



Euskal Herriko Unibertsitatea/Universidad del País Vasco

Kimika Zientzien Fakultatea/ Facultad de Ciencias Químicas

KIMIKAKO GRADUA

GRADU AMAIERAKO LANA

1-10-fenantrolina eta metal biobateragarriez osaturiko koordinazio konposatuen diseinu, sintesi, karakterizazio eta funtsezko ezaugarri fisikokimikoen ikerketa.

EGILEA: Olaia Zabaleta Lasarte

ZUZENDARIAK: Eider San Sebastian Larzabal

Aizpea Zubia Olaskoaga



INDIZEA

LABURDURAK	5
1-SARRERA	9
1.1-Proiektuaren helburua.....	12
1.2-Ligando eta gatzen aukeraketa PAKK berrien sintesirako	13
2-MATERIALAK ETA METODOAK.....	15
2.1-PAKK- en sintesia.....	15
3-PAKK-en KARAKTERIZAZIOA	16
3.1-Erresonantzia magnetiko nuklearra : ^1H -RMN eta ^{15}N -RMN	16
3.2-Analisi elementala.....	17
3.3-Konduktibitatea	17
3.4- Disolbatzaileak	17
3.5-Disolbagarritasun eta disolbagarritasun efektiboaren kalkulua.....	17
3.6-Banaketa koefizientearen kalkulua.....	18
4-EMAITZAK ETA EZTABAIDA.....	19
4.1-PAKK- en SINTESIA	19
4.2-PAKK-en karakterizazioa.....	20
4.3- Kalibrazio zuzena eta disolbagarritasunaren neurketa: Ur ingurune neutroa.....	25
4.4- Banaketa koefizientearen logaritmoaren neurketa: Ur ingurune neutroa	27
4.5- Kalibrazio zuzenaren eta banaketa koefizientearen neurketa: Ur ingurune azidoa.....	28
5-ONDORIOAK.....	33
6-BIBLIOGRAFIA	37
ERANSKINAK.....	39



LABURDURAK

PA: Printzipio Aktiboa

S : Disolbagarritasuna

S_{eff} : Disolbagarritasun efektiboa

P : Banaketa Koefizientea

PAKK: Printzipio Aktiboen Koordinazio Konposatua

PAMS: Printzipio Aktibo baten gatz Metaliko Sinplea

UM-Ikus: Ultramore ikuskorra

Phen: 1-10-Fenantrolina

R²: Determinazio koefizientea

Elek: Elektrolitoa

P.M: Pisu Molekularra



Laburpena

Hemen aurkezten den ikerketa proiektua Donostiako Kimika fakultateko Kimika Ezorganikoa departamenduan egin da Eider San Sebastian eta Aizpea Zubia Olaskoaga doktoreen gidaritzapean. Proiektuaren helburua printzipio aktiboen ezaugarriak hobetuko dituen estrategia bat diseinatu eta honen erabilgarritasuna baieztatzea izango da. Dokumentu honetan, printzipio aktibo ezagun eta metal biobateragarriez osaturiko koordinazio konposatuen diseinu, sintesi, karakterizazio eta ezaugarri fisikokimiko garrantzitsuen neurketa laburtzen da. Bestalde, aipaturiko ezaugarrien balioak, jatorrizko printzipio aktiboaren ezaugarri berdinekin alderatuko da.

Summary

This project has been made in the Inorganic Chemistry department of the Chemistry Faculty of Donostia under the supervision of Drs. Eider San Sebastian Larzabal and Aizpea Zubia Olaskoaga. The main goal of the project is the design of a strategy that improves the solubility and permeability of known active principles, as well as to prove its value for that purpose. With this goal, the present manuscript summarizes the synthesis, characterization and measurement of physicochemical properties of coordination compounds based on typical drug scaffolds and biocompatible metals, as well as a comparison of the mentioned properties with respect to the parent free active principle.



1-SARRERA

Hiru dira, nagusiki, garapenean dauden farmakoen ez merkaturatzearen erantzuleak, esate baterako, parametro farmakozinetiko ezegokiak (%39), aktibitate terapeutiko eza gizakiongan (%30) eta toxikotasun altua^[1]. Ondorioz, farmakologia arloko ikerketak ez daude soilik aktibitate terapeutiko altua duten farmakoen aurkikuntzan zentratuta, ezagunak diren printzipio aktiboen propietate farmakozinetikoen hobekuntza ekarriko duten jakintza eta erreminta berrien aurkikuntza ere dute helburu.

Farmakozinetika farmakologiaren adar bat da, farmako edo printzipio aktibo (PA) batek organismoan jasaten dituen prozesu eta aldaketak aztertzen dituena. Farmakozinetikan garrantzi handia duen parametroa farmakoaren biodistribuzioa da, hau da, hartutako farmakoaren zein portzentai iristen den zirkulazio sistemara inongo aldaketarik jasan gabe eta zein abiadurarekin. Oralki hartu eta gure organismora garraiatzen den farmako baten biodistribuzioa ona dela kontsideratzeko honek izan behar dituen ezaugarri nagusiak ur disolbagarritasun ona eta iragazkortasuna dira, ingurune hidrofilo edo polarretan disolbatzeko (heste-traktua) gai eta, aldi berean, helburu duen organora iristeko ingurune hidrofoboak (hesteetako zelulen mintzak) zeharkatzeko gai izan behar du. Beraz, PAek eduki behar dituzten propietate kimiko garrantzitsuenak elkarren aurkakoak dira, eta ondorioz, oso zaila da PA bat lortzea, non, disolbagarritasun eta iragazkortasun ezaugarriak aproposak diren. Izatez, gaur egun, soilik farmakoen %8 dauzkate disolbagarritasun eta iragazkortasun altua^[2,3] eta honengatik da biodistribuzio ezaren portzentajea hain handia. Azken finean, biodistribuzio ezaren arrazoi nagusiak hauek dira: i)



Disolbagarritasun (S) baxua edota ur ingurunean disolbatzeko abiadura motela eta ii) mintza biologikoak zeharkatzeko iragazkortasun (P) baxua. Disolbagarritasuna, farmako batek disolbatzaile baten bolumen jakin batean disolbatzeko daukan gaitasuna bezala eta iragazkortasuna, organismoko mintz lipidikoak zeharkatzeko farmakoak daukan gaitasun bezala definitzen dira.

Orain arte, hainbat estrategia kimiko eta fisiko garatu dira farmakoen disolbagarritasuna hobetzeko, horien artean; partikularen tamaina txikitu, polimorfoen eraketa, agente konplexatzaileen erabilera, agente surfaktanteen erabilera^[4], edo PA-en formulazioa gatz organiko (azetatoak, silikatoak, etab.) edota inorganiko bezala (sodio gatzak, potasio gatzak, kloruro gatzak, nitrato gatzak, etab.). Adibideak, penizilina, ephedrine edo blonanserina^[5] dira. PA-k gatz simple bezala eratuz disolbagarritasuna asko handitzen den arren, iragazkortasunean negatiboki eragiten du.

Proiektu honetan, PA baten bai disolbagarritasuna eta bai iragazkortasuna aldi berean hobetzeko estrategia berri batean sakondu nahi da^[6]. Horretarako, PA ezagun eta metal biobateragarriak erabiliz bi ezaugarri horiek eraldatuak izango dituzten koordinazio konposatuak eratuko dira (PAKK). Azken hauek, beraz, metal zentral bati PA baten kopia bat edo gehiago lotzen zaizkion konplexu molekularrak dira. Torricelli eta honen laguntzaileek^[7] PAKK konposatu ezberdinen azterketa egin ondoren, ikusi zuten hauen ezaugarri farmakozinetikoen hobekuntza ematen zela hauei zegokien PA gatz metaliko sinpleekin (PAMS) edo jatorrizko PA alderatuz gero. Aldi berean, Jakupec eta laguntzaileek^[8] Galio KP46 konplexua deskribatu zuten. Konplexu honek biobateragarritasun eta aktibitate terapeutiko hobeagoa erakusten zuen honen Galio gatzekin alderatuz gero. Bestalde, ikusi zuten gabapentina farmako neuroleptikoarekin PAKK-k eratzuz gero,



Zn^{2+} eta Cu^{2+} katioiekin, honen propietate fisiko-kimikoak eta farmakozinetikoak hobetu egiten zirela^[9].

KOORDINAZIO KIMIKA

PA baten gatz simple eta koordinazio konplexu baten arteko ezberdintasun nagusia molekula organiko eta metalaren artean dagoen lortura mota da. Esaterako, PA baten gatz metaliko batean, molekula organiko eta metalaren arteko loturak indar elektrostatiko eta ionikoetan oinarritzen dira; koordinazio konplexu batean, aldiz, d orbitalen parte hartzearen ondorioz, lotura ioniko-kobalentea izango da. PA metalera koordinatzen denean lehendabiziko honen dipoloa handitu egiten da uretan disolbatzeko gaitasunarekin batera. Bestalde, lehen aipatu bezala, PAKK horren sintesiak mintz lipidikoetan zehar iragazteko gaitasuna hobetuko duela espero da, furosemide kasuan deskribatu den bezala^[7].

Koordinazio konposatu berriak sortzeko erraztasuna dauka alderdi positibo bezala koordinazio kimikak. Sintesiak simple eta errazak dira, baldintza bakarra metalekin lotzeko gai den PA bat izatea. Farmakoei askotan gehitzen zaizkien talde funtzionalen analisi simple batek adierazi zuen PAen %80-a, zeinak metalarekin lotzeko gaitasuna daukaten talde funtzionalak dauzkaten, PAKK eratzeko gaitasuna daukatela^[1].

Koordinazio konplexu ezberdinak, adibidez, PAen gatz metalikoak eta nanopartikula metalikoak ikertuak edota komertzializatuak izan dira bai tratamenduen diagnostikorako baita gaixotasun ezberdinen tratamenduetarako^[11], esate baterako; MRI kontraste agenteak Gd(III), Mn(II) eta Fe(III) oinarrituak^[12], ^{99m}Tc , ^{201}Tl , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{51}Co , ^{51}Cr edo ^{169}Yb konposatuetan oinarrituriko radiofarmakoak^[13], Ag(I)^[14] eta Sb(V) agente antiparasitarioak^[15], Mn(II,III) eta Fe(II) oinarritutako koordinazio



konplexuak dismutasa superoxidoarekin erlazionatuta^[16], Cr(III) konposatuak intsulina errezeptorea den tyrosina kinasa proteina aktibatzeke^[17], Au(I) konplexuak artitisaren hobekuntzarako^[18], etab.

Zis-platinoa izan zen lehendabiziko aldiz komertzializatu zen koordinazio konplexua^[19]. Nahiz eta konposatu honen toxizitatea oso altua izan, zis-platinoa tratamendu onkologikoetan oso erabilia da. Denborarekin konposatu honen deribatuak sortzen joan dira, zeinak ez diren hain toxikoak eta propietate farmakologiko hobeka dituzten^[20].

Ondorioz, baieztatu daiteke metalen erabilera farmakologian zabaltzen ari dela eta metala behar bezala aukeratzen bada gizakiokin biobateragarria izateaz gain, farmakoen PA-en propietateetan eragin onuragarri nabarmena izan dezakeela.

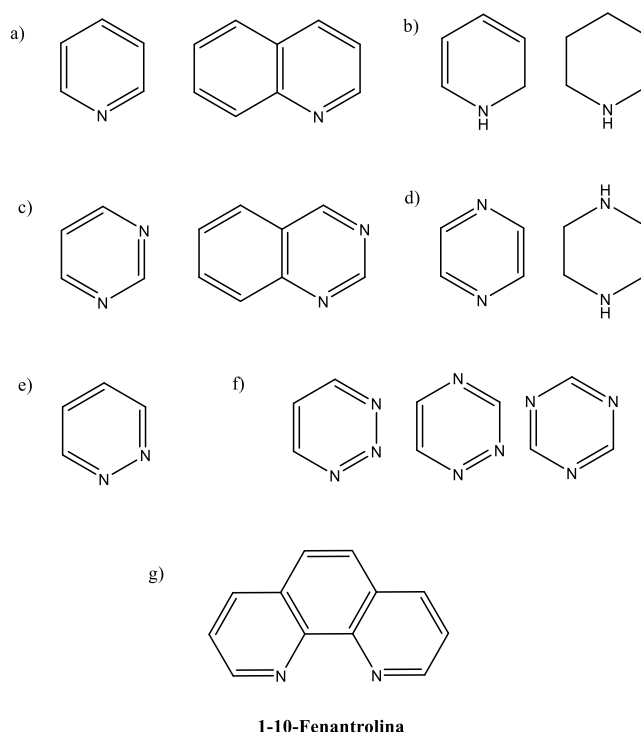
1.1-Proiektuaren helburua

Proiektu honen helburua metal eta PA osatutako PAKK disolbagarritasun eta iragazkortasuna aldi berean handitu edo bata handitu eta bestea mantendu ditzakeen estrategia berri eta unibertsal bat garatzea da. Horretarako, nitrogenodun eraztun aromatikodun PA-k duten ezaugarri nagusiak biltzen dituen eredu bat erabiliko da. Kasu honetan, 1-10-Fenantrolina.

Lan honetan, industria farmazeutikoan egin ohi den bezala, PA batek *in vivo* izango duen disolbagarritasun eta banaketa koefiziente ezaugarrien estimazio bat egingo da, horretarako diseinaturik dauden hainbat *in vitro* estrategia erabiliz. Zentzu honetan, UM-Ikuskor espektroskopia teknikak erabili ohi dira konposatuen disoluzio saturatuetatik abiatuz hauen disolbagarritasuna kalkulatzeko, eta baita ere banaketa koefizientea kalkulatzeko, ondoren *in vivo* izango duten disolbagarritasun eta iragazkortasunarekin erlazionatu daitekeena.

1.2-Ligando eta gatzen aukeraketa PARK berrien sintesirako

Zentzu honetan, N, O eta S heteroatomo elektro-emaileak dituzten sei karbonodun ziklo aromatikoaren barietate handi eta zabala erabiltzen dira PA bezala. N heteroatomoa duten PAen artean ondorengo hauek aurki ditzakegu (irudia 1 a-f): a) Piridina eta kinolinak b) Dihidropiridinak eta piperidinak c) Pirimidinak eta kinazolinak d) Pirazinak eta piperazinak e) Piridazinak eta perhidropiridazinak eta f) Triazinak eta poliazikloak



Irudia 1: Farmakologian PA bezala erabili ohi diren nitrogeno heteroatomoa duten egitura molekular aromatiko osaturiko konposatuak eta hauen eredu gisa jardungo duen ligandoa (1-10-Fenantrolina).

Egitura guzti hauen eredutzat 1-10-Fenantrolina ligandoa erabiltzea erabaki zen gainontzeko PA-ekin dauzkan antzekotasunen ondorioz. 1-10-fenantrolina egitura aromatikoa duen konposatu bat da, non, nitrogeno atomo elektronegatiboak dauzkan. Konposatu honi esker, nitrogenodun PA aromatikoek metal bati lotzean izango duten



jarrera aurrean ahal izango da, esate baterako, metal jakin bati jasan ditzaketen lotzean disolbagarritasun eta iragazkortasun aldaketak.

Metalen selekzioari dagokionez, izatez, edozein metal izan daiteke hautagai PA baten propietate fisiko-kimikoak hobetzeko, baina, proiektuaren helburua kontuan hartuz, komenigarriagoa da osasunerako segurua den metal bat aukeratzea. Horretarako, elikadura-gehigarrietan erabiltzen diren metalak aztertu dira eta PAKK moduan organismora gehituko litzakeen metalaren kontzentrazioaren arabera aukeratu dira, toxikoak izan ez daitezen. 1 taulak bere barruan 5 mg/dosia baino kontzentrazio handiagoan ahoratzen diren elikagai-gehigarrien 7 metalen lista biltzen du.

Taula 1: Elikagai gehigarri ezberdinak, hauen marka eta dosiko hartzen den metal kantitatea.

Konposatua	Marka	Metal dosia (mg)
Aluminio hidroxidoa	Maalox	400
Bismuto subsalizilatoa	Pepto-Bismol	525
Kaltzio karbonatoa	Caltrato	600
Fumarato ferrosoa	Ferretts	106
Manganeso transglizinato	Solgar	8
Magnesio hidroxidoa	Maalox	400
Burdin (III) hidroxidoa	Hemoval	100
Sodio metasilikatoa	One-a-day	6
Zink oxidoa	One-a-day	15

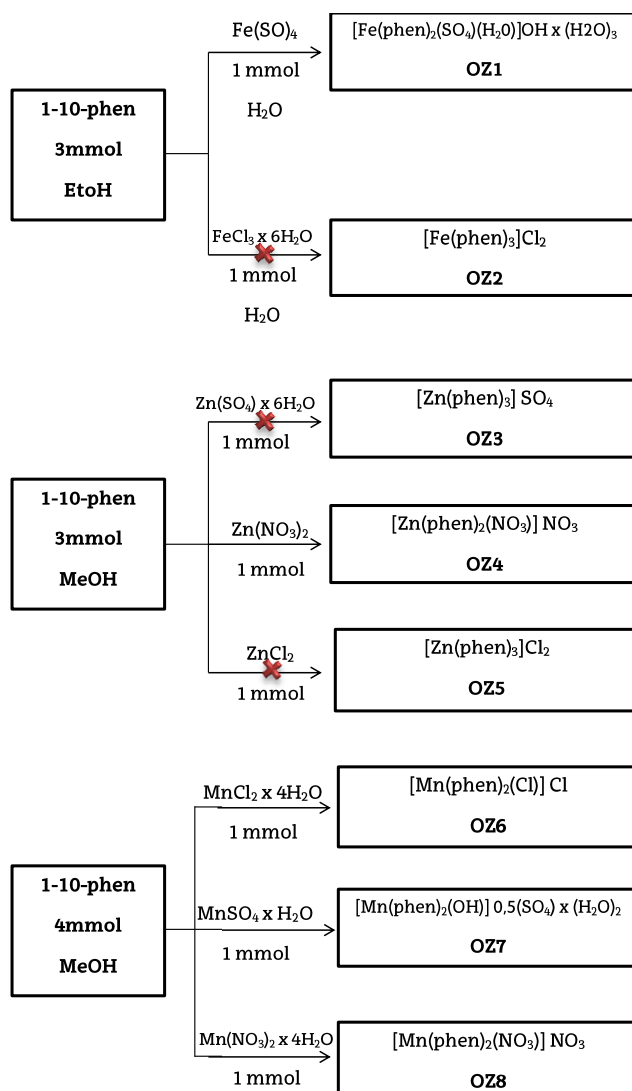
PAKK berrien ikerketa, zink (Zn^{2+}), burdin ($Fe^{2+/3+}$) eta manganesoarekin (Mn^{2+}) hasia erabaki da, hauen toxizitate eza eta koordinazio konplexuak sortzeko daukaten erraztasunaren ondorioz. Behin koordinazio konplexuen katioi zentrala izango den metala aukeratu ondoren, gatz metaliko egokien aukeraketa dator. Kloruroa, nitrato eta sulfato ioiak paper garrantzitsua betetzen dute prozesu

biologikoetan eta ondorioz, gatz metalikoetan dauden kontra ioi bezala aukeratu dira.

2-MATERIALAK ETA METODOAK

2.1-PAKK- en sintesia

Proiektuak zehar 8 PAKK ezberdin sintetizatu dira (1 eskema), denak ligando bezala 1-10-fenantrolina dutelarik.



Eskema 1: OZ1-OZ8 PAKK-k sintetizatzeko erabilitako prozedura sintetikoaren laburpena. ✗ Ikurrarekin adierazitako erreakzioak ez dira eman.



Erabilitako ligando-gatz metaliko mmol proportzioa OZ1-OZ5 konposatuetan 3:1 izan den bezala, OZ6-OZ8 konposatuetan 4:1 proportzioa mantendu da. Disolbatze eta nahaste prozesuari dagokionez, OZ3-OZ8 konposatuen kasuan, 1-10-fenantrolina metanolean disolbatu da eta behin disolbaturik, disoluzioa gatzari gehitu zaio. Aldi berean, OZ1 eta OZ2 kasuan gatza eta ligandoa disolbaturik daudela nahasten dira, gatza ur distilatuan disolbatuta dagoelarik eta ligandoa, aldiz, etanolean. Ondoren, disolbatzailea giro temperaturan lurruntzen utzi eta konposatuak hauspeatzean garbitu egiten dira, OZ4-OZ8 konposatuak dietil eterrean eta OZ1 eta OZ2 etanolean. Azkenik, konposatua errota-baporean lehortzen da hezetasuna eta disolbatzailea eliminatzeko. Kasu guztietan ligandoa disoluzioa eta gatz disoluzioa elkartu eta 5 minutuz irabiatzen eduki dira.

3-PAKK-en KARAKTERIZAZIOA

Sintesian lortutako konposatuak karakterizatzeko metodo ezberdinak erabili dira. Hainbat konposatuen kristalak lortu diren harren, ezin izan da X izpien bidezko difrakzioa erabili eta egitura zehatza lortu. Honen ondorioz, beste hainbat tekniken erabilera beharrezkoa izan da konposatuen konposizio zehatza ondorioztatzeko.

3.1-Erresonantzia magnetiko nuklearra : ^1H -RMN eta ^{15}N -RMN

^1H -RMN eta ^{15}N -RMN espektroak Bruker AVANCE H III 500 aparatu baten bidez lortu dira. Neurketa hauek egiteko erabili den konposatu kantitatea 1-3 mg artekoa izan da kasu guztietan. Disolbatzaileari dagokionez, ur deuteratua (D_2O) erabili da.



3.2-Analisi elementala

Karbono, hidrogeno, nitrogeno eta sulfurearen ehunekoaren portzentaiaren kalkulua Leco CHNS-932 mikroanalizatzaile baten bitartez kalkulatu dira.

3.3-Konduktibitatea

10^{-3} M kontzentrazioa duen PAKK-en konduktibitate neurketak konstantea $0,8 \text{ cm}^{-1}$ den Metrohm 00450920 zelula bat daukan Metrohm-Herisau 712 konduktimetroarekin neurtu dira giro tenperaturaren. Neurketa guztiak ur distilatuan egin dira.

3.4- Disolbatzaileak

- 1) *Ur distilatua* ($\text{pH} = 7 \pm 0,2$): Ur distilatuari NaOH gehituz $\text{pH}=7$ -ra eramaten da.
- 2) *Buffer $\text{pH}=1$* : Konposizioari dagokionez, 0,17g Glizerina, 0,13g Sodio kloruroa eta 11ml azido klorhidriko dauzka buffer litro bakoitzeko.

3.5-Disolbagarritasun eta disolbagarritasun efektiboaren kalkulua

Lorturiko konposatuen disolbagarritasuna neurtu da UM-Ikuskor espektroskopia tradizionala erabiliz. Neurketa hauek giro tenperaturaren ($22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), ingurune akuosoan ($\text{pH}=7 \pm 0,2$) eta ingurune azidoan (buffer $\text{pH}=1$) egin dira. Kalibrazio zuzena (absorbantzia vs kontzentrazioa) egiteko konposatu bakoitzaren kantitate zehatzak disolbatu dira dagokion disolbatzailean, saturazio puntuaren azpitik (mikroskopia optikoarekin baieztatu). Stock disoluzio honen kantitate ezagunak erabiliz kontzentrazio ezberdineko diluzioak egin dira. Diluzio



bakoitzaren UM-Ikus espektroen maximoen absorbantzia baloreak kontzentrazioaren menpe irudikatzean lorturiko kurbaren zati lineala erabiliz, analito bakoitzaren kasuan gutxienez kalibrazio zuzen bat lortu zen. Beti ere, zuzen horren ekuazioa eta determinazio koefizientea (R^2) balioan oinarrituz baloreen balioen fidagarritasuna baieztatuz.

Disolbagarritasuna neurtzeko lehenengo pausoa saturazio puntutik gorako kontzentrazioa (mikroskopia optikoarekin baieztatu) duten disoluzioak prestatu, eta xiringa-iragaz sistema erabiliz ($\theta=2\mu\text{m}$) suspentsioan geratutako partikulak eliminatu direla baieztatu ondoren (mikroskopia optikoa erabiliz), lorturiko saturazio puntu zehatzean dauden disoluzioen UM-Ikus espektroak neurtu ziren. Kasu guztietan, disoluzio hauek behar bezala diluitu ziren, neurketak espektrofluorimetroaren absorbantzia tartean egon zitezten. Diluzio hauen UM-Ikuskor espektroen maximoen absorbantzia baloreak aldeztetik lorturiko kalibrazio zuzenean ordezkaturik, konposatuaren disolbagarritasun balore zehatza lortu da. Datuak estatistikoki adierazgarriak izan daitezzen hiru bider errepikatu dira.

Disolbagarritasun efektiboa (S_{eff}) kalkulatzeko, hau da, disoluzio bolumen berdin batean gehienez ere disolbatu daitekeen 1-10-fenantrolina, pisu molekularren bitartez, PAKK dagoen 1-10-fenantrolinaren pisu portzentaia ezagutu eta disolbagarritasunarekin biderkatzen da.

3.6-Banaketa koefizientearen kalkulua

$\text{Log}P_{\text{o/w}}$ balioa prozedura estandarren bidez (shake-flask metodologi eta UM-Ikus espektroskopia tradizionala) ur ingurunean ($\text{pH}=7 \pm 0,2$) eta $\text{pH}=1$ -ean eta giro tenperaturan neurtu da.

Bolumen berdineko oktanol eta ur nahasketa 24h eta giro tenperaturan irabiatzen dira eta uretan saturatutako oktanela eta



oktanolean saturatutako ur laginak lortu ondoren, konposatu kantitate ezaguna eta egokia oktanolean saturatutako uretan disolbatzen da, 500 $\mu\text{g/mL}$ kontzentrazioko disoluzio bat lortuz. Disoluzio honetatik 4 ml hartzen dira eta 10 ml-koa den beirazko saioldi batean sartu eta gero 4 ml oktanol uretan saturatua gehitzen dira. Gure laginak, giro tenperaturan eta zirkularra den noria batean, bi faseetan zehar konposatua behar bezala banatu dadin, 24 orduz 100 rpm-ko abiaduran nahastu eta gero, laginak zentrifugatu egiten dira 3000 rpm eta 5 minutuz ur fasea eta fase organikoa behar bezala banatzeko. Azkenik, interfasea eta fase organikoa baztertu eta ur faseari UM-Ikus espektroskopia neurketa egiten zaio behar bezala diluitu ondoren (absortzioa espektrofluorimetroaren absorbantzia tartean sar dadin). Konposatu bakoitzetik hiru langin prestatu dira eta, aldi berean, lagin bakoitzari hiru UM-Ikus espektroskopia egiten zaizkio estatistikoki adierazgarriak diren datuan lortzeko

Oktanol/ura $\log(P_{o/w})$ banaketa koefizientearen baloreak lortzeko 1 ekuazioa erabili da.

$$\log P_{o/w} = [X]_o/[X]_w \quad 1 \text{ ekuazioa}$$

non, $[X]_{\text{oct}}$ eta $[X]_w$ banaketa ondoren bi faseetan analitoaren (X) kontzentrazioari dagokio.

4-EMAITZAK ETA EZTABAIDA

4.1-PAKK- en SINTESIA

Materialak eta metodoak atalean azalduko prozedura jarraituz, OZ1-OZ8 konposatuak lortu dira. Besteak beste, burdina ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) katioi zentralizat duten OZ1 eta OZ2 konposatuen kasuan, gorri eta marroi/hori koloreko produktuak lortu dira. Zinka (Zn^{2+}) katioi zentralizat duten konposatuak, aldiz, arrosa eta hori kolorea hartu dute.



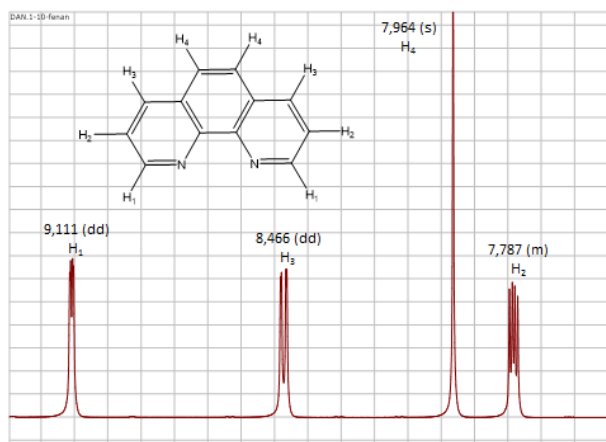
Azkenik, manganesoa (Mn^{2+}) katioi zentrala duten konposatu guztia hori kolorekoak dira (1 taula).

Taula 1: Esperimentuan zehar egindako sintesien laburpena.

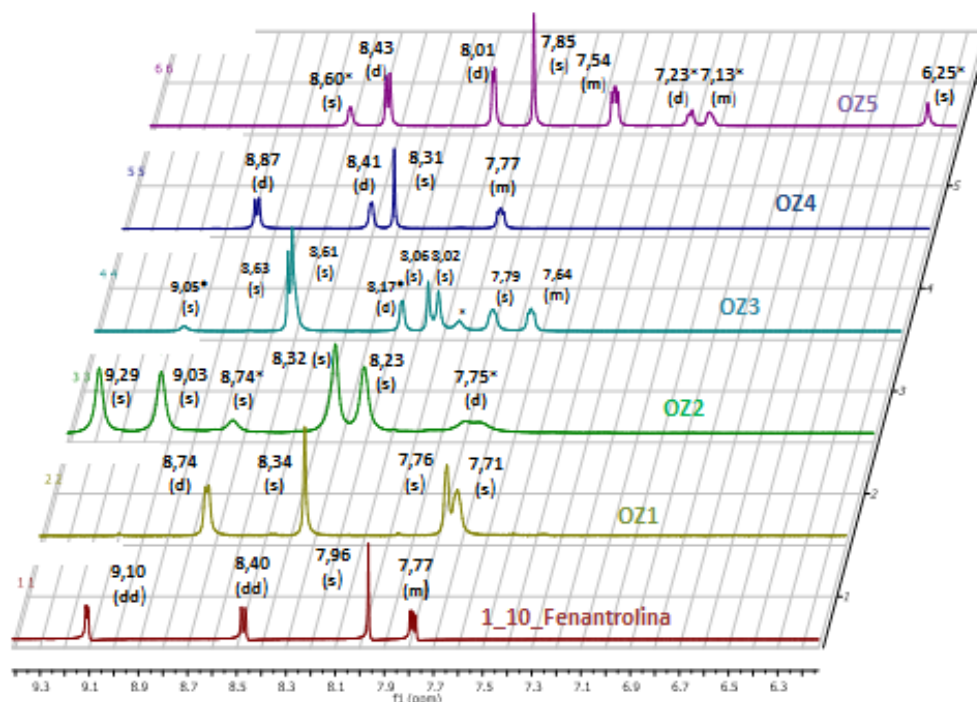
Konposatua	Kolorea	Egitura
OZ1	Gorria	$[Fe(phen)_2(SO_4)(H_2O)]OH \times (H_2O)_3$
OZ2	Marroia eta Horia	-
OZ3	Arrosa	-
OZ4	Arrosa	$[Zn(phen)_2(NO_3)](NO_3)$
OZ5	Zuria	-
OZ6	Horia	$[Mn(phen)_2(Cl)](Cl)$
OZ7	Horia	$[Mn(phen)_2(OH)] 0,5(SO_4) \times (H_2O)_2$
OZ8	Horia	$[Mn(phen)_2(NO_3)](NO_3)$

4.2-PAKK-en karakterizazioa

OZ1-OZ8 konposatuen 1H -RMN espektoak 1-10-fenantrolina ligandoaren 1H -RMN espektoarekin (2 irudia) alderatu dira. Konparaketa honetan oinarriturik erabakiko da sintetizatutako produktuetan 1-10-fenantrolina koordinazio konplexua sortu eta purua dagoen.



Irudia 2: 1-10-fenatrolinaren 1H -RMN espektoa. s: singlete, d: dolete, m: multiplete, dd: doble dolete.



Irudia 3: OZ1-OZ5 konposatuaren ^1H RMN espektoak. s: singlete, d: doblete, m: multiplete, dd: doble doblete. Asteriskoz adierazitako seinaleek ugaritasun gutxiagorekin bigarren 1-10-fenantrolina konplexu bati.

4 irudian ikus daitekeen bezala, OZ1 eta OZ4 konposatueta konplexu puruak lortu dira. Lau seinale hauetako bakoitzak protoi batentzat integratzen du eta 7,77 ppm-tan dagoen seinalea soilik mantendu da 1-10-fenantrolinaren oinarritzko seinaleetatik berdin. Gainontzeko hiruak desplazamendu kimikoa jasan dute, ziurrenik metalari koordinatzearen ondorioz.

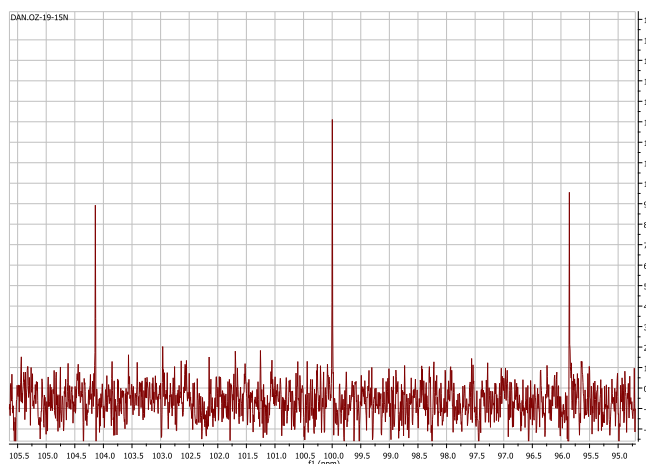
OZ2 konplexua ezegonkorra airearekin kontaktuan eta eraldaketak jasaten ditu, ala eta guztiz ere, hasieran lortutako konposatuaren ^1H -RMN espektoan ikus daiteke lotutako konposatua ez dagoela puru, azpiproduktuei dagozkien bi seinale antzeman daitezke, 8,74 eta 7,75 ppm-tan. Ondorioz, baztertu egin da.

OZ3 eta OZ5 konposatueta, aldiz, bi konplexu ezberdinen nahastea lortu da (konplexu baten seinaleak * adierazita). Zortzi seinale nagusi



bereiz daitezke, hauetako lauk integral berdina daukate elkarren artean. Gainontzeko lau seinaleri dagokionez, elkarren artean ere integral berdina izango dute, baina gainontzeko lauk duten integralaren ezberdina. Honek adierazten du 1-10-fenantrolina konplexu nagusi bat daukagula eta bestea proportzio txikiagoan aurkitzen dela. Bigarren koordinazio konplexu, OZ5 eta OZ3, 5:3 proportzioan eta 5:2 proportzioan aurkitzen dira. Konplexu hauen propietate fisiko-kimiko oso antzekoak izatearen ondorioz, ez dauzkagu baliabidea hauek banatu ahal izateko. Beraz, zailtasun honen eta bigarren konplexuak proportzio altuetan daudenez, baztertu egin dira.

Bestalde, OZ6, OZ7 eta OZ8 konposatuen ^1H -RMN espektroen inguruan ezin da informazio garrantzitsurik lortu, Mn^{2+} ^1H -RMN seinaleen zabalketa bat eragiten baitu bere izaera paramagnetikoaren ondorioz. Konplexu hauek karakterizatzeko beste bide batzuk jarraitu beharko dira ^1H -RMN ez baditu seinalerik ematen (daturik ez da erakusten). Hala eta guztiz ere, OZ8 konposatuari ^{15}N -RMN espektro egin zaio eta hiru seinale ezberdin ikusi dira. Honi esker ondorioztatu dezakegu OZ8 koordinazio konplexuan hiru nitrogeno ezberdin daudela (4. irudia)



Irudia 4: OZ8 ^{15}N NRMN espektroa.

Jarraian, konduktibitatea, analisi elementalean eta prezipitazio erreakzioetan lorturiko datuak irudikatu eta azalduko dira .

Taula 2: Konduktibitatearen, analisi elementalaren eta prezipitazio erreakzioen emaitzak.

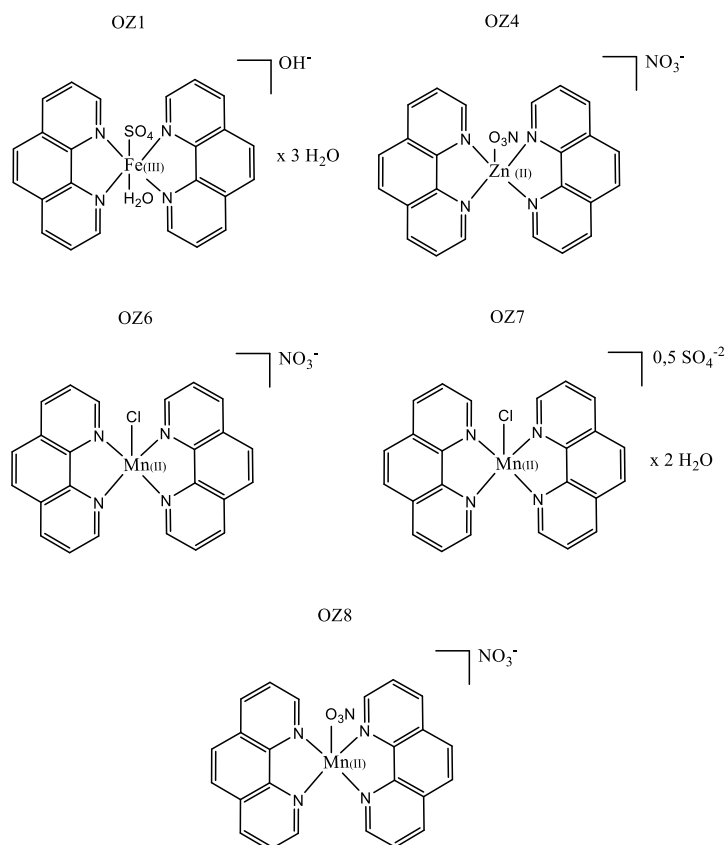
	$\Lambda (\Omega^{-1})$	Elek	%C _{esp}	%H _{esp}	%N _{esp}	%S _{esp}
OZ1	148,80	1:1	47,83	3,96	9,20	4,69
OZ4	106,83	1:1	52,01	3,08	13,60	0,32
OZ6	183,52	1:1	59,49	3,66	11,21	0,25
OZ7	103,73	1:1	55,40	4,15	10,50	3,22
OZ8	154,07	1:1	5,33	3,09	15,36	0,41

Taula 3: Lortutako datuetan oinarrituz ondorioztatutako egitura posibleak, egitura hauei dagozkien karbono, hidrogeno, nitrogeno eta sulfurearen ehuneko portzetaiak eta pisu molekularrak.

	Ondorioztatutako egitura	%C _{teo}	%H _{teo}	%N _{teo}	%S _{teo}	PM (g/mol)
OZ1	[Fe(phen) ₂ (SO ₄)(H ₂ O)]OH x (H ₂ O) ₃	47,93	4,90	9,32	5,33	601,39
OZ4	[Zn(phen) ₂ (NO ₃)] (NO ₃)	52,43	2,93	15,29	-	547,81
OZ6	[Mn(phen) ₂ (Cl)] (Cl)	59,23	3,32	11,52	-	486,26
OZ7	[Mn(phen) ₂ (OH)]0,5(SO ₄) x (H ₂ O) ₂	55,80	4,10	10,85	3,10	516,42
OZ8	[Mn(phen) ₂ (NO ₃)] (NO ₃)	53,45	2,29	15,58	-	529,36

2 taulan ikus daitekeen bezala, OZ1, OZ4 eta OZ6-OZ8 konposatuak 1:1 motako elektrolitoak dira. Horrez gain, analisi elementalaren emaitzetatik ondorioztatu daiteke konposatu guztietan metala bi 1-10-fenantrolinei lotzen dela. Bestalde, prezipitazio erreakzioei esker ondorioztatu dezakegu, OZ1 konposatuak sulfatoa koordinatuta daukala, OZ7 eta OZ6 konposatuak, aldiz, kontra ioi bezala sulfatoa eta kloruroa izango dituzte.

Lortutako koordinazio konplexu guztiei egindako probetan oinarrituz eta aurretik RMN espektroei esker genuen informazioz baliatuz, produktuen egitura ondorioztatu da. (5.irudia)



Irudia 5: Sintetizatutako PAKK-en ondorioztatutako egiturak.



TGA neurketak, proposaturiko konposatuen egitura jakin batzuk baieztatzeko balio digute (eranskina). Bertatik ondorioztatzen da, OZ1 eta OZ7 konposatuetan koordinazio urak egon daitezkeela, 100°C-tik behera masa galera aurkeztu baitzuten.

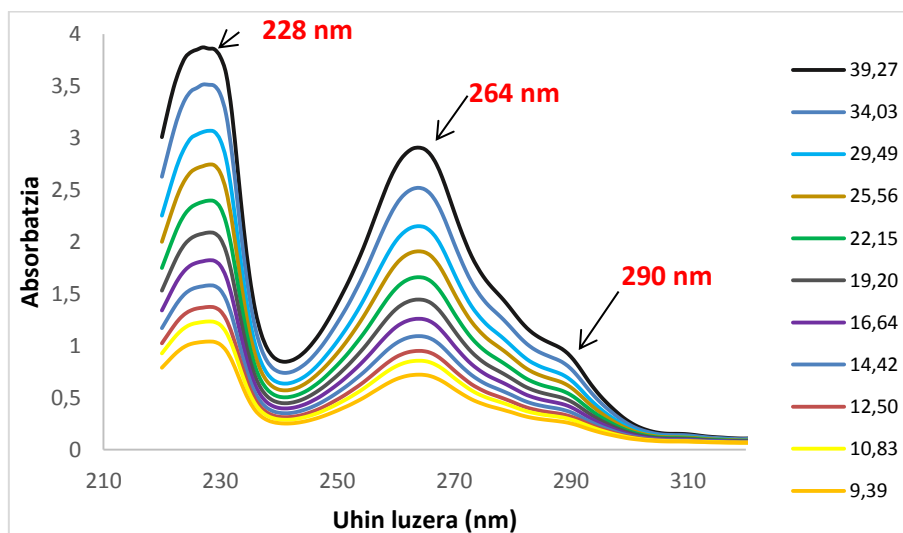
5.irudian azaldutako irudikapenak suposizio hutsak dira, soilik X izpien bidez jakin daiteke egitura zehatza. Adibidez, sulfatoa edo nitratoa daukaten PAKK-en kasuan, ez dute zertan metalari monodentatuki lotuta egon behar, posible da bidentatuki lotuta egotea. Hau da, egitura ezberdinen posibilitatea zabala da.

4.3- Kalibratio zuzena eta disolbagarritasunaren neurketa: Ur ingurune neutroa

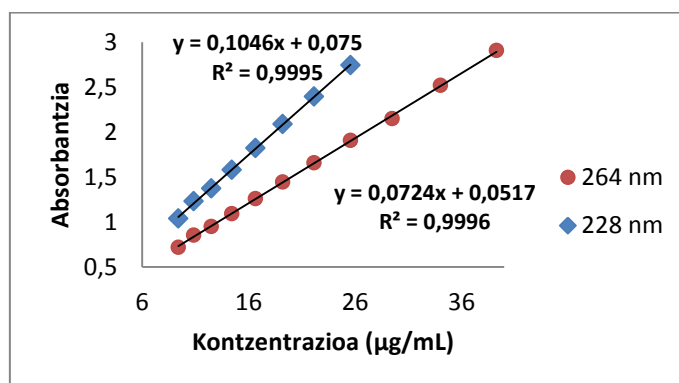
Materialak eta metodoak atalean azaldu bezala, lorturiko PAKK-en disolbagarritasun eta banaketa koefizientearen logaritmo balioak lortu dira UM-Ikus espektroskopia erabiliz. Horretarako neurtu diren UM-Ikus espektro motek eta kalibratio zuzenen eredu gisa 1-10-fenantrolina ligandoaren datu guztiak aurkezten dira irudietan.

Jarraian, ur ingurunean eta buffer pH=1-ean 1-10-fenantrolina konposatuarentzat lortutako emaitzak atxikituko dira.

Beraz, 6 irudian 1-10-fenantrolinaren kontzentrazio ezaguneko disoluziotik abiatuta egindako disoluzio diluituen UM-Ikus-en espektro gainezarriak aurkezten dira. Bertan ikusten diren 2 maximo nagusietatik (228 eta 264 nm) lortutako absorbantzia baloreak kontzentrazioaren menpe irudikatzerakoan lorturiko kalibratio zuzenak, ordea, 7 irudian aurkezten dira, zuzenaren ekuazio eta R² baloreekin batera.

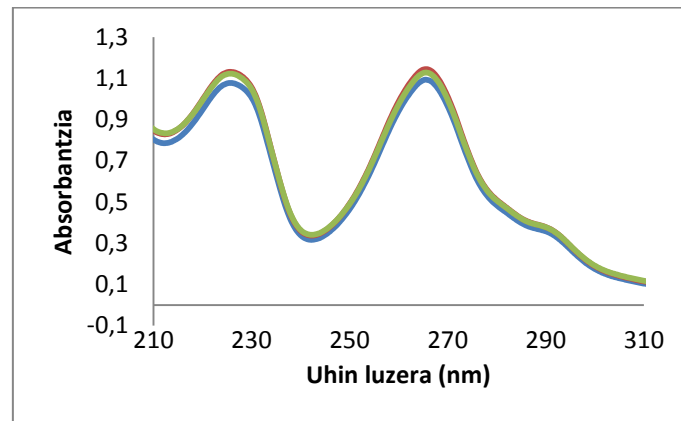


Irudia 6: 1-10-Fenantrolinaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/mL}$) ur disoluzioen UM- Ikus espeketroak.



Irudia 7: 264 nm eta 228 nm-tan lortutako maximoen absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.

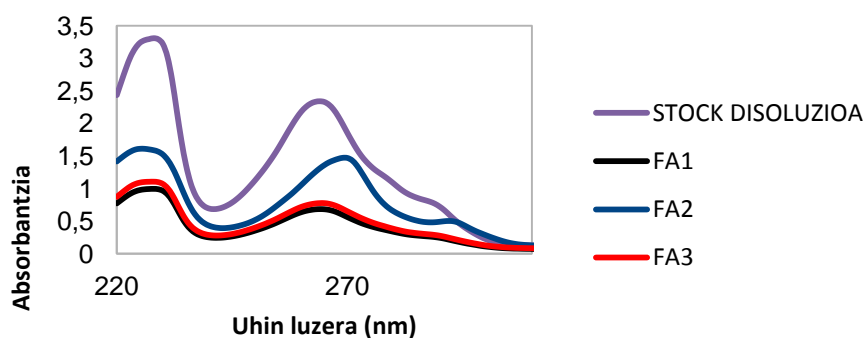
Disolbagarrtasuna kalkulatzeko disoluzio satua (n=3) UM-Ikuskor espeketroak 8.irudian agertzen dira. 228 eta 264 nm-tako maximoen absorbantzia balioen batez bestekoen balioa alde aurretik lortutako kalibrazio zuzenen ekuazioetan ordezkatu ondoren 1-10-fenantrolinaren disolbagarrtasuna, ur ingurunean, 5,43 mg/ml dela ondorioztatzen da.



Irudia 8: 1_10_fenantrolinaren disoluzio saturatuaren kontzentrazio berdineko hiru UM-Ikus espektroa.

4.4- Banaketa koefizientearen logaritmoaren neurketa: Ur ingurune neutroa

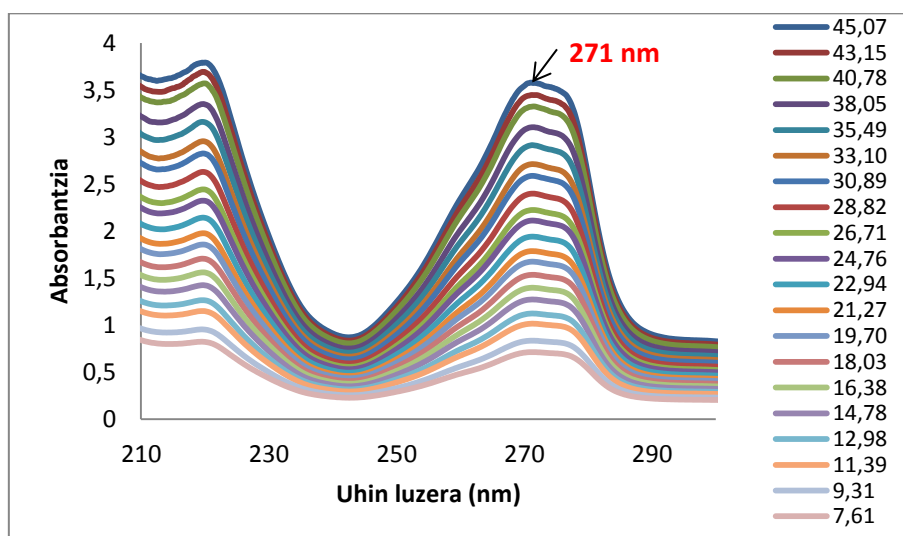
Banaketa koefizienteari dagokionez, oktanol/ura nahasketa baino lehen eta erauzketa ondoren (9.irudia) ur faseari eginiko UM-Ikus espektroetatik fidagarriak diren datuen maximoen absorbantzia baloreen batz bestekoaren baliotik abiatuz eta alde aurretik lorturiko kalibrazio zuzena erabiliz banaketa koefizientearen logaritmoaren balioa -0,0092 dela ondorioztatu da.



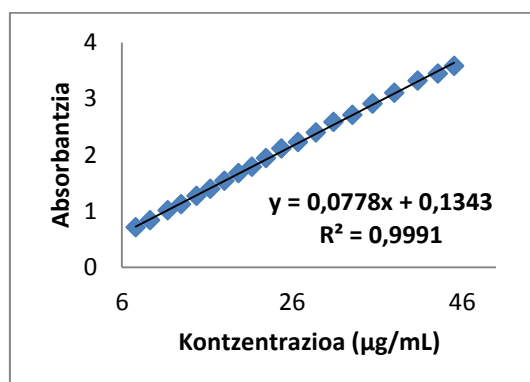
Irudia 9 : Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektroak

4.5- Kalibrazio zuzenaren eta banaketa koefizientearen neurketa: Ur ingurune azidoa

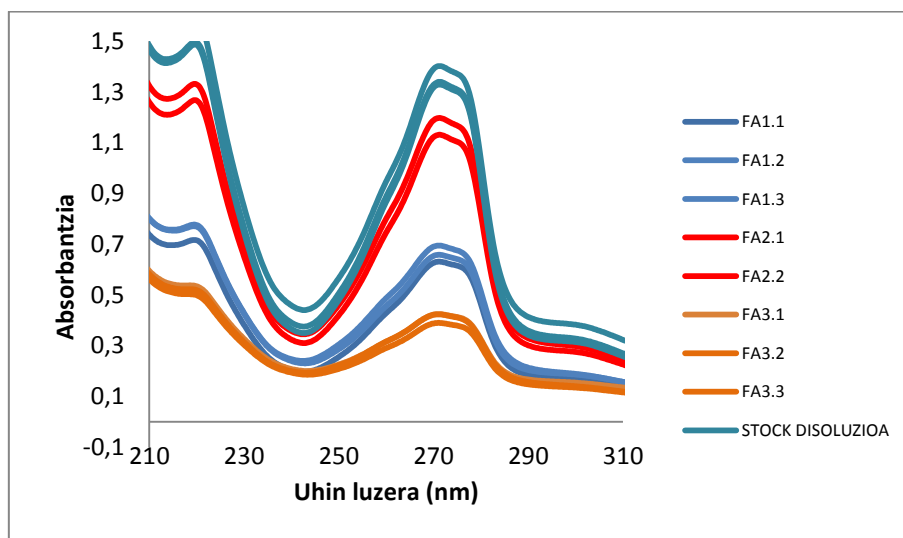
Prozedura berdina jarraituz, 1-10-fenantrolinaren $\log P_{o/w}$ balioak lortu dira buffer pH=1 ingurunean. Kasu honetan, 10.irudian ikusten den bezala, 271 nm-tan agertzen den maximoen balioa besterik ez da fidagarria kalibrazio zuzena lortzeko (11.irudia). 1-10-fenatrolinarentzat ingurune azidoan lortutako banaketa koefizientearen logaritmoaren balioa -0,0272 izan da.



Irudia 10: 1_10_Fenantrolinaren kontzentrazio ezberdinetako (µg/mL) ur disoluzioen UVA-vis espektoak



Irudia 11: 271 nm-tan lortutako maximoaren absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena



Irudia 12 : Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektroak

Banaketa ondoren lortutako 3 faseetatik bat baztertu egin da errore argia erakusten duelako.

1-10-Fenantrolina konposatuarekin jarraitutako prozedura berdina aplikatu da sintetizatutako OZ1, OZ4 eta OZ6-OZ8 konposatuen S eta $\log P_{o/w}$ balioak lortzeko . Lortutako datu eta grafikoak eranskinean txertatuta daude. Materialak eta metodoak atalean azaldu den bezala, PAKK-en kasuan, S_{eff} -aren balioa kalkulatu zen eta horretarako konposatu bakoitzean 1-10-fenatrolinaren pisu portzentaia kontuan izan da.

Jarraian, eranskinean dauden irudietatik eta 1-10-fenatrolinaren S eta $\log P_{o/w}$ balioak azaldu eta konparatuko dira.



Taula 4: Sintetizatutako koordinazio konplexuentzat eta 1-10-fenantrolinarentzat ur ingurunean lortutako datu multzoa.

Konp.	S (mg/ml) (pH=7)	S _{eff} (mg/ml)	S _{PAKK} /S _{fenantrolina}	LogP _{o/w} (pH=7)	LogP _{o/w} (pH=1)
Phen	5,43	5,43	-	-0,0092	-0,0272
OZ1	27,38	16,41	3,02	-0,0642	-1,0031
OZ4	44,09	29,01	5,34	-0,0211	-
OZ6	9,91	7,34	1,82	-0,0895	-1,1595
OZ7	9,41	6,58	1,21	-0,0630	-
OZ8	9,38	6,27	1,15	-0,0964	-1,3581

Disolbagarritasunari dagokionez, OZ1 eta OZ4 konposatuen kasuen aldaketa nabarmena eman da (27,38 eta 44,09 mg/ml, hurrenez hurren). Dagokion S_{eff} kalkulatu ondoren (16,41 eta 29,01 mg/ml), 1-10-fenantrolinaren disolbagarritasuna eta PAKK-en 1-10-fenantrolina ekibalente disolbagarritasuna alderatuz gero, ikus daiteke, OZ1 konposatuan hiru ekibalente 1-10-fenantrolina gehiago eta OZ4 konposatuan bost ekibalente 1-10-fenantrolina gehiago disolbatzea lortu dela. OZ6-OZ8 PAKK-en kasuan, berriz, S eta S_{eff} balioak aztertuz, ondorioztatzen da, disolbagarritasunaren hobekuntza bat eman den arren hau ez dela oso nabarmena.

Banaketa koefizienteari dagokionez, aldiz, ikus daiteke 1-10-fenantrolina konposatua oso antzeko banatzen dela fase organikoan eta ur fasean zehar. Kontuan izanda LogP_{o/w} balorearen esanahia, logP_{o/w} < 0 denean, ur fasean konposatuaren kontzentrazioa handiagoa izango da fase organikoan baino eta logP_{o/w} > 0 denean, fase organikoan konposatuaren kontzentrazioa handiagoa izango da ur fasean baino. Beraz, komeni dena da 1-10-fenantrolinak duen banaketa koefizientea hobetzea edo mantentzea. Emaitzak aztertuz, ikus dezakegu aldaketak egon diren arren ez direla banaketa koefizientearen logaritmoaren



baloreak asko aldatu. Aldaketa nabariak ez diren arren, metal eta kontra ioien eragina antzeman daiteke.

Sabelan dagoen ura oso azidoa da, beraz, sintetizatutako PAKK gai izan behar du ingurune horretan behar bezala disolbatu eta banaketa koefiziente ona izateko. Ingurune azidoan eta ur ingurunean disolbagarritasun eta banaketa koefizientearen balioak alda daitezke inguruneko protoien eragina dela eta. Honen ondorioz, ur fase bezala buffer $\text{pH}=1$ erabiliz prozedura berdina errepikatu da PAKK-ekin. Neurketa hauekin sintetizatutako PAKK-k organismoan izango lukeen jarrerara gehiago hurbiltzen gara.

Banaketa koefizientearen emaitzak erakusten digute ingurune azidoan banaketa koefizientea asko txartzen dela, seguruenik, inguruneko protoiak direla eta PAKK-n disolbagarritasuna asko handitzen delako.

Ondorioz, disolbagarritasunaren kasuan, metala aztertuz, esan daiteke zinka eta burdina izango direla baliagarrienak disolbagarritasuna handitzerako garaian eta manganesoa, aldiz, proba kontzeptu honetatik baztertu egin beharko dela aurrerantzean, ez baita aproposa PAKK-en disolbagarritasun eta banaketa koefizientearen aldaketa positibo nabarmen bat emateko.

Bestalde, metal berdina eta kontra ioi ezberdina daukaten PAKK-k dauzkagunez, azken honen eragina azter daiteke. Manganesoaren kasuan disolbagarritasun emaitzak onak ez diren arren, ikus daiteke, ur ingurunean, disolbagarritasun balore hoberena (ezberdintasuna handia ez den arren) kontra ioi bezala kloruroa daukan PAAK ematen duela. Hau, buffer $\text{pH}=1$ ingurunean baieztatu daiteke. Manganeso konposatuak aztertuz gero, ikus daiteke kloruroa kontra ioi bezala duen



konposatuak izango duela banaketa koefiziente balore hobea (bi datuak kaxkarrak diren harren).

Ikerketa honetan aurrerapauso bat eman dela esan daiteke PAKK nitrogenodunei dagokionez. Burdin eta zink konposatuen koordinazio konplexu gehiago eratuz, ikusi daiteke ea baliagarriak diren ala ez.

Azkenik, datuak lortu ondoren, proba kontzeptu honen prozedura jarraipen bat proposatu daiteke. Metal eta kontra ioi ezberdinak PAKK sintetizatu eta ikertu nahi badira, sintesia eta gero, neurketak, lehendabizi, ur ingurunean egingo dira, non, metal egokiaren aukeraketa egingo den. Metal egokia aukeratu ondoren, neurketak ingurune azidoan egin beharko dira sintetizatutako PAKK-ren ezaugarriak behar bezala aldatu diren ala ez determinatzeko. Proposamen honek ikerketa bide luze bat irekitzen du, non, metal, ligando eta kontra ioi aniztasunaren ondorioz, ezaugarri egokiko PAKK lortzeko esperantza handia den.



5-ONDORIOAK

Proiektuaren helburua printzipio aktiboen ezaugarriak hobetuko dituen estrategia bat diseinatu eta honen erabilgarritasuna baieztatzea izan da. Zentzu honetan, printzipio aktibo ezagunetan aurkitu ohi den hezurduren eredua den 1-10-fenatrolina ligandoaz eta metal biobateragarriez osaturiko koordinazio konposatuen diseinu, sintesi, karakterizazio eta ezaugarri fisikokimiko garrantzitsuen neurketa egin da, disolbagarritasuna eta $\log P_{o/w}$, hurrenez urren. Ikerkuntza honetan lortu diren emaitzak eta ondorioak honako hauek dira:

1.- Sintesiari dagokionez, 8 PAKK sintetizatu dira. Sintesi guztietan 1-10-fenantrolina erabili da ligando bezala eta metalaren kasuan, metal ezberdinak erabili dira, esate baterako, Mn^{2+} , $Fe^{2+/3+}$ eta Zn^{2+} . Ondoren, zenbait teknika ezberdinen bitartez PAKK karakterizazioa eta purutasunaren araberako selekzioa eman da. 5 PAKK ezberdinekin jarraitu da aurrera, horien artea, 3 manganeso konposatu, burdin konposatu 1 eta zink konposatu 1.

2.- 5 KKPA hauen S eta S_{eff} neurtu dira ur ingurune neutroan, horretarako, UM-Ikus espektroskopia teknikan oinarritzen den protokolo luze eta zehatz bat proposatu eta jarraitu da. Neurketa hauetatik lortutako baloreei esker bi ondorio nagusi atera daitezke:

2a.) Mn^{2+} katio zentralizat duten PAKK-k ez dute PA-ren disolbagarritasunaren hobekuntza aipagarri bat ekartzen eta ondorioz, aurrerantzean estrategia hau erabiltzen den kasuetan Mn^{2+} ez erabiltzea proposatzen da. Bestalde, Zn^{2+} eta Fe^{3+} katioiek, PA-ren disolbagarritasunaren hobekuntza nabaria ekarri dute eta aurrerantzean estrategia hau erabiltzen den kasuetan bi metal hauek erabiltzea gomendatzen da.

2b.) Metal berdina daukaten PAKK-en kasuan baieztatu da kontra ioiak eragina izan dezakeela. Zentzu honetan, gomendatzen den kontra ioia kloruroa izango litzateke, hala eta guztiz ere, honen eragina nabarmenegia ez dela aipatu behar da.

3- Bost PAKK hauen $\log P_{o/w}$ neurtu da ur ingurune neutroan eta azidoan UM-ikus protokolo berdina jarraituz. Lorturiko ondorioak honako hauek dira:

3a.) Ur ingurune neutroan egindako esperimientuek adierazten dute, PAKK-an aurkitzen den katio zentralaren izaerak ez duela



iragazkortasunean aldaketa adierazgarriker eragiten, 1-10-fenantrolinarekin alderatuz. Hau da, banaketa koefizientearen balorea mantentzea lortu da, disolbagarritasunean hobekuntza handia ematen den bitartean.

3b.) Ur ingurune azidoan egindako esperimertuek adierazten dute, PAKK-an aurkitzen den katio zentralaren izaera dena dela ere, inguruneke azidotasanaren eraginez, PAKK-en banaketa koefizientea txikitu egiten dela PA-rekin alderatuz. Ondorioz, PAKK-ren parte den PA baten iragazkortasuna, libre dagoen PA berdin horrena baina okerragoa izango litzateke ingurune horretan.

Beraz, esan dezakegu, 1-10-fenantrolina ligandoaren kasuan honen disolbagarritasuna hobetu eta banaketa koefizientea mantentzea lortu dela ur ingurune neutroan. Jarraitutako metodologia estrategia gisa proposatzen da ikerketa zabal honekin jarraitzeko.



CONCLUSIONS

The goal of the project was to design and test a strategy that improves the bioavailability of active principles. In this sense, we have performed the design, synthesis, characterization and measurement of significant physicochemical properties, such as solubility and $\log P_{o/w}$, of coordinating compounds that are composed of scaffolds commonly found in well-known active principles and biocompatible metals. The results and the main conclusions obtained are as follows:

1.- 8 PAKKs have been synthesized. In all the syntheses 1-10-phenanthroline was used as a ligand and in the case of metal, different metals were used, such as Mn^{2+} , $Fe^{2+} / 3^{+}$ and Zn^{2+} . The purest five PAKKs have been selected to further characterize their properties: 3 manganese compounds, 1 compound of iron and zinc compounds 1.

2.- The S and S_{eff} of these 5 KKCAs was measured both in neutral and acidic water environment, upon establishing a long and specific protocol based on UV-Vis Spectroscopy. The values obtained from these measurements revealed the following:

2a). The PAKK containing a Mn^{2+} as central cation does not promote a significant improvement in PA's solubility and, in the future the use of Mn^{2+} is proposed as to be avoided. On the other hand, PAKKs containing either Zn^{2+} or Fe^{3+} cations have shown a significant improvement in the solubility of the PA, and are therefore recommended.

2b) A comparison of the results obtained with PAKKs that contain the same central cation but different counter-ions, revealed that the effect of the latter on the solubility is quite modest; still, if a counter-ion had to be selected to build a cationic PAKK, our results suggest the chloride should be the one.

3-The $\log P_{o/w}$ of the same five PAKKs was measured both in a neutral and acidic water environment and following the same UV-Vis spectroscopy protocol described before. The conclusions reached are as follows:

3a). The experiments conducted in neutral water environments indicate that the nature of the central cation found in PAKK does not cause significant changes in the permeability as compared to 1-10-phenanthroline. That is to say, the value of the coefficient of



distribution has not been modified, whereas the solubility has been importantly increased.

3b) The experiments conducted in an acidic aqueous environment indicate that, regardless the nature of the central cation found in the PAKK, the PAKK distribution coefficient decreases as compared to the parent PA. As a result, the permeability of a PA which is part of a PAKK, is decreased as compared to the same property of the free parent PA.

Therefore, we can say that in the case of the 1-10-phenanthroline ligand, its inclusion in a PAKK containing either Zn^{2+} or Fe^{3+} metal centers provokes that its solubility is highly improved while the distribution coefficient is kept rather constant, when working in a neutral water environment. The methodology established in the present research work, is proposed as a valuable strategy to continue this investigation.



6-BIBLIOGRAFIA

- [1] H.Kubinyi. *Nat.Rev. Drug Discov.* 2003, 2, 665-68.
- [2] United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 30-NF 25). Vol 2. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Conventiom; 2007: 1553-1554.
- [3] (a) L.Lachman, H. Lieberman, J.L. Kaning. *The Theory And Practise of Industrial Pharmacy*. 3rd edition. Lea & Febiger; 1986. (b) P. B. Myrdal, S. H. Yalkowsky. Solubilization of drugs in aqueous media. In: Swarbrick J, editor. *Encyclopedia of Pharmaceutical Techology*. 3rd edition. New York, NY, USA; (c) S. R. K. Yellela. *J Bioequiv Availab.* 2010.
- [4] K. T. Savjani, A. K. Gajjar and J. K. Savjani *ISRN Pharm.* 2012; 2012: 195727.
- [5] a) P. H Stahl, C. G.Wermuth editors. 2002. *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*. Chichester: Willey-VCH; b) D. M. Brahmankar, S. B. Jaiswal. *Biopharmaceutics & Pharmacokinetics A Treatise*. 2012. Vallabh Publications Prakashan 349-57; c) S. N. Black, E. A. Collier, R. J. Davery and R. J. Roberts. *J Pharm Sci.* 2007; 96(5): 1053-68.; d) D. Maddileti, B. Swapna and A. Nangia *Cryst. Growth Des.* 2014, 14 (5).
- [6] K. D. Mjos, C. Orvig, *Chem. Rev.*, 2014, 8, 4540-63
- [7] J. D. Price, T. Piccariello and S. Palmer. *Drug Dev. Delivery* 2014, 14(4), 63-8.
- [8] a) M. A. Jakupec and B. K. Keppler, *Curr. Top. Med. Chem.* 2004, 4, 1575-83. b) P. Collery, F. Lechenault, A. Cazabat, E. Juvin, L. Khassanovam A. Evangelou and B. Klepper. *Anticancer Res.* 2000, 20, 955-58.; c) P. Collery, J. L. Domingo, B. K. Keppler, *Anticancer Res.* 1996, 16, 687-91.
- [9] D. Braga, F. Grepioni L. Maini, R. Brescello and L. Cotarca. *CrystEngComm* 2008, 10, 468-71.
- [10] M. Melchior, S. J. Retting, B. D. Liboiron, K. H. Thompson, V. G. Yuen, J. H. McNeill, C. Orvig. *Inorg. Chem.* 2001, 40, 4686-90.
- [11] Z. Guo and P. J Sadler, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, 2, 216.
- [12] K. D. Mjos, C. Orvig *Chem. Rev.* 2014, 114, 4540-63.
- [13] M. J. Clarke and P. J. Sadler, *Top. Biol. Inorg. Chem.* 1999, 2, 216.
- [14] S.P. Fricker, *Toxicol. In vitro* 1994, 8, 879-81.
- [15] J. D. Berman, *Clin. Infect. Dis.* 1997, 24, 684-703.



[16] a) K. M. Faulkner, S. I. Liochev, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 23471-76. b) S. I. Liochev, I. Fridovich, *Arch. Biochem. Biophys.* 1995, 321, 271-5. c) C. Szabo, B. J. Day, A. L. Salzman, *FEBS Lett.* 1996, 381, 82-6. D) P. R. Gardner, D. D. H. Nguyen, C. W. White, *Arch. Biochem. Biophys.* 1996, 325, 20-8.

[17] C. M. Davis, A. C. Royer, J. B. Vicent, *Inorg. Chem.* 1997, 36, 5316-20.

[18] L. Messori, G. Marcon *Metal ions in biological systems* 2004, 41, 279-304.

[19] M. Peyrone *Ann. Chemie. Pharm.* 1845, 51, 129.

[20] a) M. D. Hall, R. C. Dolman, T. W. Hambley *Metal ions in biological systems* 2004, 41, 297-322; b) M. A. Jakupec, M. Galanski, B. K. Keppler, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 2003, 146, 1-54.

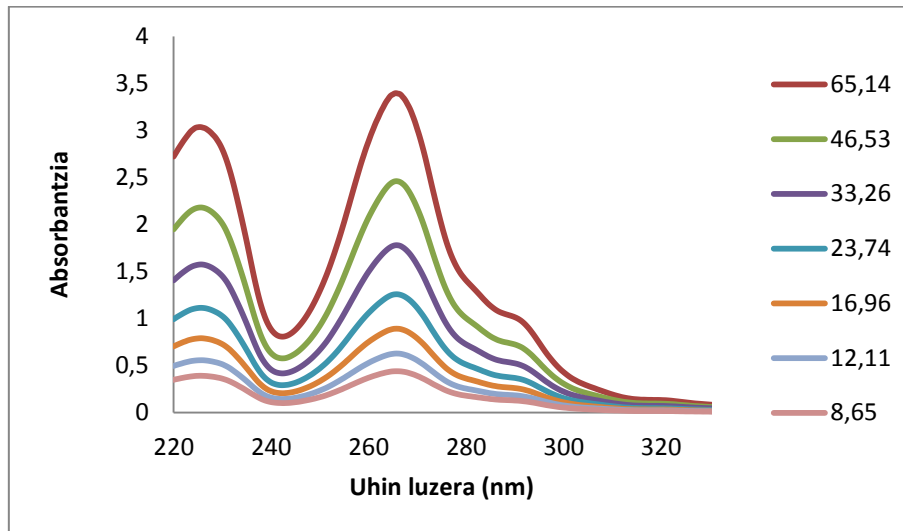


ERANSKINAK

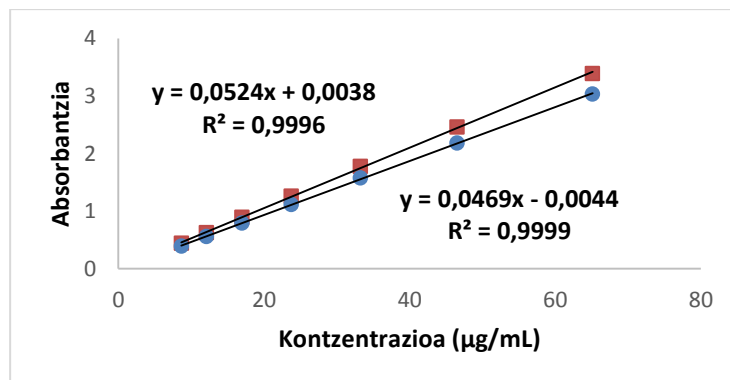
UR IRGURUNEA:

- OZ1

KALIBRAZIO ZUZENA

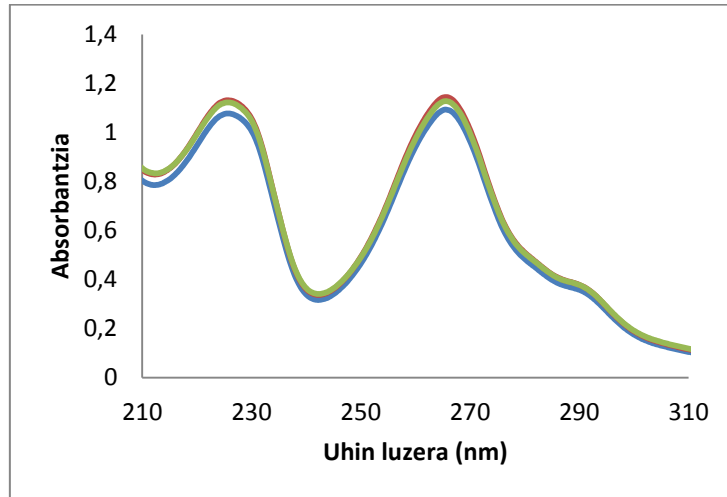


Irudia 13: OZ1 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/mL}$) ur disoluzioen UM-Ikus espektroak.



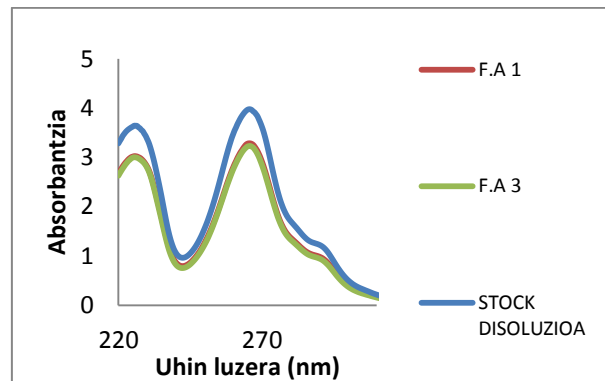
Irudia 14: 266 nm eta 225,5 nm-tan lortutako maximoen absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.

DISOLBAGARRITASUNAREN KALKULUA



Irudia 15: OZ1 konposatuaren disoluzio satua hiru UM-Ikus espektoak.

BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA

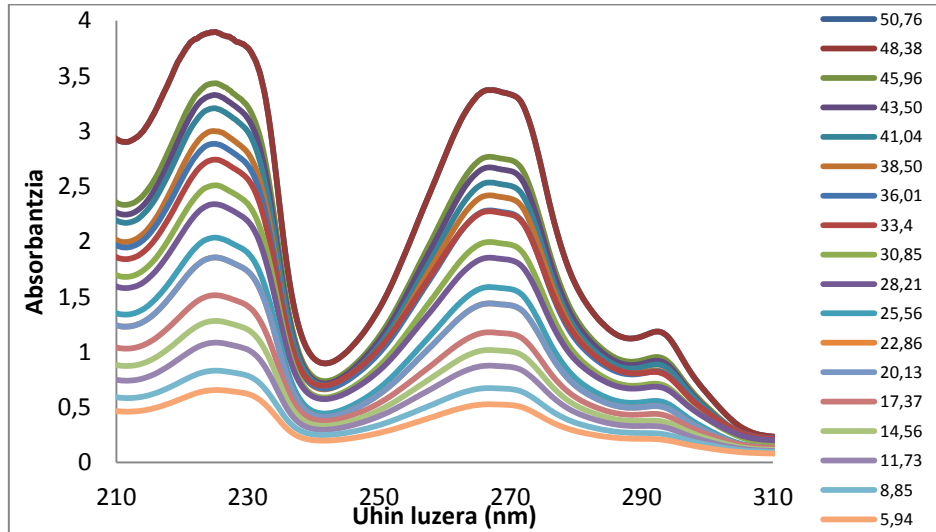


Irudia 16: Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektoak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektoak.

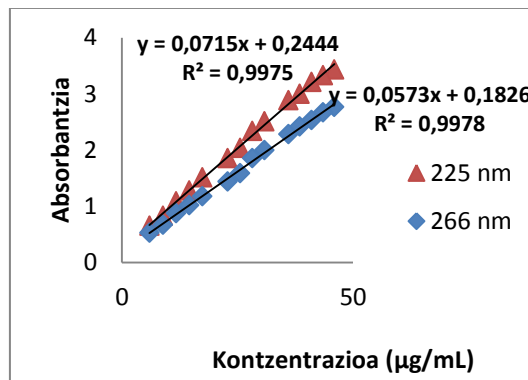


- OZ4

KALIBRAZIO ZUZENA

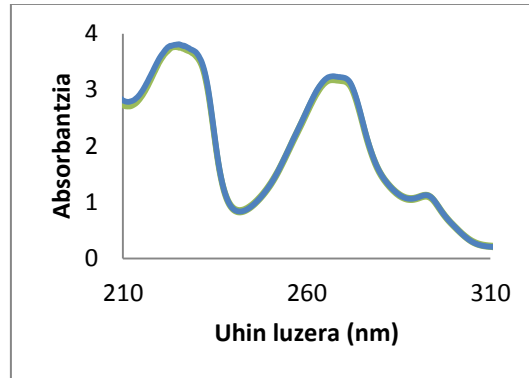


Irudia 17: OZ4 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako (µg/L) ur disoluzioen UM-Ikus espektoak



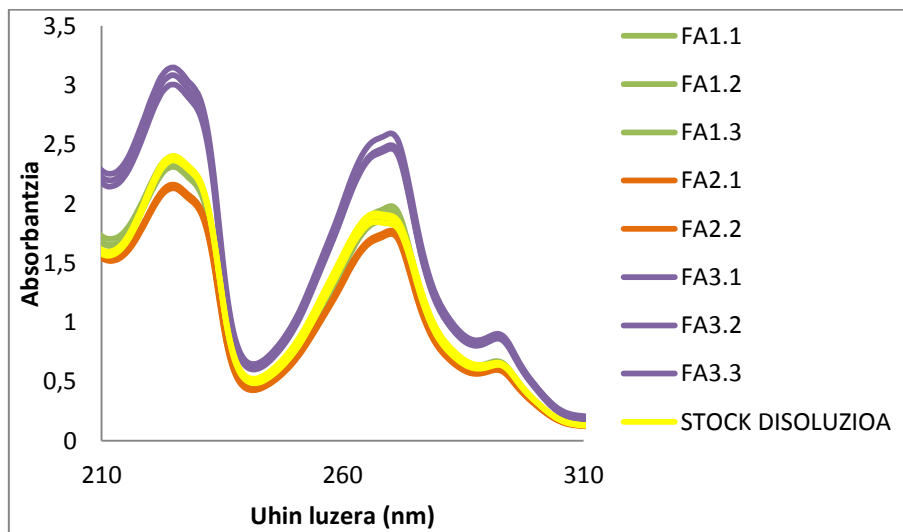
Irudia 18: 266 nm eta 225 nm-tan lortutako maximoen absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.

DISOLBAGARRITASUNAREN KALKULUA



Irudia 19: OZ4 konposatuaren disoluzio saturatuaren hiru UM-Ikus espektroen irudikapena.

BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA

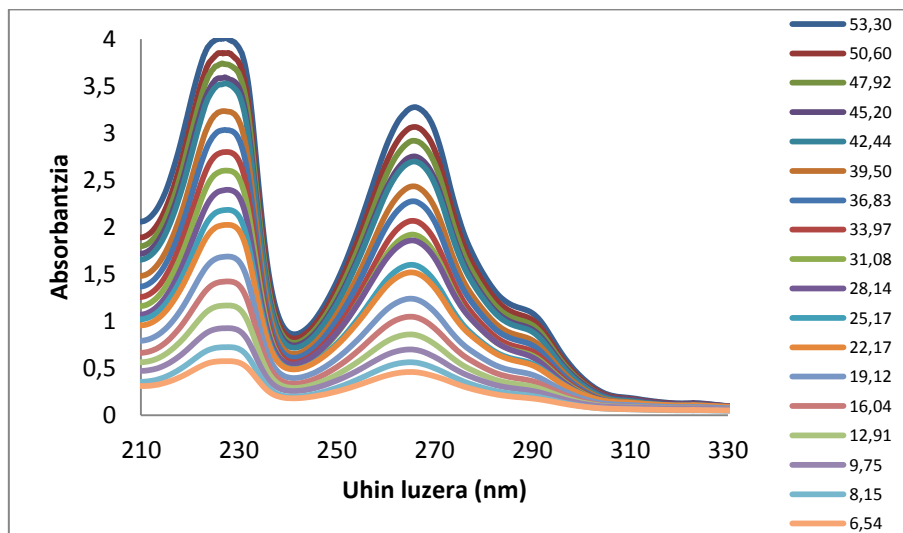


Irudia 20: Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektroak.

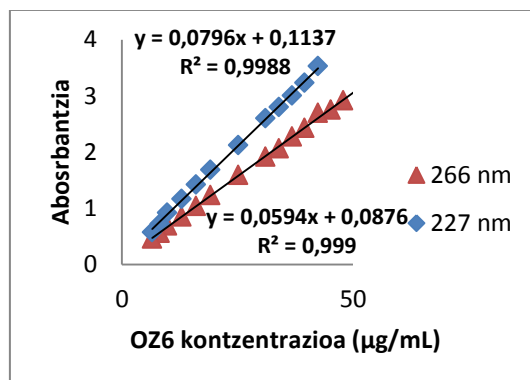


- OZ6

KALIBRAZIO ZUZENA

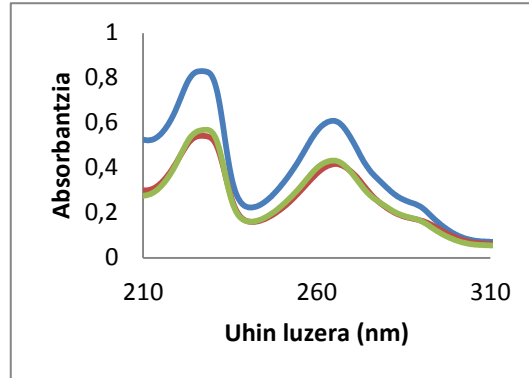


Irudia 21: OZ6 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/L}$) ur disoluzioen UVA-vis espektroak



Irudia 22: 266 nm eta 227 nm-tan lortutako maximoen absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena

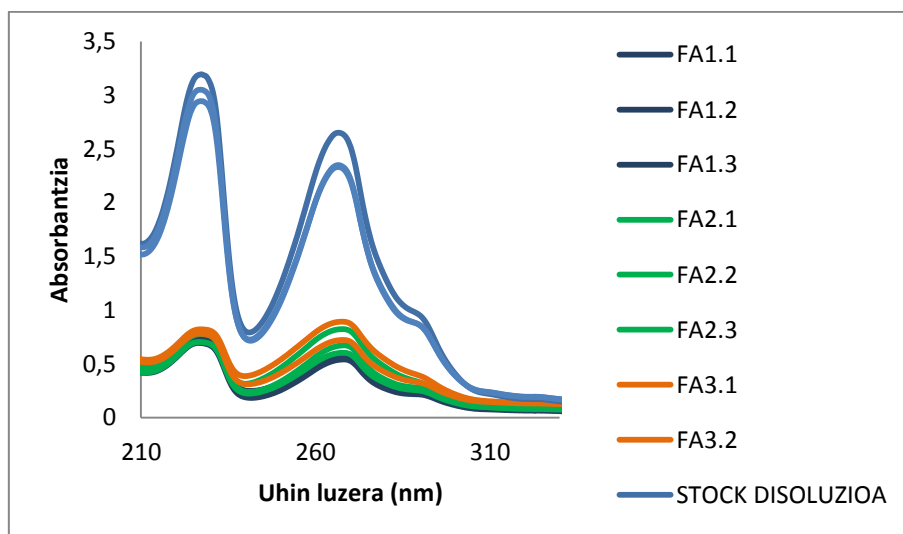
DISOLBAGARRITASUNAREN NEURKETA



Irudia 23: OZ6 konposatuaren disoluzio saturatuaren hiru UM-Ikus espektroen irudikapena.

Grafika honetako lehenengo datua baztertu egingo da. Egindako hiru neurketak berdinak izan beharko lirateke (kontzentrazio berdineko disoluzioak erabili dira). Beraz, errorea dauka.

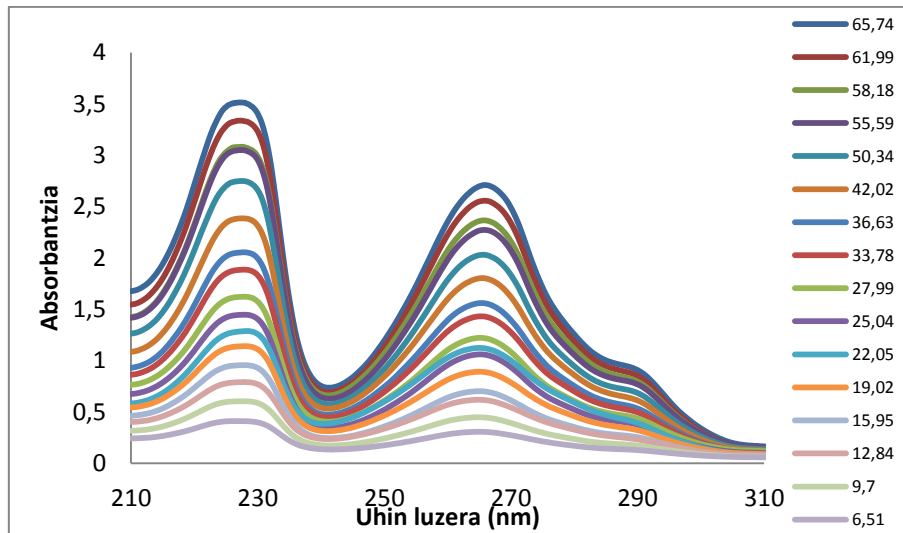
BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA



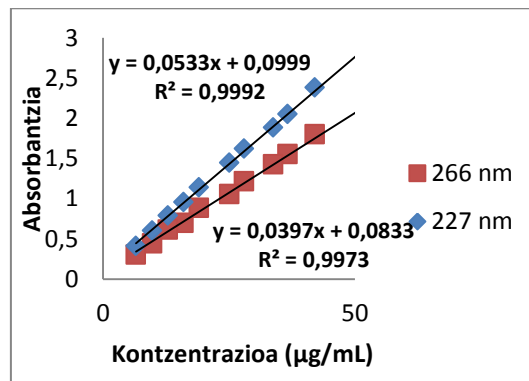
Irudia 24: Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektroak.

OZ7

KALIBRAZIO ZUZENA

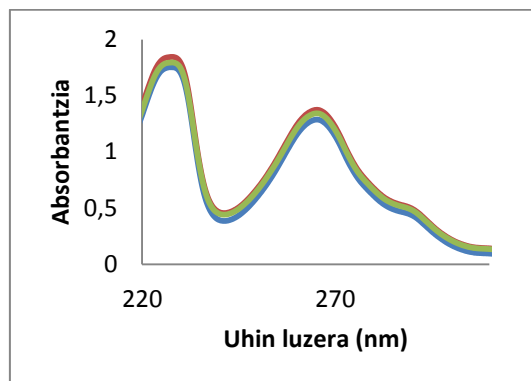


Irudia 25: OZ7 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/L}$) ur disoluzioen UVA-vis espektroak.



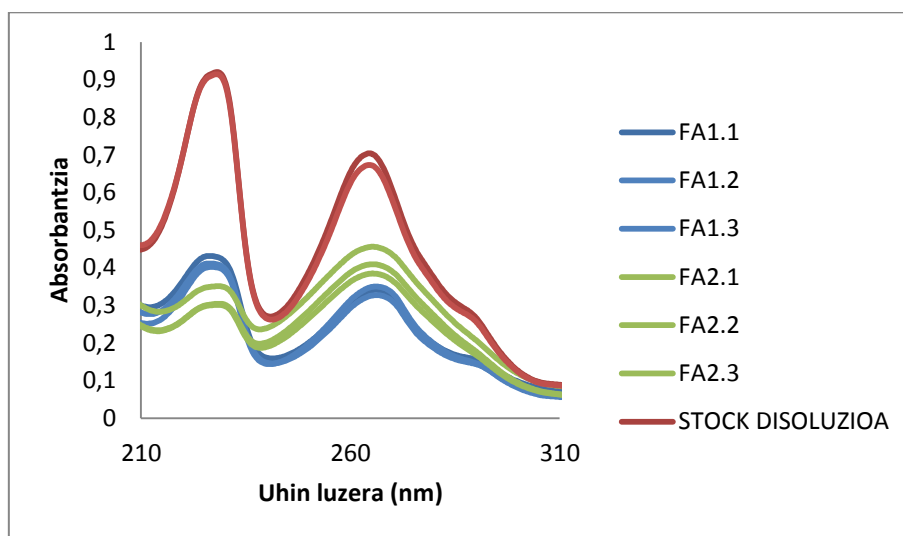
Irudia 26: 266 nm eta 227 nm-tan lortutako maximoen absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.

DISOLBAGARRITASUNAREN NEURKETA



Irudia 27: OZ7 konposatuaren disoluzio satua hiru UM-ikus espektroa.

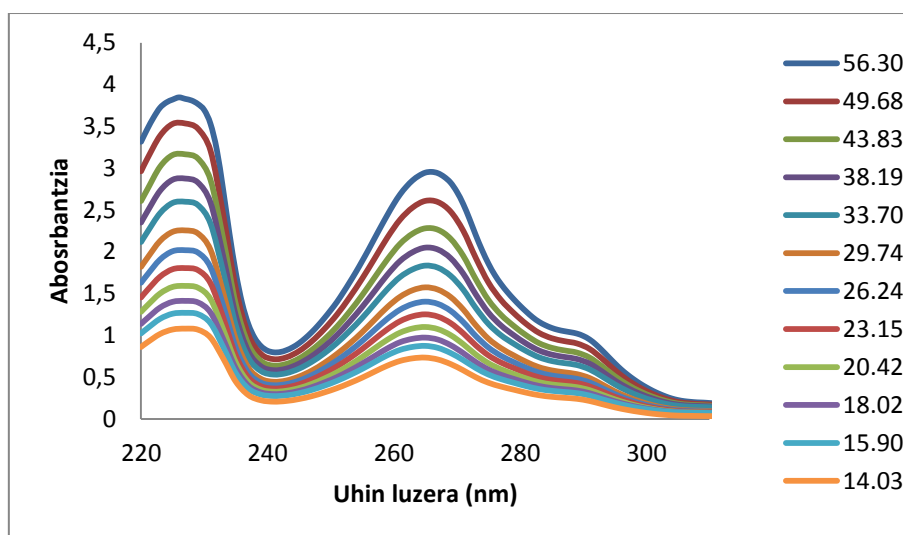
BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA



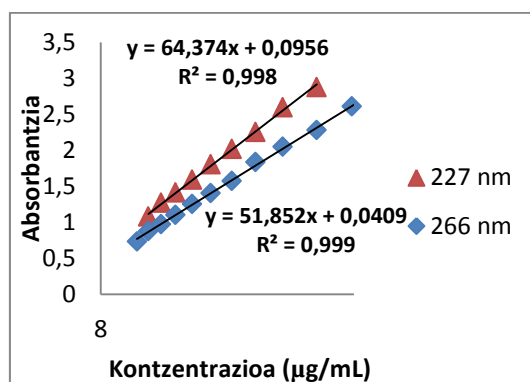
FA1 soilik hartuko da baliagarritzat, FA2 266 nm-tako maximoa txikiagoa da 227 nm maximoa baino. Honek adierazten du errorea dagoela lakin honetan.

- OZ8

KALIBRAZIO ZUZENA

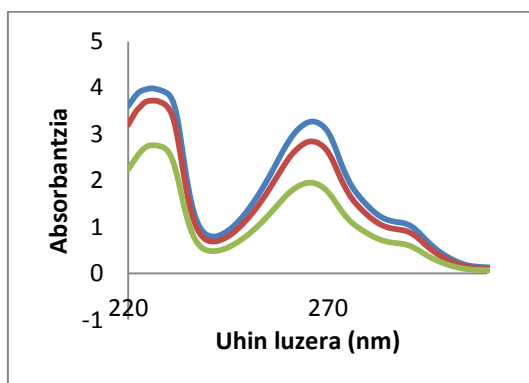


Irudia 28: OZ8 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako (µg/L) ur disoluzioen UM-ikus espektroak.



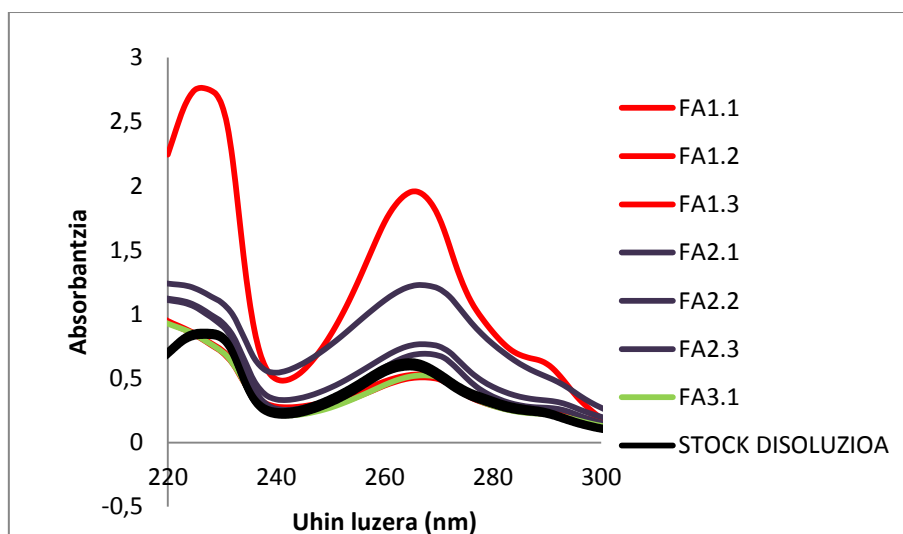
Irudia 29: 266 nm eta 227 nm-tan lortutako maximoen absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.

DISOLBAGARRITASUNAREN NEURKETA



Irudia 30: OZ8 konposatuaren disoluzio saturatuaren hiru (kontzentrazio ezberdinak) UM-Ikus espektroen irudikapena.

BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA



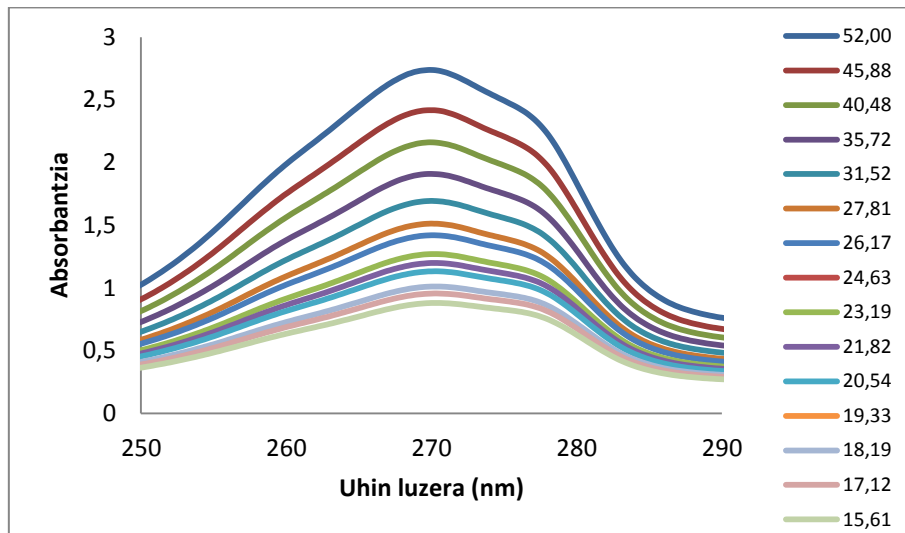
Irudia 31: Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektroak.



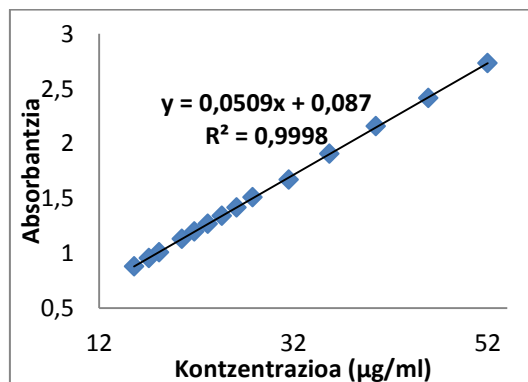
pH=1

- OZ1

KALIBRAZIO ZUZENA

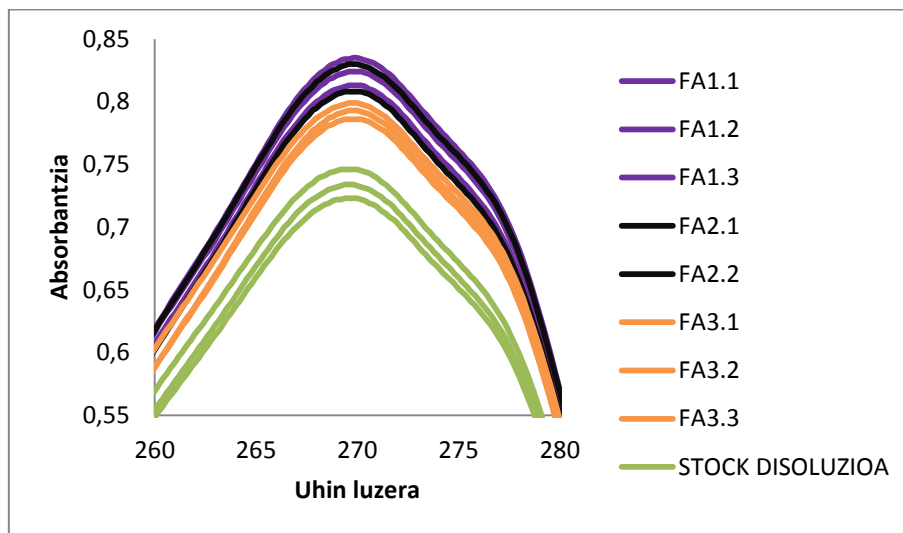


Irudia 32: OZ1 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/L}$) ur disoluzioen UVA-vis espektroak



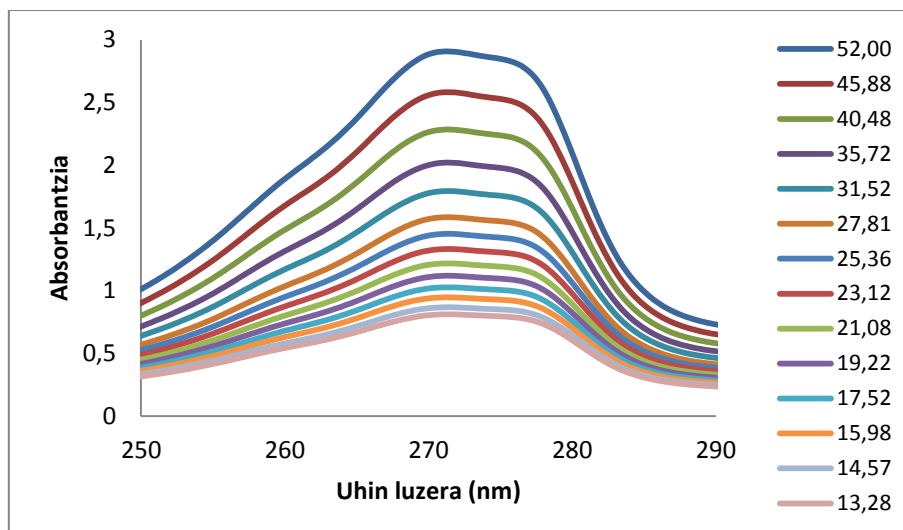
Irudia 33: 271 nm-tan lortutako maximoaren absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.

BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA

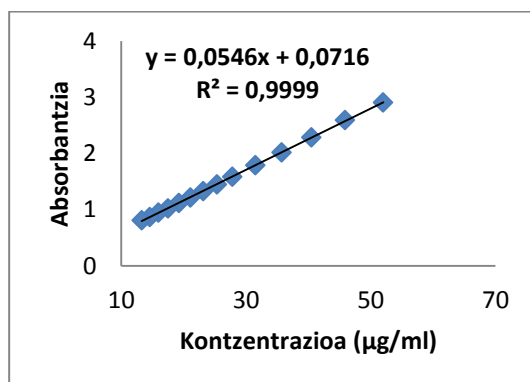


Irudia 34: Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espeketroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espeketroak.

- OZ6

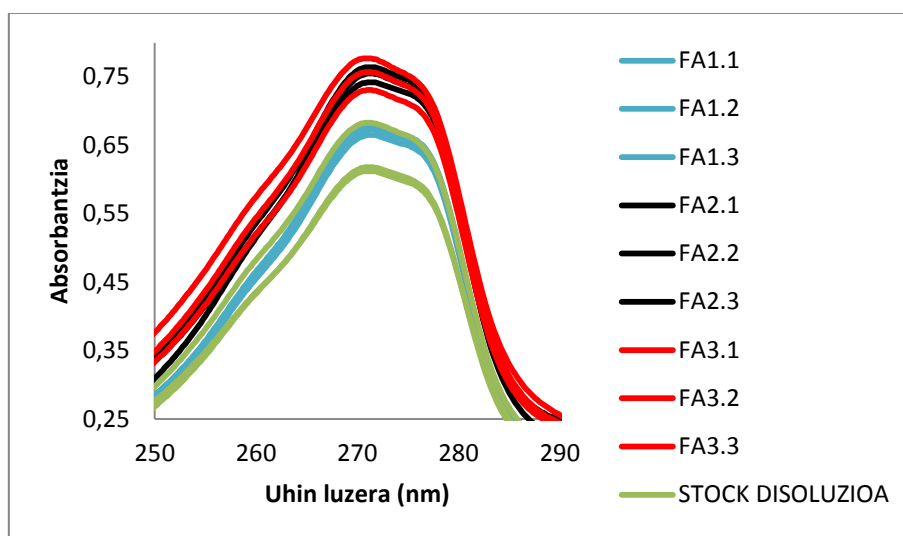


Irudia 35: OZ6 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/L}$) ur disoluzioen UVA-vis espeketroak.



Irudia 36: 271 nm-tan lortutako maximoaren absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibratio zuzena.

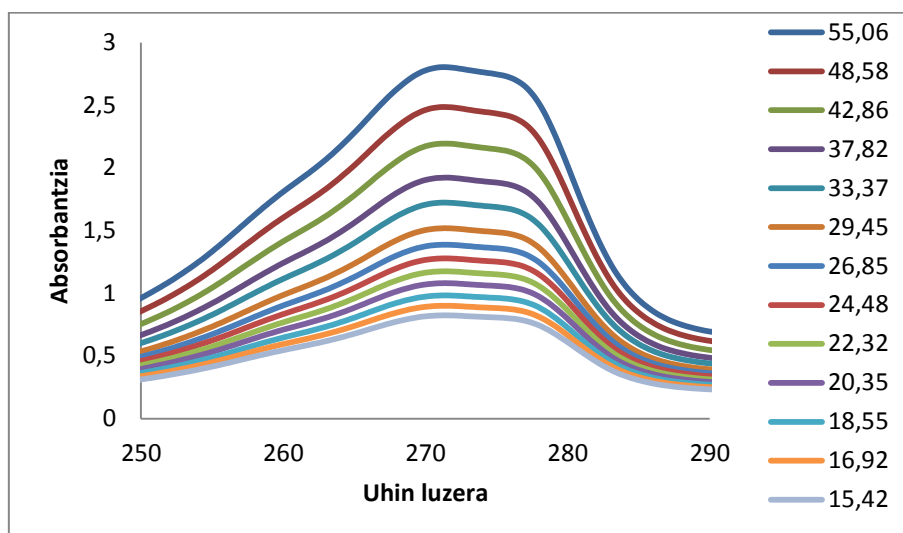
BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA



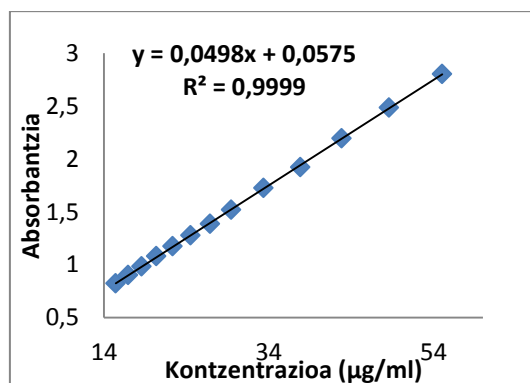
Irudia 37: : Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektroak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektroak.

- OZ8

KALIBRAZIO ZUZENA



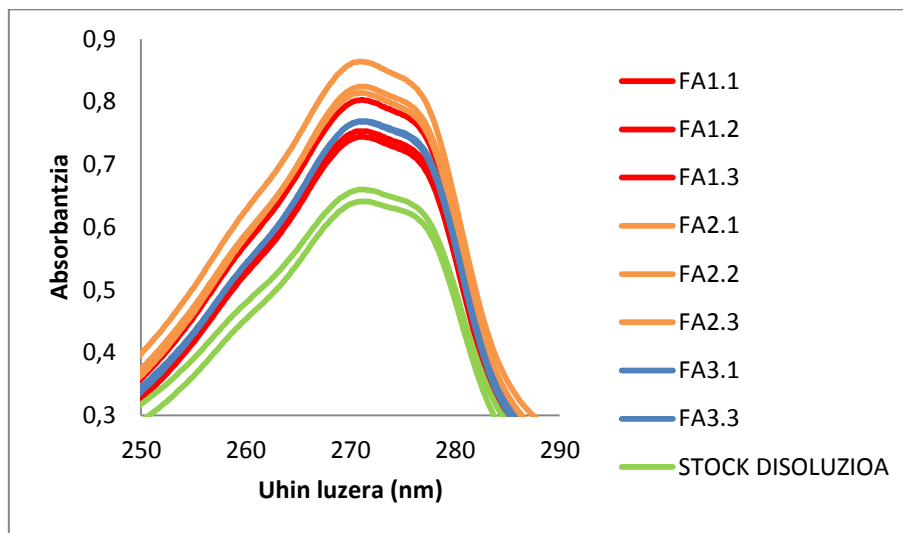
Irudia 38: OZ6 konposatuaren kontzentrazio ezberdinetako ($\mu\text{g/L}$) ur disoluzioen UVA-vis espektroak.



Irudia 39: 271 nm-tan lortutako maximoaren absorbantzia kontzentrazioaren aurrean irudikatuz lortutako kalibrazio zuzena.



BANAKETA KOEFIZIENTEAREN KALKULUA



Irudia 40: Banaketa ondoren ur faseen UM-Ikus espektoak eta banaketa aurretik ur fasearen (STOCK DISOLUZIOA) UM-Ikus espektoak.



TGA

TGA-aren neurketak ez dute nahi bezain informazio baliagarria eman baina ala eta guztiz ere hainbat datu garrantzitsu eskaintzen dituzte. Neurketak 100°C-tik aurrera hasten dira, OZ1 eta OZ7 kasuan temperatura honen aurretik hauen konposizioaren zati bat galdu dute. Honi esker ondorioztatzen da konposatu hauek hidratatuak daudela.

Gas atmosphere: N₂
Ramp 10.00 °C/min to 800.00 °C

