

Diss. ETH Nr. 9534

Lösungsschemische Untersuchungen von
Metallkomplexen mit N-substituierten Derivaten
des all-cis-1,3,5-Triamino-2,4,6-cyclohexantriols

Abhandlung

zur Erlangung des Titels
Doktorin der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

RITA OBERHOLZER

Dipl. Chem. ETH
geboren am 27. März 1958
von Goldingen SG

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. Walter Schneider, Referent
Prof. Dr. Giorgio Anderegg, Korreferent

Zürich 1991
Zentralstelle der Studentenschaft

Einsehen
12.12.91

W. Schneider

Zusammenfassung

Im Hinblick auf die Anwendung der N-substituierten Derivate von all-cis-1,3,5-Triamino-2,4,6-cyclohexantriol als Chelatbildner im medizinisch-therapeutischen Bereich, wurde vor allem die Komplexbildung mit Fe(III) untersucht. Teilstudien zu Al(III) und Cu(II) erlauben die Abgrenzung im Verhalten gegenüber Fe(III).

Bedingt durch die nur sehr beschränkt verfügbaren Mengen von Liganden wurde versucht, mit einem minimalen Satz von Experimenten erste Angaben über die Teilchenvielfalt, deren Stöchiometrie, Koordinations-sphären sowie Mischkomplexe mit Phosphat und Carbonat zu erhalten. Folgende Untersuchungsmethoden wurden eingesetzt: Titrationskurven, UV/VIS-Spektrophotometrie, Gelelektrophorese und Polarografie. Zur Ermittlung von konditionellen Stabilitäten für den physiologischen pH-Bereich wurden Ligandaustauschgleichgewichte untersucht, während konventionelle Stabilitäten abgeschätzt wurden. Die Chelatoren wurden zudem auf ihre Fähigkeit geprüft, Eisen aus Transferrin auszubauen und polynukleare bzw. feste Eisenoxid/hydroxidphasen aufzulösen.

Wenn die dreizähligen Chelatoren ($H_3dm = \text{all-cis-1,3,5-Tris-(dimethyl-amino)-2,4,6-cyclohexantriol}$, $H_3tm^{3+} = \text{Tris-trimethylammonio-ch-triol}$, $H_3ad = \text{Tris-N-acetylamid-ch-triol}$) im Überschuss vorliegen, dominieren nur im Falle des dimethylierten (H_3dm) sowie des Amidderivates (H_3ad) Komplexe mit 1:2-Stöchiometrie in eindeutiger Weise. Mittels polarografischen Messungen konnte gezeigt werden, dass beim trimethylierten Derivat (H_3tm^{3+}) über den ganzen pH-Bereich ein Gleichgewicht zwischen 1:1- und 1:2-Komplexen vorliegt. Dieser Sachverhalt wurde durch Stabilitätsabschätzungen unterstützt. Unsicherheiten bestehen bezüglich der Existenz einer Spezies mit Koordinationszahl 7 im alkalischen Bereich (möglicherweise $Fe(tm)_2(OH)^{2+}$) sowie einer strukturellen 'Entartung' von $FeH_2(tm)_2^{5+}$. Es war mit den verfügbaren Daten noch nicht möglich, einen definitiven Satz von Teilchen zuzuordnen, der die Titrationskurve und die polarografischen Resultate verbindlich wiedergibt und die zugehörigen Stabilitätskonstanten zu bestimmen erlaubt.

Das potentiell sechszählige Carboxylatderivat ($H_6pt = \text{Tris-N-carboxyethyl-ch-triol}$) koordiniert im neutralen Bereich nicht ausschliesslich sechszählige, und im alkalischen Gebiet sind 1:2 Komplexe mit reiner Alkoxo-koordination bevorzugt.

Die konditionellen wie auch konventionellen Stabilitäten sind allgemein sehr hoch. Die höchsten Werte wurden für $Fe(H_3dm)_2^{3+}$ gefunden,

nämlich $\log \beta_2^N \approx 61^1$, wobei die konditionelle Stabilität bei pH 7.4 zu $\log K_C = 27.5$ bestimmt wurde (zum Vergleich: Desferal® $\log K_C = 26.0$).

Die 1:1 Komplexe mit H_3tm^{3+} und H_3dm bilden starke Mischkomplexe mit Phosphat, wie im neutralen Bereich polarografisch nachgewiesen werden konnte. Überraschenderweise kann auch das Carbonation – allerdings nur in alkalischer Lösung – am Fe(III) koordinieren.

Der Eisenaustritt aus Transferrin ist bei physiologischem pH-Wert selbst bei Zugabe eines Mediators (Phosphat bzw. Glykolat) sehr gering. Der Abbau von TRIS-geschützten kolloidal gelösten Eisenoxidhydroxiden in homogener Lösung wurde halbquantitativ mittels Gelelektrophorese verfolgt. Der Abbau bei einem geringen Ligandüberschuss (Fe:L = 1:4) verläuft langsam, und nur das dimethylierte Derivat vermag innerhalb von etwa 30 Stunden mehr als die Hälfte des Eisens zu komplexieren.

Die Titrationskurve von Al(III) mit 2 H_3dm ist im alkalischen und neutralen Bereich beinahe kongruent mit derjenigen von Fe(III). Die Stabilitäten der an den Aminogruppen protonierten Komplexe $Al(H_3dm)_2^{3+}$ müssen jedoch deutlich geringer sein als die entsprechenden Eisen(III)-komplexe.

Ein differenzierteres Verhalten zeigt H_3tm^{3+} mit Al(III). Titrationskurven und gelelektrophoretische Untersuchungen weisen auf dominante 1:1-Komplexbildung im neutralen und alkalischen Bereich hin. In saurem Medium zeigen die Komplexe allerdings relativ geringe Stabilität.

Die Auflösung von Kaolin (ein Alumosilikat) als Quasi-Repräsentant einer Alzheimer-Plaques verläuft in Anwesenheit von H_3dm wie auch H_3tm^{3+} sehr langsam.

Cu(II) ist erwartungsgemäss nicht in der Lage, mit Fe(III) um die Tripodliganden zu konkurrieren. Eine bemerkenswerte Besonderheit zeigen die UV/VIS-Spektren für H_3dm als Ligand (im Überschuss) auf, nämlich die Koordination von mindestens vier Stickstoffatomen, ein starkes Indiz für Isomerisierung zur tris-axialen Lage der Amingruppen.

Für die weitere verbesserte Aufklärung der Gleichgewichte in Lösung sowie die Zuordnung von Strukturen wäre in einer nächsten Stufe die Präparation von kristallinen Komplexverbindungen vordringlich. Dies gilt vor allem für intermediäre Protonierungsstufen, z.B. Komplexe mit je drei Hydroxyl- und drei Alkoxy-Ligandgruppen, in welchen Wasserstoffbrücken paarweise die koordinierten Sauerstoffe verknüpfen könnten.

¹ Der Index N bedeutet Protonierung der N-Atome bei deprotonierten Hydroxylgruppen.

Abstract

The complex formation of some new N-substituted derivatives of all-cis-1,3,5-triamino-2,4,6-cyclohexanetriol as designed for therapeutical purposes has been investigated. The more extended studies on Fe(III) complexes were supplemented by preliminary work on Al(III) and Cu(II) complexes to verify prominent differences in behaviour with respect to iron(III).

Since rather limited amounts of ligands were available, a minimum set of experiments was designed that could provide information on the series of complexes formed as well as their stoichiometry and their coordination spheres. Moreover, the formation of mixed complexes with phosphate and carbonate was investigated. The following methods were used: titration curves, UV/VIS spectrophotometry, gel electrophoresis, and polarography. Ligand exchange equilibria were studied to obtain conditional stabilities in the physiological pH range, where as conventional stability constants were estimated on the basis of stability data for related complexes. Finally, the chelating ligands were tested for their ability to remove iron from transferrin, and to dissolve colloidal or solid ironoxide/hydroxides.

If the tridentate chelators ($H_3dm = \textit{all-cis-1,3,5-Tris}(\textit{dimethylamino})\textit{-2,4,6-cyclohexanetriol}$, $H_3tm^{3+} = \textit{Tris-trimethylammonio-ch-triol}$, $H_3ad = \textit{Tris-N-acetylamid-ch-triol}$) are present in excess, iron(III) complexes with 1:2 stoichiometry clearly dominate in the systems containing either the dimethylated derivative (H_3dm) or the amide (H_3ad). A different situation was indicated by polarographic measurements in solutions of the trimethylated derivative (H_3tm^{3+}), i.e. an equilibrium between 1:1 and 1:2 complexes all over the pH range $pH \geq 3$. These results are supported by stability estimations. There is some experimental evidence for species with a coordination number of 7 in the alkaline range (possibly $Fe(tm)_2(OH)^{2+}$), and some structural 'degeneration' of $FeH_2(tm)_2^{5+}$. However, no safe conclusions could be reached as yet. At present, the data do not allow to elucidate the complete set of species as needed to reproduce the titration curves and to determine the corresponding stability constants.

The potentially hexadentate carboxylate derivative ($H_6pt = \textit{Tris-N-carboxyethyl-ch-triol}$) does not coordinate exclusively in a hexadentate fashion in the neutral region. To some extent, 1:2 complexes with pure alkoxo coordination are formed, which prevail in the alkaline range.

For all the set of ligands, the conditional and conventional stability constants of iron(III) complexes are very high. The highest values were found

for $\text{Fe}(\text{H}_3\text{dm})_2^{3+}$ with $\log \beta_2^{\text{N}} \approx 61^1$ and the conditional stability at pH 7.4 $\log K_c = 27.5$ (for comparison: $\log K_c = 26.0$ for Desferal®).

The 1:1 complexes with H_3tm^{3+} and H_3dm form strong mixed ligand complexes with phosphate as shown by polarographical studies in neutral range solutions. Rather surprisingly, also the carbonate ion coordinates quite strongly to Fe(III), but only in alkaline solution.

The mobilisation of iron from transferrin is rather slow at physiological pH, and it can not be accelerated effectively by a mediator such as phosphate or glycolate. The decay of TRIS-protected colloids could be followed with gel electrophoresis. The decay rates are rather low for ratios Fe:L = 1:4. The most effective ligand is H_3dm which is able to complexate more than half of the iron within about 30 hours.

The titration curve of solutions with Al(III) / 2 H_3dm is rather similar to that of Fe(III) in the alkaline and neutral region. However, the stabilities of the complexes $\text{Al}(\text{H}_3\text{dm})_2^{3+}$ with protonated amino groups must be significantly smaller than those of the corresponding iron (III) complexes.

A more differentiated behaviour is shown by H_3tm^{3+} with Al(III). Titration curves and gel electrophoresis studies demonstrate that 1:1 complexes prevail in the neutral and alkaline range. However, in acid solution the complexes are rather unstable.

The dissolution of kaolinite (an alumina silicate used as a model of an Alzheimer plaque) occurs in the presence of H_3dm and H_3tm^{3+} very slowly.

As expected, Cu(II) is not able to compete with Fe(III) for the tripod ligands. A remarkable characteristic is shown by the UV/VIS spectra with H_3dm as ligand in excess, i.e. the coordination of at least four nitrogen ligand atoms, which is a strong indication for an isomerization from the tris equatorial to the tris axial orientation of the amino groups.

In order to get further information about the equilibria in solution, and to assign structures, the preparation of crystalline complex compounds and their X-ray structural analysis would be highly recommendable. It would be particularly relevant to elucidate the structures of intermediate members of the series of complexes with both, three hydroxy and three alkoxy ligand groups, in which the coordinated oxygen atoms are coupled pairwise by hydrogen bridges.

¹ Index N: protonated N-atoms, deprotonated hydroxyl groups.