

Oldalláncban kelátképző donorcsoportot tartalmazó  
aminosavszármazékok átmenetifém-komplexeinek  
egyensúlyi vizsgálata

Készítette: Ósz Katalin  
V. vegyész

Témavezető: Dr. Várnagy Katalin  
tudományos munkatárs

Kossuth Lajos Tudományegyetem  
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

1999

Ezúton szeretném megköszönni *Dr. Sóvágó Imre* egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette számomra e diplomamunka elkészítését az általa vezetett Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszéken.

Őszintén köszönöm témavezetőmnek, *Dr. Várnagy Katalin* tudományos munkatársnak a munkám során nyújtott sokrétű, önzetlen segítségét.

Köszönöm *Süliné Dr. Vargha Helgának* (MTA Peptidkémiai Kutatócsoport) és *Lennert Lídiának* (ELTE Szerves Kémiai Tanszék), hogy a ligandumok előállításával lehetővé tették ezen egyensúlyi vizsgálatok elvégzését.

Köszönöm *Prof. Giovanni Micera* és *Dr. Daniele Sanna* (Department of Chemistry, University of Sassari, Italy) segítségét, az ESR-spektrumok felvételét és kiértékelését.

Köszönöm *Hüse Ilona* vegyésztechnikusnak az értékes gyakorlati tanácsait, melyekkel munkámat segítette.



# Tartalomjegyzék

<b>1.</b>	<b>Bevezetés</b> .....	4
<b>2.</b>	<b>Irodalmi előzmények</b> .....	6
2.1.	Bisz(2-imidazolil)származékok komplexkémiai viselkedése .....	6
2.2.	Bisz(2-piridil)származékok komplexkémiai viselkedése.....	9
<b>3.</b>	<b>Kísérleti körülmények, vizsgálati módszerek</b> .....	12
3.1.	pH-potenciometria.....	12
3.2.	UV-látható spektrofotometria .....	14
3.3.	NMR-spektroszkópia .....	17
3.4.	ESR-spektroszkópia .....	17
3.5.	A használt vegyszerek.....	18
3.6.	A vizsgált ligandumok.....	18
<b>4.</b>	<b>Kísérleti eredmények és értékelésük</b> .....	20
4.1.	A ligandumok protonálódási állandó értékei .....	20
4.2.	A ligandumok átmenetifém-komplexei.....	23
4.2.1.	Az alapvegyületek nikkell(II)komplexei.....	23
4.2.2.	A bisz(2-piridil)-metil-amin aminosavszármazékainak réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexei.....	27
4.2.2.1.	Az N-glicil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] komplexei.....	27
	Cu(II)-GlyBPMA rendszer.....	28
	Ni(II)-GlyBPMA rendszer .....	31
	Zn(II)-GlyBPMA rendszer.....	33
4.2.2.2.	Az N-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] komplexei .....	36
	Cu(II)-HisBPMA rendszer .....	37
	Ni(II)-HisBPMA rendszer.....	42
	Zn(II)-HisBPMA rendszer .....	44
4.2.3.	A bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosavszármazékainak réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexei .....	45
4.2.3.1.	Az N-glicil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] nikkell(II)komplexei.....	45
4.2.3.2.	Az N-hisztidil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] komplexei.....	48
<b>5.</b>	<b>Összefoglalás</b> .....	49
	Irodalomjegyzék.....	51

# 1. Bevezetés

Különböző fémionok fontos szerepet játszanak az élő szervezetek szerves molekuláinak szintézisében és szállításában, ill. biológiai rendszerek sav-bázis- és redoxifolyamatainak a katalizálásában.

Az egyik legfontosabb fémmegkötőhelyet a proteinek képezik. Ezek találhatóak meg a metalloenzimekben is, ahol a fémionok a polipeptidlánc speciális aminosavjaihoz (pl. a hisztidin aminosav imidazolil-oldalláncához) kötődnek.

Metalloenzimeknél a fémion lehet csupán az enzim harmadlagos szerkezetét stabilizáló passzív tényező, azonban igen gyakran aktív szerepet is játszik a katalízis folyamatában. Részt vehet a szubsztrát kötésében vagy a reakció intermedierjeinek a stabilizálásában. A fémiont tartalmazó enzimeknek egy jelentős csoportja oxido-redukciós folyamatokat katalizál, amelyekben a fémionnak alapvető szerepe van.

A különféle oligopeptid-származékokkal képzett fémkomplexek vizsgálata nagyban elősegíti a fémionok és proteinek közötti kölcsönhatás megértését. Ezek a kismolekulák alkalmasak lehetnek a metalloproteinek aktív centrumának a modellezésére, illetve fémionhoz való speciális, igen erős kötődésüket kihasználva metalloenzimek szelektív gátlására is <sup>[1]</sup>.

## **A vizsgálatok célja:**

A már eddig is szélesebb körben vizsgált réz(II)ion mellett a nikkell(II)- és cink(II)ion szintén biológiai rendszerek fontos része:

Nikkell(II)iont tartalmazó metalloenzimek a baktériumokban előforduló [NiFe]- és [NiFeSe]-hidrogenázok valamint a szénmonoxid-dehidrogenáz enzim, de ugyanígy nikkell(II)iont tartalmaz a már magasabbrendű élőlények számára is nélkülözhetetlen, szintén baktériumok által a bélben termelt ureáz enzim is.

A cink(II)ion metalloenzimekben sokkal elterjedtebb központi ion mint a réz(II)ion. Azok az enzimek, amelyek karbonsavészterek, amidok, peptidek vagy foszfátok hidrolízisében vesznek részt, majdnem mindig cink(II)iont tartalmaznak az aktív centrumukban. Cink(II)iont tartalmazó enzim pl. a szénsavanhidráz, karboxipeptidáz, termolizin, alkohol-dehidrogenáz, szuperoxid-dizmutáz és az elasztáz. Ezen enzimekben is a

peptidláncban található hisztidin aminosavak imidazolil-oldalláncai a szerkezeti (harmadlagos szerkezet kialakításában résztvevő) és katalitikus (aktív centrumban levő) fémionok fő kötőhelyei.

Korábban az MTA Peptidkémiai Kutatócsoportjában cinkproteázok szelektív gátlására előállított bisz(2-imidazolil)-metil fémmegkötő csoportot tartalmazó peptidszármazékok 3d átmenetifém-komplexeit vizsgálták a KLTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén [2-4]. Ezen vizsgálatok első lépése az egyszerűbb bisz(2-imidazolil)-metil-származékok réz(II)- és cink(II)ionnal való komplexképzésének tisztázása volt. Három ilyen alapvegyület szintézise és oldategyensúlyi vizsgálata történt meg: a bisz(2-imidazolil)-metáné (BIM), bisz(2-imidazolil)-metil-aminé (BIMA) és 3[bisz(2-imidazolil)]-propionsavé (BIP). Ezután kezdődhetett meg a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó aminosav- és peptidszármazékok tanulmányozása, melyek már nem csak az enzim aktív centrumának a szerkezetét modellezték, hanem a proteáz által hasítandó szubsztrátot (peptidet) is.

Ismeretes, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil-aminnal (BIMA) analóg bisz(2-piridil)-metil-amin (BPMA) szintén stabil komplexeket képez a legtöbb átmenetifém-ionnal [5], ezért vizsgálatainkat ilyen csoportot tartalmazó aminosav- és peptidszármazékokra is kiterjesztettük. Ezekben a vegyületekben a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot gyengébb fémmegkötő képességű bisz(2-piridil)-metil-csoporttal helyettesítettük, így itt egyszerűbb összetételű komplexek képződésére, egyszerűbb modellrendszer kialakítására nyílik lehetőség, mely ezáltal segítséget nyújthat az összetettebb, bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó rendszerek koordinációs kémiájának a megértéséhez.

Vizsgálataink célja az volt, hogy az imidazolil fémmegkötő csoportot tartalmazó metalloenzimek modellezésére alkalmas bisz(2-imidazolil)-metil-amin különböző aminosavszármazékainak réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)ionnal való komplexképzését tisztázzuk.

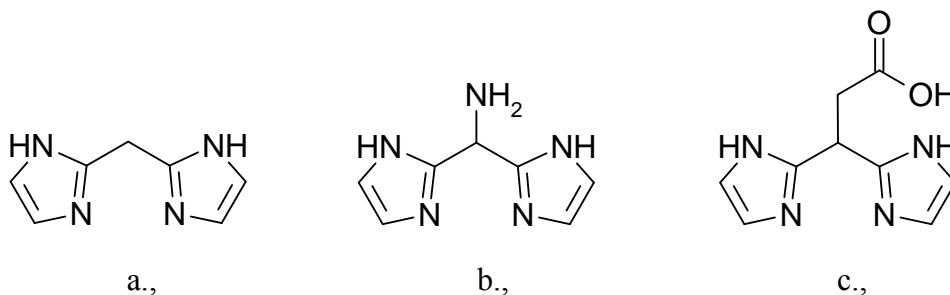
A vizsgálatokat minden esetben célszerű volt az alapvegyületek, majd az egyszerűbb modellrendszer, a bisz(2-piridil)-metil-származékokkal alkotott komplexek vizsgálatával kezdeni.

## 2. Irodalmi előzmények

### 2.1. Bisz(2-imidazolil)származékok komplexkémiai viselkedése

Metalloenzimekben a hisztidin aminosav imidazolil-oldalláncának 3-as helyzetű, fiziológiai körülmények között deprotonált nitrogénje gyakran a fémionok kötődési helye. Ezen enzimek aktív centrumában a fehérjemolekula háromdimenziós szerkezete az imidazolgyűrűket olyan közeli helyzetbe hozza, hogy azok képesek egyazon fémionhoz koordinálódni. Így ezeknek az enzimeknek jó modelljei lehetnek azok az egyszerű bisz(imidazolil)származékok, amelyekben a két imidazolgyűrűt alifás szénlánc köti össze <sup>[2,3]</sup>. A korábbi vizsgálatok <sup>[6]</sup> azt mutatták, hogy ezen enzimek aktív centrumának a modellezéséhez az összekötő alifás láncnak vagy valóban egy hosszú, legalább öt szénatomból álló szénláncnak kell lennie (mint ahogy az enzim proteinjében is lineárisan távol esnek egymástól a kötésben résztvevő hisztidin aminosavak), vagy csak egyetlen -CH<sub>2</sub>-egységnek kell lennie a két imidazolilcsoport között. Ez utóbbi esetben van ugyanis lehetőség a fémionnal stabilis, hattagú kelátgyűrű képződésére.

Korábban három ilyen bisz(2-imidazolil)-metil-származék alapvegyület szintézise, és ezek réz(II)- ill. cink(II)komplexeinek vizsgálata történt már meg <sup>[2,3,7-9]</sup>.



1. ábra: A legegyszerűbb bisz(2-imidazolil)-metil-származékok szerkezete

a.: bisz(2-imidazolil)-metán (BIM)

b.: bisz(2-imidazolil)-metil-amin (BIMA)

c.: 3[bisz(2-imidazolil)]-propionsav (BIP)

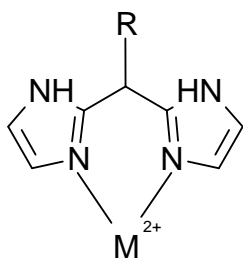
A bisz(2-imidazolil)-metil-amin és a 3[bisz(2-imidazolil)]-propionsav szabad amino- ill. karboxilcsoportja lehetővé teszi, hogy hozzájuk peptidkötéssel, C- ill. N-terminálisan aminosavat, vagy akár egy hosszabb peptidláncot kapcsoljunk <sup>[2,3,7]</sup>.

Ha valamely metalloenzim szelektív gátlását akarjuk elérni, akkor a fémiont jól koordinálni képes bisz(2-imidazolil)-metil-csoporthoz olyan vegyületrészt (ebben az esetben egy peptidláncot) kell kapcsolni, amely modellezi az enzim által hasítható szubsztrátot, vagy annak hasadó kötés körüli környezetét. Ezen elképzelés alapján próbálták kifejleszteni az emlős kollagenáz enzim – egy, a ProLeuGlyIleAlaGly kollagén szekvenciát hasító, aktív centrumában cink(II)-iont tartalmazó metalloenzim – szelektív inhibitorát [2-4].

Egy ilyen összetett komplexkémiai rendszernek tanulmányozásánál, mint amilyen pl. egy bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó peptidszármazék cink(II)-ionnal történő komplexképzésének a vizsgálata, először a ligandum részegységeinek az adott fémionnal történő viselkedését kell tisztázni.

Az átmenetifémek különböző peptidekkel alkotott komplexeit nagyon sokféle szempontból vizsgálták már, viszont a bisz(2-imidazolil)-metil-rész komplexkémiai viselkedésével kapcsolatos irodalmi adatok még igen hiányosak voltak.

Az ez utóbbi csoportot tartalmazó ligandumok átmenetifém-komplexeinek eddigi vizsgálatai [8,10-12] egyrészt azt mutatják, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport erős fémmegkötő sajátságú. Ez az imidazolgyűrűk erős  $\pi$ -akceptor sajátságával és a hattagú, stabilis kelátszerkezet kialakulásának a lehetőségével magyarázható:



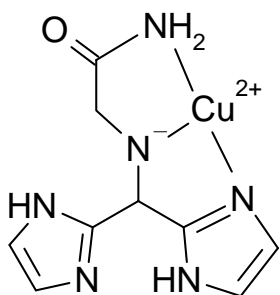
2. ábra: Az  $[ML]^{n+}$  összetételű komplexek szerkezete, a hatos kelátszerkezet kialakulása

A szabad terminális aminos csoportot nem tartalmazó alapvegyületek (BIM és BIP), ill. az N-terminális végükön védett peptidszármazékok réz(II)- ill. cink(II)-ionnal történő komplexképzését tanulmányozva azt találták, hogy a fémion körül a teljes pH-tartományban a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportok koordinálódnak, stabilis mono- ill. biszkomplexeke képezve. Ezt a koordinációs módot egy deprotonált karboxilcsoport, vagy a peptidszekvenciában lévő hisztidin aminosavak imidazolilcsoportjai nem változtatják meg lényegesen, vagyis ezek a donorcsoportok csak gyengébb, axiális koordinációra képesek.



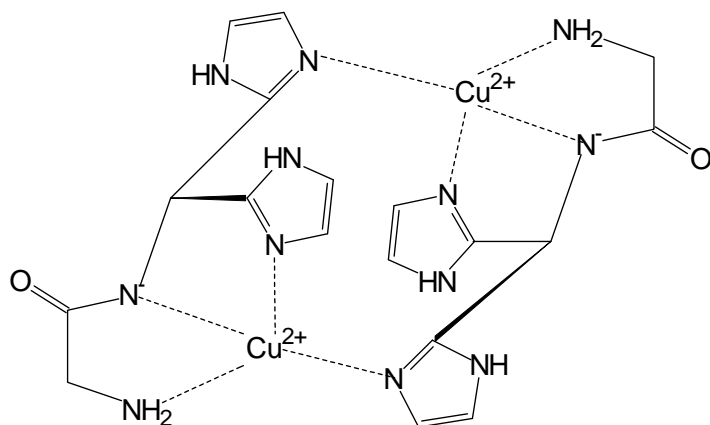
A vizsgálatok másrészt azt mutatták, hogy a koordinációs módot egy szabad terminális aminocsoport jelenléte alapvetően befolyásolja. Ebben az esetben ugyanis deprotonálódása után az aminocsoport képes konkurálni a bisz(2-imidazolil)-metil-csoporttal az erősebb, ekvatoriális kötőhelyekért. A Cu(II)-BIMA rendszerben semleges pH-nál képződő komplexekre is ez a koordinációs mód jellemző: a réz(II)ion körüli ekvatoriális kötőhelyeket a ligandum amino- és egyik imidazolilcsoportja foglalja el. A másik imidazolilcsoport így a távolabbi, axiális koordinációs helyre szorul.

A bisz(2-imidazolil)-metil-amin (BIMA) C-terminális aminosavszármazékaiban az aminocsoporttal kelátképző helyzetben amidcsoport is található a ligandumban. Ekkor az aminocsoport deprotonálódásával párhuzamosan lejátszódik az amid-nitrogén deprotonálódása is, és peptidszerű koordináció alakul ki a fémion körül [4]:



3. ábra: A Cu(II)-GlyBIMA rendszerben képződő  $[CuLH_1]^+$  sztöchiometriájú komplex koordinációs módja

A 3. ábrán látszik, hogy a peptidszerű koordináció kialakulása után a réz(II)ion körül még van egy negyedik, szabad ekvatoriális koordinációs hely, és a ligandum egyik imidazolilcsoportja még szintén szabad, koordinálódásra képes. Ez lehetőséget teremt dimer szerkezet kialakulására, melynek képződését a Cu(II)-GlyBIMA rendszerben mind spektrofotometriásan, mind ESR-spektroszkópiával sikerült kimutatni ( $[Cu_2L_2H_2]^{2+}$  összetételű komplex) [4].



4. ábra: A Cu(II)-GlyBIMA rendszerben képződő  $[Cu_2L_2H_2]^{2+}$  összetételű komplex szerkezete

Ezeknek az imidazolilcsoporton mint hídcsoporton keresztül kialakuló dimer vagy más oligomer szerkezeteknek a jelenléte jelentősen megnehezíti a réz(II)iont tartalmazó rendszerek oldategyensúlyi vizsgálatát, mivel a monomerek és a dimerek közti különbség potenciometriásan nem mérhető ki egyértelműen. Ezért kezdtük el a bisz(2-imidazolil)-metil-származékokkal analóg, de gyengébb fémmegkötő képességű, így dimerek képzésére kevésbé hajlamos bisz(2-piridil)-metil-származékok vizsgálatát.

Cink(II)ionnal a réz(II)komplexekéhez hasonló összetételű, de kisebb stabilitási állandójú részecskéket lehet kimutatni. A cink(II)ion gyengébb koordinálódási képességének (Irwing-Williams sor) megfelelően a komplexek csak magasabb pH-nál kezdenek el kialakulni.

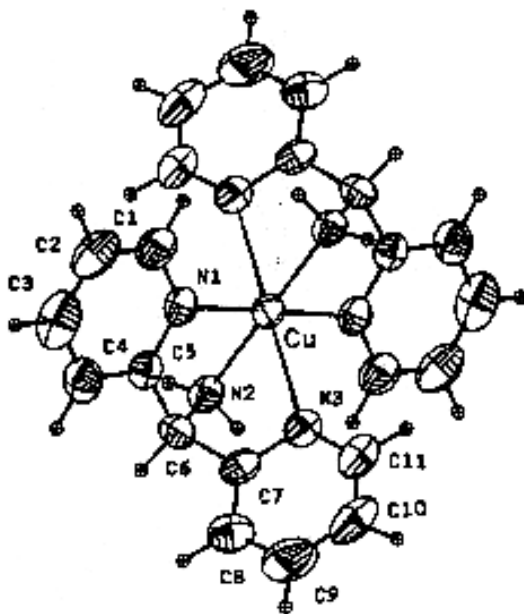
## 2.2. Bisz(2-piridil)származékok komplexkémiai viselkedése

Ezekben a vegyületekben a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportokat kisebb  $\pi$ -akceptor és  $\sigma$ -donor sajátságú, így koordinálódásra ill. hídcsoportként dimer szerkezetek képzésére kevésbé hajlamos bisz(2-piridil)-metil-csoportokkal helyettesítettük.

A különböző bisz(2-piridil)-alkánok, köztük a bisz(2-piridil)-metán fémkomplexeinek a vizsgálatát H. Bühler és G. Anderegg végezte el <sup>[6]</sup>. Ennek során megállapították, hogy stabilis mono- ill. biszkomplexek képződnek két, ill. négy piridilcsoport koordinálódásával. Ezen komplexek stabilitása réz(II) > nikkel(II) > cink(II) irányban csökken. Cink(II)ionnal

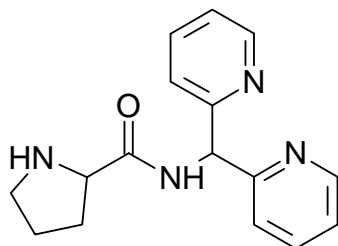
kisebb mennyiségben egy-piridines koordinációjú monokomplexek képződését is sikerült kimutatniuk.

A bisz(2-imidazolidil)-metil-aminnal analóg bisz(2-piridil)-metil-amin (BPMA) semleges pH-tartományban mind a réz(II)-, mind a nikkell(II)ionhoz háromfogú ligandumként koordinálódik a három nitrogénatomján keresztül [5]. A fémion/ligandum aránytól függően stabilis mono- ill. biszkomplexek képződnek oktaéderez geometriával, melyeknek azonban kisebb a stabilitása mint a Cu(II)-BIMA ill. Ni(II)-BIMA rendszerben képződő, azonos összetételű biszkomplexeké.



5. ábra: A Cu(II)-BPMA rendszerben képződött mezo-[CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> összetételű komplex röntgendiffrakciós szerkezete

Ezek az alapvegyületeken kívül a C-terminális prolinszármazék réz(II)- nikkell(II)- és cink(II)ionnal alkotott komplexeinek az oldategyensúlyi és UV-látható spektrofotometriás vizsgálata történt már meg [13].



6. ábra: Az N-prolil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] (ProBPMA) szerkezete

A legnagyobb stabilitású komplexek a réz(II)ionnal képződnek, így a ligandum savas tartományban szelektív rézmegkötő tulajdonságú.

A Cu(II)-ProBPMA rendszer mérési eredményei alapján megállapították, hogy a koordináció savas pH-tartományban a bisz(2-piridil)-metil-csoporton kezdődik, mindkét piridilcsoport koordinálódásával. Ebben a pH-tartományban még mind az amino-nitrogén, mind az hisztidil-oldallánc imidazolil-nitrogénje protonált formában van. Biszkomplexek a Cu(II)-BPM (BPM = bisz(2-piridil)-metán) és Cu(II)-BPMA rendszerrel ellentétben itt nem képződnek. Ezt a piridilcsoport kisebb fémmegkötő képessége mellett szterikus gátlások okozzák.

A pH növelésével bekövetkezik az amid-nitrogén deprotonálódása, és a réz(II)ion körül kialakul a peptidszerű koordináció. A teljes fiziológiás pH-tartományban ez a peptidszerű koordinációjú részecske az uralkodó. A Cu(II)-GlyBIMA rendszerrel ellentétben azonban itt a szabad piridilcsoport nem elég erős fémmegkötő sajátosságú ahhoz, hogy elősegítse dimer szerkezetek kialakulását. Ezt igazolták mind az UV-látható spektrofotometriás, mind az ESR-spektroszkópiás vizsgálatok.

A pH további növelésével, pH=9 fölött a réz(II)ion körüli negyedik ekvatoriális koordinációs helyet elfoglaló vízmolekula deprotonálódásával vegyes hidroxó-komplex képződik.

Mind nikk(II)-, mind cink(II)ionnal jóval kisebb stabilitású komplexek képződnek. Nikkel(II)ionnal még kimutatható a bisz(2-piridil)koordinációjú monokomplex, cink(II)ionnal azonban savas tartományban nem megy végbe a komplexképződés. A pH emelésével azonban ezekben a rendszerekben is végbemegy az amid-nitrogén deprotonálódása és kialakul a peptidszerű koordináció. A Ni(II)-ProBPMA és Zn(II)-ProBPMA rendszerekben azonban ligandumfelesleg esetén nem a monokomplexek hanem a biszkomplexek vannak túlsúlyban. Két ligandum peptidszerű koordinációjával cink(II)ion esetében oktaéderez geometriájú komplexek képződnek, míg a nikk(II)ionnal 1:1 fémion/ligandum aránynál kialakuló monokomplex spektrofotometriás vizsgálata már oktaéderez/síknégyszetes egyensúlyt mutat. Ez a fajta geometriaváltás nikk(II)ion különféle nitrogéndonorokkal alkotott komplexeinél elég gyakori.

## 3. Kísérleti körülmények, vizsgálati módszerek

### 3.1. pH-potenciometria

Valamennyi általunk vizsgált rendszert vizes oldatban tanulmányoztuk.

Potenciometriás módszerrel határoztuk meg a ligandumok protonálódási állandóit és a különböző sztöchiometriájú réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexek stabilitási állandóit. A méréseket pHM 84 (Radiometer) digitális pH-mérővel és 6.0234.100 (Metrohm) kombinált üvegelektóddal végeztük. A  $\sim 0,2$  mol/dm<sup>3</sup>-es, pontosan ismert koncentrációjú KOH mérőoldat adagolását Dosimat 715 (Metrohm) automata buretta segítségével valósítottuk meg.

A pH-mérőt 0,050 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát oldatra puffereltük, melynek pH-ja 298 K hőmérsékleten 4,008. Az állandó hőmérsékletet ultratermosztáttal, az oxigén kizárását és a kevertetést pedig katalitikusan tisztított argongáz átbuborékolásával biztosítottuk.

A ligandumok kezdeti teljes koncentrációja  $\sim 4 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> volt. A ligandumok koncentrációját beméréssel vagy – ahol pontos tömegmérésre nem volt lehetőség a ligandum viszkozus, olajos állaga miatt – a potenciometriás titrálási görbe ekvivalenciapontjai alapján, számítógépes program segítségével határoztuk meg.

A fémion/ligandum arányt 1:3 és 2:1 között változtattuk. A titrálások során fellépő térfogatnövekedést a kiértékelésnél használt számítógépes program figyelembe vette.

A minták állandó ionerősségét (0,20 mol/dm<sup>3</sup>) megfelelő mennyiségű 1 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú KCl-oldatnak a titrálandó oldathoz való hozzáadásával biztosítottuk. Ez az ionerősség jó pontossággal megegyezik a mérőoldal koncentrációjával, ugyanakkor jóval nagyobb mint a titrálandó oldat fémion- és ligandumkoncentrációjának az összege. Ez biztosítja azt, hogy a titrálás során az oldat ionerőssége gyakorlatilag ne változzon.

A diffúziós potenciál kiküszöbölésére Irwing és munkatársai által javasolt módszert<sup>[14]</sup> alkalmaztunk.

## Az oldategyensúlyi számítások elméleti alapjai:

A potenciometriás mérések kiértékelését számítógépes program segítségével végeztük el. Mind a ligandumok protonálódási állandóit, mind a komplexek stabilitási állandóit PSEQUAD programmal <sup>[15]</sup> számoltuk ki. Ez a program I. G. Sayce és D. D. Perrin SCOGS nevű programjának Zékány László és Nagypál István által továbbfejlesztett változata.

Az egyensúlyi rendszerre felírható a tömeghatás törvénye:

$$C_k = \sum_{j=1}^n \alpha_{jk} [S_j] = \sum_{j=1}^n \alpha_{jk} \beta_j \prod_{i=1}^k [c_i]^{\alpha_{ji}}$$

ahol  $n$ : a rendszerben lévő molekulafajták száma, beleértve a komponenseket is

$S_j$ : a  $j$ -edik, rendszerben jelenlévő molekulafajta

$k$ : a rendszerben lévő komponensek száma. Az általunk vizsgált valamennyi rendszerben 2 vagy 3 ilyen komponens fordult elő. A ligandumok protonálódási állandóinak a meghatározásánál 2 komponenssel (az oxóniumionnal (H) és a ligandum teljesen deprotonált formájával (L)), a fémkomplexek stabilitási állandóinak a vizsgálatánál pedig 3 komponenssel (az előző kettő mellett a fémionnal (M)) számoltunk.

$[c_1] \dots [c_k]$ : a komponensek egyensúlyi (szabad) koncentrációja

$\beta_j$ : a különféle molekulafajták képződési állandója. (A komponensek képződési állandója egységnyi.)

$\alpha_{ji}$ : sztöchiometriai szám, amely megadja a  $j$ -edik molekulafajtában az  $i$ -edik komponens számát

Vizes rendszerekben, melyeket mi is tanulmányoztunk, a hidroxidion sztöchiometriai száma hidrogénre -1, a többi komponensre 0. Ebből következően a hidroxidion képződési állandója  $K_w = [H^+][OH^-]$ . Ennek a figyelembe vétele szükségessé válik a titrálás lúgos tartományában.

A program képes ugyanazon rendszer különböző fémion/ligandum arányoknál vagy koncentrációknál kapott mérési adatait párhuzamosan kiértékelni.



## 3.2. UV-látható spektrofotometria

Spektrális vizsgálatokat réz(II)- és nikkell(II)komplexek esetében végeztünk, 250-800 ill. 190-1100 nm-es hullámhossztartományban.

A spektrumokat Hewlett Packard HP 8453 típusú egysugaras fotométeren, 1,000 cm-es küvettában vettük fel különböző fémion/ligandum arányoknál, általában a potenciometriás számolási eredmények alapján megszerkesztett eloszlásgörbék maximumainak megfelelő pH-értékeken. A fémkomplexek spektrumának vizsgálatához szükség volt a ligandum spektrumának a felvételére is, mivel az általunk vizsgált rendszereknél a szabad ligandumnak is van elnyelési sávja a közeli UV-tartományban.

A kapott spektrumok elemzését egyrészt a gyártó cég által biztosított kezelő- és kiértékelő programmal végeztük, másrészt egyes rendszerekre itt is számoltunk a PSEQUAD program <sup>[15]</sup> segítségével is. Ez utóbbi módon az egyes komplexek spektrumát külön-külön meg tudtuk adni.

A spektrumok elemzésével a képződött komplexek szerkezetére, geometriájára, a koordinálódó donoratomok számára és kémiai jellegére lehet következtetni.

### **Réz(II)komplexek** <sup>[16]</sup> ( $d^9$ elektronszerkezet):

A réz(II)komplexek spektroszkópiai sajátosságait különösen sokan vizsgálták már, így rengeteg irodalmi adat állt rendelkezésünkre. Ennek ellenére általános törvényszerűségeket nehéz levonni a koordinációs módok sokfélesége, a spektrumot befolyásoló sokféle tényező miatt.

A tetragonálisan torzult, oktaédes szerkezetű komplexekben gyenge és erős terű ligandumokkal különbözőképpen ugyan, de mindkét esetben négyfelé hasad az energiadiagram (a  $d^9$ -elektronok energiaszintje oktaédes térben kétfelé hasad a ligandum kriszáltyérerősségének megfelelő mértékben, majd a tetragonális torzulás mindkét energiaszintet újabb két-két szintre hasítja). Az így létrejött négy energiaszint között háromféle energiájú d-d átmenetnek kellene megjelennie.

Ezek az átmenetek gyakran összeolvadnak egyetlen sávzá, és az energiájuk ill. az intenzitásuk erősen függ attól, hogy a ligandumnak hány donoratomja koordinálódott a fémionhoz <sup>[17]</sup> :



1. táblázat: Réz(II)komplexek spektrális paramétereinek függése a koordinált nitrogének számától

koordinált nitrogének száma	$\lambda_{\max}$ [nm]	$\epsilon$ [dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]
1	680-730	30-60
2	620-670	40-120
3	540-590	100-150
4	500-530	120-200

Ezen kívül a  $\lambda_{\max}$  értékeket befolyásolja a komplex pontos geometriája és a donoratomok kémiai minősége is. Ez utóbbinak a hatását Sigel és Martin<sup>[18]</sup>, valamint Pettit és munkatársai<sup>[17]</sup> vizsgálták.

A vizes oldatban jelenlévő  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  ion négy ekvatoriális vízmolekulájának oxigén- vagy nitrogéndonorokkal történő szubsztitúciója az abszorpciós maximumot a rövidebb hullámhosszak felé tolja el. Ez az effektus különösen nitrogéndonoroknál jelentős. Kvantitatív összefüggések megadását az nehezíti, hogy az effektus nagysága a donoratom kémiai természetén kívül függ a kelátgyűrű méretétől, valamint a ligandumhoz kapcsolódó, de a koordinációban részt nem vevő szubsztituensektől is. (Ezeket a hatásokat figyelmen kívül hagyva a közelítő egyenlet 2% pontossággal adja meg a várható  $\lambda_{\max}$  helyét.)

Gly-tartalmú peptidekre:

$$\lambda_{\max}[\text{nm}] = 10^3 / [0,301(\text{C}=\text{O}/\text{H}_2\text{O}) + 0,342(\text{COO}^-) + 0,453(\text{NH}_2) + 0,485(\text{N} =)]$$

nem Gly-származékok esetében:

$$\lambda_{\max}[\text{nm}] = 10^3 / [0,294(\text{C}=\text{O}/\text{H}_2\text{O}) + 0,346(\text{COO}^-) + 0,460(\text{NH}_2) + 0,494(\text{N} =) + 0,434(\text{imidazol-N})]$$

Sokkal kényelmesebben alkalmazható az egyenlet, ha csak azokat a koordinációs helyeket vesszük figyelembe, ahol a  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}^-$  vagy karbonil-oxigén más koordinálódó csoportokkal van helyettesítve:

$$\lambda_{\max}[\text{nm}] = 10^3 / [1,18 + 0,052(\text{COO}^-) + 0,166(\text{NH}_2) + 0,200(\text{N} =) + 0,140(\text{imidazol-N})]$$

Ezek az összefüggések nem alkalmazhatóak abban az esetben, ha kelátképződés van az egyik axiális pozícióval. Az axiális koordináció ugyanis a  $\lambda_{\max}$  értékeinek kismértékű eltolódását eredményezi a nagyobb hullámhosszak felé (vörös eltolódás).

## Nikkel(II)komplexek <sup>[16]</sup> (d<sup>8</sup> elektronszerkezet):

A nikkell(II)komplexek koordinációs száma 2 és 7 között változhat, de a leggyakoribb koordinációs szám 4 és 6.

A 6-os koordinációs számú, oktaédes geometriájú komplexeknek három spinmegengedett d-d átmenete van a látható hullámhossztartományban, de mindhárom elég gyenge ( $\epsilon < 30 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) a Laporte-szabályban megfogalmazott tiltás miatt. Ezen átmenetek hullámhossztartományai:

$$\lambda_1 = 1430-770 \text{ nm } (^3A_2 \rightarrow ^3T_2 \text{ termék közötti átmenet})$$

$$\lambda_2 = 910-500 \text{ nm } (^3A_2 \rightarrow ^3T_1(F) \text{ átmenet})$$

$$\lambda_3 = 520-370 \text{ nm } (^3A_2 \rightarrow ^3T_1(P) \text{ átmenet})$$

A komplex geometriájának tetragonális torzulása a középső sáv felhasadását eredményezheti.

Ezek mellett az átmenetek mellett létezik egy még kisebb intenzitású, spintiltott ( $^3A_2 \rightarrow ^1E$ ) átmenet is, amely általában csak vállként jelenik meg valamelyik csúcson.

A 4-es koordinációs számú, tetraédes geometriájú komplexek spektruma sokkal intenzívebb ( $\epsilon = 10^2 - 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). A látható sáv hullámhossztartománya 900-500 nm.

4-es koordinációs számmal gyakran képződnek diamágneses sajátságú, síknégyszetes geometriájú komplexek is, különösen erős terű ligandumokkal való kölcsönhatásban (pl. amid-nitrogént tartalmazó peptidekkel). Ezek könnyen alakulnak ki más geometriájú komplexekből. Az ilyen szerkezetű komplexek 550-400 nm körül adnak egy elég intenzív ( $\epsilon = 50-500 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) sávot. Egy második, még intenzívebb sáv található 430 nm alatt, amely gyakran töltésátviteli eredetű. Mivel ezek a komplexek diamágneses sajátságúak (vagyis a nikkell(II)ion nyolc d-elektronja párosítva helyezkedik el a négy alacsonyabb energiájú d-pályán), így könnyen kimutathatóak NMR-spektroszkópia segítségével is.

### 3.3. NMR-spektroszkópia

Cink(II)komplexek esetében a komplex szerkezetének a felderítésére nem alkalmas a spektrofotometria, mivel ezeknek a komplexeknek a látható tartományban nincs fényelnyelése. Ezen módszer helyett itt számításba vehető az NMR-spektroszkópia lehetősége, ahol az egyes atomokra (az általunk is alkalmazott  $^1\text{H}$ -NMR spektroszkópia esetén az eltérő kémiai környezetben lévő hidrogénekre) jellemző jelek spektrumban való megjelenéséből és kémiai eltolódás ( $\delta$ ) értékéből következtethetünk a ligandum különböző csoportjainak protonáltságára, ill. fémionhoz való koordinálódására.

A szilárd anyagokat 99,8 %-os izotóptisztaságú  $\text{D}_2\text{O}$ -ban oldottuk fel, és a fém sót  $\sim 0,1$  mol/dm<sup>3</sup>-es koncentrációjú vizes oldat formájában adtuk a rendszerhez. Az oldatok pH-ját DCl- és NaOD-oldatok segítségével állítottuk be a kívánt értékre.

A  $^1\text{H}$ -NMR spektrumokat BRUKER AM360-as típusú NMR-spektrométerrel vettük fel, standardként TSP-t (nátrium-3-trimetilszilikil-propánszulfonát) használva.  $\delta_{\text{TSP}} = 0$  ppm.

A kapott spektrumokat 1D WinNMR nevű, Windows alatt futó program segítségével értékeltük ki.

### 3.4. ESR-spektroszkópia

Réz(II)komplexek esetén ESR-spektroszkópiás vizsgálatok is történtek. A méréseket Olaszországban (Department of Chemistry, University of Sassari, Italy) végezte Dr. Daniele Sanna és Prof. Giovanni Micera. A spektrumokat Varian E-9 spektrométeren (9,15 GHz), etilén-glikol hozzáadása után 120 K hőmérsékletűre lehűtött oldatokban vették fel különböző pH-értékeknél, koncentrációknál ill. fémion/ligandum arányoknál.

Az ESR-spektrumok spektrális paraméterei ( $A_{\text{II}}$  és  $g_{\text{II}}$ ) alapján mind a fémion körül kialakuló koordinációs módra, a koordinálódó atomok kémiai minőségére, mind a dimer vagy más oligomer szerkezetek jelenlétére lehet következtetni.

### 3.5. A használt vegyszerek

A titrálásokat  $\sim 0,2 \text{ mol/dm}^3$ -es, pontosan ismert koncentrációjú, karbonátmentes, argon alatt tárolt KOH-oldattal végeztük. A mérőoldat karbonátmentességét ellenőriztük is a koncentráció meghatározására alkalmazott potenciometriás mérésnél.

A  $^1\text{H-NMR}$  vizsgálatokhoz 99,8 %-os tisztaságú, az ISOTEC INC. cég által előállított  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{DCl}$  és  $\text{NaOD}$ -oldatot használtunk.

A  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$  és  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  törzsoldatokat a.l.t. minőségű, Reanal cég által gyártott vegyszerekből készítették, a pontos fémion-koncentrációkat gravimetriásan oxinát formában, a savkoncentrációt pedig potenciometriásan határozták meg.

### 3.6. A vizsgált ligandumok

Valamennyi vizsgált ligandumot az MTA Peptidkémiai Kutatócsoportjában ill. az ELTE Szerves Kémiai Tanszékén állították elő az irodalomban már korábban közölt, vagy általuk kidolgozott új eljárás alapján. A vizsgált ligandumok szerkezetét és tisztaságát HPLC, NMR-spektroszkópia, VRK, olvadáspont-meghatározás valamint potenciometria segítségével ellenőriztük.

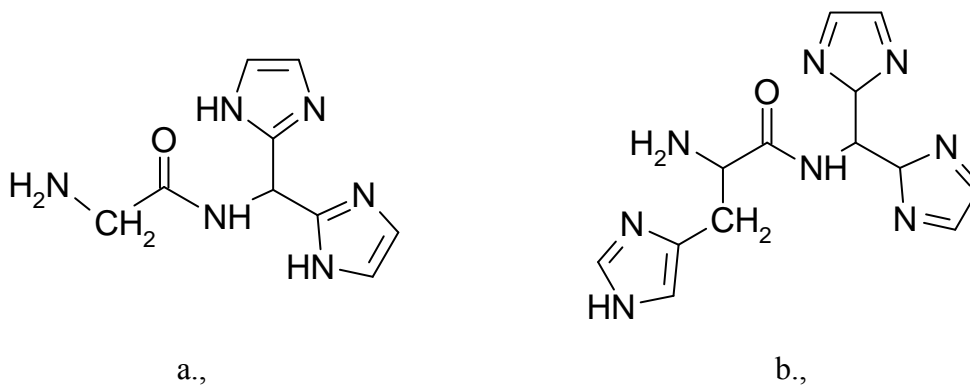
#### **A legegyszerűbb bisz(2-imidazolil)-metil-származékok (1. ábra) :**

A bisz(4-imidazolil)-metánt 1965-ben Drey és Fruton állította elő először <sup>[8,10]</sup>.

M. Joseph, T. Leigh és M. L. Swain <sup>[19]</sup>, valamint C. C. Tang és munkatársai <sup>[20]</sup> 1977-ben többek között a bisz(2-imidazolil)-metánt és a 3-[bisz(2-imidazolil)]-propionsavat szintetizálták.

A bisz(2-imidazolil)-metil-amin előállítása az I. F. Woessner által 1991-ben közölt eljárás alapján történt <sup>[21]</sup>.

#### **Bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosavszármazékai:**



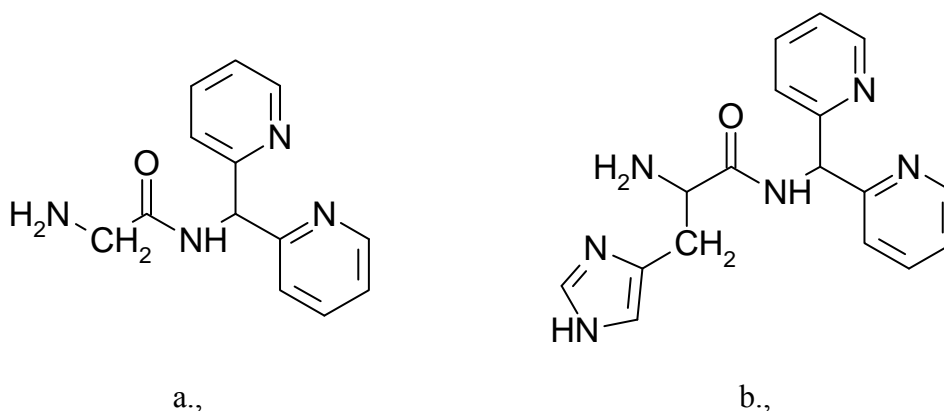
7. ábra: A vizsgált bisz(2-imidazolil)-metil-származékok szerkezete

a.: *N*-glicil-[bisz(2- imidazolil)-metil-amin] (*GlyBIMA*)

b.: *N*-hisztidil-[bisz(2- imidazolil)-metil-amin] (*HisBIMA*)

Ezen aminosavszármazékok előállítását a megfelelő bisz(2-imidazolil)-metil-származékból kiindulva, peptidkötés kialakítására alkalmas oldatfázisú kapcsolási eljárásokat alkalmazva valósították meg <sup>[7]</sup>.

### Bisz(2-piridil)-metil-amin aminosavszármazékai:



8. ábra: A vizsgált bisz(2-piridil)-metil-származékok szerkezete

a.: *N*-glicil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] (*GlyBPMA*)

b.: *N*-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] (*HisBPMA*)

A szintézisekhez kiindulási vegyületként használt bisz(2-piridil)-metil-amin előállítása szintén az irodalomban már közölt módszerrel történt <sup>[22,23]</sup>, majd ebből különböző oldatfázisú kapcsolási eljárásokkal szintetizálták a két aminosavszármazékot <sup>[24]</sup>.

## 4. Kísérleti eredmények és értékelésük

### 4.1. A ligandumok protonálódási állandó értékei

2. táblázat: Az általunk vizsgált ligandumok és az összehasonlításként használt vegyületek protonálódási állandó értékei

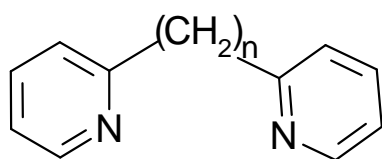
(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

ligandum	pK(-COOH)	pK(piridil -nitrogén)	pK(piridil -nitrogén)	pK(imidazolil -nitrogén)	pK(imidazolil -nitrogén)	pK(hisztidil -oldalánc)	pK(-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
BIM	–	–	–	<b>4,74(1)</b>	<b>6,92(1)</b>	–	–
BIP	<b>2,75(4)</b>	–	–	<b>4,62(2)</b>	<b>6,97(1)</b>	–	–
BIMA	–	–	–	<b>&lt;1,5</b>	<b>4,07(1)</b>	–	<b>6,47(1)</b>
GlyBIMA	–	–	–	<b>3,08(2)</b>	<b>5,41(1)</b>	–	<b>7,86(1)</b>
HisBIMA	–	–	–	<b>2,34(4)</b>	<b>4,51(2)</b>	<b>5,78(2)</b>	<b>7,25(1)</b>
GlyBPMA	–	<b>&lt;1,5</b>	<b>3,34(1)</b>	–	–	–	<b>7,91(5)</b>
HisBPMA	–	<b>&lt;1,5</b>	<b>2,91(2)</b>	–	–	<b>5,43(1)</b>	<b>7,31(1)</b>
imidazol	–	–	–	–	6,95	–	–
piridin <sup>[6]</sup>	–	–	5,31	–	–	–	–
BPM <sup>[6]</sup>	–	2,69	5,18	–	–	–	–
BPMA <sup>[5]</sup>	–	<b>&lt;1,5</b>	1,7	–	–	–	7,32
ProBPMA <sup>[13]</sup>	–	<b>&lt;1,5</b>	3,19	–	–	–	8,59
izopropil-amin <sup>[25]</sup>	–	–	–	–	–	–	10,65
izo-valeriánsav <sup>[26]</sup>	4,78	–	–	–	–	–	–
HisGly <sup>[27]</sup>	2,96	–	–	–	–	5,94	7,59

A legegyszerűbb bisz(2-imidazolil)-metil-származékok protonálódási állandóit már korábban mások is meghatározták <sup>[2-4]</sup>, így ezekre a ligandumokra elvégeztük az irodalmi adatokkal való összehasonlítást. Az általunk és a korábban már meghatározott protonálódási állandó értékek megegyeztek.

A protonálódási állandó értékek azt mutatják, hogy mind a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot, mind a bisz(2-piridil)-metil-csoportot tartalmazó vegyületekben alacsonyabb pH-értéknél játszódik le az imidazolil-nitrogének ill. a piridil-nitrogének deprotonálódása, mint a szabad imidazolban ill. piridinben. A két protonált aromás nitrogén egymáshoz közeli helyzete ugyanis sztérikusan és elektrosztatikusan egyaránt kedvezőtlen, így az aromás gyűrűk kölcsönhatása csökkenti az egyik imidazolil- ill. piridil-nitrogén pK-ját, elősegíti annak deprotonálódását.

Ennek a hatásnak a mértéke erősen függ a két aromás gyűrű távolságától, azaz az őket összekötő alifás lánc hosszától. Ezt mutatják az  $\alpha,\omega$ -bisz(2-piridil)-alkánok H. Bühler és G. Anderegg által meghatározott protonálódási állandó értékei is <sup>[6]</sup>:



9. ábra: Egy  $\alpha,\omega$ -bisz(2-piridil)-alkán általános szerkezete

3. táblázat:  $\alpha,\omega$ -bisz(2-piridil)-alkánok protonálódási állandó értékei

(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup>)

n	0	1	2	3	4	5	6	piridin
pK <sub>1</sub>	–	2,69	3,99	4,80	5,27	5,45	5,61	5,31
pK <sub>2</sub>	4,49	5,18	5,80	6,15	6,25	6,33	6,38	–

A 3. táblázat adataiból látszik, hogy négynél több C-atomból álló, nem-elágazó alifás összekötő lánc esetén ez a hatás már gyakorlatilag elhanyagolható, a metánszármazék (n=1) esetében viszont még igen jelentős.

A vizsgált ligandumok imidazolil- és piridilcsoportjainak pK-ját ezen kívül a metincsoporton lévő szubsztituensek is befolyásolhatják elektronszívó vagy elektronszívó hatásuk révén. A BIMA esetén az aminocsoport elektronszívó hatása az, ami a pK-értékek további csökkenéséhez vezet. A karboxilcsoportnak ilyen hatása nincs, így a BIP esetében az imidazolil-nitrogénekre kapott protonálódási állandók értéke megegyezik a BIM-nél mért értékekkel.

Az amidcsoport elektronszívó hatása kisebb mint az aminocsoporté, így a pK csökkenésének a mértéke is kisebb az aminosavszármazékoknál, mint az aminszármazékok esetében.

A BIMA és BIP esetében az amino- ill. karboxilcsoport pK-ja jó egyezést mutat egy hasonló kémiai környezetben levő amino- ill. karboxilcsoport (HisGly) pK-jával. Az aromás gyűrű helyén metilcsoportot tartalmazó aminosav- ill. aminszármazékhoz (izo-valeriánsav ill. izopropil-amin) képesti pK-csökkenést a két aromás gyűrű elektronszívó hatása okozza.

Az aminosavszármazékokban található aminocsoport, ill. a hisztidinszármazékok hisztidil-nitrogénjének pK-ja jó közelítéssel megegyezik egy hasonló kémiai környezetben lévő amino- ill. imidazolilcsoport pK-jával (HisGly).



## 4.2. A ligandumok átmenetifém-komplexei

### 4.2.1. Az alapvegyületek nikkell(II)komplexei

A potenciometriás mérések alapján számoltuk ki a rendszerekben képződő különböző sztöchiometriájú komplexek stabilitási állandóit. Az összehasonlítást a réz(II)- és cink(II)iont tartalmazó, irodalomban már közölt rendszerek adataival végeztük el [2,3,7-9].

4. táblázat: A bisz(2-imidazolil)-metán átmenetifémkomplexeinek stabilitási állandó értékei  
(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

komplex összetétele	lgβ(Cu(II)-BIM)	lgβ(Ni(II)-BIM)	lgβ(Zn(II)-BIM)
ML <sub>2</sub>	17,03	<b>13,46(1)</b>	10,22
ML	9,64	<b>7,29(1)</b>	5,53
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>ML</sub>	2,25	<b>1,12</b>	0,84

$$\lg(K_1/K_2)_{ML} = \lg K(ML) - \lg K(ML_2) = 2 \cdot \lg \beta(ML) - \lg \beta(ML_2)$$

5. táblázat: A 3[bisz(2-imidazolil)]-propionsav átmenetifémkomplexeinek stabilitási állandó értékei

(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

komplex összetétele	lgβ(Cu(II)-BIP)	lgβ(Ni(II)-BIP)	lgβ(Zn(II)-BIP)
ML <sub>2</sub> H	21,20	–	–
ML <sub>2</sub>	17,29	<b>13,64(5)</b>	10,10
MLH	13,36	<b>10,84(3)</b>	–
ML	10,13	<b>7,76(1)</b>	5,63
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>ML</sub>	2,97	<b>1,88</b>	1,16

$$\lg(K_1/K_2)_{ML} = \lg K(ML) - \lg K(ML_2) = 2 \cdot \lg \beta(ML) - \lg \beta(ML_2)$$

6. táblázat: A bisz(2-imidazolil)-metil-amin átmenetifémkomplexeinek stabilitási állandó értékei

(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

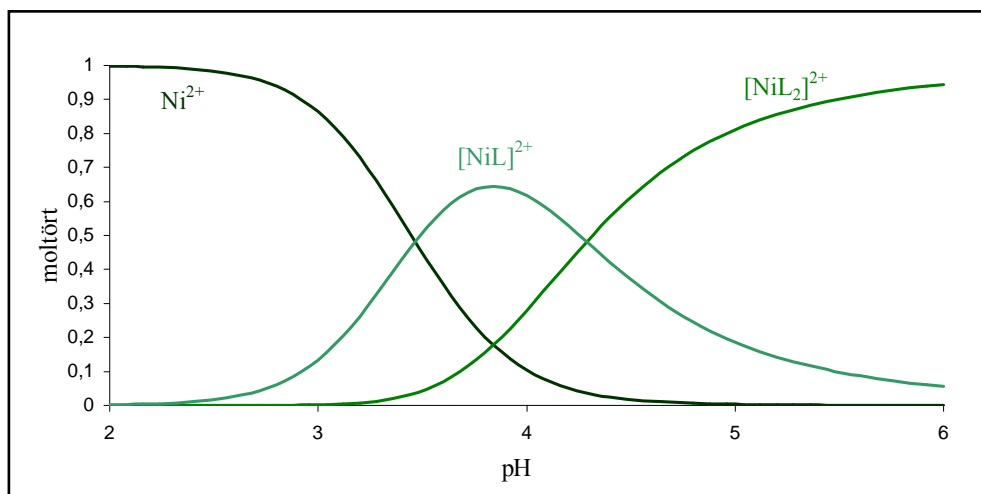
komplex összetétele	lgβ(Cu(II)-BIMA)	lgβ(Ni(II)-BIMA)	lgβ(Zn(II)-BIMA)
ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	25,21	<b>21,76(6)</b>	18,85
ML <sub>2</sub> H	21,50	<b>18,11(4)</b>	14,25
ML <sub>2</sub>	16,89	<b>13,33(4)</b>	9,92
MLH	14,00	<b>11,95(2)</b>	9,66
ML	9,89	<b>7,24(5)</b>	5,38
MLH <sub>1</sub>	–	<b>-0,79(9)</b>	-1,83
M <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	18,43	–	–
M <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	12,78	–	–
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>MLH</sub>	2,79	<b>2,14</b>	0,47
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>ML</sub>	2,89	<b>1,15</b>	0,84

$$\lg(K_1/K_2)_{ML} = \lg K(ML) - \lg K(ML_2) = 2 \cdot \lg \beta(ML) - \lg \beta(ML_2)$$

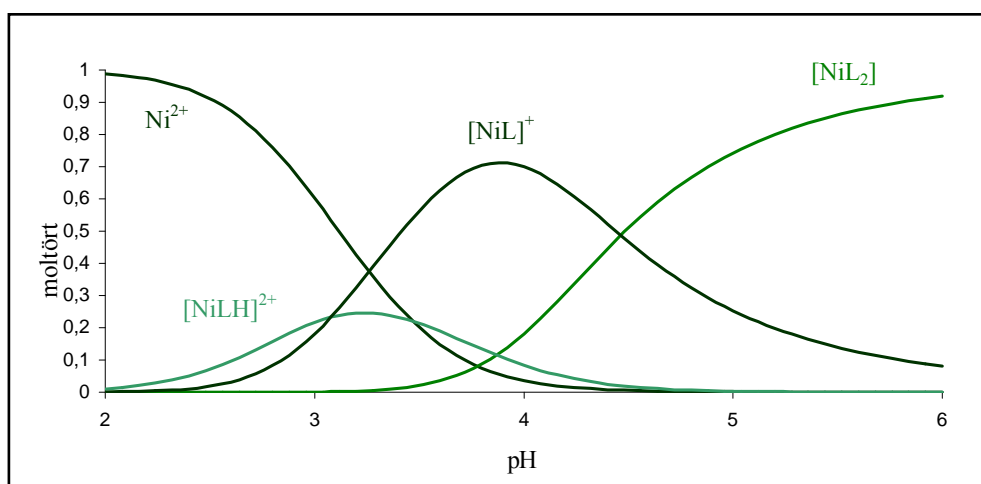
$$\lg(K_1/K_2)_{MLH} = \lg K(MLH) - \lg K(ML_2H_2) = 2 \cdot \lg \beta(MLH) - \lg \beta(ML_2H_2)$$

A mérési eredmények azt mutatják, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport a nikkell(II)ion számára is erős fémmegkötőhely. Savas tartományban itt kezdődik el a komplexképződés. Ez a bisz(2-imidazolil)koordináció azonban ahhoz már nem elég erős, hogy a lúgos pH-tartományban (pH>8 esetén) megakadályozza a nikkell(II)ion hidrolízisét.

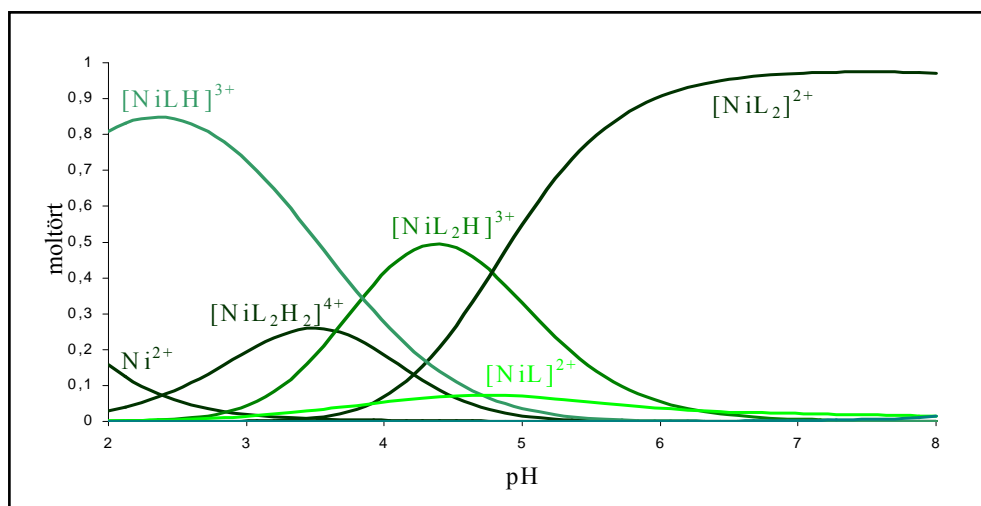
A bisz(2-imidazolil)-metil koordinációjú nikkell(II)komplexek stabilitása mindhárom ligandum esetén kisebb, mint a megfelelő réz(II)komplexeké, és nagyobb, mint a cink(II)komplexeké. Ez megfelel annak a sorrendnek, amit az Irwing-Williams sor alapján várnánk is, vagyis hogy a bisz(2-imidazolil)-metil koordinációjú komplexek stabilitása Cu(II) > Ni(II) > Zn(II) irányba csökken.



a.: Ni(II)-BIM rendszer



b.: Ni(II)-BIP rendszer

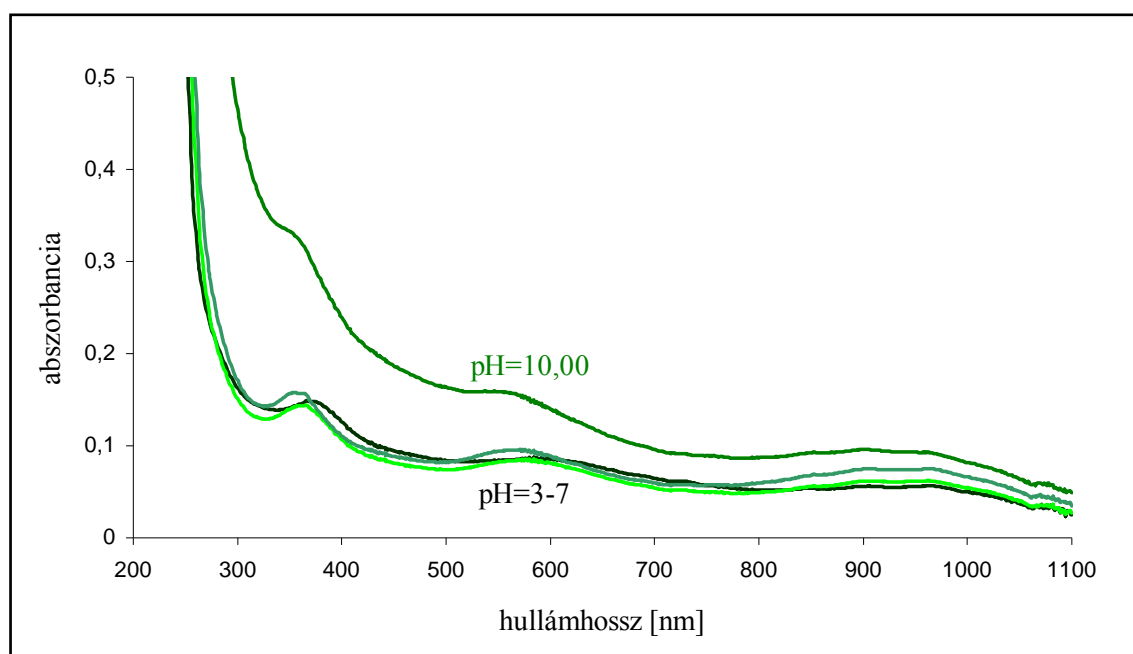


c.: Ni(II)-BIMA rendszer

10. ábra: A komponensek eloszlása a három vizsgált rendszerben a pH függvényében  
(kiindulási koncentrációk:  $c_{\text{ligandum}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Ni(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

A spektrofotometriás vizsgálatok alapján a nikkel(II)ion mindhárom rendszerben oktaéderez geometriájú komplexeket képez. Ez alapján a Ni(II)-BIM rendszerénél, ahol a ligandum csak kétfogú ligandumként tud koordinálódni, és ahol a legkisebb a ligandumméret, így legkisebb a sztérikus gátlás valószínűsége, triszkomplexek képződését is vártuk volna. Triszkomplexeket azonban még háromszoros ligandumfeleslegnél sem tudtunk számolni. Emellett a nagy  $\lg(K_1/K_2)$  érték is azt mutatja, hogy már a második ligandum belépése is kedvezményezetlen, sztérikusán gátolt.

A Ni(II)-BIMA és Ni(II)-BIP rendszerben szintén oktaéderez geometriájú mono- és biszkomplexek képződnek, a fémion/ligandum aránytól és a pH-tól függő sztöchiometriával.



11. ábra: A Ni(II)-BIP rendszerben 1:2 fémion/ligandum arányánál, különböző pH-értékeken felvett UV-látható spektrumok

(mérési körülmények:  $c_{\text{Ni(II)}} = 4,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

Ezekkel a ligandumokkal az amino- ill. karboxilcsoport deprotonálódása után tridentát koordináció feltételezhető a két piridil-nitrogéne és az amino- ill. karboxilcsoporton keresztül (NiL és NiL<sub>2</sub> összetételű komplexek). Azonban éppen a fémionhoz való kötődés miatt ezen koordinálódó donorcsoportok deprotonálódása alacsonyabb pH-értéknél megy végbe, mint a szabad ligandum esetében.

## 4.2.2. A bisz(2-piridil)-metil-amin aminosavszármazékainak réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexei

### 4.2.2.1. Az N-glicil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] komplexei

A potenciometriás mérések alapján határoztuk meg a fémiont és ligandumot tartalmazó rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandó értékeit. Ezeket tartalmazza a következő táblázat:

7. táblázat: Az N-glicil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] vizsgált átmenetifémionokkal alkotott komplexeinek sztöchiometriája és stabilitási állandó értékeik  
(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

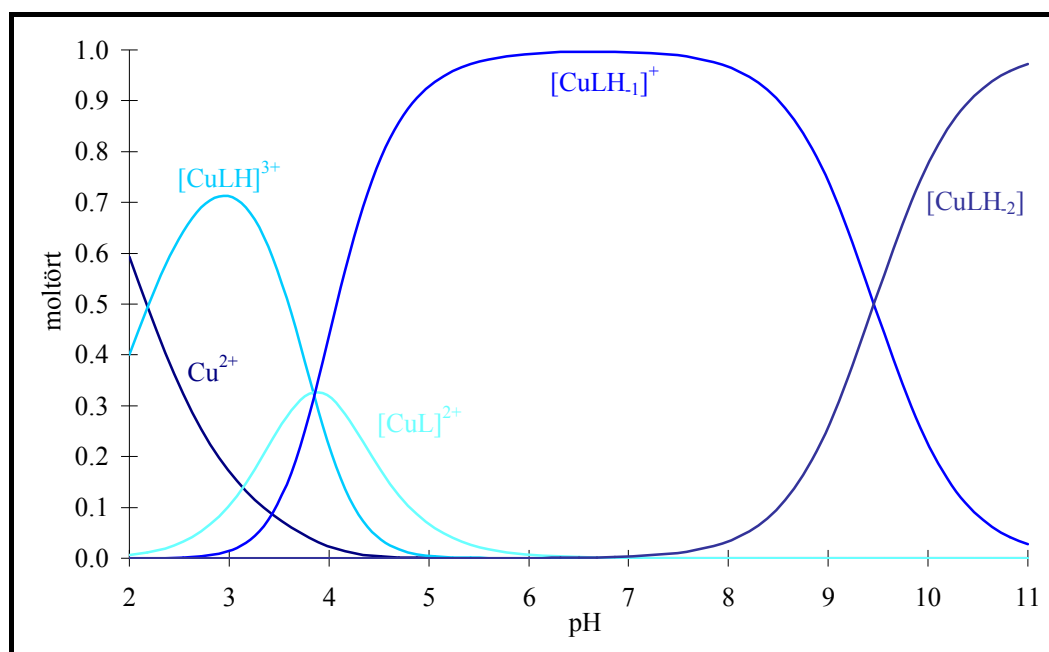
komplex összetétele	lgβ(Cu(II)-GlyBPMA)	lgβ(Ni(II)-GlyBPMA)	lgβ(Zn(II)-GlyBPMA)
ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	–	<b>21,2(1)</b>	–
ML <sub>2</sub> H	–	<b>15,88(5)</b>	–
ML <sub>2</sub>	–	<b>9,46(4)</b>	<b>6,66(7)</b>
ML <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	–	–	<b>-0,7(1)</b>
ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	–	<b>-5,03(3)</b>	<b>-9,12(7)</b>
MLH	<b>11,96(8)</b>	<b>10,97(5)</b>	–
ML	<b>8,12(5)</b>	–	–
MLH <sub>1</sub>	<b>4,27(6)</b>	<b>-1,46(2)</b>	<b>-3,23(1)</b>
MLH <sub>2</sub>	<b>-5,19(7)</b>	<b>-11,17(3)</b>	<b>-11,94(0)</b>
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>MLH</sub>	–	<b>0,71</b>	–

$$\lg(K_1/K_2)_{MLH} = \lg K(MLH) - \lg K(ML_2H_2) = 2 \cdot \lg \beta(MLH) - \lg \beta(ML_2H_2)$$

## Cu(II)-GlyBPMA rendszer:

A Cu(II)-GlyBPMA rendszerben képződött komplexek sztöchiometriája és stabilitása leginkább a Cu(II)-ProBPMA rendszerhez <sup>[13]</sup> hasonlít, mivel a két ligandumnak a szerkezetükből következően azonos típusú és erősségű donoratombjai vannak.

A stabilitási állandók alapján szerkesztett eloszlási görbét mutatja a következő ábra:



12. ábra: A komponensek eloszlása a Cu(II)-GlyBPMA rendszerben ( $\text{H}_3\text{L}=\text{GlyBPMA}$ ) a pH függvényében

(kiindulási koncentrációk:  $c_{\text{GlyBPMA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Cu(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

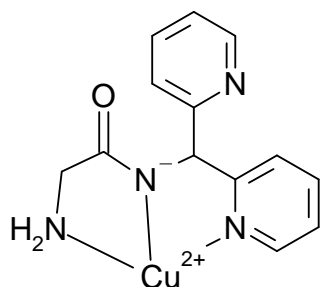
A koordináció savas tartományban a legegyszerűbb bisz(2-imidazolil) alapvegyületekkel analóg módon itt is a két aromás nitrogénnel kezdődik el ( $[\text{CuLH}]^{3+}$  összetételű komplex). A rendszerben azonban szterikus okok, valamint a piridilcsoport imidazolilcsoportnál kisebb fémmegkötő képessége miatt csak monokomplexek képződnek, amit mind a spektrofotometriás, mind az ESR-spektroszkópiás mérések igazoltak.

A pH növelésével, 3-as pH körül az aminos csoport deprotonálódásával párhuzamosan megkezdődik az amid-nitrogén deprotonálódása, és a réz(II)ion körül kialakul a peptidszerű koordináció az egyik piridil-nitrogénnel, a deprotonált amid-nitrogénnel és az aminos-nitrogénnel keresztül. A spektrofotometriás vizsgálatok azt mutatták, hogy már a  $[\text{CuL}]^{2+}$  összetételű komplexben is peptidszerű koordináció van a fémion körül, és a ligandum nem

koordinálódó piridil-nitrogénje protonált. Ennek a piridil-nitrogénnek a deprotonálódása a szabad ligandumra is meghatározott 3,5-ös pH-érték körül megy végbe.

8. táblázat: A Cu(II)-GlyBPMA rendszerben képződő különböző sztöchiometriájú komplexek PSEQUAD számítógépes program segítségével számolt UV-látható spektrális paramétereit

komplex összetétele	$\lambda_{\max}$ [nm]	$\epsilon$ [dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]
[CuLH] <sup>3+</sup>	682	65
[CuL] <sup>2+</sup>	610	154
[CuLH <sub>1</sub> ] <sup>+</sup>	602	133
[CuLH <sub>2</sub> ]	595	116



13. ábra: A Cu(II)-GlyBPMA rendszerben képződött [CuLH<sub>1</sub>]<sup>+</sup> összetételű komplex szerkezete

A teljes fiziológias pH-tartományban ez a peptidszerű koordinációs mód az uralkodó.

A titrálás lúgos tartományában, pH=9 fölött vegyes hidroxó-komplex ([CuLH<sub>2</sub>] összetételű komplex) képződését tapasztaltuk.

A rendszerben a piridilcsoport imidazolilcsoportnál kisebb fémmegkötő képessége miatt dimer szerkezetek nem alakulnak ki. Ezt a biszkomplexek hiányának az igazolásával azonos módon, spektrofotometriával valamint ESR-spektroszkópiával bizonyítottuk.

14. ábra: A Cu(II)-GlyBPMA rendszerben különböző pH-értékeknél felvett ESR-spektrumok  
(mérési körülmények:  $c_{\text{GlyBPMA}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Cu(II)}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

9. táblázat: A Cu(II)-GlyBPMA rendszerben képződő különböző sztöchiometriájú komplexek  
ESR paraméterei

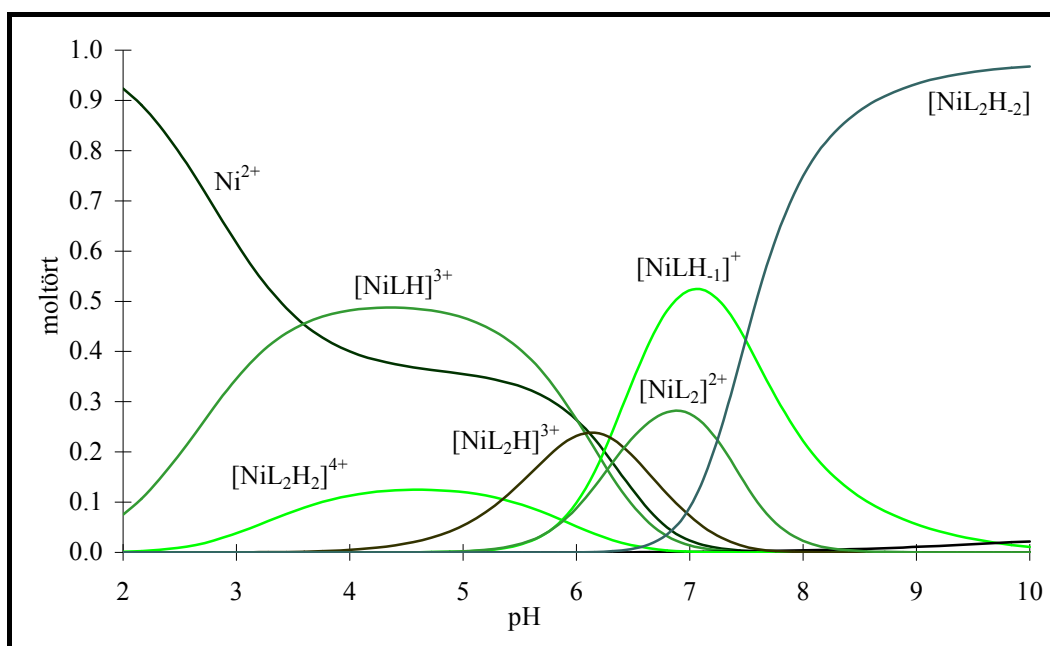
komplex összetétele	$g_{\parallel}$	$a_{\parallel} [\cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$
$[\text{CuLH}]^{3+}$	2,295	172
$[\text{CuLH}_1]^+$	2,225	197
$[\text{CuLH}_2]$	2,225	174

A  $[\text{CuL}]^{2+}$  összetételű komplex túl kis mennyiségben (max. 30%-ban) képződik, emiatt az ESR-spektrális paramétereit nem tudtuk megadni.



## Ni(II)-GlyBPMA rendszer:

A koordináció savas tartományban itt is a bisz(2-piridil)-metil részen kezdődik, azonban a nikkel(II)ion piridilgyűrűhöz való gyengébb koordinálódó képessége miatt itt jóval kisebb mértékű az  $[\text{NiLH}]^{3+}$  összetételű komplex képződése, mint az azonos koordinációs módú  $[\text{CuLH}]^{3+}$  összetételű komplexé volt.



15. ábra: A komponensek eloszlása a Ni(II)-GlyBPMA rendszerben ( $\text{H}_3\text{L} = \text{GlyBPMA}$ ) a pH függvényében.

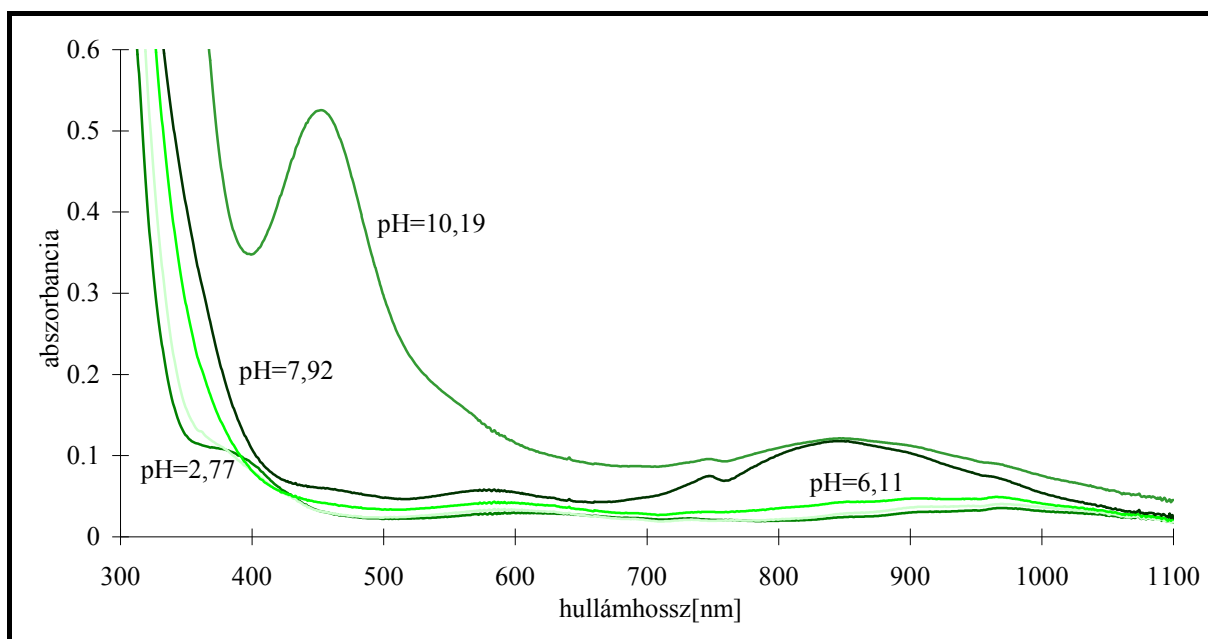
(kiindulási koncentrációk:  $c_{\text{GlyBPMA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Ni(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

A réz(II)ion síknégyszetes torzult oktaédes geometriájával szemben a nikkel(II)ionra már szabályos oktaédes geometria jellemző, ami ligandumfőlétes esetén kis mennyiségben protonált biszkompleksek ( $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{4+}$  ill.  $[\text{NiL}_2\text{H}]^{3+}$ ) képződését is lehetővé teszi.

A Ni(II)-GlyBPMA rendszerben is bekövetkezik a pH növelésével, pH=6,5 körül az amid-nitrogén deprotonálódása és a peptidszerű koordináció kialakulása. A kialakuló komplexek összetétele a fémion/ligandum aránytól függ:

1:2 fémion/ligandum aránynál különféle sztöchiometriájú oktaédes biszkompleksek, pH=10 körül pedig a  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]$  összetételű, szintén oktaédes geometriájú komplex a meghatározó, melyben a nikkel(II)ionhoz két ligandum kapcsolódik peptidszerű koordinációval.

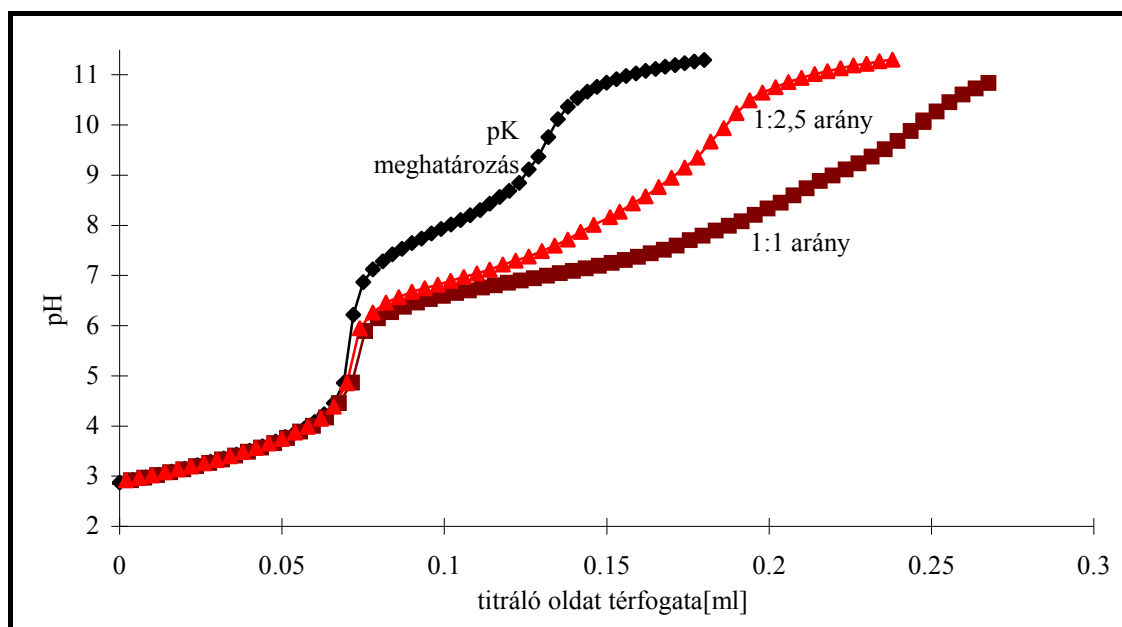
1:1 fémion/ligandum arányánál elsősorban monokomplexek keletkeznek. Az itt domináló  $[\text{NiLH}]^{3+}$ ,  $[\text{NiL}]^{2+}$  és  $[\text{NiLH}_1]^+$  összetételű komplexek a spektrofotometriás adatok alapján egyértelműen oktaéderes geometriájúak. 10-es pH fölött azonban, ahol a  $[\text{NiLH}_2]$  összetételű vegyes hidroxo-komplex képződését feltételeztük, síknégyzetes sáv jelenik meg, ami oktaéderes/síknégyzetes egyensúlyra utal. Ezt a fajta geometriaváltást nikkell(II)komplexek esetében már több nitrogéndonor ligandummal leírták az irodalomban <sup>[13]</sup>.



16. ábra: A  $\text{Ni(II)}$ -GlyBPMA rendszerben 1:1 fémion/ligandum arányánál, különböző pH-értékeken felvett UV-látható spektrumok  
(mérési körülmények:  $c_{\text{Ni(II)}} = 5,88 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

## Zn(II)-GlyBPMA rendszer:

A Zn(II)-GlyBPMA rendszer a titrálás semleges és lúgos tartományban a Ni(II)-GlyBPMA rendszerhez hasonlít:



17. ábra: A Zn(II)-GlyBPMA rendszer titrálási görbéje

(mérési körülmények:  $T=298\text{ K}$ ;  $I=0,2\text{ mol/dm}^3$ ;

$$V_o=3,0\text{ cm}^3; c_{\text{lúg}}=0,2\text{ mol/dm}^3$$

pK meghatározás:  $c_L=3,93\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ ;  $c_H=8,54\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ ;

1:1 fémion/ligandum arány:  $c_L=3,93\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ ;  $c_H=8,54\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ ;

$$c_{\text{Zn(II)}}=3,603\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3;$$

1:2,5 fémion/ligandum arány:  $c_L=3,93\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ ;  $c_H=8,54\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$ ;

$$c_{\text{Zn(II)}}=1,638\cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3)$$

A titrálási görbe és a számolási eredmények is azt mutatják, hogy savas tartományban pH-potenciometriásan nem mutatható ki kölcsönhatás a bisz(2-piridil)-metil résszel. Az NMR-spektroszkópiás vizsgálatok is igazolták, hogy 5-ös pH alatt nem kezdődik el a komplexképződés.

A pH növelésével azonban itt is végbemegy az amid-nitrogén deprotonálódása és a peptidszerű koordináció kialakulása. A fémion/ligandum aránytól függően oktaédes geometriájú,  $[\text{ZnL}_2\text{H}_1]^+$  és  $[\text{ZnL}_2\text{H}_2]$  összetételű biszkomplexek, ill.  $[\text{ZnLH}_1]^+$  összetételű monokomplex képződése számolható. A bisz(2-piridil)-metil-csoport tehát képes ebben a

rendszerben is horgonycsoportként viselkedve elősegíteni az amid-nitrogén deprotonálódását. Az irodalom szerint erre cink(II)ion esetén az eddig vizsgált ligandumok közül csak a C-terminális végükön hisztidin aminosavat tartalmazó peptidek voltak képesek [28-30].

Az amid-nitrogén deprotonálódását  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópia segítségével sikerült bizonyítanunk: ha valamelyik NMR-aktív csoporttól max. egy kötési távolságban  $\text{H}^+$  (szabad ligandum protonálódásánál) vagy cink(II)ion ( $\text{Zn(II)-GlyBPMA}$  rendszer esetén) koordinálódik, akkor ennek az NMR-aktív csoportnak a kémiai eltolódás-értéke nő a teljesen deprotonált ligandum jeléhez képest. A kémiai eltolódás változása azonban  $\text{H}^+$  és  $\text{Zn(II)}$ ion koordinálódása esetén nem egyforma.

Az amid-nitrogén deprotonálódását és a cink(II)ion peptidszerű koordinálódását az amid-nitrogén melletti CH-csoport jelének a változása mutatja (8.a. ábra): 1:1 fémion/ligandum arány esetén  $\text{pH}=7,45$ -nél, ahol a számolt stabilitási állandók alapján a  $[\text{ZnLH}_1]^+$  összetételű komplex kb. 70%-ban van jelen, megfigyelhető a CH-csoport kémiai eltolódás-értékének a csökkenése a deprotonált ligandumhoz képest.

10. táblázat: Az NMR-spektrumok jeleinek kémiai eltolódás-értékei [ppm]

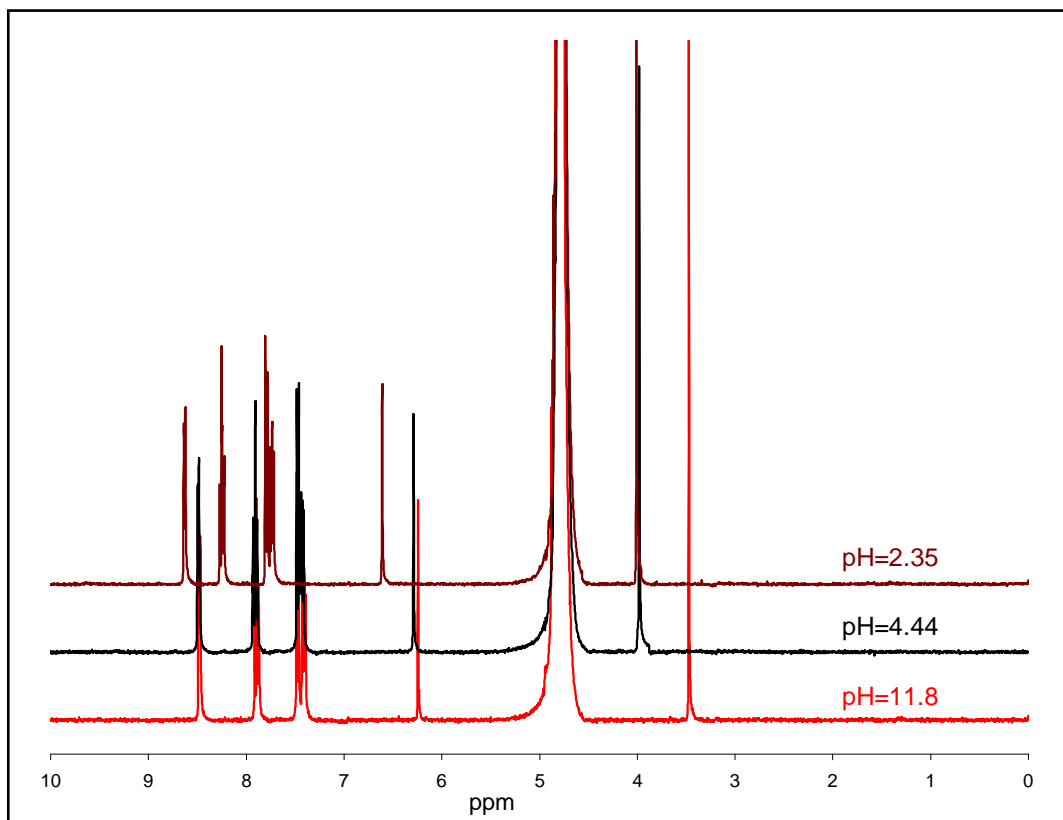
(mérési körülmények:  $T=298\text{ K}$ )

szabad ligandum:  $c_{\text{GlyBPMA}} = 1,049 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$

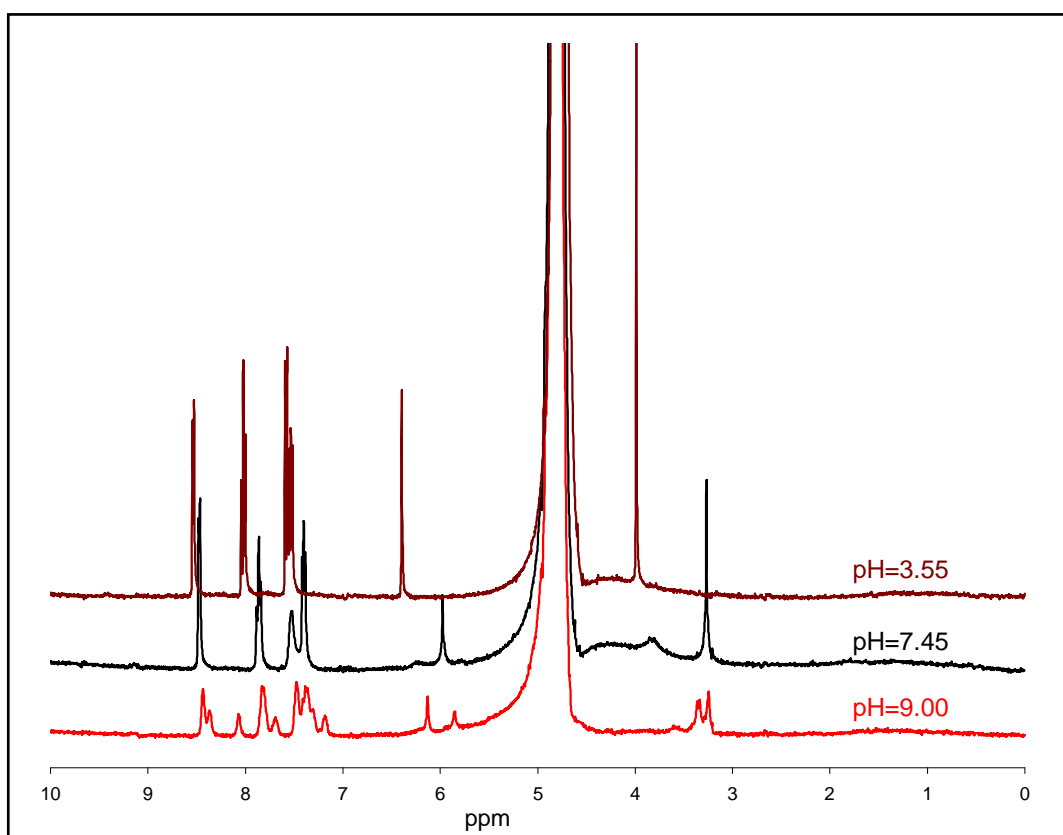
1:1 arány:  $c_{\text{GlyBPMA}} = 1,049 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Zn(II)}} = 9,79 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$

	aromás hidrogének			CH-csoport	$\text{CH}_2$ -csoport
$\text{pH}_{\text{GlyBPMA}}=2,35$	8,622	8,253	7,805	6,610	4,010
$\text{pH}_{\text{GlyBPMA}}=4,44$	8,483	7,908	7,463	6,289	3,983
$\text{pH}_{\text{GlyBPMA}}=11,8$	8,471	7,896	7,463	6,244	3,474
$\text{pH}_{\text{Zn(II)-GlyBPMA}}=3,55$	8,528	8,020	7,572	6,395	3,992
$\text{pH}_{\text{Zn(II)-GlyBPMA}}=7,45$	8,468	7,863	7,403	5,977	3,272
$\text{pH}_{\text{Zn(II)-GlyBPMA}}=9,00$	8,435	7,829	7,478	6,131	3,338
	8,371	7,632	7,384	5,856	3,247

$\text{pH}=9$  fölött vegyes hidroxó-komplex ( $[\text{ZnLH}_2]$  összetételű komplex) képződése számolható, ami még 11-es  $\text{pH}$  esetében is képes megakadályozni a cink(II)ion hidrolízisét.  $\text{pH}=9$ -nél az NMR jelek felhasadása szintén a hidroxó-komplexek képződését mutatja.



18. ábra: A ligandum különböző pH-értékeknél felvett  $^1\text{H-NMR}$  spektrumai

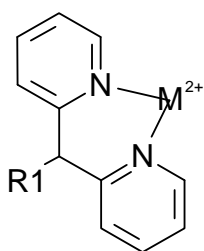


19. ábra: A Zn(II)-GlyBPMA rendszerben 1:1 fémion/ligandum arányánál, különböző pH-értékeken felvett NMR-spektrumok

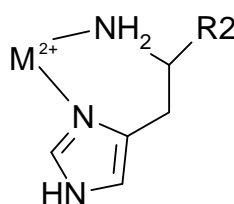
#### 4.2.2.2. Az N-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] komplexei

A másik, általunk vizsgált bisz(2-piridil)-metil-amin származék az N-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] volt.

Az N-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] ligandum esetében két helyen is lehetőség van a fémion számára stabilis, hattagú kelátszerkezet kialakítására: bisz(2-piridil)-metil- ill. hisztaminszerű koordinációval.



a.,



b.,

20. ábra: Az N-hisztidil[bisz(2-piridil)-metil-amin] koordinációs lehetőségei stabilis hattagú kelátszerkezet kialakítására

a.: bisz(2-piridil)-metil-csoporton keresztüli koordináció

b.: hisztaminszerű koordináció

Ezen két koordinációs lehetőség alapján a hisztidinszármazék ligandumot tartalmazó rendszerekben már kétmagvú komplexek, ill. vegyes koordinációjú biszkomplexek képződésére is lehetőség nyílik. Az eddigi irodalmi eredmények azt mutatják, hogy ez a vegyes koordinációs mód mindhárom fémionnal kedvezményezettebb, mint az azonos csoportok (jelen esetben pl. négy piridil-nitrogén) koordinálódása [31,32].

Ezen koordinációs módokon kívül ennél a ligandumnál is lehetőség van az amid-nitrogén deprotonálódásával peptidszerű koordináció kialakítására az egyik piridil-nitrogéne, a deprotonált amid-nitrogéne és az amino-nitrogéne keresztül.

A nem koordinálódó, erős fémmegkötő képességű szabad imidazolil-oldallánc emellett lehetőséget teremt dimer, vagy más oligomer szerkezetek kialakulására is. Tehát ezzel a ligandummal sokkal összetettebb komplexkémiai rendszerek képződését vártuk, mint a glicinszármazék esetében.

11. táblázat: Az *N*-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin] vizsgált átmenetifémekkel alkotott komplexeinek sztöchiometriája és stabilitási állandó értékeik  
(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

komplex összetétele	lgβ(Cu(II)-HisBPMA)	lgβ(Ni(II)-HisBPMA)	lgβ(Zn(II)-HisBPMA)
ML <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	–	<b>31,0(1)</b>	–
ML <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	–	–	<b>25,62(3)</b>
ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	–	<b>23,12(4)</b>	<b>20,82(2)</b>
ML <sub>2</sub>	–	<b>12,64(4)</b>	<b>9,98(1)</b>
ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	–	<b>-4,84(6)</b>	–
MLH <sub>2</sub>	–	<b>15,7(1)</b>	–
MLH	<b>14,64(1)</b>	–	–
ML	<b>10,36(1)</b>	<b>7,16(3)</b>	<b>4,75(3)</b>
MLH <sub>1</sub>	–	–	<b>-2,33(8)</b>
M <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	<b>12,58(3)</b>	<b>3,92(7)</b>	–
MLH <sub>2</sub>	<b>-4,47(2)</b>	–	–
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>MLH<sub>2</sub></sub>	–	<b>0,40</b>	–
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>ML</sub>	–	<b>1,68</b>	–

$$\lg(K_1/K_2)_{MLH_2} = \lg K(MLH_2) - \lg K(ML_2H_4) = 2 \cdot \lg \beta(MLH_2) - \lg \beta(ML_2H_4)$$

$$\lg(K_1/K_2)_{ML} = \lg K(ML) - \lg K(ML_2) = 2 \cdot \lg \beta(ML) - \lg \beta(ML_2)$$

### **Cu(II)-HisBPMA rendszer:**

A 11. táblázat adataiból is látszik, hogy a potenciometriás vizsgálatok alapján a Cu(II)-HisBPMA rendszerben sem kétmagvú komplexek, sem vegyes koordinációjú biszkomplexek nem képződnek. Biszkomplexek még ligandumfölösleg esetén sem feltételezhetőek ebben a rendszerben, és ezt igazolják a spektrofotometriás ill. az ESR-spektroszkópiás mérések is.

Biszkomplexek már a lényegesen kisebb méretű ligandumot tartalmazó Cu(II)-GlyBPMA rendszerben sem képződtek, itt pedig a HisBPMA nagyobb mérete miatt még erősebb a két ligandum egyazon fémionhoz való koordinálódását akadályozó sztérikus gátlás.

A 12. táblázat spektrofotometriás adatai, valamint az ezen adatok alapján szerkesztett 21. ábra a biszkomplexek hiányát mutatja:

12. táblázat: A Cu(II)-HisBPMA rendszerben különböző fémion/ligandum arányoknál és különböző pH-értékekenél kapott spektrális paraméterek

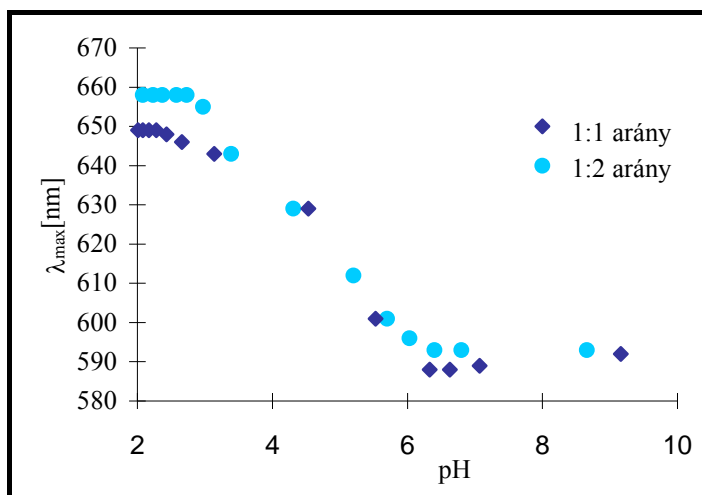
(mérési körülmények: T=298 K

1:2 arány:  $c_{\text{HisBPMA}} = 2,12 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$  ;  $c_{\text{Cu(II)}} = 2,85 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$

1:1 arány:  $c_{\text{HisBPMA}} = 2,15 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$  ;  $c_{\text{Cu(II)}} = 1,09 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

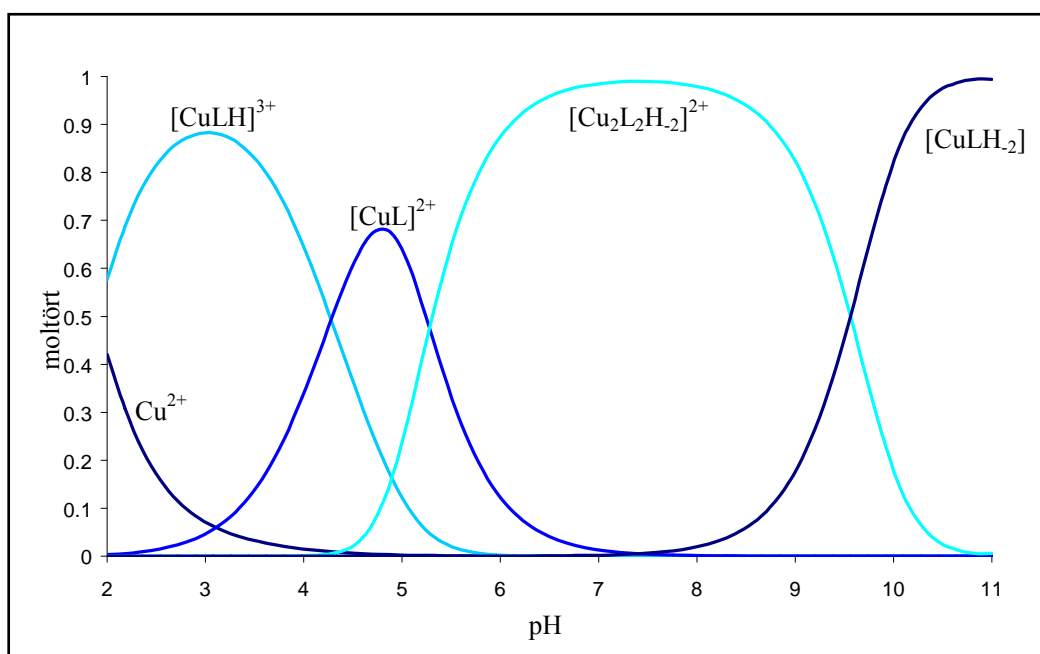
1:2 arány			1:1 arány		
pH	$\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]$	$\varepsilon [\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}]$	pH	$\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]$	$\varepsilon [\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}]$
2,08	658	93,8	2,01	649	66,3
2,37	658	76,0	2,08	649	66,4
2,58	658	91,7	2,17	649	70,5
2,73	658	100,0	2,28	649	71,5
2,97	655	86,9	2,43	648	71,5
3,39	643	83,9	2,66	646	77,5
4,31	629	104,3	3,14	643	77,7
5,20	612	120,7	4,53	629	102,0
5,70	601	140,9	5,53	601	116,7
6,03	596	135,0	6,33	588	129,0
6,40	593	140,0	6,63	588	131,5
6,80	593	135,1	7,07	589	131,7
8,66	593	142,4	9,16	592	128,2





21. ábra:  $\lambda_{\max}$  változása a pH függvényében 1:1 és 1:2 fémion/ligandum arányánál

Biszkomplexek esetén az 1:1 és 1:2 fémion/ligandum arányánál felvett spektrumok  $\lambda_{\max}$ [nm] és  $\varepsilon$ [dm<sup>3</sup>mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>] értékeinek nagymértékben el kellene térniük a koordinált nitrogének eltérő számának megfelelően [16]. Ezen spektrofotometriás adatok viszont a kisebb pH-értékeknél, ahol lehetőség lenne a biszkomplexek kialakulására négy piridilcsoport koordinálódásával, egyértelműen két nitrogénon keresztüli koordinációra utalnak, így alátámasztják a potenciometriás mérések alapján számolt szerkezeteket.



23. ábra: A komponensek eloszlása a Cu(II)-HisBPMA rendszerben ( $H_4L$ =HisBPMA) a pH függvényében

(kiindulási koncentrációk:  $c_{\text{HisBPMA}} = 4 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>;  $c_{\text{Cu(II)}} = 4 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>)

A koordináció savas pH-tartományban a bisz(2-piridil)-metil részen kezdődik. Azonban a bisz(2-piridil)-metil-csoport koordinálódásával párhuzamosan végbemegy a hisztidin oldallánc imidazolil-nitrogénjének deprotonálódása és gyenge axiális koordinálódása ( $[\text{CuLH}]^{3+}$  összetételű komplex). Így már nincs lehetőség a hisztaminszerű koordináció kialakulására, és a vegyes koordinációjú biszkomplexek ill. a kétmagvú komplexek képződésére.

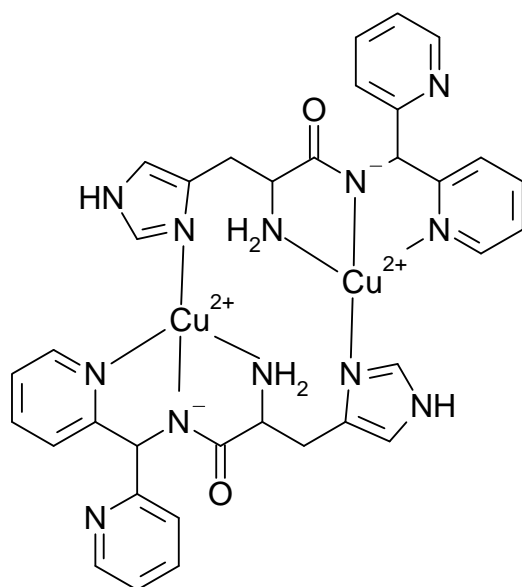
A pH növelésével itt is lejátszódik az amid-nitrogén deprotonálódása és kialakul a réz(II)ion körül a peptidszerű koordináció az egyik piridil-nitrogéneken, a deprotonált amid-nitrogéneken és az amino-nitrogéneken keresztül. A Cu(II)-GlyBPMA rendszerrel tapasztaltakkal azonos módon a gyengébb fémmegkötő képességű piridilcsoport itt sem képes dimer szerkezetek kialakítására, azonban a hisztidin aminosav szabad, nem koordinálódott imidazolil-oldallánca már elég erős fémmegkötő sajátságú ahhoz, hogy hídcsoporként elősegítse dimer vagy más oligomer szerkezetek kialakulását ( $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű komplex).

Ebben a pH=5,5-9 tartományban az ESR-vizsgálatok is egyértelműen dimerek vagy más oligomerek képződését mutatták:

23. ábra: A Cu(II)-HisBPMA rendszerben különböző pH-értékeknél felvett ESR-spektrumok (mérési körülmények:  $c_{\text{HisBPMA}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Cu(II)}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

5,5-ös pH felett az ESR-jelek kiszélesednek, a csúcsok ellaposodnak és eltűnnek. Ezt az okozza, hogy dimerek és más oligomerek esetében a réz(II)ionok egymáshoz közel kerülnek, így köztük részleges spinkicserélődés megy végbe. Ekkor a réz(II) elveszti paramágneses jellegét, ESR-inaktívvá válik.

A réz(II)ion körüli nitrogének száma ebben az 5,5-9-es pH-tartományban az UV-látható spektrum alapján négy. Ez szintén dimer vagy oligomer szerkezet kialakulására utal.

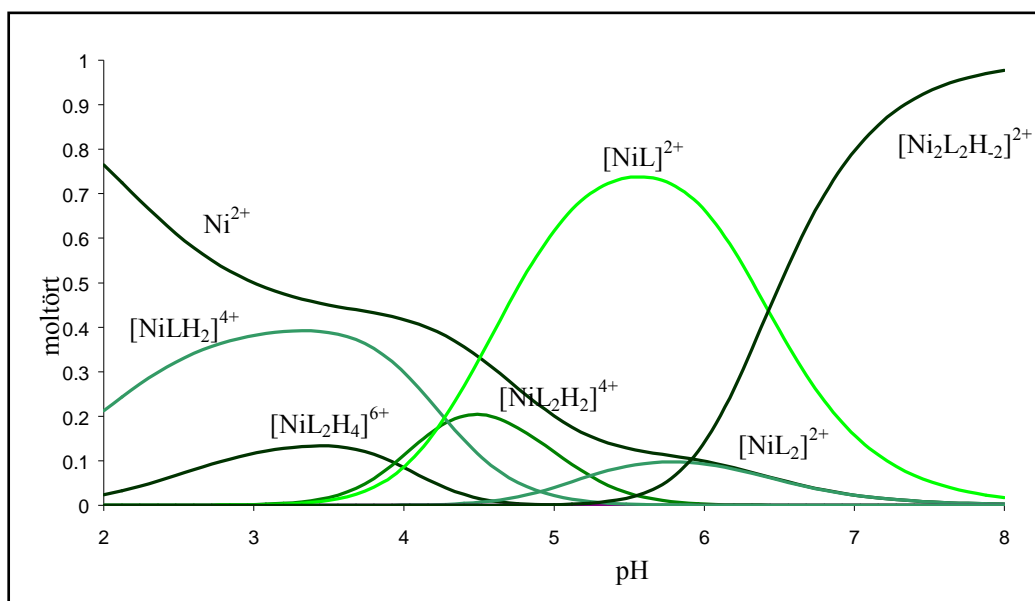


24. ábra: A  $[Cu_2L_2H_2]^{2+}$  összetételű komplex feltételezett szerkezete

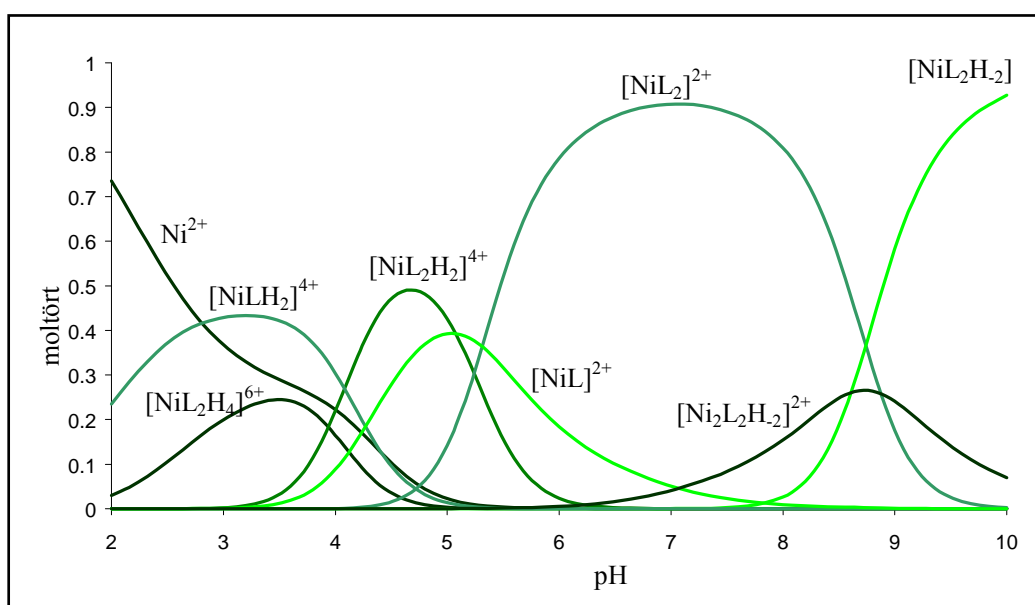
A titrálás lúgos tartományában  $[CuLH_2]$  összetételű vegyes hidroxó-komplex képződését mutattuk ki a rendszerben.

## Ni(II)-HisBPMA rendszer:

A következő ábrák mutatják a különböző összetételű komplexek eloszlását a rendszerben:



a.: 1:1 fémion/ligandum arány



b.: 1:2 fémion/ligandum arány

25. ábra: A komponensek eloszlása a Ni(II)-HisBPMA rendszerben ( $H_4L$ =HisBPMA) a pH függvényében

(kiindulási koncentráció:  $c_{\text{HisBPMA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

A réz(II)ionnal azonos módon a nikkell(II)ionnál is a bisz(2-piridil)-metil részen kezdődik el a koordináció. A nikkell(II)ionra jellemző eltérő geometria miatt azonban itt már a monokomplexek mellett kis mennyiségben bisz(2-piridil)-metil koordinációjú,  $[\text{NiL}_2\text{H}_4]^{6+}$  összetételű komplex is képződik.

A bisz(2-piridil)-metil-csoporton keresztüli koordináció mellett a hisztaminszerű koordináció is megjelenik, így kialakulnak a vegyes koordinációjú  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]$  összetételű biszkomplexek.

Ebben a rendszerben a biszkomplexek képződése miatt csak nagyobb pH-nál tud végbemenni az amid-nitrogén deprotonálódása és a peptidszerű koordináció kialakulása. A két ligandumot tartalmazó, vegyes koordinációjú részecskék ugyanis elég nagy stabilitásúak ahhoz, hogy megakadályozzák a peptidcsoportnak a fémion koordinációs szférájába való kerülését és deprotonálódását. Ez főleg ligandumfelesleg esetén jelentős: így 1:2 fémion/ligandum aránynál a deprotonálódás csak 8-as pH fölött képes lejátszódni (az UV-látható spektrofotometriás vizsgálatok egyértelműen azt mutatják, hogy a  $[\text{NiL}_2]^{2+}$  összetételű részecskénél még nem peptidszerűen koordinálódik a ligandum), míg 1:1 aránynál már pH=6-nál megindul az amid-nitrogén deprotonálódása. Ugyanezt a fémion/ligandum aránytól függő deprotonálódást és koordinációs módot találták korábban a Ni(II)-HisGly rendszerben is <sup>[33]</sup>, ahol szintén a ligandum stabilis hisztaminszerű kötődése akadályozza ligandumfelesleg esetén a peptidszerű koordináció kialakulását.

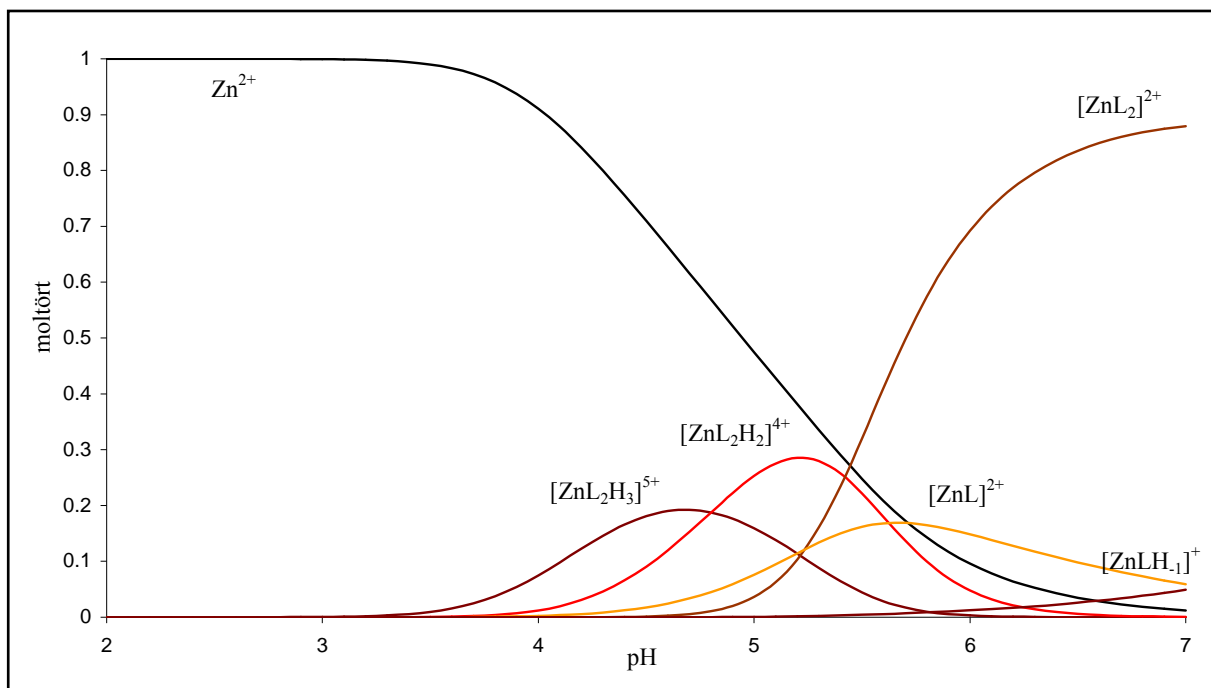
Az 1:1 fémion/ligandum aránynál, 6-os pH fölött uralkodó, peptidszerű koordinációjú, 1:1 sztöchiometriájú komplexre a Cu(II)-HisBPMA rendszerrel való analógia alapján dimer szerkezetet feltételeztünk ( $[\text{Ni}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű komplex).

1:2 fémion/ligandum aránynál a Ni(II)-GlyBPMA rendszerhez hasonlóan itt is megjelenik a két ligandum peptidszerű koordinációjával képződő,  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]$  összetételű komplex.

A spektrofotometriás vizsgálatok alapján a rendszerben képződő valamennyi komplexben oktaéderes elrendeződés alakul ki a nikkell(II)ion körül.

## Zn(II)-HisBPMA rendszer:

A cink(II)ion esetében a komplexképződés csak nagyobb pH-nál kezdődik el, és ebben a rendszerben jóval kisebb stabilitású komplexek képződnek mint a Cu(II)-HisBPMA vagy Ni(II)-HisBPMA rendszerben.



26. ábra: A komponensek eloszlása a Zn(II)-HisBPMA rendszerben ( $H_4L$ =HisBPMA) a pH függvényében

(kiindulási koncentrációk:  $c_{\text{HisBPMA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ;  $c_{\text{Zn(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

A képződő biszkomplexekben itt is vegyes koordináció feltételezhető, ez azonban nem képes megakadályozni pH > 7 esetén a cink(II)ion hidrolízisét. A kis mennyiségben képződő,  $[\text{ZnLH}_{1.1}]^+$  összetételű komplexben nem a ligandum amid-nitrogénje deprotonált, hanem az egyik koordinált  $\text{H}_2\text{O}$ -molekula, azaz már itt elkezdődik a hidrolízis folyamata. A hidrolízis következtében a rendszerben pH=8 fölött csapadék válik ki, ami miatt további oldategyensúlyi méréseket nem lehet végezni.

A vizsgálható pH-tartományban nem következik be az amid-nitrogén deprotonálódása, nem alakul ki peptidszerű koordináció.

### 4.2.3. A bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosavszármazékainak réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexei

#### 4.2.3.1. Az N-glicil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] nikkel(II)komplexei

A potenciometriás mérések alapján határoztuk meg a Ni(II)-GlyBIMA rendszerben képződő komplexek stabilitási állandóit. Ezeket, valamint az irodalomból <sup>[2-4]</sup> vett, Cu(II)-GlyBIMA és Zn(II)-GlyBIMA rendszerekre vonatkozó komplex stabilitási állandó értékeket tartalmazza a következő táblázat:

13. táblázat: Az N-glicil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] komplexeinek sztöchiometriája és stabilitási állandó értékeik

(mérési körülmények: T=298 K; I=0,2 mol/dm<sup>3</sup> KCl)

komplex összetétele	lgβ(Cu(II)-GlyBIMA)	lgβ(Ni(II)-GlyBIMA)	lgβ(Zn(II)-GlyBIMA)
ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	31,64	<b>27,82(3)</b>	24,04
ML <sub>2</sub> H	–	<b>21,51(7)</b>	17,17
ML <sub>2</sub>	18,97	<b>13,47(8)</b>	10,28
ML <sub>2</sub> H <sub>.1</sub>	11,12	<b>4,7(1)</b>	–
MLH	17,11	<b>14,21(4)</b>	12,40
M <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	18,43	<b>2,71(6)</b>	0,40
MLH <sub>2</sub>	-0,92	<b>-7,71(3)</b>	–
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>MLH</sub>	2,58	<b>0,60</b>	0,76

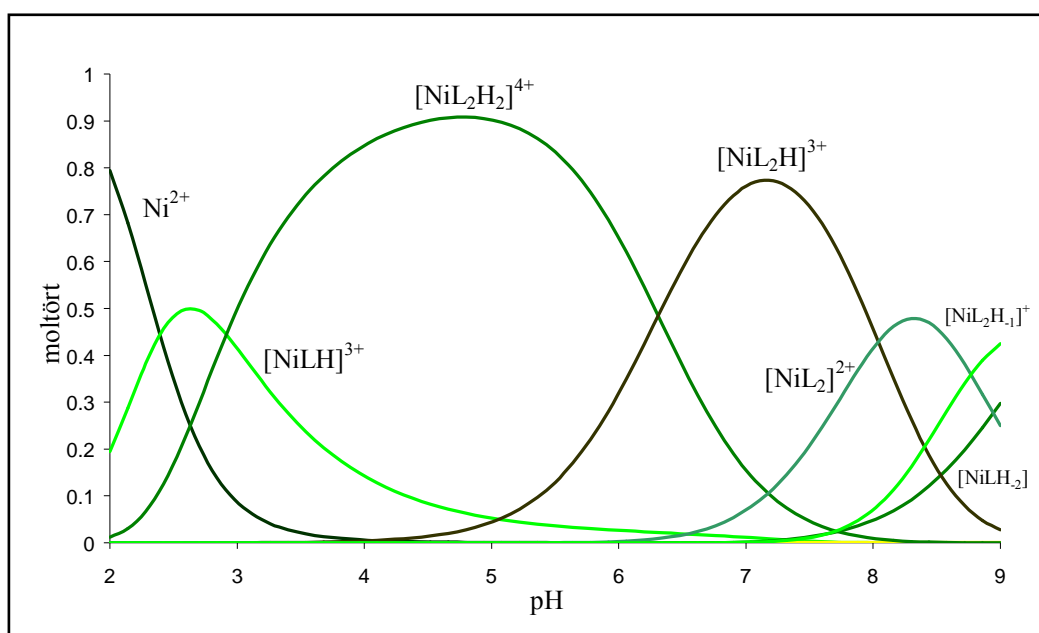
$$\lg(K_1/K_2)_{MLH} = \lg K(MLH) - \lg K(ML_2H_2) = 2 \cdot \lg \beta(MLH) - \lg \beta(ML_2H_2)$$

Mindhárom rendszerben savas pH-tartományban a bisz(2-imidazolil)-metil részen kezdődik el a koordináció, és mind mono-, mind biszkomplexek kialakulnak. A nikkel(II)- és cink(II)komplexekre számolt kis lg(K<sub>1</sub>/K<sub>2</sub>) értékek azt mutatják, hogy a Ni(II)-GlyBIMA

rendszerben a Zn(II)-GlyBIMA rendszerhez hasonló módon kedvezményezettebb a biszkomplexek képződése, mint a Cu(II)-GlyBIMA rendszerben. Az ebben a pH-tartományban képződő komplexek geometriája is hasonló analógiát mutat: a réz(II)ionra jellemző síknégyszetes torzult oktaédes geometriával szemben mind a nikkel(II)-, mind a cink(II)iont tartalmazó rendszerben szabályos oktaédes geometriájú komplexek képződnek savas pH-tartományban.

A bisz(2-imidazolil)-metil koordinációjú komplexek stabilitása itt is az Irwing-Williams sornak megfelelően  $\text{Cu(II)} > \text{Ni(II)} > \text{Zn(II)}$  irányban csökken.

A bisz(2-imidazolil)-metil-csoport mindhárom vizsgált fémiont erősebben képes megkötni, mint a bisz(2-piridil)-metil-csoport. Ez magyarázza azt, hogy a bisz(2-piridil)-metil-származékok rendszereihez képest itt már alacsonyabb pH-értéknél megkezdődik a komplexképződés, valamint hogy nagyobb mennyiségben alakulnak ki biszkomplexek is.



27. ábra: A komponensek eloszlása a Ni(II)-GlyBIMA rendszerben ( $\text{H}_3\text{L}=\text{GlyBIMA}$ ) a pH függvényében

(kiindulási koncentrációk:  $c_{\text{GlyBIMA}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$   $c_{\text{Ni(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

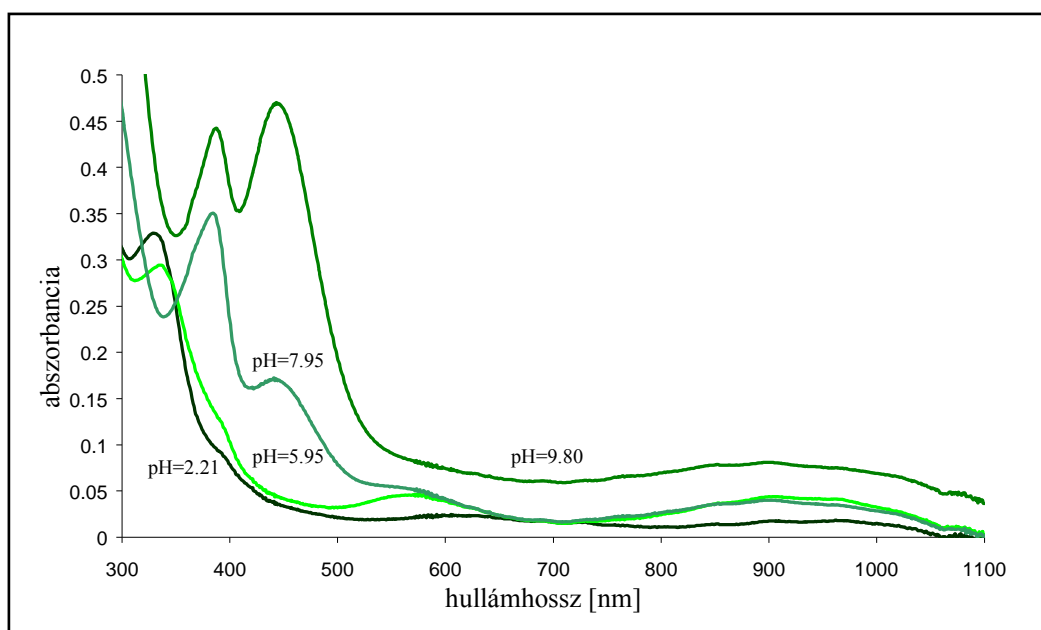
A pH növelésével a Cu(II)-GlyBIMA és Zn(II)-GlyBIMA rendszerhez hasonló módon a Ni(II)-GlyBIMA rendszerben is bekövetkezik az amid-nitrogén deprotonálódása és a nikkel(II)ion körül kialakul a peptidszerű koordináció. Azonban éppen az imidazolilcsoport piridilcsoportnál nagyobb fémmegkötő képessége, azaz az aromás gyűrűkön keresztüli koordinációjú komplexek nagyobb stabilitása miatt ez a folyamat csak magasabb pH-nál



(pH=7 fölött) játszódik le mint a Ni(II)-GlyBPMA rendszerben (ahol már pH=6-nál megkezdődött a deprotonálódás).

A peptidszerű koordinációval képződő, 1:1 sztöchiometriájú komplexre a réz(II)-, ill. cink(II)iont tartalmazó rendszerrel való analógia alapján <sup>[2-4]</sup> dimer szerkezetet feltételeztünk ([Ni<sub>2</sub>L<sub>2</sub>H<sub>2</sub>] összetételű komplex).

Az UV-látható spektrumokban a 448 nm-nél megjelenő, és a peptidszerű koordináció kialakulásával párhuzamosan növekvő intenzitású sáv azt mutatja, hogy ennél a koordinációs módnál is oktaéderes/síknégyszetes egyensúlyi geometria alakul ki a nikkell(II)ion körül.



28. ábra: A Ni(II)-GlyBIMA rendszerben 1:2 fémion/ligandum arányánál, különböző pH-értékeken felvett UV-látható spektrumok  
(mérési körülmények:  $c_{\text{Ni(II)}} = 4,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ )

Ebben a rendszerben sztérikus okok, valamint a nagy stabilitású bisz(2-imidazolil)koordinációjú biszkomplexek ([NiL<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> és [NiL<sub>2</sub>H]<sup>3+</sup> összetételű komplexek) képződése miatt már ligandumfelesleg esetén sem alakul ki a két ligandum peptidszerű koordinációjával képződő részecske, amely a Ni(II)-GlyBPMA rendszerben megakadályozta a hidrolízist.

A titrálás lúgos tartományában, 8-as pH fölött vegyes hidroxó-komplexek ([NiLH<sub>2</sub>] összetételű komplex) képződése kezdődik, majd 9-es pH-értéknél lejátsszódik a nikkell(II)ion hidrolízise, a rendszerből csapadék válik ki.

#### 4.2.3.2. Az N-hisztidil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] komplexei

Ezen ligandum esetében az N-hisztidil-[bisz(2-piridil)-metil-amin]-hoz hasonló koordinációs helyek vannak a fémionok számára, azaz kialakulhat bisz(2-imidazolil)-metil-csoporton keresztüli, hisztaminszerű és peptidszerű koordináció. Dimer szerkezetek képzésére itt már nem csak a hisztidil-oldallánc, hanem a bisz(2-imidazolil)-metil fémmegkötő csoport szabad imidazolilcsoportja is lehetőséget teremt.

Az N-hisztidil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] ligandum réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexeinek még csak előzetes vizsgálatai történtek meg. Az eddigi mérések azt mutatják, hogy savas tartományban mindhárom vizsgált fémionnal megjelenik mind a bisz(2-imidazolil)-metil-csoporton keresztüli, mind a hisztaminszerű koordináció.

A Cu(II)-HisBIMA rendszerben pH=5 körül végbemegy az amid-nitrogén deprotonálódása, és az ESR-vizsgálatok alapján minden fémion/ligandum arány esetében dimer szerkezetű, peptidszerű koordinációjú komplexek alakulnak ki valamelyik szabad imidazolilcsoporton mint hídcsoporton keresztül.

A Ni(II)-HisBIMA rendszerben fémfölösleg esetén a nagy mennyiségben képződő biszkomplexek már egyértelműen megakadályozzák az amid-nitrogén deprotonálódását. 1:1 fémion/ligandum aránynál, magasabb pH-n esetleg feltételezhető a deprotonálódás és a peptidszerű koordináció kialakulása, ez azonban átfedésben van a hidrolízis folyamatával, így oldategyensúlyi vizsgálati módszerekkel nehezen tanulmányozható.

A Zn(II)-His-BIMA rendszer esetén a fémion jóval kisebb stabilitású komplexei és nagyobb hidrolízis-hajlama miatt már ligandumfölösleg esetén sem megy végbe a deprotonálódás.

## 5. Összefoglalás

A különböző fémionoknak igen fontos biológiai-biokémiai szerepük van. Metalloenzimek alkotórészeként részt vesznek az élő szervezetek szerves molekuláinak szintézisében és szállításában, ill. biológiai rendszerek sav-bázis- és redoxifolyamatainak a katalizálásában.

A metalloenzimekben az egyik legfontosabb fémmegkötőhelyet a proteinek képezik. A fémionok a polipeptidlánc speciális aminosavjaihoz (pl. a hisztidin aminosav imidazolil-oldalláncához) kötődve alakítják ki a fehérje harmadlagos szerkezetét és az enzim aktív centrumát. Így a több, megfelelő helyzetben lévő imidazolilcsoportot tartalmazó ligandumok alkalmasak lehetnek ezen enzimek aktív centrumának a modellezésére, ill. az enzim szelektív gátlására.

Vizsgálataink célja az volt, hogy a metalloenzimek modellezésére alkalmas bisz(2-imidazolil)-metil-amin C-terminálisan kapcsolt glicin- és hisztidinszármazékának réz(II)-, nikkel(II) és cink(II)ionnal való komplexképzését tanulmányozzuk. A méréseinkhez pH-potenciometriát, UV-látható spektrofotometriát valamint NMR- és ESR-spektroszkópiát használtunk.

A vizsgálatokat a bisz(2-imidazolil)csoportot tartalmazó legegyszerűbb származékok, a bisz(2-imidazolil)-metán (BIM), a bisz(2-imidazolil)-metil-amin (BIMA) és a 3[bisz(2-imidazolil)-propionsav] (BIP) vizsgálatával kezdtük. Ezek a mérések azt mutatták, hogy a bisz(2-imidazolil)csoport mindhárom fémion számára erős kötőhely. Viszont még a legkisebb ligandum, a BIM esetében sem tudtuk kimutatni triszkomplexek képződését.

A bisz(2-imidazolil)csoporthoz hasonló módon a bisz(2-piridil)csoport is stabilis komplexeket képez az általunk tanulmányozott átmenetifémionokkal. Ezért vizsgálatainkat ilyen fémmegkötő csoportot tartalmazó aminosavszármazékokra is kiterjesztettük. Azt találtuk, hogy a piridilcsoport imidazolilcsoportnál kisebb fémmegkötő képessége miatt a bisz(2-piridil)származékok a vizsgált fémionokkal egyszerűbb rendszereket alkotnak, mint az analóg bisz(2-imidazolil)származékok. Így ezen ligandumok átmenetifémkomplexeinek vizsgálata segítséget nyújthat az összetettebb, bisz(2-imidazolil)csoportot tartalmazó rendszerek leírásához.

Savas pH-tartományban valamennyi vizsgált ligandum és fémion esetében a két aromás nitrogénen kezdődik el a koordináció. Az így képződő komplexek stabilitása az Irwing-Williams sornak megfelelően  $\text{Cu(II)} > \text{Ni(II)} > \text{Zn(II)}$  sorrendben csökken.

A hisztidinszármazékok esetében emellett a bisz(2-piridil)-, ill. bisz(2-imidazolil)-koordináció mellett megjelent a hisztaminszerű koordináció is, így nikkel(II)- és cink(II)ionnal nagy stabilitású, vegyes koordinációjú oktaéderes biszkomplexek alakultak ki. A réz(II)ion esetében azonban, ahol síknégyszetesen torzult oktaéderes geometriájú komplexek képződnek, a hisztidil-oldallánc gyenge axiális koordinációja megakadályozza a hisztaminszerű koordináció kialakulását.

Mind a bisz(2-piridil)csoport, mind a bisz(2-imidazolil)csoport képes horgonycsoportként viselkedni, így nagyobb pH esetén végbemegy az amid-nitrogén deprotonálódása és a fémionok körül kialakul a peptidszerű koordináció az aminocsoporton, a deprotonált amid-nitrogénen és az egyik aromás nitrogénen keresztül. Ezt a folyamatot más koordinációs módú, viszonylag nagy stabilitású komplexek jelenléte azonban nagymértékben akadályozhatja, ezek a komplexek ugyanis megakadályozzák a peptid-nitrogénnek a fémion koordinációs szférájába kerülését és deprotonálódását. Emiatt a stabilis, bisz(2-imidazolil)koordinációjú (BIMA származékok), vagy a vegyes koordinációjú (hisztidinszármazékokkal képződő) komplexeket is tartalmazó rendszerekben a deprotonálódás csak nagyobb pH-nál, vagy egyáltalán nem megy végbe.

Dimer, ill. más oligomer vagy polimer szerkezetek kialakulása csak azon ligandumok esetében következik be, amelyek szabad imidazolilcsoportot tartalmaznak (BIMA- és hisztidinszármazékok). Az imidazolilcsoportnál kisebb fémmegkötő képességű piridingyűrű ugyanis nem képes hídcsoportként koordinálódva dimer vagy más oligomer szerkezetek képződését elősegíteni.

## Irodalomjegyzék:

- [1] Johnson, W. H.; Roberts, N. A.; Borkakoti, N.: *J. Enzyme Inhibition*, **2**, 1 (1987).
- [2] Várnagy, K.; Sóvágó, I.; Ágoston, K.; Likó, Zs.; Süli-Vargha, H.; Sanna, D.; Micera, G.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2939 (1994).
- [3] Várnagy, K.; Sóvágó, I.; Ágoston, K.; Likó, Zs.; Süli-Vargha, H.: *Magyar Kémiai Folyóirat*, **100**, 127 (1994).
- [4] Várnagy, K.; Sóvágó, I.: *Molecular Modeling and Dynamics of Bioinorganic Systems*, (eds.: Banci, L.; Comba, B.) 441 (1997). NATO ASI Series, Dordrecht/Boston/London
- [5] Bernhardt, P. V.; Comba, P.; Mahu-Rickenbach, A.; Stebler, S.; Steiner, S.; Kárnagy, K.; Zehnder, M.: *Inorg. Chem.*, **31**, 4194 (1992).
- [6] Bühler, H.; Anderegg, G.: *Chimia*, **24**, 433 (1970).
- [7] Likó, Zs.; Süli-Vargha, H.: *Tetrahedron Lett.*, **34**, 1673 (1993).
- [8] Drey, D. N. C.; Fruton, J. S.: *Biochemistry*, **4**, 1 (1965).
- [9] Irwing, H. M.; Miles, M. C.; Pettit, L. D.: *Anal. Chim. Acta*, **38**, 475 (1967)
- [10] Drey, D. N. C.; Fruton, J. S.: *Biochemistry*, **4**, 1258 (1965).
- [11] Tang, C. C.; Davalian, D.; Huang, P.; Breslow, R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3918 (1978).
- [12] Mohan, M. S.: *Ind. J. Chem., Sect. A*, **20**, 252 (1981).
- [13] Várnagy, K.; Sóvágó, I.; Goll, W.; Süli-Vargha, H.; Micera, G.; Sanna, D.: *Inorg. Chim. Acta*, **283**, 233 (1998).
- [14] Irwing, H. M.; Miles, M. C.; Pettit, L. D.: *Anal. Chim. Acta*, **38**, 475 (1967).
- [15] Zékány, L.; Nagypál, I.: *Computation Methods for the Determination of Formation Constants*, **8**, (ed.: Leggett, D. J.) 291 (1985). Plenum Press, New York
- [16] Kozłowski, H.; Micera, G.: *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids*, **1**, (ed.: Berthon, G.) 566 (1995). Marcel Dekker Inc., New York
- [17] Pettit, L. D.; Gregor, J. E.; Kozłowski, H.: *Perspectives on Bioorganic Chemistry*, **1**, (eds.: Hay, R. W.; Dilworth, J. R.; Nolan, K. B.) (1991). JAI Press, London
- [18] Siegel, H.; Martin, R. B.: *Chem. Rev.*, **82**, 385 (1982).
- [19] Joseph, M.; Leigh, T.; Swain, M. L.: *Synthesis*, 459 (1977).
- [20] Tang, C. C.; Davalian, D.; Huang, P.; Breslow, R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3918 (1978).
- [21] Woessner, I. F. Jr.: *The FASEB Journal*, **5**, 2145 (1991).

- [22] Niemers, E.; Hiltmann, R.: *Stnthesis*, 593 (1976).
- [23] Nguyen, D.; Seyer, R.; Heitz, A.; Castro, B.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1025 (1985).
- [24] Lennert L.; Ósz K.: *TDK dolgozat* (1998).
- [25] Hancock, R.; Nakani, B.; Marsicano, F.: *Inorg. Chem.*, **22**, 2531 (1983).
- [26] Gonzales, A.; Rosales, D. et al: *Anal. Chim. Acta*, **228**, 301 (1990).
- [27] Sóvágó, I.; Farkas, E.; Gergely, A.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2169 (1982).
- [28] Martin, R. B.; Edsall, J. T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 1107 (1960).
- [29] Morris, P. J.; Martin, R. B.: *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **33**, 2913 (1971).
- [30] Farkas, E.; Sóvágó, I.; Gergely, A.: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1545 (1983).
- [31] Sóvágó, I.; Gergely, A.: *Inorg. Chim. Acta*, **20**, 27 (1976).
- [32] Sóvágó, I.; Gergely, A.: *Inorg. Chim. Acta*, **37**, 233 (1979).
- [33] Farkas, E.; Sóvágó, I.; Gergely, A.: *Magyar Kémiai Folyóirat*, **89**, 207 (1983).