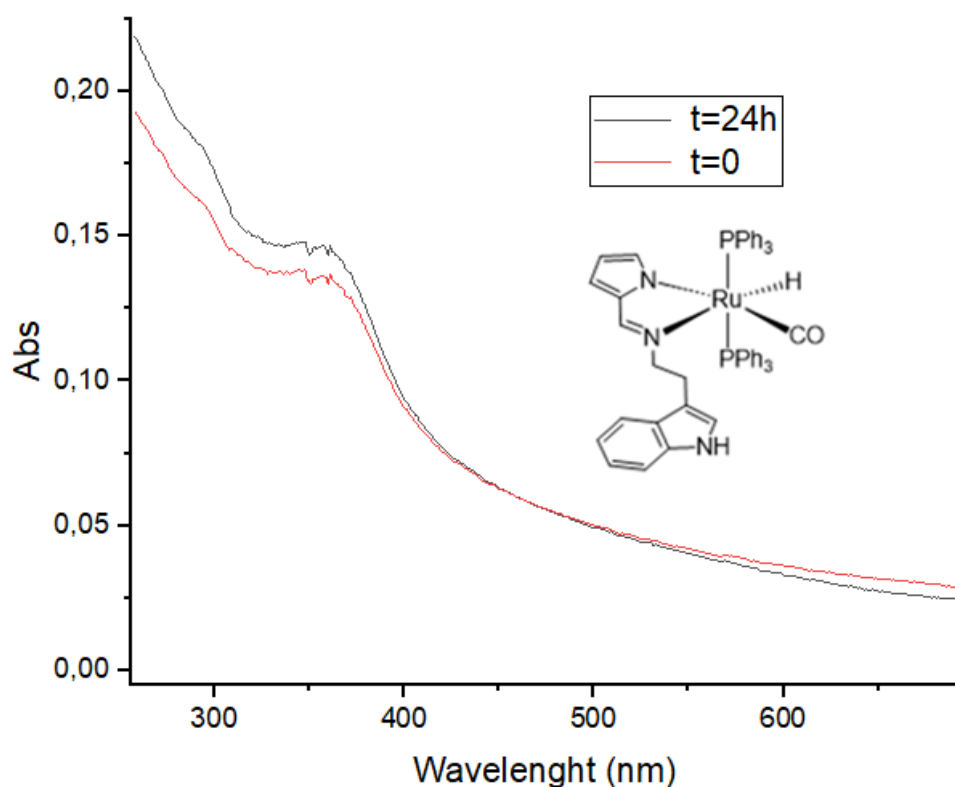


Figura 47. Stabilità in PBS 95% e DMSO al 5% del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$

È possibile definire il complesso di rutenio $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(F)]}$ stabile nel tempo nelle condizioni testate (fig. 47).

3.3 Caratterizzazione del $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$

Prima della sintesi e caratterizzazione del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$, è stata sintetizzata la base di Schiff “G” (fig. 48) metanolo per 5 ore a temperatura ambiente.

Al termine delle 5 ore, la miscela viene filtrata e tirata a secco tramite rotavapor. Il solido viene poi sottoposta a colonna cromatografica utilizzando gel di silice come fase stazionaria e DCM come eluente. La frazione viene tirata a secco tramite rotavapor²⁶.

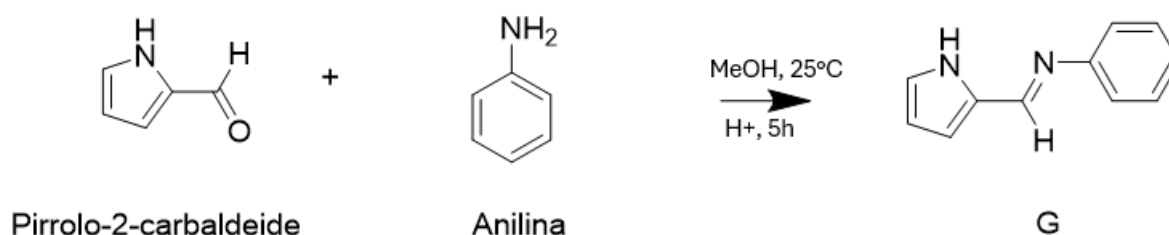


Figura 48. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff “G”

Dallo spettro $^1\text{H-NMR}$ della base di Schiff “G” (fig. 49) si notano un tripletto stretto a 6,32 ppm, un doppietto stretto a 6,68 ppm e 6,98 ppm, tutti appartenenti alla zona del pirrolo. Oltre a questi, sono presenti due tripletti a 7,19 ppm e a 7,38 ppm molto evidenti che integrano il doppio degli altri segnali: ciò è dovuto ai 2 nuclei H chimicamente equivalenti dell’anilina. A 7,20 ppm, coperto dal tripletto a 7,19 ppm è parzialmente evidente il nucleo H in para dell’anilina. L’unico rimasto è il singoletto dell’H azometinico.

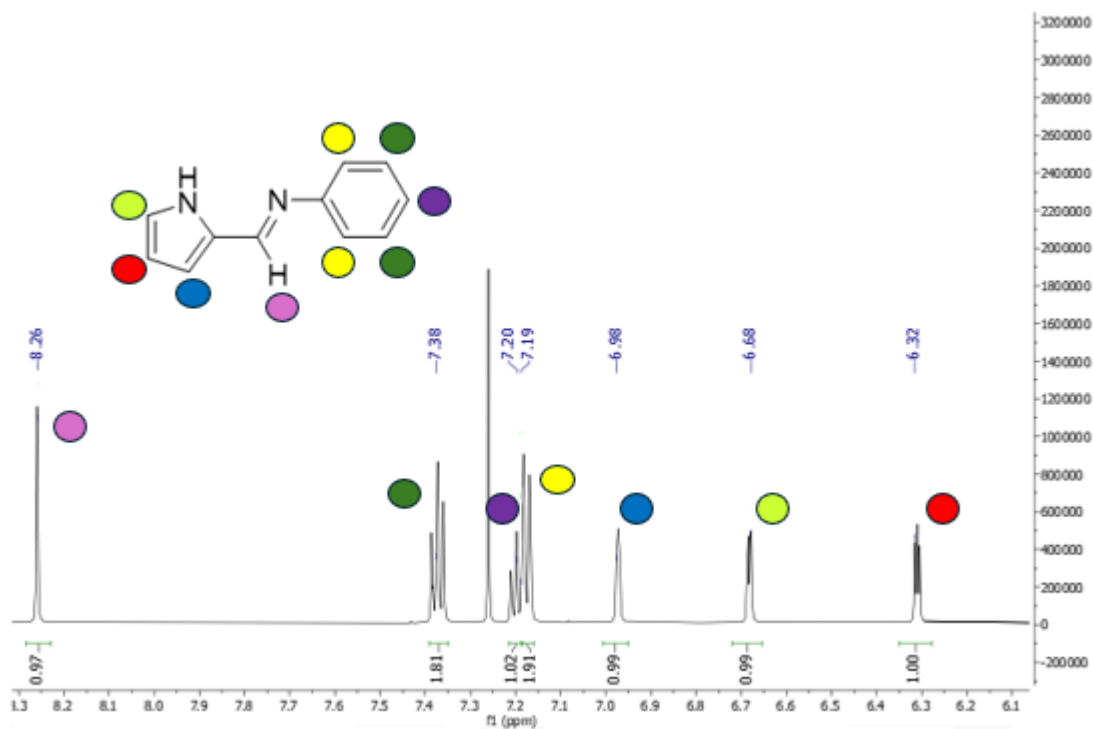


Figura 49. Spettro ^1H NMR della base di Schiff "G"

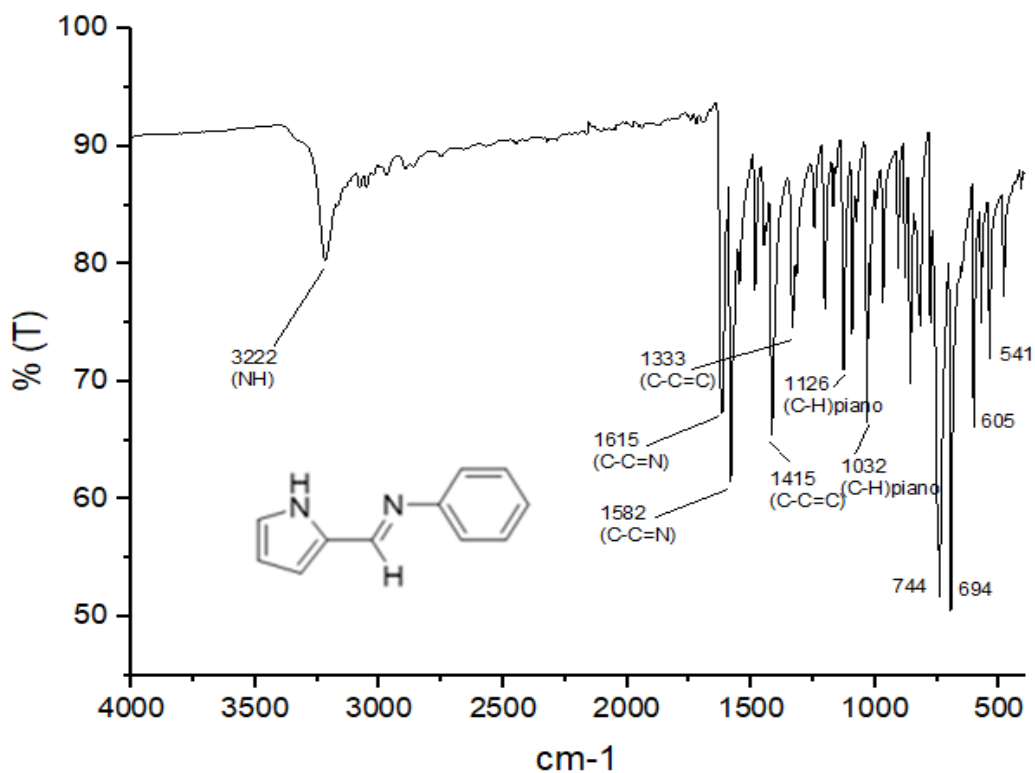


Figura 50. Caratterizzazione IR della base di Schiff "G", valori in cm^{-1}

Anche in questo caso, la sintesi può essere considerata completa visti i segnali registrati dallo spettro IR (fig. 50) della base di Schiff "G". Esso possiede assorbimento dovuto allo stretching del legame N–H identificato a 3222cm⁻¹. Inoltre, si può osservare la banda a 1615 cm⁻¹ del gruppo azometinico C–C=N caratteristico delle immine.

3.3.1 k²-(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(G)]

In seguito, l'immina "G", è stata coordinata al precursore di rutenio(II), (complesso mostrato in fig. 51). Le condizioni di reazione prevedono l'utilizzo di 1,2 Dimetossietano a refluxo come solvente. Il sistema viene quindi mantenuto a 85°C per circa 3 ore sotto atmosfera inerte (Ar). Al termine della reazione, eseguendo IR, si può notare il segnale dovuto al CO carbonilico direttamente legato al centro metallico a 1911 cm⁻¹. Monitorando questo picco nel tempo, si nota che non ha variazione di posizione. Con questo si può definire conclusa la reazione.

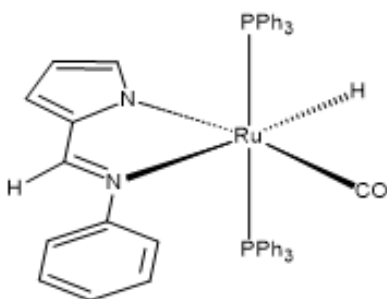


Figura 51. Complesso k²-(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(G)]

Per purificare la miscela di reazione, quest'ultima, viene disciolta nella minima quantità di DCM e con 30(mL) di etere di petrolio freddo (4°C). Il pallone di reazione ed il filtro vengono lavati per 3 volte con etere. Dallo spettro IR del complesso k²-(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(G)] (fig. 52), confrontandolo con quello dell'immina "G", si può notare la scomparsa del segnale relativo allo stretching dell'NH non coordinato a 3222 cm⁻¹, il che è la conferma della coordinazione al centro metallico da parte dell'azoto.

A 1911 cm⁻¹ è ben visibile e molto definito il picco legato allo stretching del legame Ru-CO visionato per monitorare l'andamento della reazione.

Per un'ulteriore purificazione, il prodotto è stato comunque sottoposto a colonna cromatografica utilizzando come fase stazionaria il gel di silice e come eluente una miscela 1:1 di DCM e Etere di Petrolio.

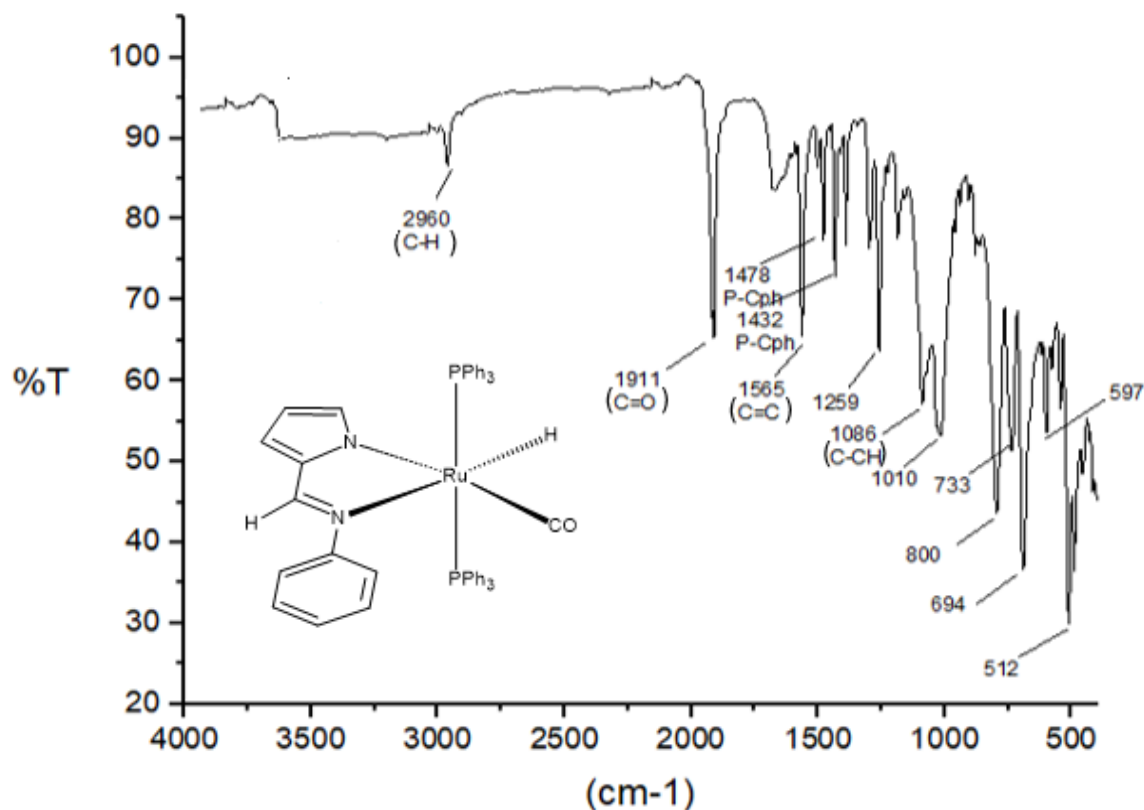


Figura 52. Caratterizzazione IR del complesso derivante dalla coordinazione della base di Schiff "G" e dal precursore di Rutenio(II) "I", valori in cm^{-1} .

Come per i complessi precedenti, nello spettro ^1H -NMR del complesso derivante dalla coordinazione del precursore di rutenio(II) "I" e dalla base di Schiff "G" (fig. 53), il tripletto tipico dei sistemi biscoordinati, si trova a -11,35 ppm. Rispettivamente a 6,50 ppm e 7,01 ppm, sono evidenti un doppietto ed un tripletto che integrano 2, questi indicano le due coppie di nuclei H chimicamente equivalenti della zona dell'anilina.

Celato dalle trifenilfosfine si trova a 7.15 ppm il segnale singoletto tipico dell'H azometinico.

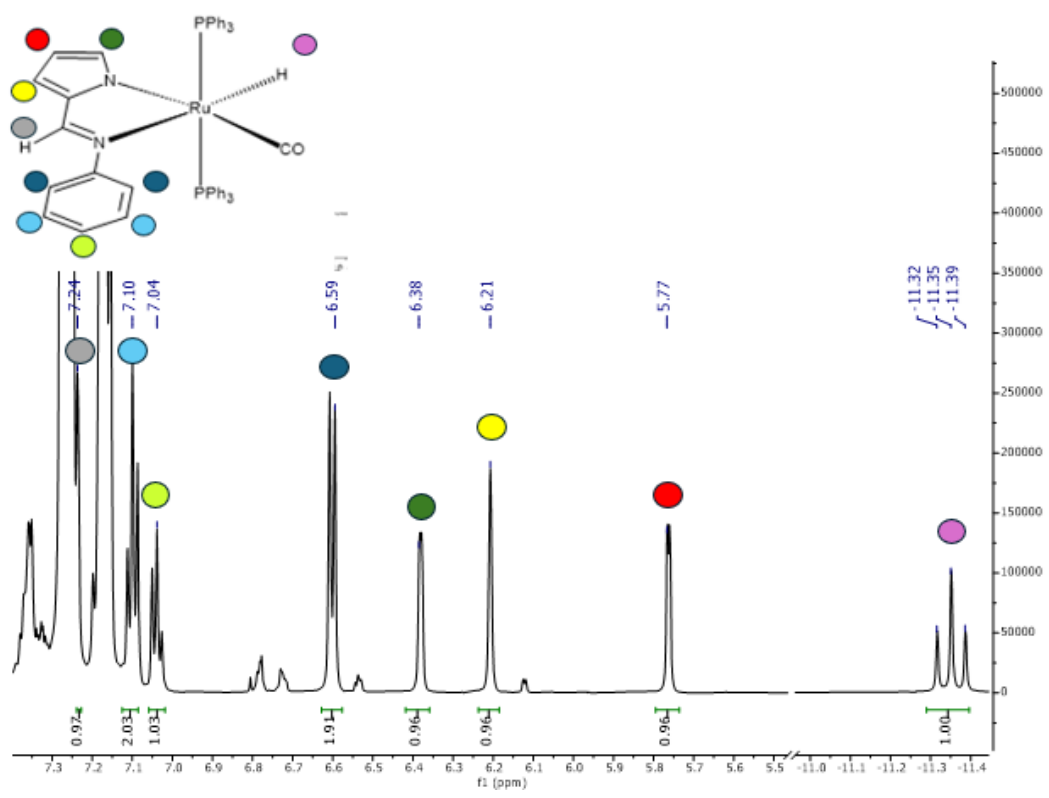


Figura 53. Caratterizzazione 1H -NMR del complesso $k^2-(N,N)[RuH(CO)(PPh_3)_2(G)]$

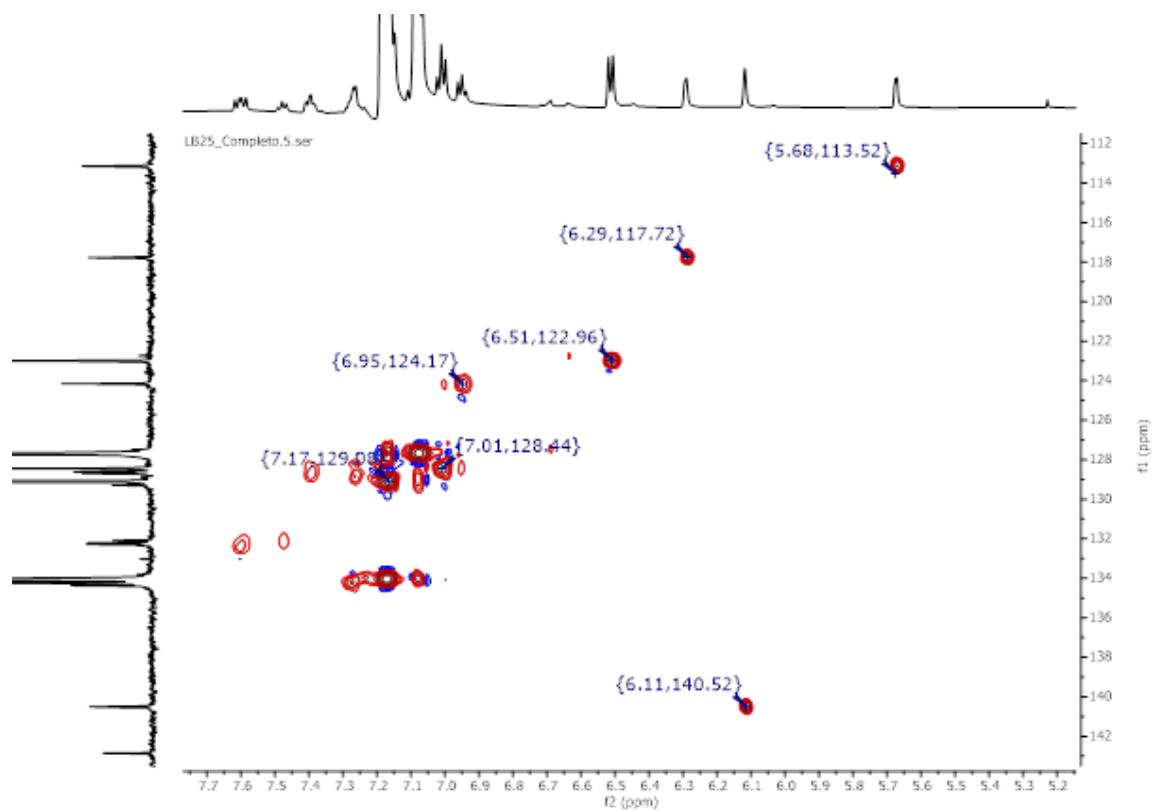


Figura 54. 2D-HSQC del complesso $k^2-(N,N)[RuH(CO)(PPh_3)_2(G)]$

Valutando lo spettro 2D-HSQC (fig. 54) è possibile abbinare ogni nucleo H dello spettro 1H-NMR ad un C nel $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (fig.55). Oltre ai segnali evidenziati, sono presenti a 142,85 ppm e 153,11 ppm, due carboni quaternari appartenenti rispettivamente al pirrolo e all'anilina. Per dimostrarlo è necessario riferirsi all'2D-HMBC (fig. 56).

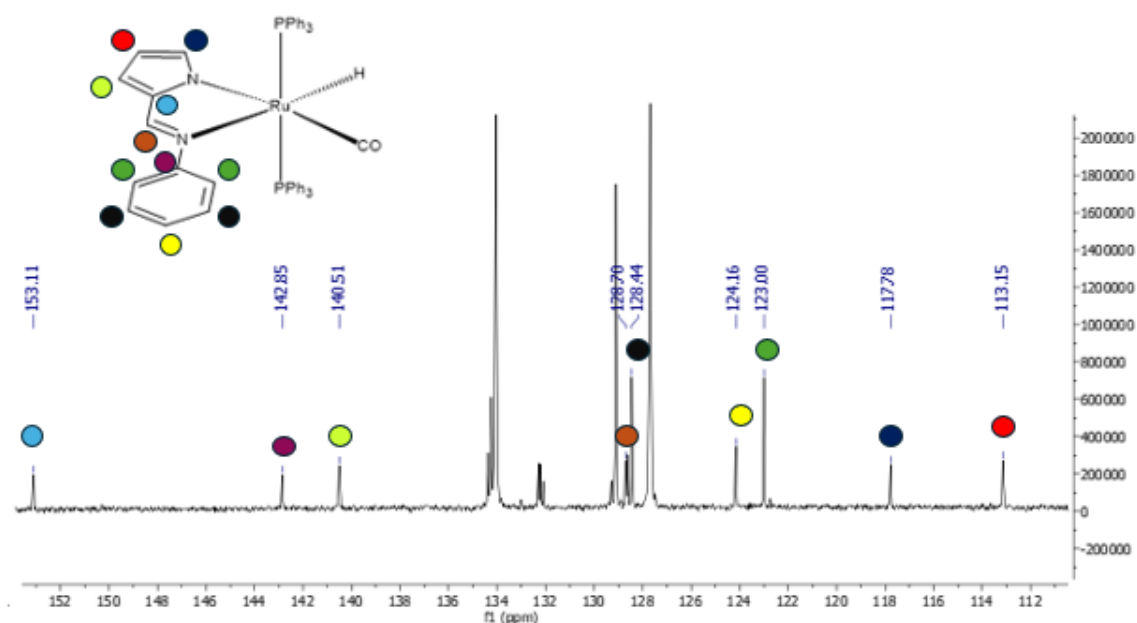


Figura 55. Spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$

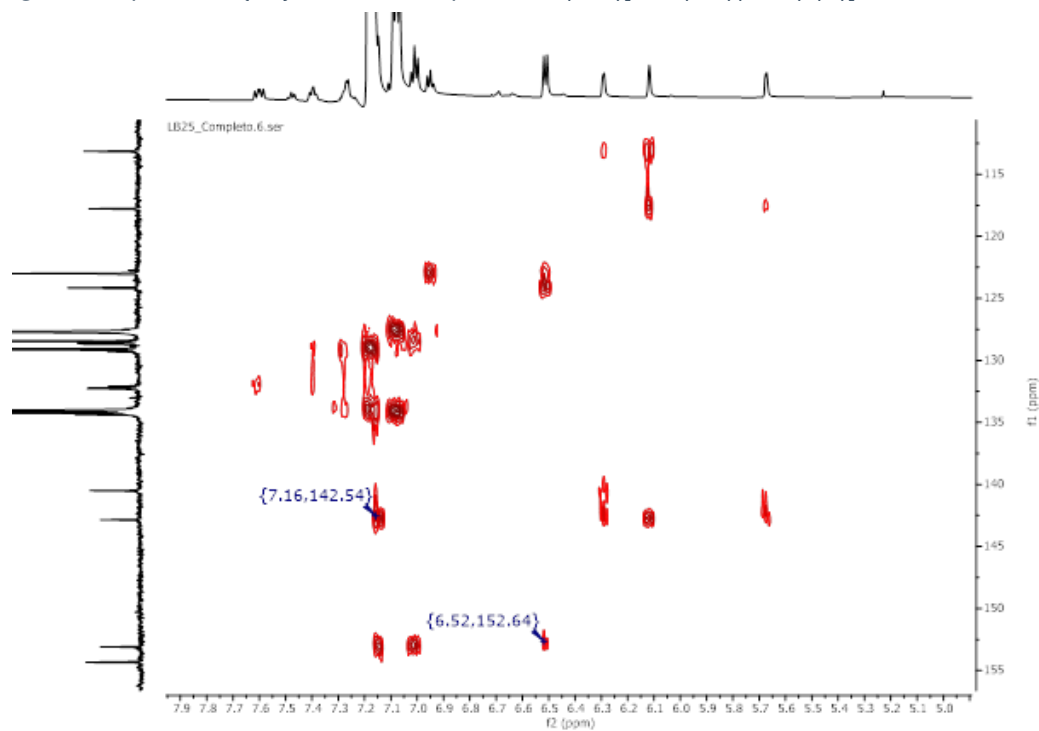


Figura 56. 2D-HMBC del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$

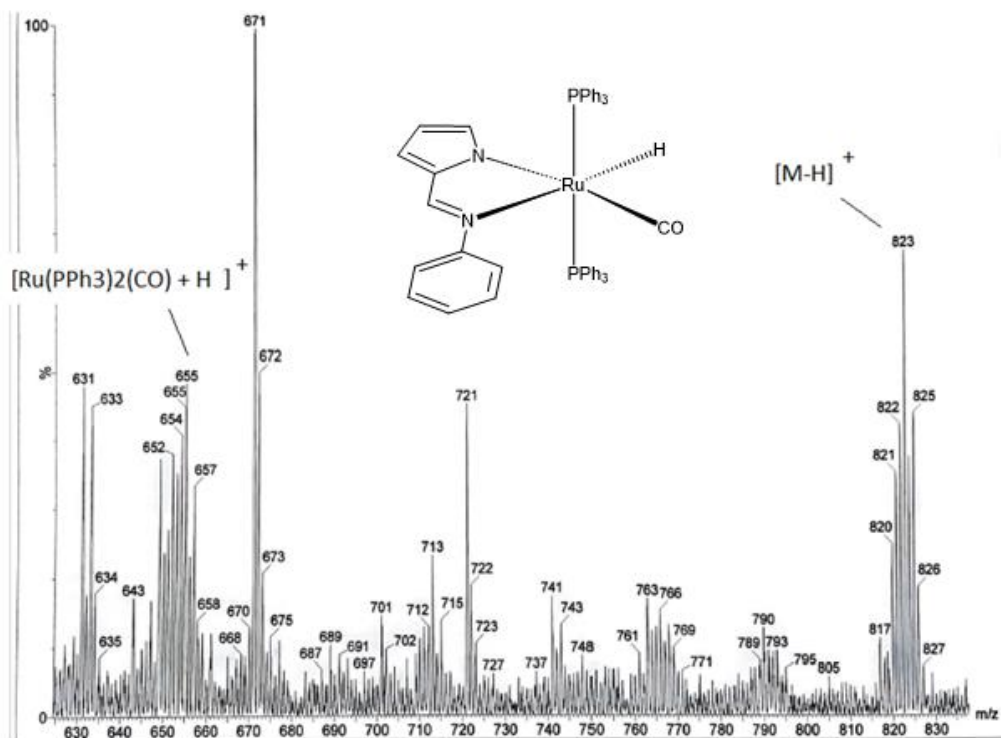


Figura 57. Analisi ESI-MS, ascissa: m/z ; complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(G)]

L'analisi ESI-MS del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(G)] (fig. 57) indica lo ione molecolare privato di H⁻: si può notare il picco molecolare a 823 m/z [M-H]⁺, il quale è stato cerchiato. Oltre ad esso, a 655 m/z è indicata [M-G]⁺.

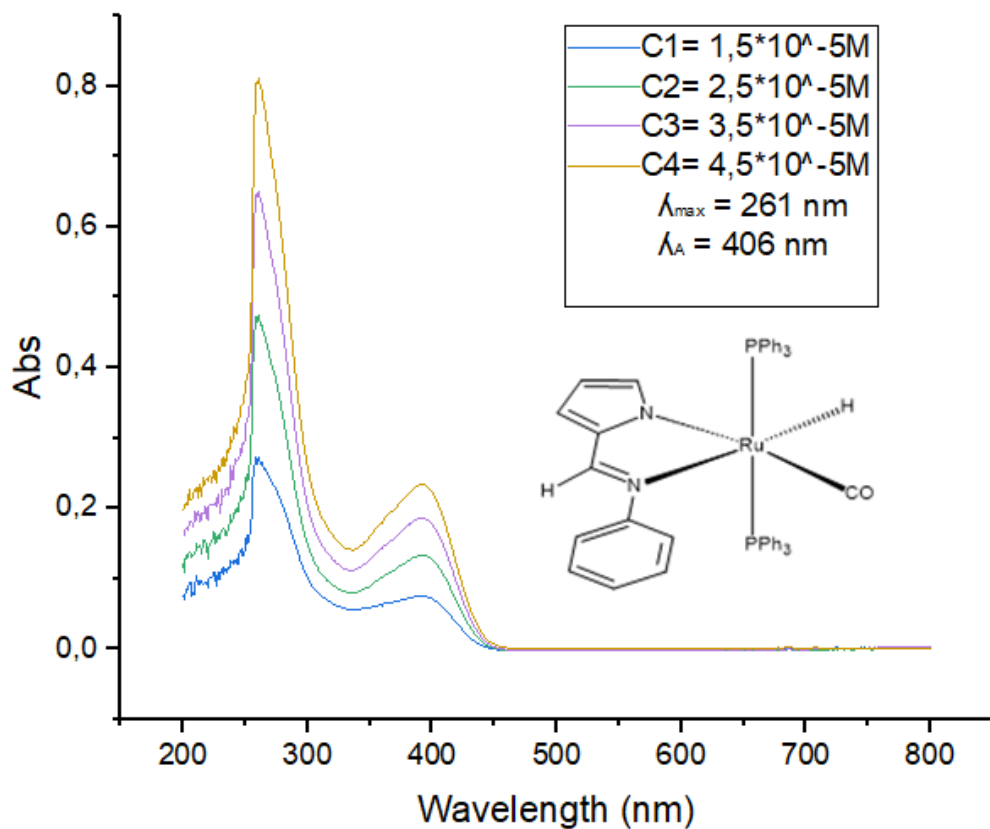


Figura 58. Spettro UV-VIS di $k^2-(N,N)[RuH(CO)(PPh_3)_2(G)]$

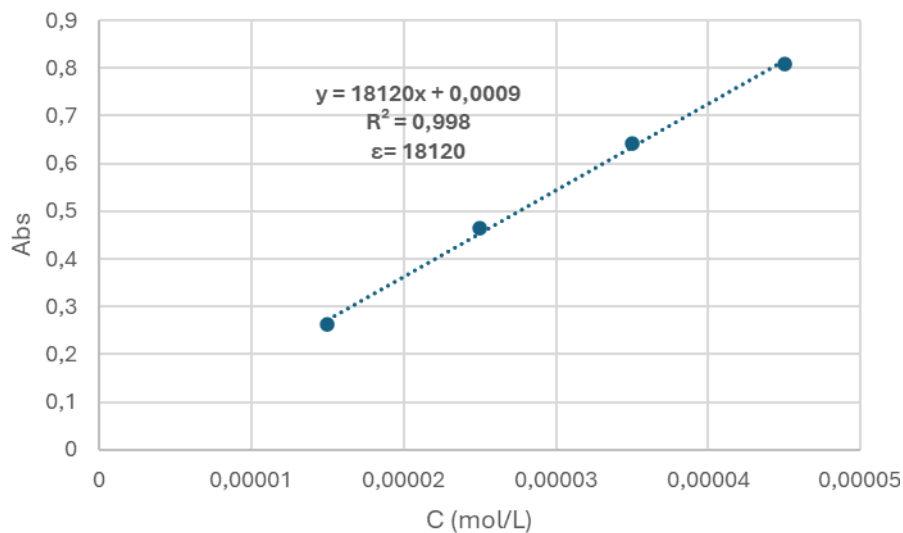


Figura 59. Retta di calibrazione di $k^2-(N,N)[RuH(CO)(PPh_3)_2(G)]$ con relativo ϵ

Dall'analisi dello spettro UV-VIS del complesso $k^2\text{-(N,N)[Ru(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{G})]$ (fig. 58) e dalla retta di calibrazione derivata (fig. 59), è stato possibile determinare il coefficiente di assorbimento molare “ ϵ ”, che risulta essere pari a 18120 M/cm^2 . Questo valore, distintivo per il composto e per la specifica lunghezza d'onda impiegata, indica la sua capacità di assorbire la radiazione luminosa a una lunghezza d'onda massima di $\lambda_{\text{max}} = 261 \text{ nm}$. La linearità della retta di calibrazione conferma l'affidabilità delle misurazioni.

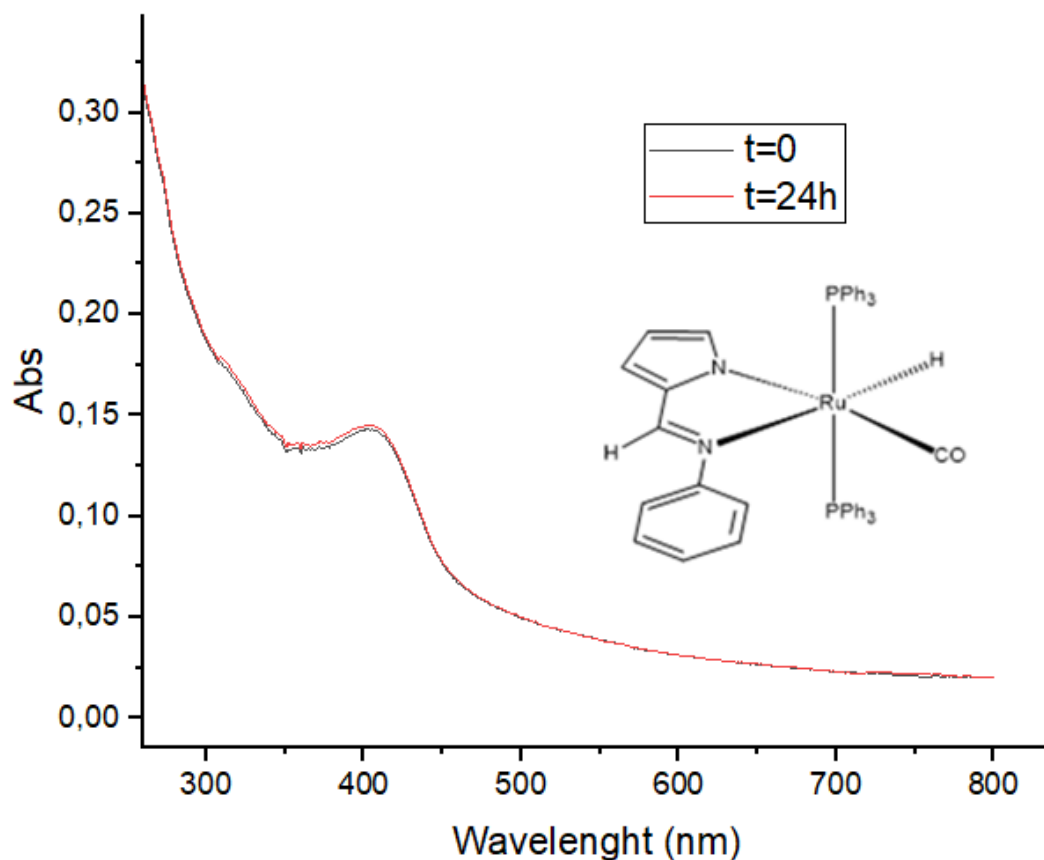
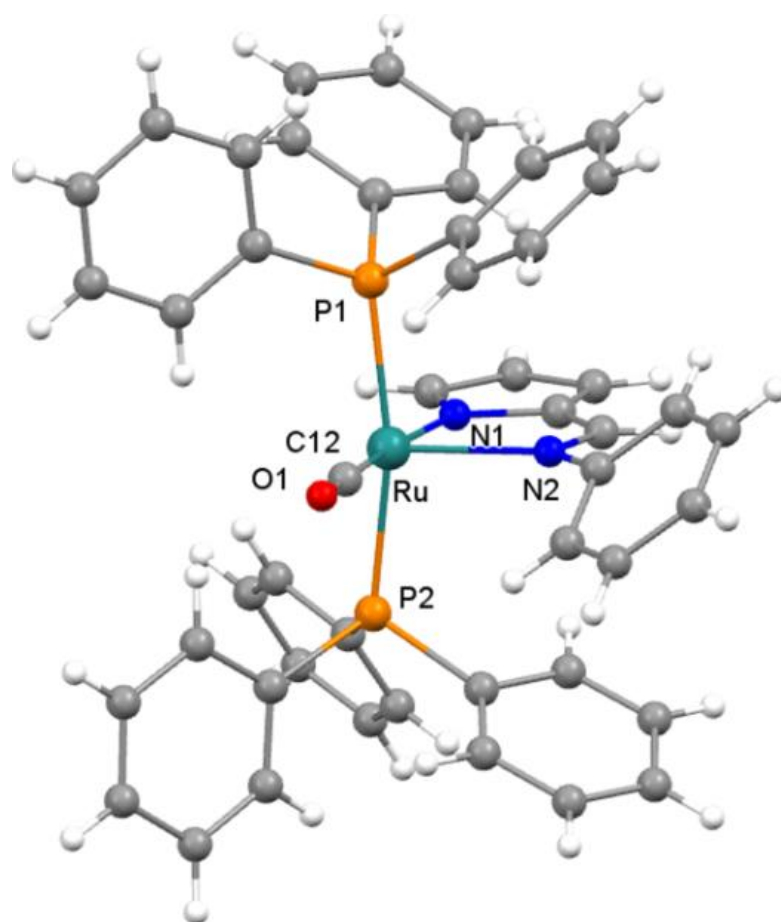


Figura 60. Stabilità in PBS 95% e DMSO al 5% del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{G})]$

È possibile definire il complesso di rutenio $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2(\mathbf{G})]$ stabile nel tempo nelle condizioni testate (fig. 60).



Ru-C(12)	1.859(13)
Ru-N(1)	2.106(7)
Ru-N(2)	2.219(7)
Ru-P(1)	2.345(2)
Ru-P(2)	2.349(2)

Figura 61. Struttura ai raggi X di k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)] e relative lunghezze di legame

La struttura del complesso di Ru contenente il legante 2-fenilimmino-metilpirrolato (fig. 61) conferma che il rutenio adotta una geometria ottaedrica distorta con due fosfine in posizione trans assiale mentre nel piano equatoriale la sfera di coordinazione oltre al legante bidentato comprende anche un legante carbonilico e un idruro. L'idruro non e' stato localizzato ma la sua presenza si può dedurre dall'ampio angolo di circa N1-Ru-C12 di circa 180° in aggiunta ai dati spettroscopici. Solo il fenile viola la planarità degli atomi del legante (angolo diedro tra RuN1N2C4C5 e fenile 42,8(4)°) con deviazione dalla linearità dell'angolo P1-Ru-P2 [167.6(1)°].

3.4 Caratterizzazione del k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)]

Prima della sintesi e caratterizzazione del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)] , è stata sintetizzata la base di Schiff “H” (fig. 62) in H₂O per 12 ore a riflusso.

Al termine delle 12 ore, è stata eseguita un'estrazione liquido-liquido con imbuto separatore, utilizzando DCM come fase estraente. La fase organica ha assunto una colorazione arancione-giallastra ricca di prodotto puro.

Una volta estratta questa fase, è stata eseguita un'ulteriore strategia di purificazione quale la colonna cromatografica, utilizzando come fase stazionaria il gel di silice e come miscela eluente etil acetato : etere di petrolio 1:5²⁶.

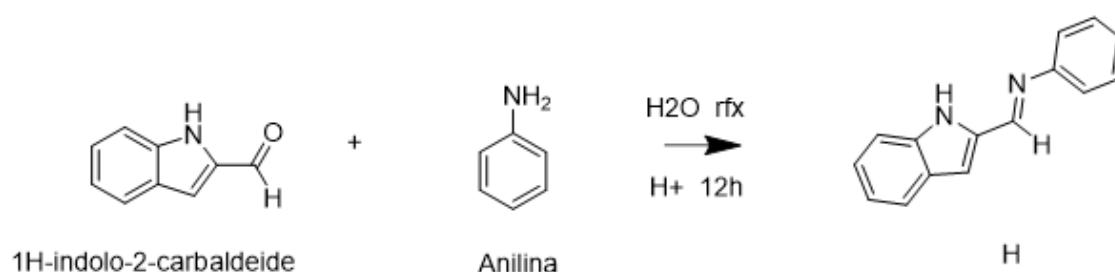


Figura 62. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff “H”

Dallo spettro ¹H -NMR della base di Schiff “H” (fig. 63), è ben evidente a 9,33 ppm la banda allargata dell’NH, a 8,47 ppm il singoletto molto intenso del protone legato al C imminico, tra 7,68 ppm e 7,66 ppm il doppietto dell’H indolico in β all’NH e a 6.96 ppm un secondo singoletto relativo nucleo H visualizzabile in posizione orto all’interno dell’gruppo indolico.

Tra 7,29 ppm e 7,26 ppm, l’intero segnale integra precisamente 4,88 ma è necessario considerare la presenza del solvente cloroformio deuterato (CDCl₃) il quale copre e rende meno definiti i picchi e incrementa il valore dell’integrazione: in quell’intervallo di ppm è presente un intenso doppietto integrante 2 relativo ai due nuclei chimicamente equivalenti in orto nell’anilina; inoltre è poco evidente un tripletto ed un doppietto integranti 1 relativi ai rimanenti nuclei H .

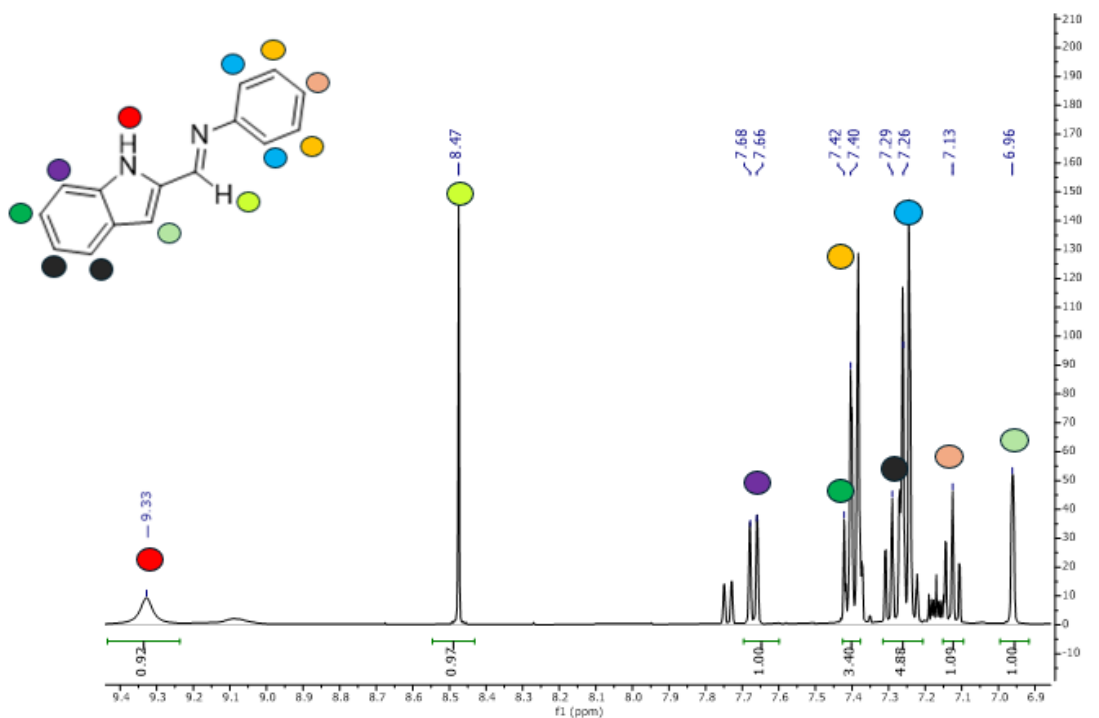


Figura 63. Spettro ¹H NMR della base di Schiff "H"

L'IR del legante "H" (fig. 64) rivela una serie di bande che forniscono informazioni cruciali sulla sua struttura chimica e sulle vibrazioni molecolari associate. In particolare, si osservano le vibrazioni tipiche del gruppo N–H dell'indolo, che si manifestano a due frequenze distinte: 3371 cm⁻¹ e 3166 cm⁻¹. Proseguendo nell'analisi dello spettro, a 1671 cm⁻¹ si può notare la presenza della banda associata allo stiramento del legame C=C=N. In aggiunta, lo spettro rivela anche diverse bande associate alle vibrazioni aromatiche. In particolare, a 1587 cm⁻¹ e 1585 cm⁻¹ si osservano bande che indicano la presenza di vibrazioni C=C=C, tipiche delle strutture aromatiche. Queste bande sono seguite da ulteriori segnali a 1449 cm⁻¹ e 1334 cm⁻¹, che confermano ulteriormente la complessità degli anelli aromatici presenti nel legante "H". A frequenze più basse, precisamente a 1186 cm⁻¹ e 1123 cm⁻¹, si identificano le bande relative ai legami CH in piano, sempre all'interno delle zone aromatiche.

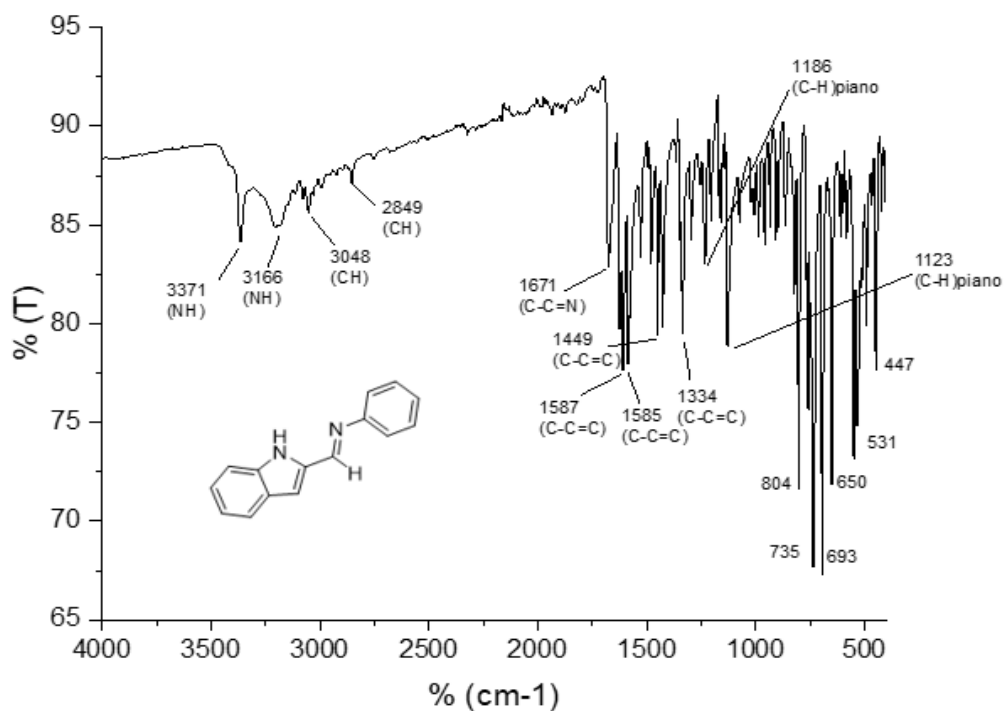


Figura 64. Caratterizzazione IR della base di Schiff "H", valori in cm⁻¹

3.4.1 k²-(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)]

In seguito, l'immina "H", è stata coordinata al precursore di rutenio(II), (complesso mostrato in fig. 65). Le condizioni di reazione prevedono l'utilizzo di 1,2 Dimetossietano a refluxo come solvente. Il sistema viene quindi mantenuto a 85°C per circa 4 ore sotto atmosfera inerte (Ar). Al termine della reazione, eseguendo IR, si può notare il segnale dovuto al CO carbonilico direttamente legato al centro metallico a 1914 cm⁻¹. Monitorando questo picco nel tempo, si nota che non ha variazione di posizione. Con questo si può definire conclusa la reazione.

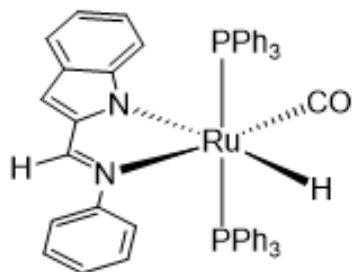


Figura 65. Complesso k²-(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)]

Per purificare la miscela di reazione, quest'ultima, viene disciolta nella minima quantità di DCM ed esano 1:30. Lo Schlenk di reazione ed il filtro vengono lavati per 3 volte con 10mL di esano. Il solido viene purificato ulteriormente tramite colonna cromatografica utilizzando come fase stazionaria gel di silice e come fase mobile una miscela di etilacetato: etere di petrolio 1:5.

Dallo spettro IR del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$ (fig. 66), confrontandolo con quello dell'immina "H", si può notare la scomparsa dei segnali relativi allo stretching dell'NH non coordinato a 3371 cm^{-1} e 3166 cm^{-1} , il che è la conferma della coordinazione al centro metallico da parte dell'azoto. Un secondo segnale che oltre a dare informazioni sull'andamento della reazione permette di definire se la specie formatasi è differente a quella del precursore "I" è la banda ben definita a 1914 cm^{-1} relativa allo stretching del Ru-CO.

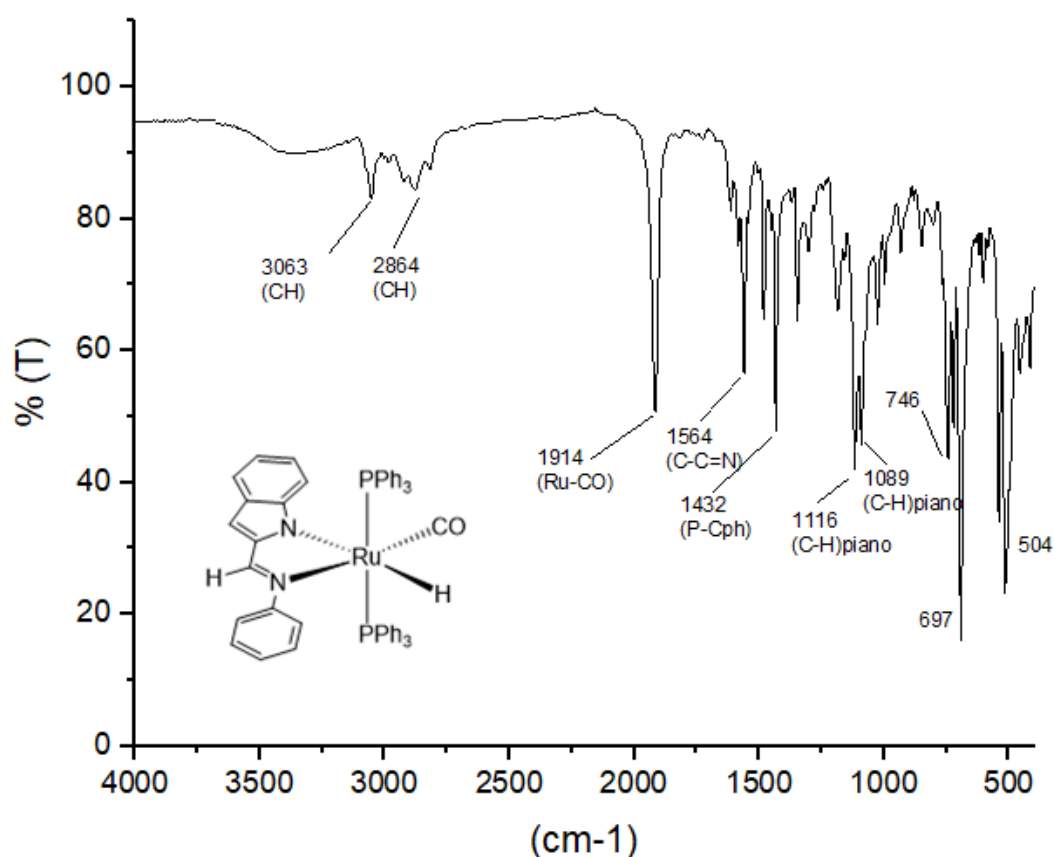


Figura 66. Caratterizzazione IR del complesso derivante dalla coordinazione della base di Schiff "H" e dal precursore di Rutenio(II) "I", valori in cm^{-1} .

Lo spettro ^1H -NMR del composto derivante dalla coordinazione del precursore di rutenio(II) "I" e dalla base di Schiff "H" è piuttosto complesso da analizzare a causa della sovrapposizione di diversi segnali. Nonostante ciò, confrontando l' ^1H -NMR (fig. 67) con l' ^2D -HSQC (fig. 68) dello stesso è possibile definirli ed abbinarli. Oltre al tripletto relativo al Ru-H tra -11,20 ppm e -11,27 ppm e il singoletto a -7,80 ppm del nucleo H azometinico già visto nelle situazioni precedenti sono presenti due casi di sovrapposizione:

1. A 6,69 ppm coesistono un doppietto intenso integrante 2 riferito ai due protoni chimicamente equivalenti in orto dell'anilina ed un doppietto con costante di accoppiamento inferiore di un nucleo H dell'indolo.
2. Ben evidente a 7,06 ppm un tripletto intenso integrante 2 relativo ai protoni $^3\text{J}_{\text{H-H}}$ in para nell'anilina.
3. A 7,19 ppm tripletto relativo al nucleo in para dell'anilina
4. 7,24 ppm doppietto corrispondente all' $^3\text{J}_{\text{H-H}}$ indolico.
5. A 7,31 ppm celato dal fosfinossido, è poco evidente all' ^1H -NMR ma non al ^2D -HSQC il singoletto relativo all'unico H non avente molteplicità dell'indolo.

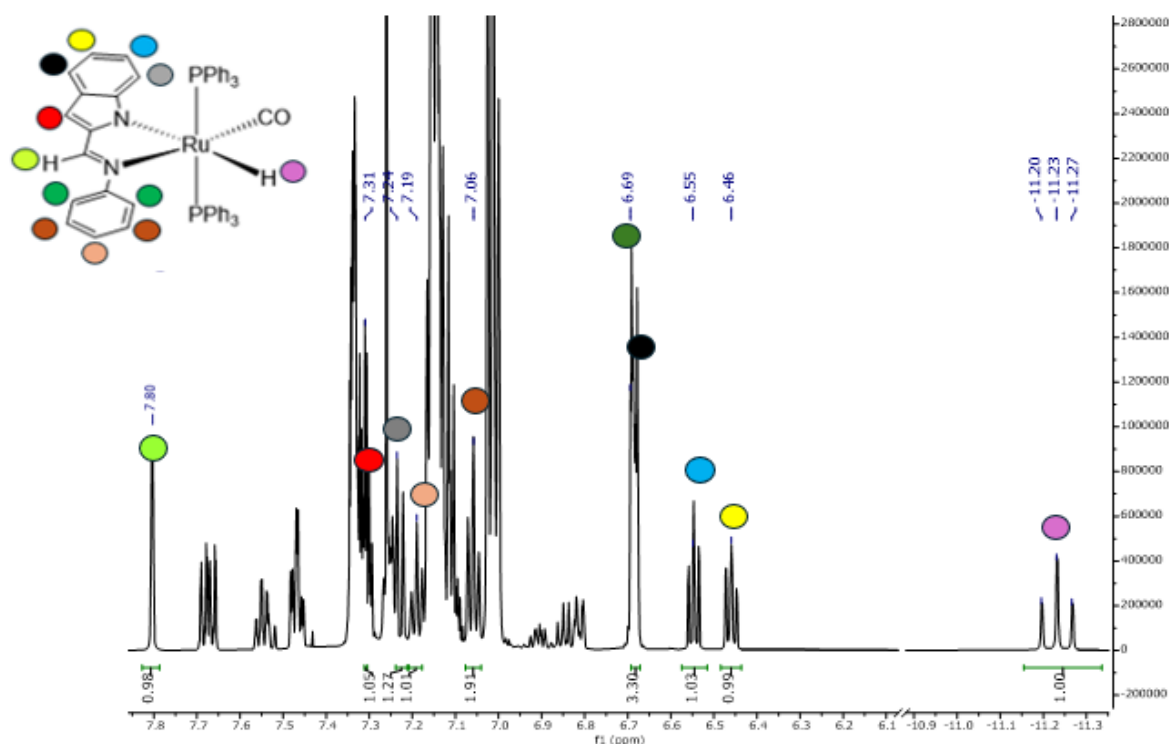


Figura 67. Caratterizzazione ^1H -NMR del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$

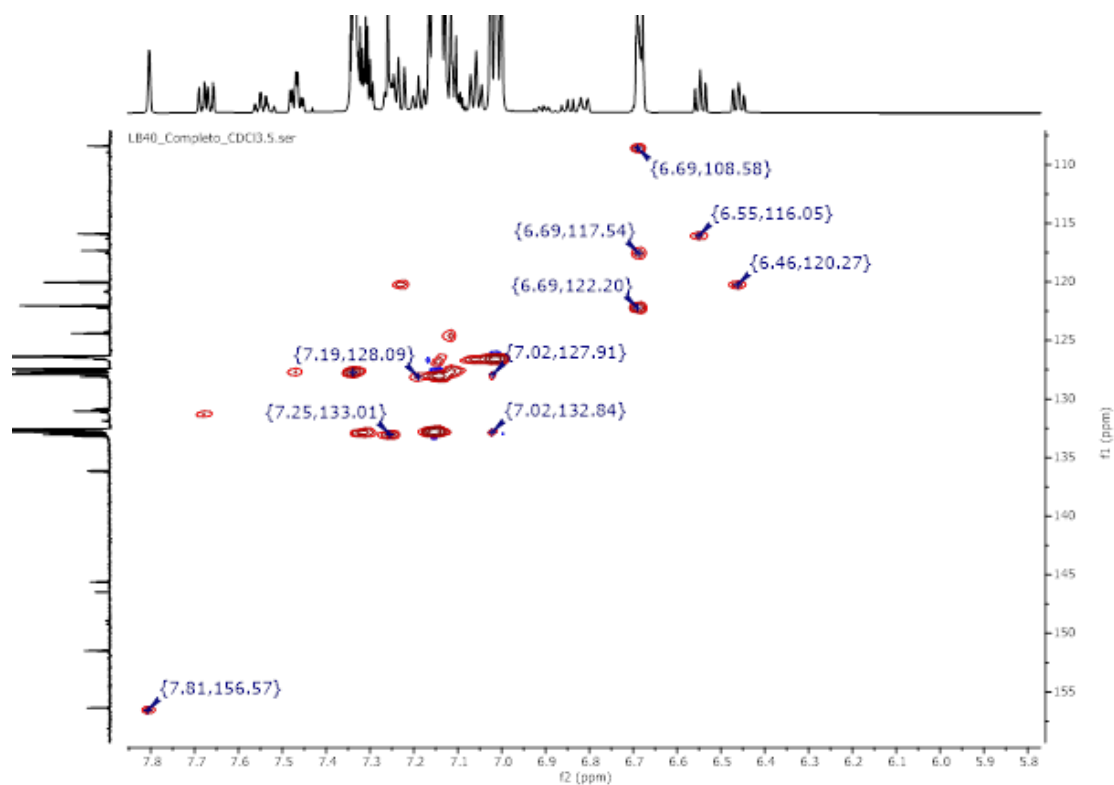


Figura 68. 2D-HSQC del complesso $k_2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)}$

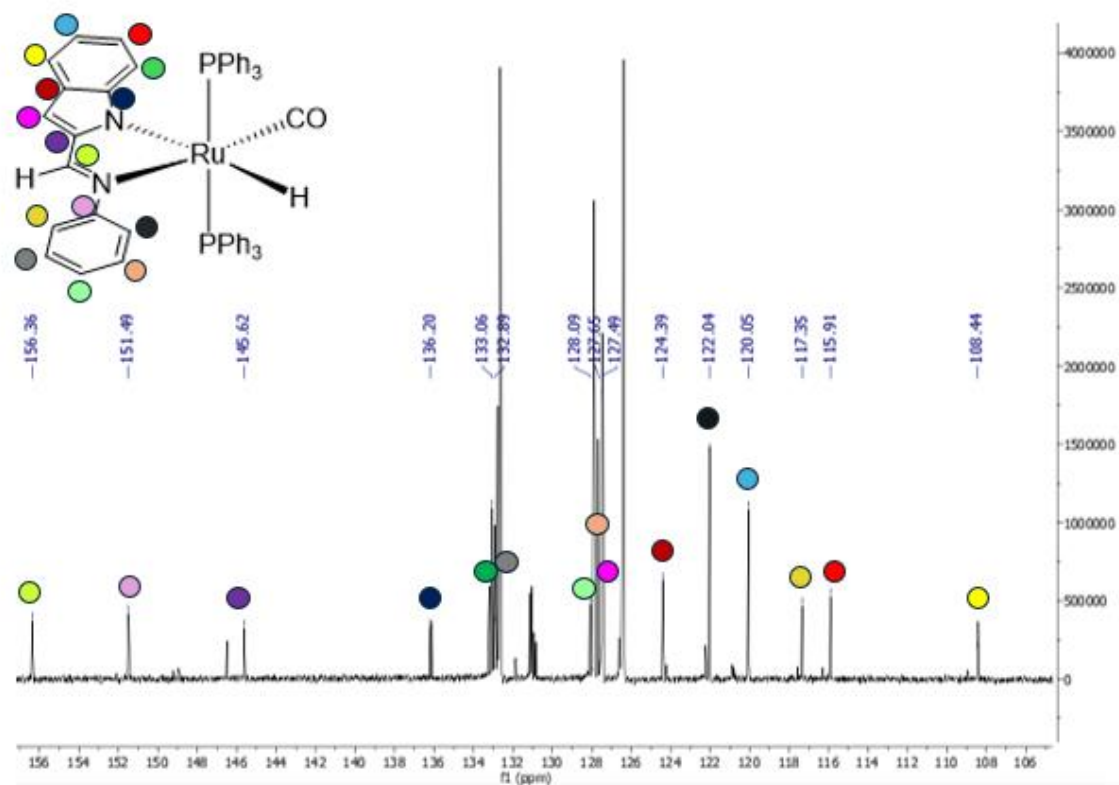


Figura 69. Spettro $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)}$

Dall'analisi dettagliata dello spettro UV-VIS del complesso $k^2\text{-(N,N)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$ (fig. 70) e dalla retta di calibrazione derivata in seguito a tale analisi (fig. 71), è stato possibile determinare con precisione il coefficiente di assorbimento molare “ ϵ ”, il quale risulta essere pari a 24260 M/cm^2 . Questo valore, che si presenta come distintivo per il composto in esame e per la specifica lunghezza d'onda impiegata durante l'analisi, indica chiaramente la sua notevole capacità di assorbire la radiazione luminosa a una lunghezza d'onda massima di $\lambda_{\text{max}} = 261 \text{ nm}$. Inoltre, la linearità della retta di calibrazione ottenuta durante l'esperimento conferma l'affidabilità e la coerenza delle misurazioni.

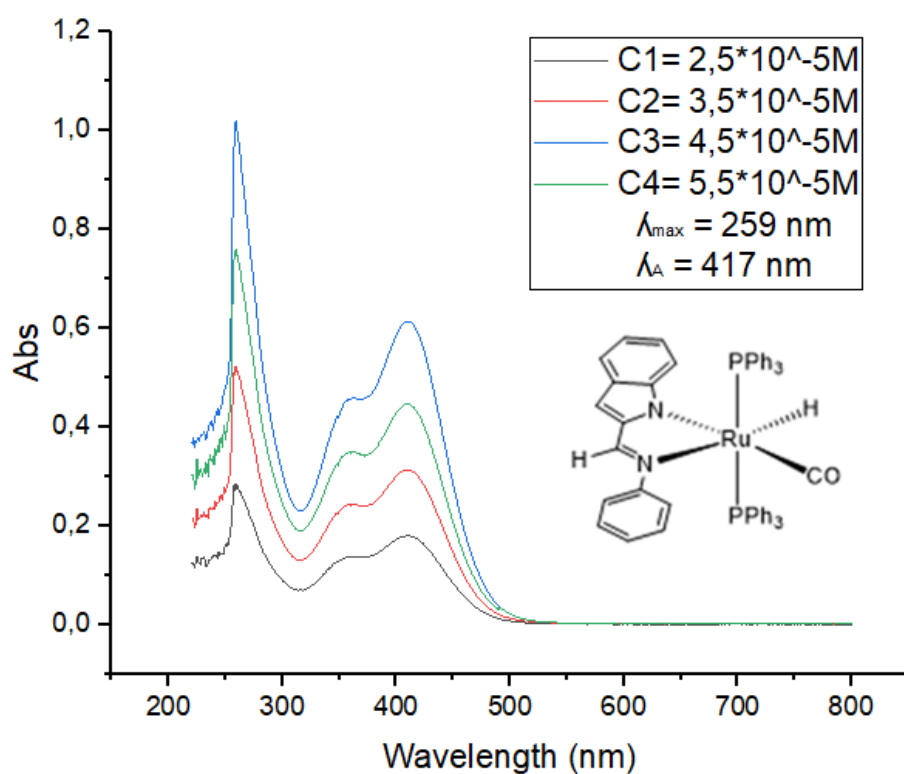


Figura 70. Spettro UV-VIS di $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$

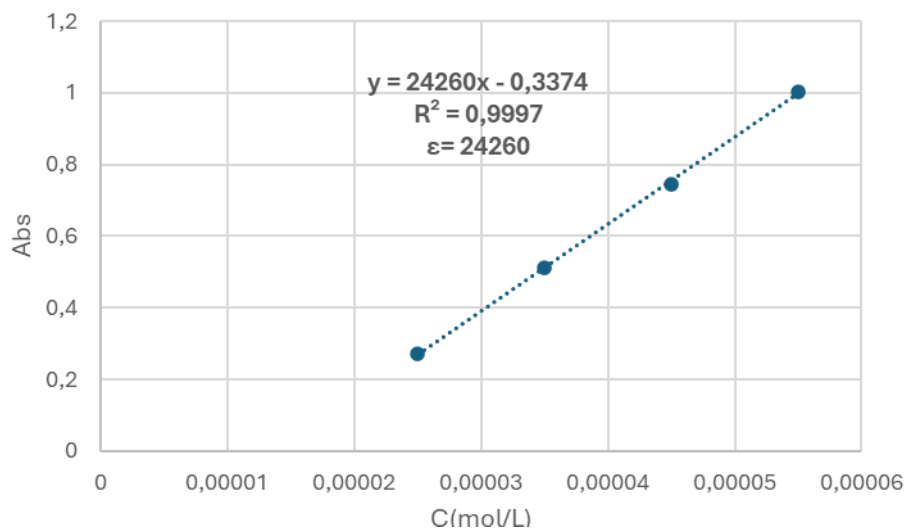


Figura 71. Retta di calibrazione di k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)] con relativo ϵ

È possibile definire il complesso di rutenio k^2 -(N,N)[Ru(CO)(PPh₃)₂(H)] stabile nel tempo nelle condizioni testate (fig. 72).

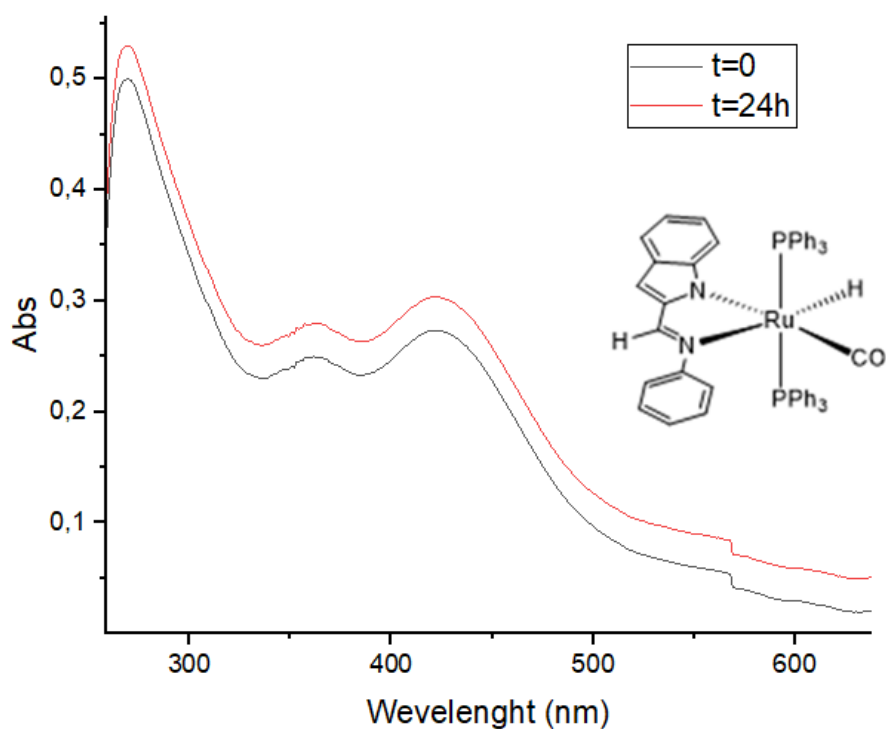


Figura 72. Stabilità in PBS 95% e DMSO al 5% del complesso k^2 -(N,N)[Ru(CO)(PPh₃)₂(H)]

4. PARTE SPERIMENTALE

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 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. Gli spettri in fase solida sono stati registrati con un'analisi diretta del campione utilizzando la tecnica IR-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, Bruker 600 Mhz e Inova 600 MHz.

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 acetonitrile.

4.1 Ricristallizzazione Trifenilfosfina

Vengono pesati 10,44g di PPh₃ e trasferiti in un pallone a due colli da 250mL immerso in un bagno di olio silconico e provvisto di refrigerante e ancoretta 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 v(C-H), 3061 s (C-H), 3048 s (C-H), 3027 s v(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 PPh₃:

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,29–7,44 (m, 15H).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -4,84 (s, 1P).

Segnali PPh₃O:

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,71 (m), 7,56 (m), 7,22 (m).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 29,69(s).

Il rapporto di integrazione delle due specie (PPh₃/PPh₃O), determinato mediante spettroscopia NMR varia da 20:1 a 50:1 in seguito alla ricristallizzazione della trifenilfosfina.

4.2 Sintesi del precursore [(PPh₃)₃Ru(CO)(H)₂]

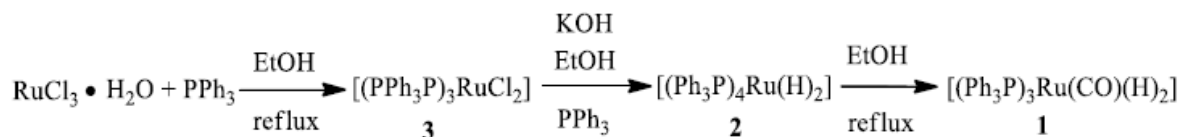


Figura 73. Sintesi del precursore di Ru(II) [(PPh₃)₃Ru(CO)(H)₂]

Un pallone a due colli da 250mL dotato di ancoretta magnetica e refrigerante a bolle viene posto in un bagno di olio siliconico. 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); 1941 s v(CO); 1902 w (Ru-H), 1478 s (P-C); 1432 s (C=C). 87

¹H NMR (400,0 Mhz, CDCl₃) δ (ppm): 6,60–7,60 (m, 45H, PPh₃); -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).

	Massa Molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	n (mmol)	Resa%
$\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	261,43	504	/	1,93	/
PPh_3	262,29	2039	/	7,77	/
Etanolo	46,07	/	50,0	/	/
KOH	56,11	1030	/	18,36	/
$[\text{Ru}(\text{H})_2(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3]$	917,97	1273	/	1,39	72%

Tabella 2. Sintesi del precursore di Ru(II) $[(\text{PPh}_3)_3\text{Ru}(\text{CO})(\text{H}_2)]$

4.3 Preparazione della base di Schiff "E"

La base di Schiff è stata preparata per reazione tra il pirrolo-2-aldeide e il 2-amminofenolo seguendo la procedura proposta da R.V.Jagadeesh²¹.

Vengono disciolte 15mmoli di pirrolo-2-aldeide e 15mmoli di 2-amminofenolo in 15mL di etanolo, le due soluzioni vengono miscelate e si fa reagire a riflusso per 12 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

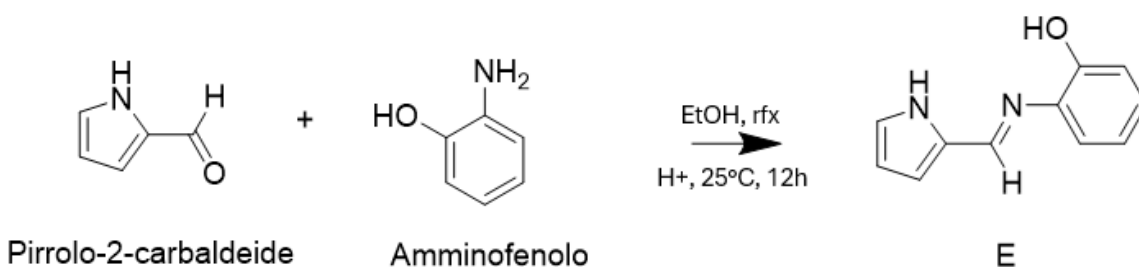


Figura 74. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff "E"

cromatografia su colonna usando come fase stazionaria gel di silice e come miscela eluente DCM/ MeOH 9:1.

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:

IR (cm⁻¹): 3327 m (N-H), 3273 b (O-H), 1623 s (C=N), 1587 m (C=C-C), 1485 m (C=C-C), 1091 s (C-H nel piano), 1028 s (C-H nel piano), 827 s (C-H nel piano).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.29 (s, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.13 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.06 – 7.02 (m, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.88 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.74 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 6.34 (s, 1H).

4.3.1 Sintesi dei complessi $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)}$ e $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)}$

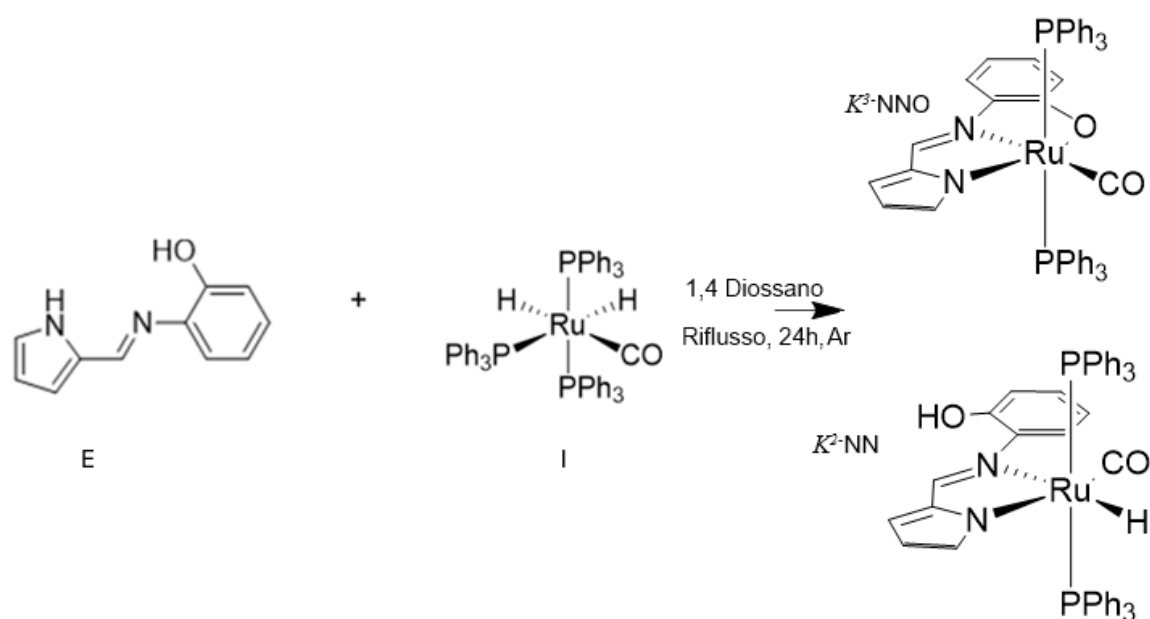


Figura 75. Sintesi dei complessi $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)}$ e $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)}$

4.3.2 $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)}$

	Massa Molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	n (mMol)	Resa%
$[(PPh_3)_3Ru(CO)(H)_2]$	917,97	150,1	/	0,160	/
Base di Schiff «E»	186,21	28,2	/	0,160	/
1,4 Diossano	88,11	/	15,00	/	/
$(NNO)[Ru(CO)(PPh_3)_2(E)]$	822,87	24,8	/	0,030	17,65

Tabella 3. Resa del complesso $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)}$

Un pallone a due colli da 100mL dotato di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio silconico. Il precursore di rutenio(II) "I" e la base di Schiff "E" vengono introdotti nel pallone e disciolti in 15mL di 1,4 diossano e sotto atmosfera inerte (Ar). Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. La reazione viene monitorata effettuando degli IR in soluzione, dopo minuti si osserva la scomparsa della banda carbonilica caratteristica a 1941 cm⁻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 $k^3\text{-(N,N,O)[Ru(CO)(PPh}_3)_2\text{(E)]}$ viene caratterizzato con:

IR (cm⁻¹): 3363 m (N-H), 3056 m (C-H), 1921 m (CO), 1563 m (C-C=N), 1433 s (P-CPh), 1294 m (C-OH), 1263 m (C-N), 1092 s (C-H nel piano).

¹H NMR (400 MHz, cdcl₃) 7,71–7,16 (m 30H, PPh₃), 7.07 (s, 1H), 6.39 (t, 1H), 6.29 (d, H), 6.11 (dd, 3H), 6.09 (dd, 1H), 5.98 (m, 1H), 5.80 (t, 1H), 5.65 (dd, 1H).

¹³C{¹H} NMR (151 MHz, CDCl₃,) δ (ppm): 260.45 (bs, Ru-CO), 169,42 (s), 143.93 (s), 141.66 (s), 140.94 (s), 136.23 (s), 126.69 (s), 119.64 (s), 116.42 (s), 113.92 (s), 112.54 (s), 111.83 (s).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 30.53 (d, $2J_{P-H} = 21,2$ Hz, PPh₃, 2P).

ESI-MS⁺ (CH₃CN; m/z): 839 [M+H]⁺.

UV-VIS: λ₁= 258 nm (ε₁=29789); λ₂= 368 nm (ε₂=14989); λ₃= 523 nm (ε₃=8594).

4.3.3 k^2 -(N,N)[Ru(CO)(PPh₃)₂(E)]

	Massa Molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	n (mMol)	Resa%
[(PPh ₃) ₃ Ru(CO)(H) ₂]	917,97	150,1	/	0,160	/
Base di Schiff «E»	186,21	28,2	/	0,160	/
1,4 Diossano	88,11	/	15,00	/	/
(NN)[RuH(CO)(PPh ₃) ₂ (E)]	839,88	17,6	/	0,021	12,35

Tabella 4. Resa del complesso k^2 -(NN)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)]

Il complesso giallo intenso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(E)] viene caratterizzato con:

IR (cm⁻¹): 3363 m (N-H), 3056 m (C-H), 1921 m (CO), 1563 m (C-C=N), 1433 s (P-Cph), 1294 m (C-OH), 1263 m (C-N), 1092 s (C-H nel piano).

¹H NMR (600 MHz, cdCl₃) δ 7.39 (s, 1H), 7.30 (t, *J* = 7.3 Hz, 7H), 7.21 (t, *J* = 7.6 Hz, 13H), 7.19 – 7.13 (m, 13H), 7.60 - 7.30 (m, 30H), 7.09 – 7.02 (m, 2H), 6.93 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.62 – 6.55 (m, 2H), 6.28 (s, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.85 – 5.81 (m, 1H), 5.77 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H), -11.68 (t, *J* = 22.1 Hz, 1H).

¹³C{¹H} NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 260.45 (bs, Ru-CO), 169.42 (s), 143.93 (s), 141.66 (s), 140.94 (s), 136.23 (s), 126.69 (s), 119.64 (s), 116.42 (s), 113.92 (s), 112.54 (s), 111.83 (s).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 42.98-42.93 (d, 2*JP-H* = 21,2 Hz, PPh₃, 2P).

ESI-MS+ (CH₃CN; m/z): 841 [M-H]⁺.

4.4 Preparazione della base di Schiff "F"

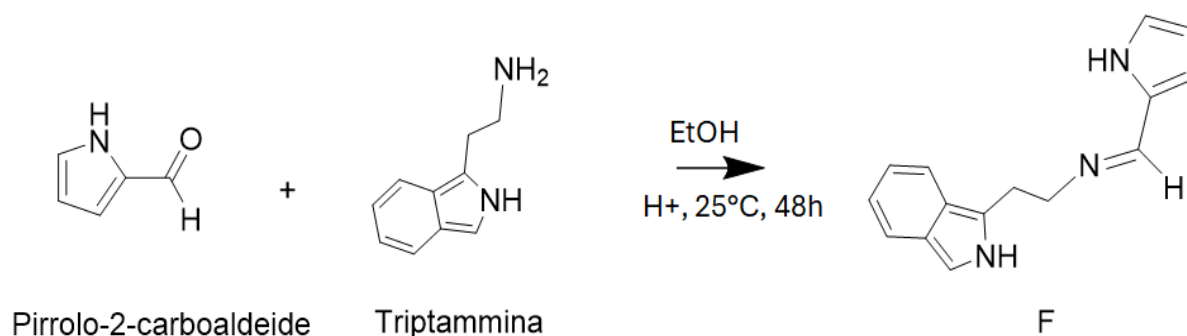


Figura 76. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff "F"

La base di Schiff è stata preparata in un pallone da 150mL per reazione tra 16mmol di pirrolo-2-aldeide e 16mmol di triptamina in 10mL di etanolo per 48 ore a temperatura ambiente¹⁶.

Dopo le 48 ore, la miscela di reazione è stata tirata a secco tramite rotavapor. Il solido viene ridisciolto in 5mL di DCM e posto all'interno di un imbuto separatore. Nell'imbuto vengono aggiunti 20mL di acqua distillata e a seguito di forte agitazione è stata separata la fase acquosa da quella organica (procedimento ripetuto per 3 volte).

La frazione di interesse è quella in DCM, alla quale è stata aggiunta una spatolata abbondante di un sale anidro quale NaSO₄ per rimuovere le tracce di acqua rimaste.

Dopo aver filtrato tutta la miscela per rimuovere il sale anidro, la frazione è stata sottoposta ad essiccamento tramite rotavapor e viene caratterizzata con:

IR (cm⁻¹): 3453-3410 m (N-H), 1642 s (C=C=N), 1457 m (C=C-C), 1417 m (C=C-C), 1333 m (C=C-C), 1092 s (C-H nel piano), 1007 s (C-H nel piano), 815 s (C-H nel piano).

¹H NMR (400 MHz, cdcl₃) δ 7.96 (s, 2H), 7.62 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.21 – 7.14 (m, 1H), 7.11 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.41 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 6.21 (s, 1H), 3.83 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.08 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H).

4.4.1 Sintesi del complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)]

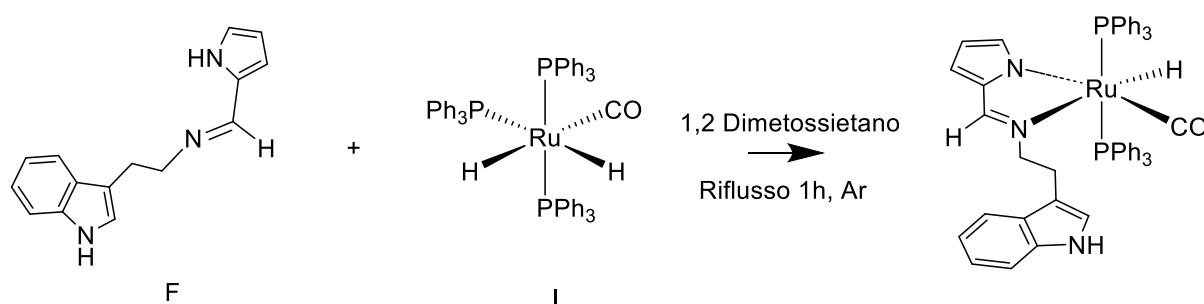


Figura 77. Sintesi di k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)]

	Massa Molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	n (mMol)	Resa%
[(PPh₃)₃Ru(CO)(H₂)]	917,97	184,0	/	0,200	/
Base di Schiff «F»	237,71	47,5	/	0,200	/
1,2 Dimetossietano	90,12	/	15,00	/	/
(NN)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)]	919,02	21,2	/	0,023	12

Tabella 5. Resa del complesso k^2 -(NN)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)]

Uno Shlenk a due colli da 100mL dotato di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio siliconico. Il precursore di rutenio(II) “I” e la base di Schiff “F” vengono introdotti nel pallone e disciolti in 15mL di 1,2 Dimetossietano e sotto atmosfera inerte (Ar) . Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. La reazione viene monitorata effettuando degli IR in soluzione, dopo circa 1 ora si osserva la scomparsa della banda carbonilica caratteristica a 1941 cm⁻¹.

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela sottovuoto.

Il solido viene disciolto in 1mL di DCM e fatto precipitare con 30mL di etere di petrolio freddo (4°C); vengono effettuati poi 3 lavaggi con etere di petrolio freddo.

Il solido marroncino risultante è stato sottoposto a separazione tramite colonna cromatografica utilizzando come fase stazionaria gel di silice e come eluente una miscela di DCM/Etere di petrolio 1:1. Così facendo si raccoglie un componente giallo intenso.

Il prodotto viene tirato a secco e pesato.

Il complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(F)] viene caratterizzato con:

IR (cm⁻¹): 3417 m (N-H), 3073 m (C-H), 1913 m (CO), 1594 m (C-C=N), 1433 s (P-Cph), 1090 s (C-H nel piano), 742, 696, 510.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (s, 1H), 7.46 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.20 (ddd, *J* = 8.1, 6.9, 1.2 Hz, 1H), 7.60 - 7.30 (m, 30H), 7.12 (ddd, *J* = 8.0, 6.9, 1.0 Hz, 1H), 6.69 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.39 (dd, *J* = 3.5, 1.4 Hz, 1H), 5.91 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 5.71 (dd, *J* = 3.5, 1.7 Hz, 1H), 3.38 - 3.32 (m, 2H), 2.81 - 2.74 (m, 1H), 2.38 - 2.32 (m, 2H), 1.98 - 1.92 (m, 1H), -10.71 (td, *J* = 21.8, 1H).

¹³C{¹H} NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 155.70 (s), 141.49 (s), 138.46 (s), 136.22 (s), 134.44 (s), 129.51 (s), 122.09 (s), 121.44 (s), 119.36 (s), 113.77 (s), 111.15 (s), 111.06 (s), 61.80 (s), 26.17 (s).

³¹P{¹H} NMR (243 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 46.59-46.58 (d, ²*J*_{P-H} = 21,2 Hz, PPh₃, 2P).

ESI-MS+ (CH₃CN; m/z, %): 890 [M+H]⁺.

UV-VIS: λ₁ = 261 nm (ε₁ = 16224); λ₂ = 341 nm (ε₂ = 11056).

4.5 Preparazione della base di Schiff “G”

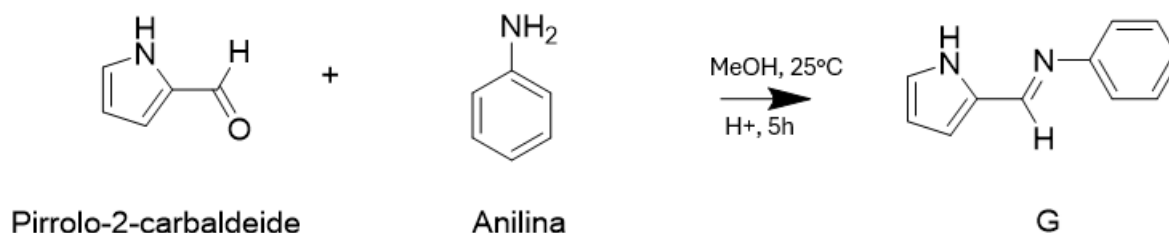


Figura 78. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff “G”

La base di Schiff “G”, è stata sintetizzata in un pallone da 150mL a partire da 15mmol di pirrolo-2-carbaldeide e 15mmol di anilina. in 15mL di metanolo per 5 ore a temperatura ambiente (l’aggiunta del secondo reagente, viene eseguito gradualmente goccia a goccia alla soluzione di pirrolo). In seguito, sono state aggiunte 2 gocce di acido formico¹⁴.

Al termine delle 5 ore, la miscela viene filtrata e tirata a secco tramite rotavapor²⁶. Il solido viene poi sottoposta a colonna cromatografica utilizzando gel di silice come fase stazionaria e DCM come eluente. La frazione viene tirata a secco tramite rotavapor e caratterizzata con:

IR (cm⁻¹): 3222 m (N–H), 1615 s (C–C=N), 1582 s (C–C=N), 1415 m (C–C=C), 1333 m (C=C–C), 1126 s (C–H nel piano), 1032 s (C–H nel piano).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.26 (s, 2H), 7.37 (dd, *J* = 8.9, 6.8 Hz, 4H), 7.20 (t, 1H), 7.20 – 7.15 (m, 5H), 6.98 (s, 1H), 6.68 (dd, *J* = 3.6, 1.4 Hz, 4H), 6.31 (dd, *J* = 3.6, 2.6 Hz, 4H).

4.5.1 Sintesi del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$

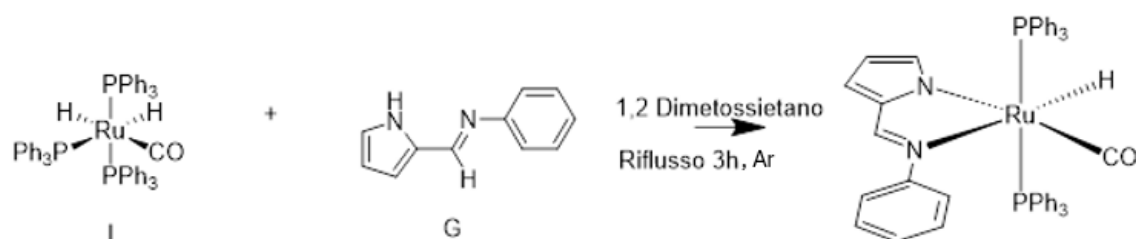


Figura 79. Sintesi di $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$

	Massa Molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	n (mMol)	Resa%
$[(PPh_3)_3Ru(CO)(H_2)]$	917,97	138,1	/	0,150	/
Base di Schiff «G»	170,22	26,00	/	0,150	/
1,2 Dimetossietano	90,12	/	15,00	/	/
$(NN)[RuH(CO)(PPh_3)_2(G)]$	823,88	27,01	/	0,032	21,13

Tabella 6. Resa del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(G)]}$

Uno Shlenk a due colli da 100mL dotato di ancorotta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio silconico. Il precursore di rutenio(II) “I” e la base di Schiff “G” vengono introdotti nel pallone e disciolti in 15mL di 1,2 dimetossietano e sotto atmosfera inerte (Ar). Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. La reazione viene monitorata effettuando degli IR in soluzione, dopo circa 1 ora si osserva la scomparsa della banda carbonilica caratteristica a 1941 cm^{-1} .

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela sottovuoto.

Il solido viene disciolto in 1mL di DCM e fatto precipitare con 30mL di etere di petrolio freddo (4°C); vengono effettuati poi 3 lavaggi con etere di petrolio freddo.

Il solido nero-giallastro risultante è stato sottoposto a separazione tramite colonna cromatografica utilizzando come fase stazionaria gel di silice e come eluente una miscela di DCM: etere di petrolio 1:1. Così facendo si raccoglie un componente giallo intenso.

Il prodotto viene tirato a secco e pesato.

Il complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(G)] viene caratterizzato con:

IR (cm⁻¹): 2960 m (C-H), 1911 m (CO), 1565 m (C-C=N), 1478-1432 s (P-Cph), 1259 (C=C), 1086 m (C-CH), 1010 s (C-H nel piano), 800, 733, 694, 597, 512.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.24 (s, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.04 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.60 (dd, *J* = 7.5, 1.7 Hz, 2H), 6.38 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 6.21 (s, 1H), 5.76 (dd, *J* = 3.7, 1.6 Hz, 1H), -11.35 (t, *J* = 21.0 Hz, 1H).

¹³C {¹H} NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 153.11 (s), 142.85 (s), 140.51 (s), 128.70 (s), 128.44 (s), 124.16 (s), 123.01 (s), 117.78 (s), 113.15 (s).

UV-VIS: λ₁ = 261 nm (ε₁ = 18120); λ₂ = 406 nm (ε₂ = 5240).

4.6 Preparazione della base di Schiff “H”

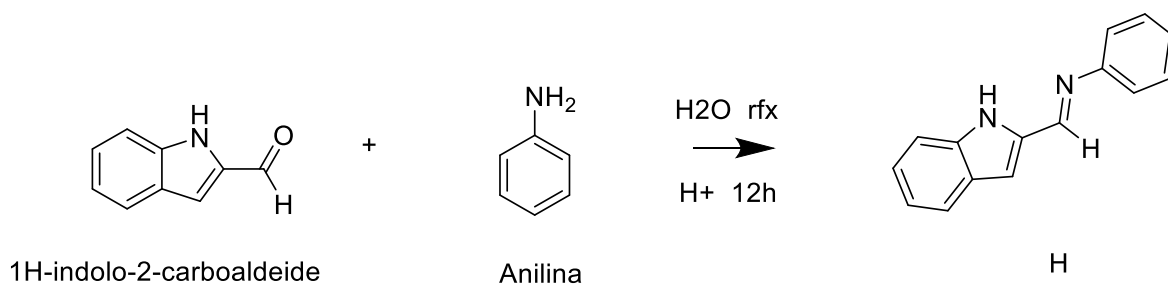


Figura 80. Sintesi e caratterizzazione della base di Schiff “H”

La base di Schiff “H” è stata sintetizzata in un pallone da 150mL a partire da 20mmol 1H-indolo-2-carboaldeide e 20mmol di anilina. in 15mL di acqua distillata per 12 ore a riflusso (l’aggiunta del secondo reagente, viene eseguito gradualmente goccia a goccia alla soluzione di pirrolo).

Al termine delle 12 ore, la miscela viene fatta raffreddare ed è stata eseguita un estrazione liquido-liquido tramite imbuto separatore utilizzando 40mL di DCM come liquido estraente. Una volta eseguita l’ estrazione della frazione di DCM ricca del prodotto di interesse, la miscela viene filtrata e tirata a secco tramite rotavapor²⁶. Il solido arancione, viene poi sottoposto a ricristallizzazione con 1mL di etanolo e 20mL di esano freddo (4°C). In seguito si esegue separazione tramite colonna cromatografica utilizzando gel di silice come fase stazionaria e una miscela etil acetato: etere di petrolio 1:5 come eluente.

Una volta estratta la frazione e tirata a secco tramite rotavapor, il solido giallo intenso risultante viene caratterizzato con:

IR (cm⁻¹): 3371 m (N-H), 3166 m (NH), 1671 s (C-C=N), 1587 s (C-C=N), 1585m (C-C=N), 1449 m (C-C=C), 1334 m (C=C-C), 1186 s (C-H nel piano), 1123 s (C-H nel piano).

¹H NMR (400 MHz, cdcl₃) δ 9.33 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.45 – 7.33 (m, 3H), 7.31 – 7.23 (m, 4H), 7.13 (ddd, *J* = 8.0, 7.0, 1.0 Hz, 1H), 6.96 (dd, *J* = 1.9, 0.9 Hz, 1H).

4.6.1 Sintesi del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$

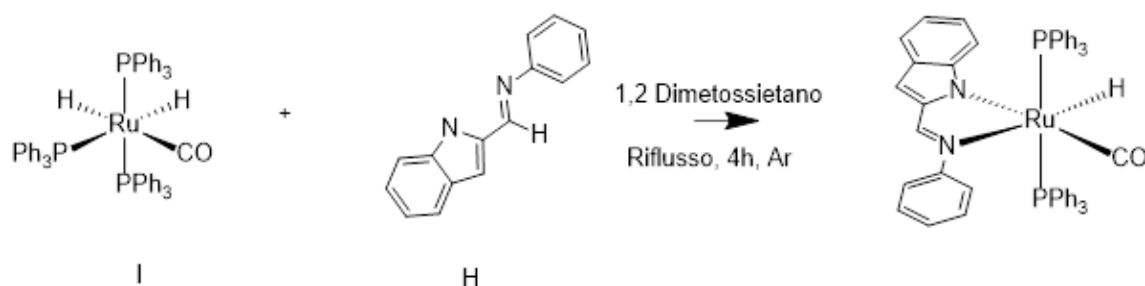


Figura 81. Sintesi di $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$

	Massa Molare (g/mol)	Massa (mg)	Volume (mL)	n (mMol)	Resa%
$[(PPh_3)_3Ru(CO)(H_2)]$	917,97	146,8	/	0,160	/
Base di Schiff «H»	220,74	33,1	/	0,160	/
1,2 Dimetossietano	90,12	/	15,00	/	/
$(NN)[RuH(CO)(PPh_3)_2(H)]$	873,94	22,5	/	0,026	16,10

Tabella 7. Resa del complesso $k^2\text{-(N,N)[RuH(CO)(PPh}_3)_2\text{(H)]}$

Uno Shlenk a due colli da 100mL dotato di ancoretta magnetica e refrigerante a bolle viene immerso in un bagno di olio siliconico. Il precursore di rutenio(II) “I” e la base di Schiff “H” vengono introdotti nel pallone e disciolti in 15mL di 1,2 dimetossietano e sotto atmosfera inerte (Ar). Scaldando con una piastra riscaldante la miscela di reazione viene portata a riflusso. La reazione viene monitorata effettuando degli IR, dopo circa 4 ore si osserva la scomparsa della banda carbonilica caratteristica a 1941 cm^{-1} .

Si lascia raffreddare fino a temperatura ambiente e si riduce il volume della miscela sottovuoto.

Il solido viene disciolto in 1mL di DCM e fatto precipitare con 30mL di esano; vengono effettuati poi 3 lavaggi con 10mL di esano ciascuno.

Il solido verdastro risultante è stato sottoposto a separazione tramite colonna cromatografica utilizzando come fase stazionaria gel di silice e come eluente una miscela di DCM : etere di petrolio 1:5. Così facendo si raccoglie un componente giallo intenso.

Il prodotto viene tirato a secco e pesato.

Il complesso k^2 -(N,N)[RuH(CO)(PPh₃)₂(H)] viene caratterizzato con:

IR (cm⁻¹): 3063 m (C-H), 2864 m (C-H), 1914 m (CO), 1564 m (C-C=N), 1432 s (P-Cph), 1116 m (C-H nel piano), 1089 s (C-H nel piano), 746, 697, 504.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.80 (q, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.30 – 7.29 (m, 1H), 7.24 – 7.21 (m, 1H), 7.19 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.60 - 7.30 (m, 30H), 7.06 (tt, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 2H), 6.69 (ddd, $J = 5.6, 2.7, 1.7$ Hz, 4H), 6.55 (ddd, $J = 7.9, 6.6, 1.0$ Hz, 1H), 6.46 (ddd, $J = 8.3, 6.6, 1.2$ Hz, 1H), -11.23 (td, $J = 21.3, 1.7$ Hz, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 156.36 (s), 151.49 (s), 145.62 (s), 136.20 (s), 133.06 (s), 132.89 (s), 128.09 (s), 127.65 (s), 127.51 (d, $J = 5.5$ Hz), 124.39 (s), 122.04 (s), 120.05 (s), 117.35 (s), 115.91 (s), 108.44 (s).

³¹P NMR (243 MHz, CDCl₃) δ 43.88. (d, $2JP-H = 21,2$ Hz, PPh₃, 2P).

UV-VIS: $\lambda_1 = 259$ nm ($\epsilon_1 = 24260$); $\lambda_2 = 417$ nm ($\epsilon_2 = 14300$).

5. CONCLUSIONE E PROSPETTIVE FUTURE

Ogni reazione ha portato alla formazione di complessi con geometria ottaedrica, in cui i leganti stabiliscono legami con il rutenio attraverso eteroatomi quali N; O ed attraverso il loro gruppo azometinico C=N, un tipo di legame cruciale per la stabilità e reattività del complesso.

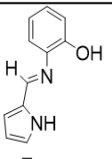
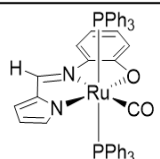
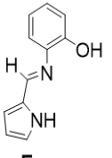
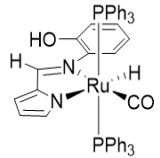
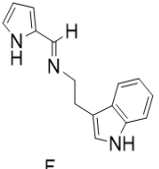
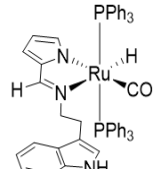
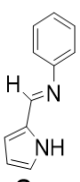
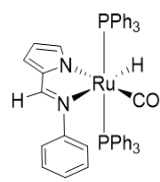
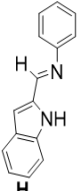
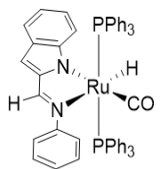
Un aspetto fondamentale del lavoro è stata la caratterizzazione dei prodotti ottenuti tramite tecniche spettroscopiche, tra cui:

- *Spettroscopia IR*: utilizzata per identificare i gruppi funzionali e la coordinazione del legante con il metallo. Gli spettri hanno mostrato picchi caratteristici per i legami Ru-CO e per i gruppi azometinici.
- *Spettroscopia NMR*: ha permesso di determinare la struttura dei complessi sintetizzati, identificando protoni, carboni e fosfine all'interno delle molecole. La tecnica 2D-HSQC ha fornito dettagli sulle interazioni tra protoni e carboni, confermando la coordinazione dei leganti al centro metallico.
- *Spettrometria di massa ESI-MS*: la massa dello ione molecolare e dei frammenti ricavata dagli spettri ha permesso di determinare la composizione elementare e confermare le strutture ipotizzate.

La stabilità dei complessi è stata testata in soluzioni tampone PBS (pH = 7,4 a 37°C) simulando l'ambiente fisiologico. I complessi di rutenio sintetizzati, hanno mostrato una stabilità significativa, essenziale per un eventuale utilizzo in ambito biologico.

I risultati ottenuti rappresentano un'importante base per lo sviluppo di nuovi agenti terapeutici. I complessi di rutenio mostrano un alto potenziale grazie alla loro stabilità e capacità di coordinazione con leganti biocompatibili. La modulazione dei leganti attraverso basi di Schiff contenenti pirrolo potrebbe influenzare positivamente le proprietà dei complessi. Il passo successivo suggerito è condurre studi preclinici per valutare l'attività biologica dei complessi *in vitro* e *in vivo*. In particolare, il loro potenziale come agenti antitumorali merita ulteriori esplorazioni, testando interazioni con il DNA o induzioni dell'apoptosi nelle cellule cancerose. In sintesi, questa ricerca ha contribuito a creare una base solida per lo sviluppo di nuovi complessi di rutenio con applicazioni nel campo della farmacologia, aprendo la strada ad ulteriori studi per ottimizzare le loro proprietà e verificarne l'efficacia in contesti clinici.

Tabella 8. Sintesi effettuate

Legante	Solvente	T(°C)	t (h)	Prodotto	Resa %
 <p>E</p>	1,4 Diossano	101	24		17,65
 <p>E</p>	1,4 Diossano	101	1		12,35
 <p>F</p>	1,2 DME	85	3		12,00
 <p>G</p>	1,2 DME	85	12		21,13
 <p>H</p>	1,2 DME	85	4		16,10

BIBLIOGRAFIA

- (1) Singh, A.; Barman, P. *Recent Advances in Schiff Base Ruthenium Metal Complexes: Synthesis and Applications*. *Top Curr Chem (Z)* 2021, 379 (4), 29.
- (2) Thangadurai, T. D.; Ihm, S.-K. *Novel Bidentate Ruthenium(III) Schiff Base Complexes: Synthetic, Spectral, Electrochemical, Catalytic and Antimicrobial Studies*. *Transition Metal Chemistry* 2004, 29 (2), 189–195.
- (3) Zahirović, A.; Fetahović, S.; Feizi-Dehnyebi, M.; Višnjevac, A.; Bešta-Gajević, R.; Kozarić, A.; Martić, L.; Topčagić, A.; Roca, S. *Dual Antimicrobial-Anticancer Potential, Hydrolysis, and DNA/BSA Binding Affinity of a Novel Water-Soluble Ruthenium-Arene Ethylenediamine Schiff Base (RAES) Organometallic*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2024, 318, 124528.
- (4) Orvig, C.; Abrams, M. J. *Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction*. *Chem. Rev.* 1999, 99 (9), 2201–2204.
- (5) 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.
- (6) Malik, M. A.; Raza, M. K.; Dar, O. A.; Amadudin; Abid, M.; Wani, M. Y.; Al-Bogami, A. S.; Hashmi, A. A. *Probing the Antibacterial and Anticancer Potential of Tryptamine Based Mixed Ligand Schiff Base Ruthenium(III) Complexes*. *Bioorganic Chemistry* 2019, 87, 773–782.
- (7) Huang, H.; Zhang, P.; Yu, B.; Chen, Y.; Wang, J.; Ji, L.; Chao, H. *Targeting Nucleus DNA with a Cyclometalated Dipyrrophenazineruthenium(II) Complex*. *J Med Chem* 2014, 57 (21), 8971–8983.
- (8) Kelland, L. *The Resurgence of Platinum-Based Cancer Chemotherapy*. *Nat Rev Cancer* 2007, 7 (8), 573–584.

- (9) Li, F.; Collins, J. G.; Keene, F. R. *Ruthenium Complexes as Antimicrobial Agents*. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44 (8), 2529–2542.
- (10) Clarke, M. J. *Ruthenium Metallopharmaceuticals*. *Coordination Chemistry Reviews* 2003.
- (11) Pizarro, A. M.; Sadler, P. J. *Unusual DNA Binding Modes for Metal Anticancer Complexes*. *Biochimie* 2009, 91 (10), 1198–1211.
- (12) Bratsos, I.; Jedner, S.; Gianferrara, T.; Alessio, E. *Ruthenium Anticancer Compounds: Challenges and Expectations*. *CHIMIA* 2007, 61 (11), 692–692.
- (13) Ivan, B.-C.; Dumitrascu, F.; Anghel, A. I.; Ancuceanu, R. V.; Shova, S.; Dumitrescu, D.; Draghici, C.; Olaru, O. T.; Nitulescu, G. M.; Dinu, M.; Barbuceanu, S.-F. *Synthesis and Toxicity Evaluation of New Pyrroles Obtained by the Reaction of Activated Alkynes with 1-Methyl-3-(Cyanomethyl)Benzimidazolium Bromide*. *Molecules* 2021, 26 (21), 6435.
- (14) Guo, W.; Zheng, W.; Luo, Q.; Li, X.; Zhao, Y.; Xiong, S.; Wang, F. *Transferrin Serves as a Mediator to Deliver Organometallic Ruthenium(II) Anticancer Complexes into Cells*. *Inorg Chem* 2013, 52 (9), 5328–5338.
- (15) Chamberlain, S.; Cole, H. D.; Roque, J.; Bellnier, D.; McFarland, S. A.; Shafirstein, G. *TLD1433-Mediated Photodynamic Therapy with an Optical Surface Applicator in the Treatment of Lung Cancer Cells In Vitro*. *Pharmaceuticals (Basel)* 2020, 13 (7), 137.
- (16) Wan, M.; Ding, L.; Wang, D.; Han, J.; Gao, P. *Serotonin: A Potent Immune Cell Modulator in Autoimmune Diseases*. *Front Immunol* 2020, 11, 186.

- (17) Aragón-Muriel, A.; Reyes-Márquez, V.; Cañavera-Buevas, F.; Parra-Unda, J. R.; Cuení-Cabezas, F.; Polo-Cerón, D.; Colorado-Peralta, R.; Suárez-Moreno, G. V.; Aguilar-Castillo, B. A.; Morales-Morales, D. *Pincer Complexes Derived from Tridentate Schiff Bases for Their Use as Antimicrobial Metallopharmaceuticals. Inorganics* 2022, 10 (9), 134.
- (18) 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
- (19) Chen J, Wang J, Deng Y, Wang T, Miao T, Li C, Cai X, Liu Y, Henri J, Chen L. *Ru(II) Complexes Bearing O, O-Chelated Ligands Induced Apoptosis in A549 Cells through the Mitochondrial Apoptotic Pathway. Bioinorg Chem Appl.* 2020 Aug 17;2020:8890950. doi: 10.1155/2020/8890950. PMID: 32879623; PMCID: PMC7448123..
- (20) Fèvre, C. G. L.; Fèvre, R. J. W. L. 402. *The Dipole Moments of Cyclohexa-1 : 4-Dione, Cyclopentadiene-Benzoquinone, Benzoquinone, Carbon Suboxide, and Carbonyl Chloride. J. Chem. Soc.* 1935, No. 0, 1696–1701.
- (21) Kottalanka, R. K.; Pagadala, E.; Loke, S. K.; Rajkumar, S. R. J.; Srinivasadesikan, V.; Ramchandran, B. *Biological Evolution of Titanium(IV) Complex [{(NNO)2Ti}3O3] Bearing Bidentate Heteroditopic Schiff Base Ligand: Synthesis, Structure and Biological Studies. ajc* 2020, 32 (2), 441–450.
- (22) Heffeter, P.; Böck, K.; Atil, B.; Reza Hoda, M. A.; Körner, W.; Bartel, C.; Jungwirth, U.; Keppler, B. K.; Micksche, M.; Berger, W.; Koellensperger, G. *Intracellular Protein Binding Patterns of the Anticancer Ruthenium Drugs KP1019 and KP1339. J Biol Inorg Chem* 2010, 15 (5), 737–748.
- (23) Cozzi, P. G. *Metal–Salen Schiff Base Complexes in Catalysis: Practical Aspects. Chem. Soc. Rev.* 2004, 33 (7), 410–421.

- (24) Bhardwaj V, Gumber D, Dhiman S, Sharma P. Pyrrole: A Resourceful Small Molecule in Key Medicinal Hetero-Aromatics. Vol 5.; 2015:15233-15266.
- (25) 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.
- (26) Crestani MG, Manbeck GF, Brennessel WW, McCormick TM, Eisenberg R. Synthesis and characterization of neutral luminescent diphosphine pyrrole- and indole-alimine copper(I) complexes. *Inorg Chem.* 2011 Aug 1;50(15):7172-88. doi: 10.1021/ic2007588. Epub 2011 Jun 29. PMID: 21714488.