



**Biológiailag aktív hidroxámsavak és modelljeik
kölcsonhatása kétértékû fémionokkal**

doktori (PhD) értekezés

Enyedy Éva Anna

Debreceni Egyetem
Debrecen, 2002.

TARTALOMJEGYZÉK

	oldal
1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés.....	7
2.1. Hidroxámsavak általános jellemzése.....	7
2.2. A hidroxámsavak sav-bázis tulajdonságai.....	8
2.3. A hidroxámsavak biológiai hatása.....	10
2.4. A hidroxámsavak redoxi sajátosságai.....	14
2.5. A hidroxámsavak komplexképző sajátosságai.....	15
2.6. A Fe(II) komplexképzésének általános jellemzése.....	24
3. Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek.....	27
3.1. Felhasznált vegyszerek.....	27
3.2. A mérések elvi alapjai.....	29
3.3. Alkalmazott eszközök, módszerek és kísérleti körülmények.....	33
4. Eredmények.....	37
4.1. A vizsgált rendszerek kiválasztása.....	37
4.2. A vizsgált hidroxámsavak savi disszociációs állandóinak meghatározása.....	37
4.3. Egy hidroxámsavcsoportot tartalmazó ligandumok fémkomplexei.....	42
4.3.1. Egyszerű monohidroxámsavak kölcsönhatásának vizsgálata kétértékű fémionokkal.....	42
4.3.2. Aminohidroxámsavak kölcsönhatása +2 töltésű $3d^{5-10}$ fémionokkal.....	49
4.3.2.1. α -Ala és β -Ala komplexképzésének vizsgálata.....	49
4.3.2.2. Oldalláncbeli aminocsoport szerepe.....	53
4.3.3. Monohidroxámsavak vegyes ligandumú komplexei.....	62
4.3.3.1. Fémion(II)–B ligandum törzskomplexek.....	62
4.3.3.2. Vegyes ligandumú komplexek képződése két donoratomot tartalmazó B ligandumokkal.....	65
4.3.3.3. Vegyes ligandumú komplexek képződése három donoratomot tartalmazó B ligandumokkal.....	70
4.4. Több hidroxámsavcsoportot tartalmazó hidroxámsavak és átmenetifémionok oldategyensúlyi viszonyai.....	73
4.4.1. Természetes sziderofórok vizsgálata.....	73
4.4.2. Fe(III)- és Fe(II)-ionok kölcsönhatása dihidroxámsavakkal.....	78
4.4.2.1. Fe(III)–dihidroxámsav komplexek.....	79
4.4.2.2. Fe(II)–dihidroxámsav komplexek.....	81
4.4.3. Fe(II) kölcsönhatása trihidroxámsavakkal.....	85
5. Összefoglalás.....	95
6. Summary.....	97
7. Irodalmi hivatkozások.....	103
8. Függelék.....	109

1. BEVEZETÉS

Jól ismert, hogy a vas szinte minden élőlény számára létfontosságú elem. Fontos szerepet játszik többek között az oxigénszállításban, -tárolásban és bizonyos elektrontranszfer folyamatokban. Igen hatékony mechanizmus szabályozza az élőlényekben a vas felvételét és szállítását, ami biztosítja a szükséges vaskoncentrációt, bár ez a működés a különböző evolúciós szinteken eltérő módon valósul meg. Amíg a Föld légköre redukív volt, addig a vas +2-es oxidációs formában volt jelen, de az oxidatív légkör megjelenése miatt a nagyobb oxidációs számú vasion lett a jellemző. A Fe(III) Fe(II)-ionhoz képesti jóval erősebb hidrolízisre való hajlama miatt szükség volt olyan vegyületekre, melyek komplexképződés révén képesek oldatban tartani a sejtek működéséhez szükséges vasmennyiséget. Fejlettebb élőlényekben különböző fehérjék (pl. ferritin, transferrin) szállítják, tárolják a vasat, míg a mikroorganizmusok siderofórokat termelnek.¹⁻³

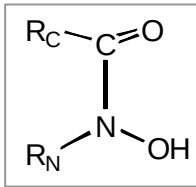
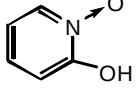
Az eddig izolált és karakterizált, több mint 300 féle siderofór többnyire hidroxamát- és/vagy katecholát típusú funkciós csoportokat tartalmaz, bár egyéb típusok, mint pl. α -hidroxi-karboxilát tartalmúak is ismertek. Általában ezekben a vegyületekben három kelátképző csoport van, és a Fe(III) oktaéderes koordinációs szféráját teljesen telíteni tudják, igen nagy stabilitású komplexeket képezve. A sejtbe a citoplazma membránján át a vas általában ilyen siderofór komplex formájában jut be, majd különböző módon válik az élőlény számára hozzáférhetővé. Lehetséges út a ligandum degradációja vagy a ligandumcsere, de a hidroxamát típusú siderofóroknál azt találták, hogy a komplexben kötött Fe(III) redukálódik, és az így képződő, jóval kisebb stabilitású Fe(II)-komplexből a sejt hozzájuthat a vashoz.⁴

Az irodalomban széles körben tanulmányozták már a siderofórok Fe(III)-ionnal képzett komplexeit,^{4,5} de gyakorlatilag nem vizsgálták a kölcsönhatásukat a Fe(II)-ionnal, valószínűleg az ion oxigénre való érzékenysége miatt, pedig a fent említett redukció révén érdekesek lehetnek ezek az eredmények. Ezért célul tűztük ki a Fe(II)-ion természetes trihidroxámsav típusú siderofórokkal, valamint modell hidroxámsavakkal való kölcsönhatásának tanulmányozását, mivel az ilyen rendszerek vizsgálata is szinte irodalmi előzmény nélküli. A Fe(II)-hidroxamát kölcsönhatásokra vonatkozó eredmények reális voltának megítéléséhez célszerű összevetni azokat a Fe(III)-iont tartalmazó rendszerekével, valamint a periódusos

rendszer további $3d^5-d^{10}$ elektronszerkezetű kétértékű fémionokra vonatkozókkal is, hogy megfelelnek-e az állandók az Irving-Williams-féle⁶ tendenciának. Ha az irodalomból hiányoztak ezek az összehasonlító adatok, akkor azokat is meg kellett határoznunk. Ugyanakkor ezek az adatok önállóan is érdekesek lehetnek. A hidroxámsavaknak ugyanis nem csupán a sziderofórok kapcsán van fontos biológiai szerepe. Jól ismert az antibiotikus, antitumor, és sejtnövekedésre, sejtosztódásra kifejtett hatásuk,⁷⁻¹³ valamint számos hidroxámsav és aminosavak hidroxámsav származékai hatásos inhibitora bizonyos metalloenzimeknek (pl. ureáz,^{14,15} kollagenáz,¹⁶ stb.). Ezen enzimek aktív centrumában különböző kétértékű átmenetifém-ion található, pl. Ni(II), Zn(II), Co(II), Cu(II), Mn(II).¹⁴⁻²² Az inhibíciós hatás alapja a hidroxámsav és a fémion közvetlen kölcsönhatása. Ennek a kölcsönhatásnak a modellezéséhez és megértéséhez információt adnak a szisztematikus oldategyensúlyi vizsgálatok. Az alkalmas inhibáló ligandum kiválasztását is segítheti, ha tanulmányozzuk, hogy a hidroxámsavcsoporthoz kapcsolódó funkciós csoportoknak milyen hatása van a hidroxamát-kelát stabilitására, és a fémion környezete hogyan befolyásolja ezt a kölcsönhatást. Ezért különböző mono- és aminosavak kölcsönhatását tanulmányoztuk a fent említett kétértékű fémionokkal. Vegyes ligandumú rendszereket is vizsgáltunk, mert a hidroxámsavak biológiai hatásának a megértéséhez ezek az összetettebb rendszerek jobb modellként szolgálhatnak. Mivel hidroxámsavak vegyes ligandumú komplexképzésére vonatkozólag csak elvétve található irodalmi adat, ezért részletes vizsgálatokat végeztünk monohidroxámsavakat és különböző (B) ligandumokat, valamint Ni(II)-, Cu(II)-, Zn(II)-ionokat tartalmazó rendszerek esetén.

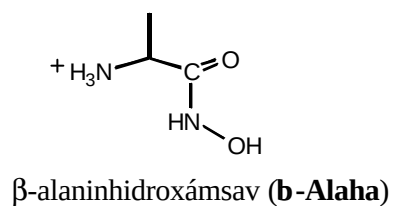
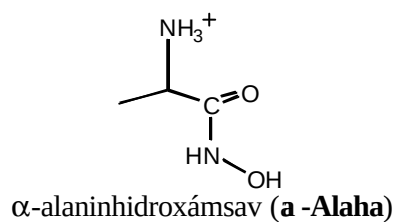
A munka során vizsgált hidroxámsavak és a vegyes ligandumú rendszerek tanulmányozásához használt B ligandumok képletei az 1-3. ábrákon láthatók.

Monohidrozámsavak és a hidrozámsav analóg:

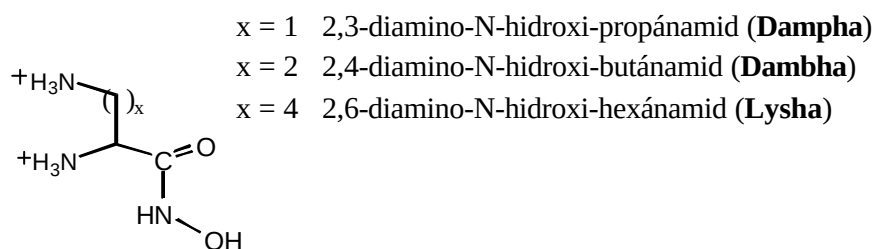
	R_C :	R_N :	név:
	-CH ₃	-H	acetohidrozámsav (Aha)
	-CH ₂ -CH ₃	-H	propanohidrozámsav (Pha)
	-(CH ₂) ₄ -CH ₃	-H	hexanohidrozámsav (Hha)
		-H	benzohidrozámsav (Bha)
	-CH ₃	-CH ₃	N-metil-acetohidrozámsav(MAha)
	-CH ₃		N-fenil-acetohidrozámsav(PhAha)
			2-hidroxi-piridin-N-oxid (PYRha)

Aminohidrozámsavak:

b. monoaminohidrozámsavak:

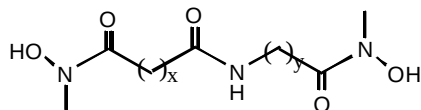


b. diaminohidrozámsavak:

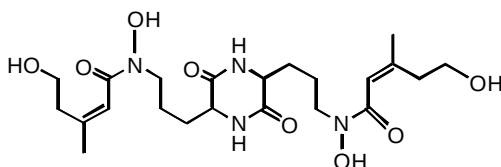


1. ábra A vizsgált mono- és aminohidrozámsavak képlete

Dihidroxámsavak:

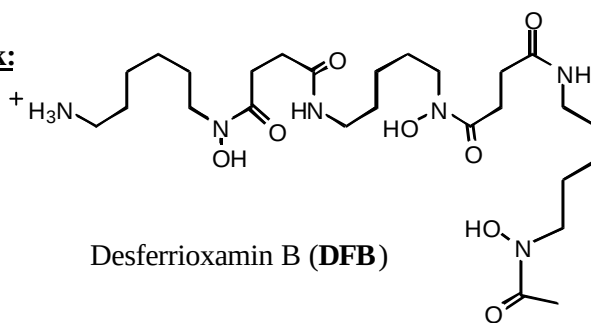


- x = 2, y = 5 N-metil-N-hidroxi-N'-[3-(N-metil-N-hidroxi-karbamoil)-propil]-heptán-1,7-dikarboxamid **(2,5-DIHA)**
- x = 3, y = 4 N-metil-N-hidroxi-N'-[3-(N-metil-N-hidroxi-karbamoil)-propil]-hexán-1,6-dikarboxamid **(3,4-DIHA)**
- x = 3, y = 3 N-metil-N-hidroxi-N'-[3-(N-metil-N-hidroxi-karbamoil)-propil]-pentán-1,5-dikarboxamid **(3,3-DIHA)**

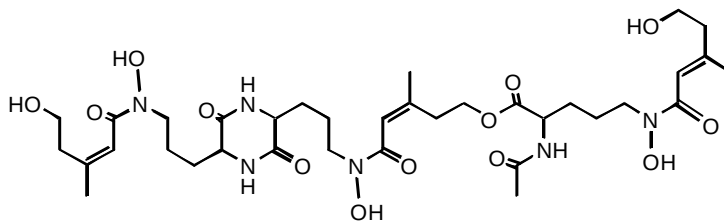


dimerumsav

Trihidroxámsavak:

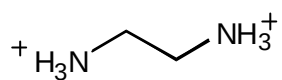


Desferrioxamin B (DFB)

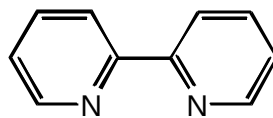


koprogén

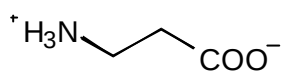
2. ábra A vizsgált di- és trihidroxámsavak képlete



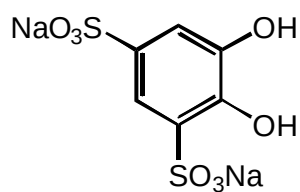
etilén-diamin (**en**)



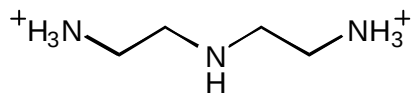
2,2'-bipiridil (**bipy**)



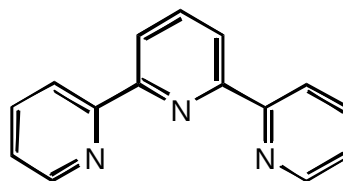
glicin (**Gly**)



nátrium-pirokatechin-3,5-diszulfonát (**Tiron**)



dietylén-triamin (**dien**)



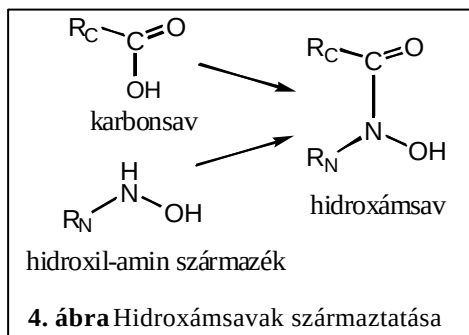
2,2':6',2''-terpiridin (**terpy**)

3. ábra A vizsgált B ligandumok képlete

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Hidroxámsavak általános jellemzése

Legelőször 1869-ben Lossen állított elő hidroxámsavat.²³ Etil-oxalát és hidroxil-amin reakciójával az oxálsav hidroxámsav származékát kapta. 1943-ban már összefoglaló közlemény is megjelent a hidroxámsavak előállításával és bizonyos analitikai jelentőségükkel kapcsolatban.²⁴ A viszonylagos korai felfedezés ellenére ez a vegyületcsalád az érdeklődés középpontjába csak akkor került, amikor felismerték, hogy bizonyos természetes vegyületek is tartalmaznak



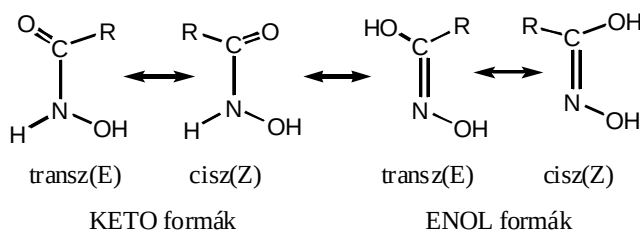
hidroxámsavcsoportokat, és sikerült is biológiai rendszerekből azokat izolálni.²⁵

A hidroxámsavak szerkezetileg a karbonsavakból, ill. a hidroxil-aminból származtathatók (ld. 4. ábra). Előállításuk legtöbbször hidroxil-amin és aktív acilcsoportot tartalmazó karbonsav származékok (RCOX , $\text{X} = \text{pl. } -\text{NH}_2, -\text{Cl}, -\text{OR}, =\text{NH}$) reakciójával történik.²⁶

A hidroxamát-nitrogénhez kapcsolódó csoporttól függően beszélhetünk primer (ha $\text{R}_\text{N}=\text{H}$) és szekunder (ha $\text{R}_\text{N}\neq\text{H}$) hidroxámsavakról, melyek lehetnek nyílt vagy zárt láncúak.

A hidroxámsavak csoportosíthatók a molekulában található hidroxámsavcsoportok számától függően; a természetes vegyületek körében elsősorban di- és trihidroxámsavakat találunk. A két, ill. három funkciós csoportot tartalmazó hidroxámsavakat pedig a csoportokat összekötő szénlánc hossza, szerkezete alapján osztályozhatjuk tovább.

A hidroxámsavak esetén a hidroxamát-nitrogénhez kapcsolódó hidrogén átrendeződésével oldatban létrejöhetnek keto-enol tautomerek az 5. ábrán látható módon. A keto-enol szerkezeti izomerek aránya pH-függő, savas pH-n a keto, lúgos közegben az enol forma a jellemzőbb.²⁷ A hidroxámsavcsoport C-N kötése mentén a rotáció gátolt, ami miatt cisz(Z) és transz(E) geometriai izomerek jelennek meg. Természetesen ezek az izomerek létezhetnek mind a keto, mind az enol forma esetén, melyeket az 5. ábra mutat. NMR vizsgálatok igazolták, hogy oldatban mind a négyféle izomer jelen lehet.²⁸



5. ábra A hidroxámsavak izomerjei

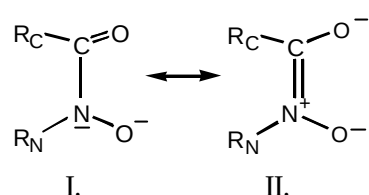
Számos szerző különböző molekulaelméleti számításokkal jellemezte az egyes izomerek stabilitását oldatban ill. gázfázisban, azaz szolvatált ill. izolált formában.²⁹⁻³³ Fitzpatrik és Mageswaran számításai azt mutatták, hogy pl. az acetohidroxámsav esetén gázfázisban a transz(E)-keto forma a legkisebb energiájú.²⁹ Yazal és Pang szerint ugyanakkor nincs jelentős energetikai különbség a cisz(Z) és transz(E) formák között, ami miatt a cisz(Z)- és transz(E)-keto és cisz(Z)-enol formák kb. hasonló mennyiségben vannak jelen.³⁰ C. Muðoz és munkatársai számításai szerint a cisz(Z)-keto forma a legstabilisabb gázfázisban.³¹ Oldatban viszont – hidrogénkötések kialakulása miatt – a cisz(Z)-keto forma a leginkább jellemző Fitzpatrik és Mageswaran szerint, amit a szilárd halmazállapotú acetohidroxámsav hemihidrátjának röntgendiffrakciós szerkezete is alátámaszt.²⁹ Brown és munkatársai részletesen elemezték, hogy oldatban milyen tényezők befolyásolják a cisz(Z) és transz(E) formák arányát.³² Megállapították, hogy szerepe van a hőmérsékletnek, a hidroxámsav koncentrációjának és az alkalmazott oldószernek is. NMR mérések azt mutatták, hogy poláris oldószerben a cisz(Z) izomer a leggyakoribb.³² Azonban a Z/E izomer arány nagymértékben függ az R_C és R_N szubsztituensek térkitöltésétől is. Primer hidroxámsavak esetén minél nagyobb az R_C szubsztituens, annál inkább nő a Z/E arány; szekunder hidroxámsavaknál pedig amiért az R_C és $-OH$ csoportok közötti szterikus kölcsönhatás jelentősebb, az R_C és R_N szubsztituensek egy oldalon helyezkednek el.^{32,33}

2.2. A hidroxámsavak sav-bázis tulajdonságai

A hidroxámsavak egyértékű, gyenge savak, a pK értéke 9 körüli.⁵ Molekulaelméleti számítások szerint a disszociábilis proton gázfázisban az $-NH$ csoporttól származik,³⁴ de vizes oldatban a hidroxámsavak kizárólagosan $-OH$

savak.³⁵ A hidroxámsavak ugyanakkor gyenge bázisként is viselkedhetnek, ab initio számításokkal valószínűsítették,^{36,37} ill. UV spektrofotometriás mérésekkel bizonyították is,³⁸ hogy a karbonil-oxigén képesek tömény ásványi savakban protonálódni.

Mivel vizes oldatban a pH-potenciometriás vizsgálati tartományban a keto forma jellemző, így a továbbiakban ennek a deprotonálódását tárgyaljuk. Ahogyan



6. ábra Monohidroxamátok rezonanciaformái

fent említettük, a protont az OH-csoport veszi el, és az így képződő monoanionos forma NMR mérésekkel bizonyítottan a 6. ábrán látható kétféle határszerkezettel jellemezhető.³⁹ Az ábra mutatja, hogy a nitrogén nemkötő elektronpárja részben delokalizálódhat a C-N kötésen, és így a nitrogénen részleges pozitív, a karbonil-oxigénen részleges negatív töltés alakul ki. R_N -helyzetben

lévő elektronküldő szubsztituens stabilizálhatja a II. formát, megnövelve ezáltal a hidroxamát bázicitását. A szubsztituensről függően egy hidroxámsav savi disszociációs állandója 8,5-9,5 között van, de abban az esetben, ha a funkciós csoport gyűrűben van, akkor akár sokkal kisebb is lehet.⁴⁰

Amennyiben egy vegyületnek több disszociálható protonja van, a deprotonálódni képes funkciós csoportok egymás sav-bázis sajátosságát befolyásolhatják.⁴¹ A kölcsönhatás mértéke alapvetően függ a csoportok térbeli távolságától a molekulán belül. A természetben megtalálható többértékű hidroxámsavak esetén legtöbbször a funkciós csoportok között nincs jelentős kölcsönhatás, az összekötő szénlánc kellően hosszú, így a statisztikus értéknek megfelelőek a makroállandók közötti eltérések, vagyis dihidroxámsavak esetén 0,6 és trihidroxámsavak esetén 0,48 a pK értékek különbsége.⁴¹ Ha azonban az összekötő szénlánc flexibilis, hidrogénkötések révén lehetséges nem láncon keresztüli gyenge kölcsönhatás a csoportok között, mint pl. a DFB esetén.⁴²

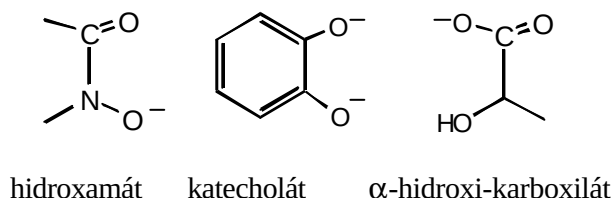
A hidroxámsavakban sokszor más típusú, deprotonálódni képes donorcsoport is található (pl. ammóniumcsoport az aminohidroxámsavak esetén). Amennyiben a protondisszociációs folyamatok átfednek egymással, akkor a pH-metriásan meghatározott makroállandókat nem rendelhetjük egyik donorcsoportoz sem egyértelműen. Néhány aminohidroxámsav esetén meghatározták a mikroállandókat NMR mérésekkel.^{43,44} Az α -Ala esetén azt kapták, hogy a hidroxamát bázicitása az aminocsoporttól valamivel kisebb, míg a β -Ala-nál fordított tendenciát

figyelték meg.⁴³ A szarkozinhidroxámsav (N-metil-glicinhidroxámsav) esetén az α -Alaha-hoz képest megfordul a bázicitási sorrend, amit a metilcsoport elektronküldő sajátságával értelmeztek.⁴⁴

2.3. A hidroxámsavak biológiai hatása

A XX. század közepétől kezdve, amikor felismerték a hidroxámsavak bizonyos biológiai jelentőségét, egyre több kutatócsoport kezdett el ezzel a vegyületcsoporttal foglalkozni.

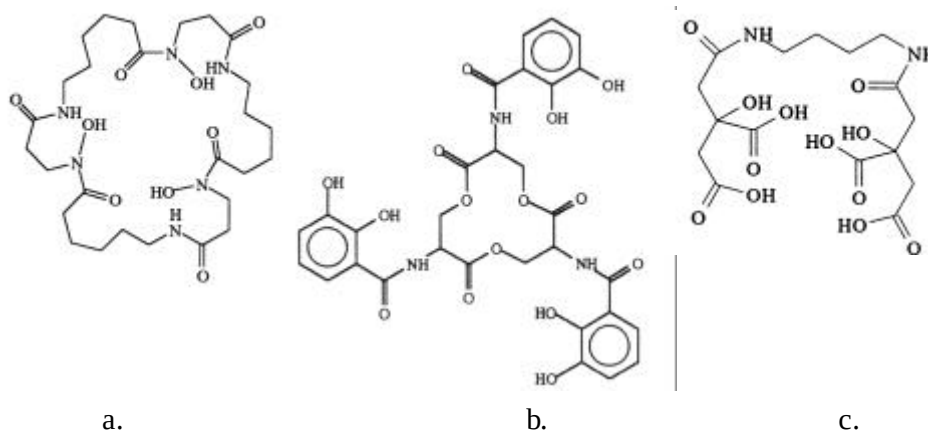
A hidroxámsavak biológiai szerepei közül az egyik legfontosabb a sziderofórokhoz köthető.³⁻⁵ A sziderofórok* viszonylag kis molekulatömegű (0,5-1,5 kDa) kelátképző vegyületek, melyeket mikroorganizmusok szintetizálnak elsősorban aerob körülmények között. A sziderofór termelés egyértelműen az élőlény környezetében lévő vas mennyiségétől függ. Az oxidatív atmoszféra kialakulása miatt a vas Fe(III)-ion formában van jelen, melynek jól ismert a hidrolízisre való hajlama. A $\text{Fe}(\text{OH})_3$ oldhatósági szorzata olyan kicsi ($L = 10^{-39} \text{ (mol/dm}^3)^4$), hogy fiziológias pH-n csak $\sim 10^{-19} \text{ mol/dm}^3$ a szabad fémion koncentrációja, ami több nagyságrenddel kisebb a sejtek működéséhez szükséges vaskoncentrációtól.⁴⁵ A sziderofórok a Fe(III)-ionnal igen nagy stabilitású 1:1 arányú komplexet képezve megvédik azt a hidrolízistől, majd a vas ilyen komplex formájában kerül felvételre.^{4,5} A redukzív atmoszféra mellett (ill. jelenleg is anaerob körülmények között) a hidrolízisre jóval kevésbé hajlamos Fe(II) volt jelen, és felvétele passzív iontranszporttal történt, nem volt szükség külön komplexképzőre. Valószínűleg ez az egyszerűbb Fe(II)-felvétel lehet az oka annak, hogy a legtöbb metabolikus folyamatban az alacsony evolúciós szinteken is részt vett a vas.³



7. ábra A sziderofórok jellegzetes kelátképző csoportjai

* **sziderofór**: görög szó, jelentése: vasszállító

A sziderofórokban általában három kelátképző donorcsoport található. A kölcsönhatásért felelős funkciós csoport a gombák esetén hidroxamát (pl. ferrikróm, koprogén), míg a baktériumoknál hidroxamát és/vagy katecholát típusú (pl. enterobaktin, aerobaktin, mikobaktin, DFB). Újabban egyéb donorcsoportokat is azonosítottak, ilyenek pl. az α -hidroxi-karboxilát tartalmú sziderofórok (pl. rhizoferrin).⁴ (A sziderofórokban leggyakrabban előforduló kelátképző-csoportokat a 7. ábra mutatja.) A sziderofórok között találunk néhány dihidroxámsavat is, mint pl. a rhodotolurinsav, alcaligin, melyek 2:3 fém-ligandum arányú komplexeket képezve telítik a Fe(III) koordinációs szféráját.^{4,46,47} Ezek a komplexek a trihidroxamátokhoz képest valamivel kisebb stabilitásúak, és a Fe(III)/Fe(II)-sziderofór rendszer elektródpotenciája pozitívabb, melynek eredményeképpen a vas a komplexből könnyebben felszabadulhat.^{4,48} (A 8. ábrán a fent említett sziderofórokból látható néhány.)



8. ábra Néhány sziderofór képlete
(a: desferrioxamin E, b: enterobaktin, c: rhizoferrin)

Néhány évvel ezelőtt felfedezték, hogy bizonyos nitrogénfixáló baktériumokban nem csak a Fe(III), hanem a Mo(VI) felvétele is történhet sziderofórokkal,⁴⁹ ill. Pu(IV) és U(IV) esetén is megfigyelték ezt.⁵⁰ Az 1960-as években pedig kimutatták, hogy a mikroorganizmusokon kívül néhány növény (elsősorban fűfélék) is termel hidroxámsav típusú vegyületeket.⁵¹ Utóbbiak legtöbbször ciklikus monohidroxámsavak, és a funkciójuk a mikroorganizmusok által termelt sziderofórokétól eltérő, elsősorban rezisztenciátényezőkként ismertek.

A vashiányos körülmények között termelt sziderofórt a mikroorganizmus a sejten kívüli térbe juttatja, ahol a Fe(III)-ionnal komplexet képez.⁴ A komplexben kötött sziderofór és a szabad ligandum geometriája elég eltérő, a sejtmembrán receptorfehérjéi igen szigorú sztereospecifitással a komplexet ismerik fel. A vas a citoplazmába mindig aktív transzporttal kerül be. A metabolitikus folyamatokhoz szükséges vashoz a sejt többféle módon juthat, a mikroorganizmus típusától függően más-más mechanizmus működik. Ezeket a mechanizmusokat számos faj esetén elég részletesen leírták már, de a mai napig is sok a tisztázatlan lépés.^{4,52} Igen valószínű mechanizmus a ligandumcsere, ami lejátszódhat a sejtfalnál és a citoplazmában egyaránt,⁴ majd a visszamaradó sziderofórt a sejt újra az extracelluláris térbe juttatja. A vas a sziderofór degradációja révén is felszabadulhat. Észteráz enzim segítségével a sziderofórban található peptidkötés hidrolizálhat. Bizonyos esetekben lokális pH-csökkenéssel is magyarázták a Fe(III)-ion felszabadulását, bár egyedüli mechanizmusként ez nem valószínű, mert irodalmi, ill. tanszéki* eredmények is azt mutatták, hogy a nagy stabilitású komplexek képződése miatt sok esetben még pH = 0-n is koordinálódik egy hidroxamátcsoporthoz.^{3,53}

A Fe(III)-triszhidroxamát/Fe(II)-triszhidroxamát rendszerekre mért $\sim -0,43$ V standard elektródpotenciáltól a triszkatecholát-komplexeinél kapott értékek jóval negatívabbak (pl. enterobaktin esetén $-0,75$ V). A trihidroxámsavak esetén ezért is feltételezik, hogy fiziológiás redukálószer (pl. NAD^+/NADH) képesek a sziderofórkomplexben kötött központi fémiont redukálni, és az így képződő kisebb stabilitású Fe(II)-sziderofór komplexből a vas már könnyebben hozzáférhető. A redukció mellett a lokális pH-csökkenés is fontos. A redukációs lépést több faj esetében bizonyították is.⁴ Kimutatták azt, hogy a sejtbe bekerülő vas már 30 perc múlva szinte 100%-osan Fe(II)-ionként van jelen.⁵² Bizonyos növények gyökerében nagy mennyiségű fiziológiás redukálószer található, melyek funkciója minden bizonnyal a Fe(III)-sziderofór komplex redukciója.⁴

Jelenleg sok kutatócsoport foglalkozik a vASFelvétel mechanizmusának még alaposabb megértésével. Ennek kapcsán tanulmányozzák a sejtmembrán sziderofórkomplexeit felismerő receptor fehérjéit, valamint számos kinetikai vizsgálat folyik a lehetséges ligandumcsere modellezésére vonatkozólag.^{4,54-56} Sok publikáció született az újabban izolált természetes sziderofórok, ill. szintetikus analógjai előállításáról, jellemzéséről kapcsán.⁵⁷⁻⁵⁹ Különös figyelem irányul a

* Tanszék: Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

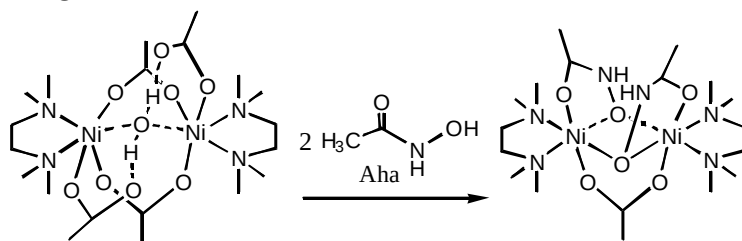
sziderofórok Fe(III)-komplexeire, viszont *gyakorlatilag nincs irodalmi előzmény a Fe(II)-ion sziderofórokkal való közvetlen kölcsönhatására vonatkozólag*, pedig a vasfelvétel enzimatis redukciós lépése egyértelműen indokolná ezt.

Az emberi szervezetben feleslegben lévő vas közismerten toxikus (pl. szabadgyökképzés miatt¹⁻³). Első lépésként különböző vas-oxi-hidroxidok formájában (gőtit, ferrihidrit) a májban, lépben, izületekben rakódik le.⁶⁰ Bizonyos betegségek (pl. thalaszmia, hemakromatózis) következtében a szervezetben lévő vas mennyisége megnő,⁶⁰ valamint vesedialíziskor a nagy mennyiségű alumínium mellett vas bevitele is történik. Akut vagy krónikus mérgezést okozó Fe(III)-, és Al(III)-ionok szervezetből való eltávolítására alkalmas az egyik legismertebb trihidroxámsav típusú sziderofór, a DFB, mely a Desferal (CIBA-GEIGY) nevű gyógyszer hatóanyaga.⁶¹⁻⁶² Sajnos a gyógyszernek számos mellékhatása van, pl. vese és idegrendszeri károsodást okozhat, allergiás reakciót válthat ki, valamint csak infúzió formájában alkalmazható.⁶³ Ezért olyan módosított sziderofórokat, ill. egyéb típusú vegyületeket is próbálnak előállítani, melyek szájon át is bevehetők, nem toxikusak és egyre jobb lipofil sajátságúak, így a sejtekbe könnyebben bejuthatnak.^{64,65} Ugyanakkor a gyógyszerként az emberi szervezetbe bejuttatott DFB a Fe(III)-, és Al(III)-ionokon kívül elvben más fémionokat is megköthet. Korábbi saját eredményeink azonban azt mutatták, hogy pl. az emberi szervezetben nagy mennyiségben szabadon lévő Ca(II)- és Mg(II)-ionokból a DFB még hosszas alkalmazási idő alatt sem lenne képes számottevő mennyiséget üríteni. Ugyanis – az oldategyensúlyi vizsgálataink szerint – fiziológias pH-n szinte egyáltalán nem számottevő a kölcsönhatás a DFB és ezen alkáliföldfém-ionok között, kis stabilitású komplexek képződnek, és a DFB nem képes mindhárom kelátképző csoportjával koordinálódni a fémionokhoz.⁵³

A sziderofórok nemcsak gyógyszerként kerülhetnek fejlettebb szervezettségű élőlényekbe, hanem bizonyos patogén mikroorganizmusok működése kapcsán is. Pl. az *E. coli* baktérium által termelt enterobaktin képes az emberi transferrinből kivonni a vasat.⁴ Ugyanakkor a kórokozó működését blokkolni is lehet mesterséges sziderofórokkal; mivel az egészséges és a mikroorganizmussal fertőzött sejt permeabilitása különböző, a sziderofór módosításával elérhető, hogy a vasmegkötő analóg csak a fertőzött sejtbe jusson be.⁴

A hidroxámsavaknak számos egyéb biológiai hatása is jól ismert. A biológiai hatások szinte minden esetben az erős komplexképző sajátságukkal függnek össze. Ismert az antibiotikus (ld. fent), antitumor, valamint a sejtsztódásra, sejtnövekedésre kifejtett hatásuk.^{4,7-13} Már régen felismerték, hogy hidroxámsavak,

ill. aminosavak hatásos inhibitorai bizonyos metalloenzimeknek. A Ni(II)-ionokat tartalmazó ureáz esetén legismertebb az enziminhibíciós hatás, de több Zn(II), Co(II), Cu(II), Mn(II) tartalmú enzim esetén, mint pl. kollagenáz, 5-lipogénáz, aminosav-aminopeptidáz, proteináz, peptidil-formiláz, karboxi-peptidáz A¹⁴⁻²² is megfigyelték. Az inhibíció mindig az enzim aktív centrumában lévő fémion és a hidroxámsav közötti közvetlen kölcsönhatással magyarázható, ahogyan azt a 9. ábra is mutatja egy ureáz modell és az Aha esetén.¹⁵ Ezért egyrészt a könnyebb vizsgálhatóság érdekében az enzimtől egyszerűbb modelleket próbálnak előállítani és ezekkel tanulmányozni a különböző hidroxámsavak inhibíciós hatását,⁶⁶ másrészt vizsgálni lehet közvetlenül is a fémion és a hidroxámsav kölcsönhatását.



ureáz enzim aktív centrumának modellje

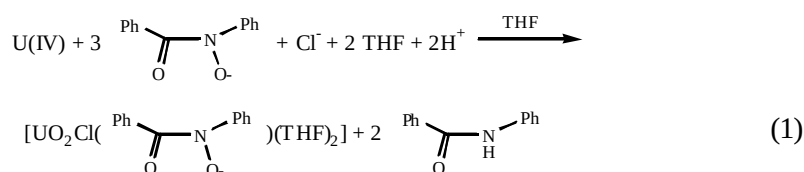
9. ábra Egy ureáz modell Aha általi inhibíciója¹⁵

A hidroxámsavak biológiai hatása mellett jelentős az analitikai és különböző ipari alkalmazásuk is. Használják hidroxámsavakat fémionok spektrofotometriás,⁶⁷ gravimetriás meghatározására,⁶⁸ ill. hidroxámsavcsoportokat tartalmazó polimer gyantákat fémionok elválasztására.⁶⁹ A réz korróziója ellen különböző benzohidroxámsav származékokat találtak hatásosnak.⁷⁰ Kutatások folynak nyomelemek fémion-hidroxámsav-komplex formájában való állati szervezetbe történő bevitelével kapcsolatban is.⁷¹

2.4. A hidroxámsavak redoxi sajátosságai

A hidroxámsavak bizonyos fémionokkal való kölcsönhatásuk során redoxi szempontból nem maradnak változatlanok. Egyes fémionok oxidálni, vagy redukálni képesek a hidroxámsavcsoportot komplexképződés közben. A funkciócsoport elsősorban amiddá redukálható, pl. Na-Hg amalgámmal,²⁴ cinkkel,²⁴ foszfidokkal,⁷² ill. egyelektronos oxidációjával nitroxidgyökök⁷³ keletkeznek.

Az irodalomban több fémion (pl. Mo(V), V(III), V(IV), U(IV)) esetén leírták, hogy a hidroxámsavak azokat a komplexképződés során oxidálni képesek anaerob körülmények között.^{74,75} Smith és Raymond az N-fenil-benzohidroxámsav kölcsönhatását tanulmányozták szigorúan O₂-mentes körülmények között, nem vizes közegben U(IV)-ionnal.⁷⁴ A reakció során az U(IV) U(VI)-á oxidálódik, miközben a megfelelő amid képződik a hidroxámsavból az 1. egyenlet alapján.



Sikerült az uranilkomplex szerkezetét röntgendiffrakciós mérésekkel igazolniuk, és izolálták a képződő benzanilidet is.

Brown és munkatársai bizonyították, hogy N-aril szekunder hidroxámsavak, ill. dihidroxámsavak képesek oxidálni a +3 és +4 oxidációs állapotú vanádiumot +5 állapotúvá, és a Mo(V)-t molibdátá. Egyértelműen kimutatták a képződő amidot ill. diamidot ¹H NMR, IR és elektronspray ionizációs tömegspektrometriás (EIMS) módszerekkel.⁷⁵ Minden esetben valószínűsítették, hogy az oxidáció előtt kialakul a kisebb oxidációs állapotú fémionnal a hidroxamát-komplex.

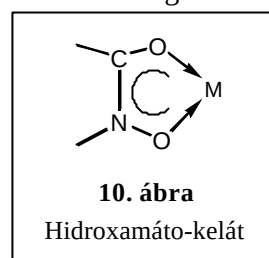
Ahogy az fent említésre került, a hidroxamátokat oxidálni is lehet. Nolan és munkatársai a közelmúltban figyelték meg, hogy primer hidroxámsavak (pl. Bha, szalicilhidroxámsav) [Ru(III)HEDTA] komplexszel való reakciója során Ru(II)-nitrozil komplex képződik.^{76,77} Az általuk feltételezett mechanizmus fontos lépése a Ru(III) redukciójakor a hidroxámsavból képződő hidroxil-amin (NH₂OH) megjelenése, ami közismerten nitrozilgyökképző.

2.5. A hidroxámsavak komplexképző sajátása

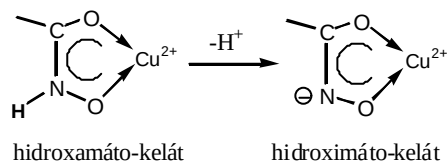
A hidroxámsavak komplexképző sajátására vonatkozólag 1963-ból származó alapközleményeikben Schwarzenbach és munkatársai az egyik legismertebb sziderofór, a DFB és ciklikus származéka (desferrioxamin E) mellett az Aha és Bha kölcsönhatását vizsgálták pH-potenciometriás, spektrofotometriás módszerekkel több +2 oxidációs számú átmenetifém-ionnal, valamint a Ca(II)- és Fe(III)-ionokkal.⁷⁸⁻⁸⁰ Azóta már sok oldategyensúlyi eredmény született a hidroxámsavak széles körében, mivel egyre több természetes hidroxámsavat izoláltak, egyre több szintetikus analógjukat állítottak elő, és természetesen az

oldategyensúlyi vizsgálatok technikai, számítástechnikai fejlődése is segítette az adatok bővülését.

Ahogy a 2.2. Fejezetben említésre került, a hidroxámsavak deprotonálódása révén kialakuló hidroxamátcsoporthal kizárólagosan (O,O) koordinációs mód valósul meg a 10. ábrán látható módon, amit röntgendiffrakciós vizsgálatokkal több fémion esetén is alátámasztottak.⁸¹ Nitrogénen keresztüli koordináció az irodalomban nem ismeretes. A hidroxámsavak főleg oxigén donoratomokat kedvelő fémionoknak (pl. Fe(III), Al(III), Ga(III)) jó ligandumai.^{4,5,40,42,53,82-84} A hidroxamát-anionnak cisz(Z) konformációjának kell lennie ahhoz, hogy koordinálódni tudjon a fémionhoz. Ha azonban az R_N szubsztituens nagy mérete miatt a donoratomok elhelyezkedése transz(E) helyzetű, a koordinációhoz az R_N-szubsztituensnek át kell fordulnia a C-N kötés mentén. A komplexképzés sebességmeghatározó lépése ennek a rotációnak a sebessége, ami az R_N szubsztituens elektronküldő sajátságától függ.⁸⁵



Primer hidroxámsavak esetén nagy pH-n (pH > 10) a kellően nagy stabilitású biszkomplexben a már koordinált hidroxamát deprotonálódni képes, a hidroxamáttól nagyobb stabilitású hidroximátó-kelátot (R_C-CONO²⁻) képezve, amit a 11. ábra mutat. Az NH-csoport deprotonálódását ESR mérések alapján először a Cu(II)-ion esetében figyelték meg,⁴⁰ de leírták már pl. a Fe(III) és Mo(VI) esetén is.⁸⁶



11. ábra A Cu(II)-hidroximátó-kelát kialakulása

A hidroxámsavak számos fémionnal stabilis komplexeket alkotnak, de az irodalomban a legtöbb vizsgálat a Fe(III)-ionnal történt, amit a biológiai jelentősége indokol. Ugyanakkor a Fe(III)-hidroxámsav rendszereket nem könnyű tanulmányozni, mert a fémkomplexek protonkomplexekhez képesti nagy stabilitása miatt már pH = 0 körül sok esetben koordinálódik a hidroxamát.^{40,53} Elsősorban ligandumkompetíció, és a Fe(III)-hidroxamát komplexek jellegzetes töltésátviteli

sávjainak segítségével spektrofotometriás mérésekkel határozták meg a Fe(III)–hidroxámsav rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandóit.^{4,5,53}

A monohidroxámsavak közül a legtöbb vizsgálatot az Aha-val végezték. Az oktaéderes geometriájú komplexeket képező fémionokhoz, mint pl. Fe(III), Al(III), Ni(II), Zn(II), maximálisan három hidroxamát tud koordinálódni.^{40,87,88} Mivel a Cu(II)-komplexeknek a geometriája torzult oktaéder, így a hat koordinációs hely nem egyenértékű. A hidroxamát oxigének a négy ekvatoriális helyen koordinálnak a fémionhoz, így mono-, és biszkomplexek képződnek, melyek stabilitása a $3d^{5-10}$ kétértékű fémek közül a legnagyobb.^{6,88} Az Aha-val $[CuA]^+$ és $[CuA_2]$ hidroxamato-komplexek mellett $[CuA_2H_{-1}]^-$ és $[CuA_2H_{-2}]^{2-}$ részecskék is képződnek*, melyek, ahogyan azt már említettük, a koordinált ligandum NH-csoportjának deprotonálódásával képződnek.⁴⁰

A 10. ábrán látható öttagú hidroxamato-kelát stabilitása alapvetően függ a szénhez, ill. elsősorban a nitrogénhez kötődő szubsztituens minőségétől. Ennek oka az, hogy a nitrogén nemkötő elektronpárjának a C-N kötésre történő delokalizációjával a hidroxámsav bázicitása megnő. Minél inkább elektronküldő az R_N szubsztituens, annál nagyobb a ligandum bázicitása, és a képződő komplex termodinamikailag stabilisabb, kinetikailag inertebb lesz.³⁹ Az irodalomban található néhány közlemény, mely a szubsztituenshatással foglalkozik.^{5,40,87,89-91} Összességében elmondható, hogy primer monohidroxámsavak esetén az R_C -helyzetben lévő alkillánc hosszának a növekedésével kismértékben megnő a ligandum savi disszociációs állandója, a növekvő elektronküldő hatás miatt. Míg ha fenilcsoport található ilyen helyzetben, akkor annak elektronszívó hatása miatt lecsökken a ligandum bázicitása. Ha a szubsztituens R_N -pozícióban van, akkor a fent említett okok miatt a ligandum bázicitásában nagyobb mértékű változást okoz. Minél hosszabb az R_N alkillánc, az egyre nagyobb hiperkonjugáló hatás miatt annál inkább megnő a bázicitás, és a fenilcsoport okozta csökkenés is nagyobb, mint az R_C szubsztituens esetén.

Jól ismert a ligandum bázicitása és a képződő komplex stabilitása közötti összefüggés,⁴¹ így nem meglepő, hogy a szubsztituens a fémkomplex stabilitására is hatást gyakorol. Munkánkat megelőzően főként a Fe(III)-, és Al(III)-ionok esetén, és néhány esetben a Cu(II)-ionnal történtek főleg tanszéki vizsgálatok a szubsztituenshatással kapcsolatban.^{40,87}

* "A"-val mindig a teljesen deprotonált ligandumot jelöljük.

A Fe(III) és Al(III) esetén azt kapták, hogy a monohidroxámsavakkal igen stabilis komplexek képződnek. Az 1:1 összetételű monohidroxamát komplexek esetén elektronküldő szubsztituensek R_C helyzetben kissé, R_N pozícióban számottevőbb mértékben növelik meg a stabilitást. Az elektronszívó fenilcsoport esetén a ligandum bázicitása alapján várthoz képest jóval nagyobb stabilitásúak a komplexek. Ezt úgy értelmezték, hogy a kialakuló konjugált elektronrendszer miatt kedvezőbb elektroneloszlásra nyílik lehetőség. Az általunk is vizsgált PYRha esetén a protondiszociációs állandója alapján várttól stabilisabb komplexek képződését figyelték meg. A komplexek nagy stabilitását ebben az esetben is a gyűrű π -elektronjainak részvételével kialakuló igen kedvező elektroneloszlással magyarázták. Az 1:2 és 1:3 arányú komplexeknél – főleg nagyméretű szubsztituens esetén – a sztérikus hatások is jelentősek.^{40,87}

A Cu(II)–Bha rendszer esetén az Aha-hoz hasonlóan ugyancsak ESR mérésekkel bizonyították a hidroximáto-kelát létrejöttét, de a képződő $[CuA]^+$ és $[CuA_2]$ komplexek rossz oldékonysága miatt a rendszert oldószerkeverékben tanulmányozták.⁴⁰ Vizsgálták a heterociklusos PYRha komplexképzését is. Nagy stabilitású mono- és biszkomplex képződött, és a $[CuA_2]$ komplex már pH = 7-re elérte a maximális koncentrációt.⁴⁰

A metalloenzim inhibíciós hatás modellezése szempontjából érdekes szubsztituenshatást tehát nem vizsgálták részletesen a $3d^{5-10}$ kétértékű fémionokkal. Ezért hét különböző monohidroxámsav kölcsönhatását tanulmányoztuk ezen fémionokkal, megvizsgálva, hogy az elektronküldő, ill. elektronszívó csoportok hogyan tudják befolyásolni a hidroxamáto-kelát stabilitását ezekben az esetekben.

A több hidroxámsavcsoportot tartalmazó vegyületek a különböző fémionokkal stabilisabb komplexeket képeznek, mint a monohidroxámsavak, de pl. a trihidroxámsav komplexek stabilitási állandóit nem lehet közvetlenül összevetni a monohidroxámsavak triszkomplexei esetén kapott állandókkal, mert más a mértékegységük. Viszont a monohidroxámsavakhoz képesti nagy stabilitás jól tükröződik a szabad fémion koncentrációjában, a pM értékében. Pl. a Fe(III) esetén pH = 7-n $1 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ ligandum és $1 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³ Fe(III) koncentráció mellett az Aha esetén a pM = 18,3, a DFB esetén 27,5; vagyis a sziderofórnál jóval kevesebb fémion marad szabadon.^{4,87}

A di-, ill. trihidroxámsavak esetén a funkciós csoportokat összekötő lánc szerkezete és hossza bizonyítottan befolyásolja a képződő komplex összetételét és

stabilitását, ugyanis ezek a tényezők szabják meg azt, hogy milyen a kelátképző csoportok térbeli elhelyezkedése. Ugyanakkor a képződő komplex geometriája és stabilitása természetesen a fémion karakterétől is függ.^{53,92-95}

Dihidroxámsavak esetén, ha az összekötő alifás szénlánc hiányzik, pl. az oxáldihidroxámsavban, a ligandum viselkedése eléggé eltérő a hosszabb szénláncúakétól. A Fe(III) esetén IR mérések alapján azt valószínűsítették, hogy az 1:1 fém-ligandum arányú komplexben a karbonil-oxigének koordinálódnak, 2:1 arány esetén pedig az oxáldihidroxámsav mindkét csoportja hidroxamátszerűen koordinálódik egy-egy fémionhoz.⁹⁶ Ni(II)- és Cu(II)-ionok stabilis komplexeket képeznek ezzel a dihidroxámsavval, ami hidroxamát-(N,N)-kelát létrejöttéhez köthető. A Cu(II) esetén polimer részecskék képződését is leírták.⁹⁷

Különböző hosszúságú összekötő alifás lánc $-(CH_2)_n-$ esetén a fő kérdés az, hogy képes-e a dihidroxámsav mindkét funkciós csoportjával ugyanazon fémionhoz koordinálni. Martell és munkatársai kimutatták, hogy az összekötő szénlánc hosszának növekedésével $n = 6$ -ig a legtöbb fémion komplexének stabilitása növekszik, de e felett a stabilitásnövekedés már nem jelentkezik, vagyis a koordinációhoz legideálisabb a hat metilén csoportot tartalmazó alifás lánc.⁹² Raymond és munkatársai fontos tényezőnek tartják a lánchosszon kívül a hidroxamátokhoz kapcsolódó csoportok szterikus hatását is.⁹³ Crumbliss N-metil szubsztituált dihidroxámsavak esetén kimutatta, hogy abban az esetben, ha a két hidroxamátot hét metilén csoportnál kevesebb köti össze, akkor Fe(III)-ionnal kéthidas, kétmagvú $[M_2A_2]^{2+}$ összetételű komplexek jönnek létre. Csak ha ettől hosszabb az alifás lánc, akkor képződnek $[MA]^+$ komplexek, és ligandumfelesleg mellett $[M_2A_3]$ részecskék, melyekben a harmadik dihidroxámsav hídként köt össze két $[MA]^+$ egységet, így telítődik az oktaéderes koordinációs szféra.⁹⁴ A természetben megtalálható dihidroxámsavak is, pl. a rhodotolurinsav, ilyen kétmagvú $[M_2A_3]$ komplexek képződésével tudják teljesen telíteni a Fe(III)-ion koordinációs szféráját.^{46,47}

Tanszéki vizsgálatok ugyancsak azt mutatták, hogy nonano-dihidroxámsavval $-(CH_2)_7-$ lépcsőzetesen lejátszódó folyamatokban $[MAH]^+$ és $[MA]$ összetételű Cu(II)-komplexek jönnek létre, míg a Ni(II)-ionnal az előzőekben említettek mellett $[M_2A_3]^{2-}$ komplex képződését is leírták.⁹⁵

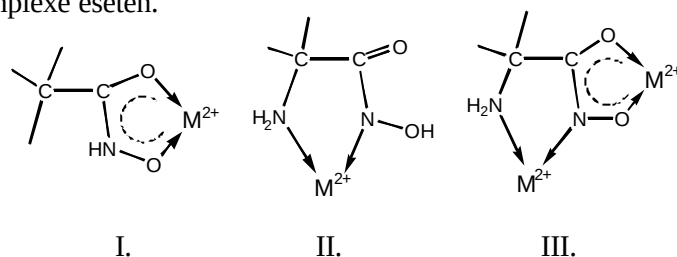
A Tanszéken tanulmányoztak olyan dihidroxámsavakat is, melyekben a sziderofórok legtöbbjénél is megfigyelhető peptidkötés található az összekötő szénláncban. A peptidkötések merevítik a szénláncot, így ahhoz, hogy egy adott fémionhoz koordinálni tudjon a ligandum mindkét hidroxamátja, az alifás

lánchoz képest hosszabb szénláncra van szükség.^{5,53} A vizsgált dihidroxámsavakban, melyekben a láncban lévő atomok száma 10 ill. 14, és két-két peptidcsoportot tartalmaztak, a lánc hossza elegendőnek bizonyult ahhoz, hogy a Fe(III), Cu(II), Ni(II), Zn(II), Co(II) esetén bisz-hidroxamát [MA] komplexek jöjjenek létre, ill. az oktaéderes komplexeket képző fémionokkal $[M_2A_3]$ részecske képződését írták le.⁵³ Diákköri munkámban bizonyítottuk, hogy az ezektől az átmenetifém-ionoktól nagyobb méretű Ca(II)-ionhoz a fent említett dihidroxámsavak közül a rövidebb szénláncú csak “monohidroxámsav”-szerűen koordinálódik, míg a hosszabb szénláncúval bisz-hidroxamát $[MA]^+$ komplex jött létre.⁵³

A természetes trihidroxámsav típusú sziderofórok közül leginkább tanulmányozott a DFB. Fe(III)-ionnal – ahogyan már többször is leírtuk – igen nagy stabilitású komplexet alkot, pH ~ 2-re mindhárom hidroxamát koordinációja megtörténik. Ebben a ligandumban a hidroxámsavcsoportok között a láncban 9-9 atom van, és a molekula mindhárom hidroxamátja egyidejűleg koordinálódik a Fe(III)-ionhoz.^{4,5,53} A Tanszéken vizsgálták a DFB komplexképzését egyebek között Cu(II), Ni(II) és Zn(II)-ionokkal is.⁴² A DFB hidroxamátcsoportjai a pH emelésével lépcsőzetesen koordinálnak a Ni(II)-, és Zn(II)-ionokhoz, majd pH = 11 felett a terminális aminocsoport deprotonálódása is megtörténik. A Cu(II)-ionhoz a három hidroxamátcsoportból maximálisan csak két hidroxamát tud koordinálni, a szabadon maradó harmadik csoport egy másik Cu(II)-ionhoz kötődik, így dimer részecske képződik, melynek létezését ESR mérésekkel egyértelműen bizonyították.⁴² A DFB az 55 pm átmérőjű Fe(III)-ionhoz ill. a hasonló méretű fémionokhoz illeszkedik legideálisabban,^{5,53} a nagyobb méretű alkáliföldfém-ionok esetén (Mg(II): 72 pm, Ca(II): 100 pm) az összekötő szénlánc hossza nem elegendő ahhoz, hogy a ligandum telíteni tudja az oktaéderes koordinációs szférát, a Ca(II)-ionhoz maximálisan egy, a Mg(II)-ionhoz két hidroxámsavcsoporttal képes koordinálni a DFB.⁵³

Természetesen egy hidroxámsav típusú vegyületben egyéb donoratomok (pl. oxigén, nitrogén, kén) is jelen lehetnek. Az utóbbi években az aminosavak hidroxámsav származékainak tekinthető aminosavakat vizsgálják egyre intenzívebben. Ezekben a vegyületekben különböző pozícióban aminocsoport is található a hidroxamát mellett.⁸¹ A figyelem középpontjába feltehetően azért került

ez a vegyületcsalád, mert ugyan szintetikus vegyületek, de főleg az α -származékok, a természetes anyagokhoz közel állóak, és leírták lehetséges alkalmazásukat kemoterápiában, valamint fémion transzport folyamatok modellezésére is használhatók.⁸¹ Ahogyan azt a 2.2. Fejezetben a hidroxámsavak sav-bázis tulajdonságainak jellemzésekor leírtuk, az aminocsoport és a hidroxámsavcsoport disszociációja egymással átfed.^{43,81} Az aminohidroxámsavak esetén a hidroxamát (O,O) koordináció mellett/helyett ($N_{\text{amino}}, N_{\text{hidroxamát}}$) típusú kelát is létrejöhet, így ezek az aminohidroxámsavak jó komplexképzői lehetnek a nitrogén donoratomokat is kedvelő fémionoknak, pl. Cu(II)-, Ni(II)-ionnak.⁸¹ Az α -aminohidroxámsavak esetén lehetséges kötémódokat az 12. ábra mutatja. Az ($N_{\text{amino}}, N_{\text{hidroxamát}}$) kelátgyűrű kialakulását először Brown és munkatársai igazolták röntgendiffrakciós vizsgálatokkal a Ni(II)–glicinhidroxámsav 1:2 fém-ligandum arányú komplexe esetén.⁹⁸



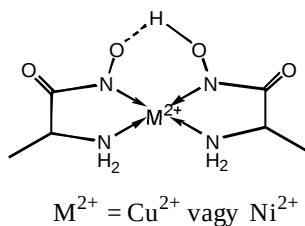
12. ábra α -aminohidroxámsavak lehetséges kötémódjai

Az aminohidroxámsavak komplexképző sajátásával részletesen foglalkozik egy 1992-ben megjelent összefoglaló közlemény,⁸¹ melyben megtalálható adatok többsége tanszéki eredmény. A Tanszéken azóta is számos eredmény született az aminohidroxámsavak – főleg α - és β -származékok – lehetséges koordinációs módjaira vonatkozólag, különböző fémionok esetén.^{82,99-104} Összességében elmondható, hogy az oxigén donoratomokat kedvelő +3 oxidációs számú fémionok, mint pl. Fe(III), Al(III), Ga(III), valamint Ca(II), Mg(II) esetén kizárólagosan hidroxamát típusú koordinációt találtak,^{82,99} viszont a képződő komplexek stabilitása a megfelelő hidroxámsavéhoz képest kisebb volt. Ez két tényezővel is magyarázható: egyrészt az ammóniumcsoport és a pozitív töltésű fémion között fellépő elektromos taszítással, másrészt az aminocsoport elektronszívó sajátása miatt lecsökkent hidroxamát bázicitással, főleg α -származékok esetén.^{82,99}

Egy fémion minél inkább kedveli a nitrogén donoratomokat, annál inkább megvalósul a nitrogéneken keresztüli koordináció.

A Co(II) és Zn(II) esetén aminosavakkal domináns az oxigénen keresztüli koordináció, de az ammóniumcsoport deprotonálódását követően képződő $[M_2A_3]$ kétmagú komplexekben vegyes kötésmodot valószínűsítene, vagyis a hidroxamát-oxigén koordinációja mellett ($N_{\alpha\text{-amino}}$, $N_{\text{hidroxamát}}$) kelát is létrejön.⁸⁴

A Cu(II)-ionhoz az α -aminohidroxámsavak kisebb pH-n a hidroxamát-oxigénen keresztül koordinálnak, majd pH = 3,5-5,5 tartományban vegyes kötésmoddal (ld. 12. ábra, III.) többmagvú, $Cu:A:H = 2:2:-1$ összetételű komplexek képződnek, melyek ESR csendes részecskék.^{81,84} Pecoraro és munkatársai szerint α -aminohidroxámsavakkal öt Cu(II)-iont és öt aminosav-oxidot tartalmazó korona típusú vegyületek jönnek létre, melyben a kötésmod III. típusú, és a makrociklusban a fémion, a hidroxamát-nitrogén és a hidroxamát-oxigén váltja egymást.¹⁰⁵ Míg a fenilalanin-, és triptofán-hidroxámsavak esetén Dallaville és munkatársai EIMS mérések alapján a fent említett pH-tartományban $[Cu_5A_4H_4]^{2+}$ vegyes kötésmodú komplexek képződését írták le.¹⁰⁶ Ezen pH felett a Cu(II) α -aminohidroxámsavakkal képzett biszkomplexeiben a ligandum a hidroxamát-, és amino-nitrogénen keresztül koordinálódik, majd a pH = 10 felett képződő $[MA_2H_1]^-$ összetételű biszkomplexben az egyik koordinált hidroxámsavcsoport második deprotonálódása révén hidrogénkötés stabilizálja a cisz-geometriájú komplexnek a szerkezetét a 13. ábrán látható módon.⁸¹

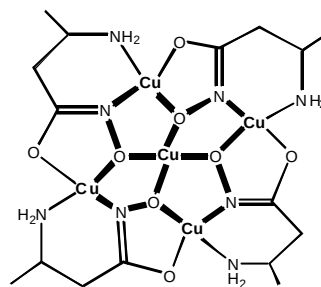


13. ábra α -aminohidroxámsavakkal képződő $[MA_2H_1]^-$ komplex szerkezete

A Cu(II)- β -aminohidroxámsav rendszerekben a koordináció szintén az oxigénen keresztül indul, de a pH emelésével megtörténik a vegyes kötésmodra való átrendeződés, és jellegzetesen igen nagy stabilitású többmagvú komplexek képződnek szinte kizárólagosan pH = 4,5 felett.¹⁰⁰ A Cu(II)- β -Alaha rendszerben a $[Cu_5A_4H_4]^{2+}$ összetételű komplex képződését röntgendiffrakciós mérésekkel is igazolták.¹⁰⁷

Pecoraro és munkatársai munkája révén elfogadottá vált a β -amino-hidroxámsavak esetén, hogy létrejön egy négy Cu(II)-iont, négy ligandumot tartalmazó egység, melynek a közepébe be tud kötődni az ötödik Cu(II)-ion, a 14. ábrán látható módon, ill. akár más fémion is.¹⁰⁵ Az aszparaginsav- β -hidroxámsav esetén a négymagvú $[\text{Cu}_4\text{A}_4\text{H}_2]^{2-}$ komplex képződését írták le korábban a Tanszéken.¹⁰⁸

A Ni(II)-ion esetén az α -amino-hidroxámsavak szinte kizárólagosan mindig a nitrogéneken keresztül koordinálódnak a fémionhoz, és a képződő biszkomplexek nagy stabilitásúak, jellemzően síknégyszetes geometriájúak. pH = 9 felett a 13. ábrán látható részecskéhez hasonló szerkezetű komplexet valószínűsítettek.⁸¹ A β -hidroxámsavak komplexképzése ezzel a fémionnal az α -származékokkal való hasonlóságot mutat.^{81,100}



14. ábra

Cu(II) – β -aminohidroxámsav
rendszerekben képződő ötmagvú
komplex általános szerkezete

Abban az esetben, ha az aminohidroxámsav oldalláncában kelátképző donorcsoport van, a lehetséges kötésmódok száma az 12. ábrán láthatókhöz képest bővíthet, amennyiben az oldalláncbeli donatorom részt vesz a koordinációban. Az oldallánc komplexképzésre gyakorolt hatását leginkább Cu(II)-, Ni(II)-, Zn(II)-ionok és fenilalanin-hidroxámsav, tirozinhidroxámsav, metionin-hidroxámsav (Metha), arginin-hidroxámsav, DOPA-hidroxámsav, Lysha és hisztidin-hidroxámsav esetén vizsgálták.^{81,88,103,104,108-113} Az oldalláncban lévő donorcsoport koordinációban való részvételét viszont csak néhány esetben figyelték meg, pl. a Hisha imidazol-nitrogénje a hidroxamát-oxigének mellett koordinálódik a Cu(II)¹⁰⁹ és Mo(VI)¹¹⁰ esetén kis pH-kon, valamint a DOPA-hidroxámsav fenolát-oxigénje nagy pH-n képes kötődni a Cu(II)- és Zn(II)-ionokhoz.¹¹⁰

Néhány, elsősorban oxigén donatoromot kedvelő fémion (Fe(III), Al(III), Mo(VI)) esetén az oldalláncbeli aminocsoport hatását is tanulmányozták. A vizsgált ligandumok a Dampha, Dambha és Lysha (ld. 1. ábra) voltak. Az találták, hogy a láncvégi aminocsoport nem koordinálódik egyik fémionhoz sem, és minél közelebb helyezkedik el a terminális aminocsoport az α -aminohidroxámsav-csoporthoz, egyre inkább csökken a ligandum bázicitása, és így egyre kisebb stabilitású komplexek képződnek.^{104,110}

Mivel az α -aminohidroxámsavak oldalláncbeli aminocsoportjának hatását nitrogén donoratomokat kedvelő fémionok esetén jelentősebbnek reméltük, ezért tanulmányoztuk a Dampha, Dambha és Lysha ligandumok komplexképzését elsősorban Ni(II) és Cu(II)-ionokkal, ill. egyéb átmenetifém-ionokkal is.

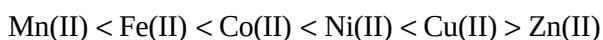
Vegyes ligandumú komplexek képződésének lehetőségét egyszerű hidroxámsavak (egyéb koordinálódó donorcsoportot nem tartalmazó származékok) esetén az irodalomban még nem vizsgálták. Viszont bizonyos aminosavak elsősorban Cu(II)-ionnal alkotott vegyes ligandumú komplexeit vizsgálták aminosavak,^{81,109,114} ill. dien¹¹⁴ jelenlétében. Az aminosavak esetén kapott eredmények összhangban vannak a vegyes ligandumú komplexek képződésére vonatkozó általános szabályszerűségekkel, miszerint: nincs számottevő komplexképzés, ha a ligandumokkal képződő törzskomplexek stabilitása, ill. geometriája nagyon eltérő; és ha a képződési pH-tartományuk elkülönül, akkor ezen pH-tartományok között képződik valamennyi vegyes komplex.⁴¹ Legújabbban a Cu(II)–Hisha/Metha–dien rendszerek kapcsán Kurzak és munkatársai vegyes ligandumú rendszerek vizsgálatára vonatkozó munkánkat követően végzett pH-potenciometriás, látható spektrofotometriás és ESR eredményeik alapján megállapították, hogy ötös koordinációs számú vegyes ligandumú komplex képződik, melynek geometriája enyhén torzult négyzetes piramis. A komplexben a dien három nitrogénje az ekvatoriális síkban található, és az aminohidroxámsav az amino- és a hidroxamát-nitrogénen keresztül koordinálódik a fémionhoz, az egyik nitrogén ekvatoriális helyen, a másik axiálisan.¹¹⁵

A metalloenzim inhibíciós hatás tanulmányozásához a monohidroxámsavak vegyes ligandumú komplexei jobb modellek a törzskomplexhez képest, viszont az irodalomból hiányoznak ilyen jellegű vizsgálatok. Munkánk célja ezért az is volt, hogy minél többféle ligandum esetén vizsgáljuk meg a vegyes ligandumú komplexek kialakulásának lehetőségét átmenetifém-ionok és monohidroxámsavak jelenlétében.

2.6. A Fe(II) komplexképzésének általános jellemzése

A Fe(II)–hidroxámsav rendszerek tanulmányozása egyik fő célja volt a munkánknak, viszont az irodalomban ezekre a kölcsönhatásokra vonatkozó

vizsgálatok igen hiányosak. Az irodalomban megtalálható oldategyensúlyi, ill. ciklikus voltametriás vizsgálatokból származó eredmények mellett ezért érdemes röviden áttekinteni általánosan a Fe(II)-ion komplexképzésére vonatkozó információkat is. A $3d^{5-10} +2$ töltésű fémionokkal képzett nagyspínszámú oktaéderes komplexek stabilitása egy adott ligandum esetén általában követi az Irving és Williams által leírt, a fémionok sugarának változásával közel ellentétes sorrendet,^{1,6} mely a következő:



Várható tehát, hogy a Fe(II)–hidroxámsav rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói a megfelelő Co(II)-, és Mn(II)-komplexekre vonatkozó állandók közötti értékűek.

Jól ismert, hogy oxidatív körülmények között a Fe(II) könnyen oxidálódik vizes oldatban Fe(III)-ionná, ami megnehezíti az oldategyensúlyi vizsgálatokat. Az oxidáció savas oldatokban lassú, de a pH emelésével a Fe(III)/Fe(II) rendszer redoxipotenciálja negatívabbá válik, és a Fe(II) oxidációra való hajlama megnő.^{1,116}

A legtöbb Fe(II)-komplex oktaéderes, de halogenidekkel, pszeudo-halogenidekkel tetraéderes komplexeket alkot ez az ion.¹ A Fe(II)-komplexeket lehet spektrofotometriásan vizsgálni, elnyelésük az IR-tartományhoz közel esik ($\lambda_{\text{max}} \sim 900\text{-}1000 \text{ nm}$) és moláris abszorbancia értékük igen kicsi ($\epsilon_{\text{max}} \sim 1\text{-}2 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), továbbá számottevő különbség a tetraéderes és oktaéderes komplexek spektruma között nincsen.¹¹⁷

A Fe(II)-iont elsősorban nitrogén donoratomot tartalmazó ligandumok stabilizálják (pl. bipy, 1,10-fenantrolin), és ezekben az esetekben a Fe(III)/Fe(II) redoxirendszer elektródpotenciája jóval pozitívabb, mint az oxigén donoratomokat tartalmazó ligandumok esetén. Általában elmondható, hogy a Fe(II)-komplexek kisebb stabilitásúak és kinetikailag labilisabbak a megfelelő Fe(III)-komplexeinél, a relatív töltésbeli különbség miatt.¹

A hidroxámsavakkal csak a Fe(II)–DFB, ill. –Aha rendszer esetén találhatók bizonyos oldategyensúlyi adatok a már említett 1963-as Schwarzenbach közleményben.⁷⁹ Mindkét hidroxámsav esetén meghatározták a képződő komplexek összetételét és stabilitását 20 °C-on, 0,1 mol/dm³-es NaNO₃-os közegben.

A Fe(II)–hidroxámsav kölcsönhatásra vonatkozólag információt nyújthatnak elektrokémiai (pl. ciklikus voltametriás) vizsgálatok, mert a $[\text{Fe(III)}\text{--}A]/[\text{Fe(II)}\text{--}A]$

redoxirendszer elektródpotenciájának meghatározásával a $\lg\beta_{[\text{Fe(III)}-\text{A}]}$ ismeretében a $[\text{Fe(II)}-\text{A}]$ komplex stabilitási állandója kiszámítható a 2. egyenlet alapján:

$$\frac{\hat{a}_{[\text{Fe(III)}-\text{A}]}^{\circ}}{\hat{a}_{[\text{Fe(II)}-\text{A}]}} = \frac{\hat{a}_{[\text{Fe(H}_2\text{O)}_6]^{3+}}^{\circ}}{\hat{a}_{[\text{Fe(H}_2\text{O)}_6]^{2+}}} - 0,059 \lg \frac{\hat{a}_{[\text{Fe(III)}-\text{A}]}}{\hat{a}_{[\text{Fe(II)}-\text{A}]}} \quad (2)$$

A különböző trihidroxámsav esetén kapott irodalmi adatok szerint $\lg\beta_{[\text{Fe(III)}-\text{A}]} \sim 30$, és $\varepsilon_{[\text{Fe(III)}-\text{A}]/[\text{Fe(II)}-\text{A}]}$ értéke általában $-0,43$ V (pH = 7). Ezek alapján egy Fe(II) -triszhidroxamátó komplex $\lg\beta$ értéke 10 körüli.^{4,53,118-120}

Természetesen az elektródpotenciál értéke sok tényezőtől függ, mint pl. a környezet hidrofób jellegétől, a koordinálódó donorcsoportok számától, vegyes ligandumú komplexképződéstől, ligandumhidrolízistől és alapvetően függ a pH-tól.¹²⁰

Crumbliss és munkatársai eredményei azt mutatták, hogy a triszhidroxamátó vaskomplexek elektródpotenciája a ligandumban található hidroxámsavcsoportok számától is függ, a trihidroxámsavaktól a monohidroxámsavak felé haladva az elektródpotenciál értéke egyre pozitívabb, ami miatt a Fe(III) egyre könnyebben szabadulhat fel redukcióval a Fe(III) -komplexből.¹¹⁹

Mivel az irodalomban a Fe(II) -hidroxámsav rendszereket közvetlen pH-potenciometriás mérésekkel alig vizsgálták, de bioszervetlen kémiai vonatkozásuk miatt azok érdekesek lehetnek, ezért célul tűztük ki modell hidroxámsavak és természetes hidroxámsavak (mint pl. DFB, koprogén, dimerumsav) Fe(II) -ionnal való kölcsönhatásának oldategyensúlyi vizsgálatát.

3. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

3.1. Felhasznált vegyszerek

A felhasznált ligandumok nagy részét a Sigma, Fluka vagy az Aldrich cégektől szereztük be, a desferrioxamin B (DFB) pedig a svájci CIBA GEIGY cég által gyártott Desferal gyógyszer hatóanyagaként állt rendelkezésünkre.

A propanohidroxámsav (Pha), a hexanohidroxámsav (Hha), az N-metil-acetohidroxámsav (MAha), valamint az N-fenil-acetohidroxámsav (PhAha) monohidroxámsavakat a megfelelő észterekből hidroxil-aminnal standard eljárással a dublini (University of College Dublin, Írország),²⁶ az N-metil-N-hidroxi-N'-[3-(N-metil-N-hidroxi-karbamoil)-propil]-heptán-1,7-dikarboxamid (2,5-DIHA), az N-metil-N-hidroxi-N'-[3-(N-metil-N-hidroxi-karbamoil)-propil]-hexán-1,6-dikarboxamid (3,4-DIHA), az N-metil-N-hidroxi-N'-[3-(N-metil-N-hidroxi-karbamoil)-propil]-pentán-1,5-dikarboxamid (3,3-DIHA) dihidroxámsavakat a lisszaboni (Instituto Superior Técnico, Portugália) egyetemeken szintetizálták.¹²¹ Az α -alaninhidroxámsavat (α -Alaha),⁸⁴ a 2,4-diamino-N-hidroxi-bután-amid (Dambha),¹⁰⁴ 2,3-diamino-N-hidroxi-propán-amid (Dapha)¹⁰⁴ diaminohidroxámsavakat a Debreceni Egyetemen készítették. Ugyancsak a Debreceni Egyetemen nyerték ki a *Penicillium chrysogenum* gomba által termelt koprogén és dimerumsav Fe(III)-komplexét.¹²²

A pH-potenciometriás mérésekhez a ligandumokból (a koprogén és dimerumsav kivételével) további tisztítás nélkül, beméréssel törzsoldatokat készítettünk. A mintákban (illetve a törzsoldatokban) a ligandumok tisztaságát és az oldatok pontos koncentrációját a ligandumok titrálási görbéjének Gran-féle linearizálásával¹²³ határoztuk meg.

Mivel a fent említett gombatorzs a koprogén és a dimerumsav Fe(III)-komplexét állítja elő, a vizsgálataink megkezdése előtt a ligandum kinyeréséhez a vasat el kellett távolítanunk a komplexből. A vastalanítást az irodalomban leírt oxinos módszerrel végeztük,¹²⁴ melynek lényege, hogy a vasat oxinát komplexbe visszük át a koprogénre nézve kb. kétszázszoros oxin felesleg mellett, majd a tiszta koprogént extrakcióval választjuk el a Fe(III)-oxináttól. Az így kapott koprogén anyagi minőségét és tisztaságát ¹H NMR és pH-metriás módszerekkel ellenőriztük

és a kapott eredményeket összevetettük az irodalmi adatokkal,¹¹⁸ melyekkel jó egyezést találtunk.

A *fém törzsoldatok* a.l.t. minőségű $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Reanal) kétszer desztillált vízben, valamint ZnO , FeCl_3 és szilárd vas (Reanal) ismert mennyiségű sósavban való feloldásával készültek. A sósavra a fémionok hidrolízisének visszaszorítása miatt volt szükség, ill. a szilárd vas esetén magához a kémiai reakcióhoz is.

A fém törzsoldatok pontos koncentrációjának meghatározása a Fe(II) kivételével gravimetriásan kinolin-8-oláttal történt oxinát formájában, ill. a Fe(III) esetén oxid formájában.¹²⁵ A FeCl_2 törzsoldat koncentrációjának meghatározása oxidimetriásan KMnO_4 -tal savas közegben történt.¹²⁶

A fémionok hidrolízisét a vizsgálati körülményeik között külön nem tanulmányoztuk. Hidrolitikus folyamat mindegyik vizsgált fémion esetén lehetséges,¹¹⁶ viszont az irodalmi adatok szerint csak a Fe(III) esetén képződnek számottevő mennyiségben már kis pH-kon is oldékony hidroxokomplexek, melyekre vonatkozó hidrolízis állandókat az irodalomban megtalálhatjuk.¹²⁷ A számolások során a Fe(III)-hidroxokomplexeket rögzített stabilitási állandókkal mindig figyelembe vettük. A 2+ töltésű fémionok esetén azért, hogy elkerüljük a hidrolízist, a mérések megtervezésénél általában nem alkalmaztunk fémion felesleget a komplexképződés mértékének növelésére, ennek ellenére az értékelések során vegyes hidroxokomplexet is feltételezni kellett a titrálási eredmények leírásához.

Az *ionerősséget* minden vizsgálati mintában 1 mol/dm^3 koncentrációjú KCl -oldattal $0,2 \text{ mol/dm}^3$ értékre állítottuk be. *Titrálószerként* karbonátmentes, $0,2 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú KOH oldatot használtunk, amelynek pontos koncentrációját $0,05 \text{ mol/dm}^3$ kálium-hidrogén-ftalátra (a.l.t., Reanal) határoztuk meg. A koncentrált sav hígításával készült, megközelítőleg $0,2 \text{ mol/dm}^3$ HCl mérőoldat pontos koncentrációját a már ismert töménységű lúggal mértük.

A fém törzsoldatok sósav tartalmát szintén pH-potenciometriás méréssel határoztuk meg.

A Fe(II)-klorid törzsoldat készítésekor, ill. mintához való adagolásakor különös gonddal kellett eljárunk a fémion oxidációra való hajlama miatt,^{1,116} ezért szükség volt egy oxigéntől teljesen elzárt rendszer megépítésére. Így a fémvas sósavban való oldása, majd a kapott oldat szűrése szigorúan oxigénmentes körülmények között történt. A friss oldatot Schlenk-technikával szűrtük a zárt tárolóedénybe. Az

oldat rendszerben való mozgatása és kimérése túlnyomás segítségével történt, amit savas CrCl_2 -ot tartalmazó gázmosókon keresztül vezetett argongázzal biztosítottunk. A titrálások elindítása előtt a mintákat még kb. 20 percig argonoztuk, mielőtt hozzámértük a FeCl_2 oldatot.

3.2. A mérések elvi alapjai

A pH-effektussal járó komplexkémiail oldategyensúlyok vizsgálatának igen általános kísérleti módszere a *pH-potenciometria*. A vizsgálat célja a képződő asszociátumok összetételének és stabilitási állandóinak a meghatározása. A deprotonált ligandumok gyenge bázisok, tehát a fémiont és protont tartalmazó rendszerekben a komplexképződés kompetitív reakciót jelent a proton és a fémion között. Ezért a pH méréséből következtetni lehet a képződő komplex(ek) stabilitására. A komplexképződésre a 3. egyenlet szerinti általános egyensúly írható fel (a töltéseket az egyszerűség kedvéért nem tüntettük fel):



A képződő részecskék stabilitási szorzata:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_p A_q H_r]}{[M]^p [A]^q [H]^r} \quad (4)$$

A titrálási adatokból a stabilitási szorzatokat a Tanszéken kifejlesztett PSEQUAD¹²⁸ nevű számítógépes programmal számítottuk ki. Az értékelések során komponensként szerepeltek: a fémion (M), a proton (H) és a teljesen deprotonált ligandum (A). A programban bemenő adatként a komponenseken kívül szerepelnek természetesen a mintához adott mérőoldat térfogat–pH kísérleti adatpárok, az asszociátumok (protonált ligandum, fém-ligandum-komplexek és hidroxokomplexek) száma, az asszociátumok összetétele, a komponensek kiindulási teljes koncentrációja, az ismert és az ismeretlen (közelítő) stabilitási szorzatok és különböző állandók, pl. titrálóoldat koncentráció, vízionszorzat, Irving-féle korrekciós tényező.¹²⁹ A program a keresett stabilitási szorzatokat az M, A és H komponensekre felírt 5-7. anyagmérlegek megoldásával adja, ahol n a rendszerben képződő asszociátumok számát, p, q, r pedig a sztöchiometriai együtthatókat jelöli. Amennyiben vegyes ligandumú rendszereket vizsgálunk, a komponensek száma eggyel nő a második (B) ligandum miatt, így négy komponensre írható fel az anyagmérleg.

$$c_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{pqr} [M]_i^p [A]_i^q [H]_i^r \quad (5)$$

$$c_A = [A] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [A]_i^q [H]_i^r \quad (6)$$

$$c_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{pqr} [M]_i^p [A]_i^q [H]_i^r \quad (7)$$

A program az általunk feltételezett asszociátumok és közelítő stabilitási szorzatok figyelembevételével, Newton-Raphson iterációval végzi a közelítést addig, míg a titráló oldatra nézve a $\Sigma(V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}})^2$ értéke minimumot ad. (V a titráló mérőoldat térfogata.) A program minden megadott pH-értéknél kiszámolja az összes képződő részecske egyensúlyi koncentrációját és az adott pontokhoz tartozó standard deviáció értékét. Az iterációsorozat végén megadja a finomított stabilitási szorzatokat, a kísérleti és a számított titrálási görbék pontjaihoz tartozó ($V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}}$) abszolút értékeinek átlagát (ezt nevezzük illesztési paraméternek) és egy adott komponensre vonatkozóan kirajzolja az asszociátumok koncentráció eloszlási görbéjét a pH függvényében. A *stabilitási állandók közlésekor* a zárójelben szereplő szám az állandó utolsó számjegyével azonos nagyságrend szerinti standard deviáció értékét jelöli. A feltételezett asszociátumok egy adott összességét nevezzük a rendszer egy modelljének. Az a modell fogadható el, mely kémiai megfontolások alapján értelmezhető, és amelynél az illesztési paraméter a legkisebb. Az elfogadott illesztési paraméter mindig kisebb volt, mint $1 \cdot 10^{-2} \text{ cm}^3$. A ligandumok protonálódási állandóinak meghatározására minden esetben a SUPERQUAD¹²⁸ nevű programot használtuk, aminek előnye, hogy lehetőség van a ligandum- és a protonkoncentrációk finomítására is. A koncentrációeloszlások számolása pedig a képződött komplexek összetételének, stabilitási állandójának, valamint a komponensek teljes koncentrációjának ismeretében a SED¹²⁸ nevű programmal történt.

A pH-potenciometriás mérésekkel nyert információ igen fontos, de pl. ha két részecske képződése azonos pH-effektussal jár, akkor azok nem különböztethetők meg ezzel a módszerrel. Előfordulhat az is, hogy egy rendszer több, kémiaiilag reális modellel is egyformán jól leírható. Továbbá, a meghatározott stabilitási állandók nem adnak felvilágosítást arról, hogy a képződő komplexekben milyen kötési mód valósul meg, milyen a komplex geometriája. Sok esetben megfelelő modellrendszerekkel való összehasonlításal közvetett információt kaphatunk, de

legtöbbször különböző spektrális mérések (pl. spektrofotometria, ESR) szükségesek a bizonyításhoz, a pH-potenciometriás mérések eredményeinek a kiegészítésére.

A vizsgált $3d^{5-10} + 2$ töltésű fémionoknak a Zn(II) kivételével elektronszerkezetükből kifolyólag jellegzetes d-d átmenetekhez tartozó elnyelésük van elsősorban látható hullámhossztartományban.¹¹⁷ Egy adott fémion esetén az elektronabszorpciós spektrum elnyelési maximuma ($\lambda_{\max}$) az átlagos környezeti szabálynak megfelelően alapvetően függ a fémionhoz koordináló donoratomok típusától és a komplex geometriájától.¹³⁰ Spektrofotometriás méréseket elsősorban Cu(II)- és Ni(II)-komplexek esetén végeztünk. Néhány esetben történtek vizsgálatok Fe(II)-komplexekkel is.

A tetragonálisan torzult oktaédes geometriájú Cu(II)-komplexek esetén az 2E_g alap- és a $^2T_{2g}$ gerjesztett állapotú energiaszintek felhasadnak és az így létrejött szintek között háromféle d-d átmenet lehetséges. Az átmenetek energiáját nagyban befolyásolja a koordinált donoratomok száma és minősége, és ezek az átmenetek sokszor egyetlen sávva olvadnak össze. Amennyiben nincs számottevő axiális koordináció, az általános környezeti szabály alapján Sigel és Martin által felírt empirikus egyenletek¹³⁰ jól használhatók a koordinált donoratomok megadására, (ld. 8. egyenlet). Nagyszámú spektrofotometriás mérés alapján számos aminosav, peptid jellemző donoratomjainak adták meg a mért $\lambda_{\max}$ alapján az ún. hozzájárulási tényezőit (x_i).^{130,131}

$$\lambda_{\max} = \frac{1000}{\sum_{i=1}^4 x_i} (\text{nm}) \quad \begin{array}{l} \text{pl. } x_i = 0,460 (\text{NH}_2) \\ 0,346 (\text{COO}^-) \\ 0,494 (\text{N}=\text{O}) \\ 0,249 (\text{H}_2\text{O}) \end{array} \quad (8)$$

A Ni(II)-komplexek leggyakoribb koordinációs száma 4 és 6. Az oktaédes komplexekhez három viszonylag kis intenzitású d-d átmenet tartozik. ($^3A_2 \rightarrow ^3T_2$, $^3A_2 \rightarrow ^3T_1$ (F), $^3A_2 \rightarrow ^3T_2$ (P)). A 4-es koordinációs számú, diamágneses, síknégyszetes Ni(II)-komplexek spektrumában nagyobb intenzitású sávok találhatók ($\epsilon_{\max} \sim 50-500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) a 400-550 nm és 430 nm hullámhosszaknál.¹¹⁷

A Fe(II)-komplexeknek is jellemző $^5T_{2g} \rightarrow ^5E_g$ d-d átmenethez tartozó elnyelésük van a ~900-1000 nm-es tartományban.¹¹⁷

A nagy stabilitású Fe(III)-hidroxamát komplexek esetén a komplexképződés már a pH-potenciometriásan vizsgálható pH-tartomány alatt sokszor befejeződik (pH < 2), ezért pH-metriás mérésekkel nem lehet stabilitási állandót meg-

határozni,⁵³ viszont ezeknek a rendszereknek a leírásában a spektrofotometria ugyancsak jó kiegészítő módszer. A látható hullámhossztartományban a Fe(III)-hidroxamátokra jellemző töltésátviteli sáv jelentkezik, a $\lambda_{\max}$ és $\epsilon_{\max}$ értéke egyértelműen a Fe(III)-ionhoz koordinálódó hidroxamátó-kelátok számától függ,⁵ (ld. 1. táblázat). A különböző pH-kon (pH < 2 is) felvett spektrumok segítségével a kvalitatív kép mellett lehetséges a képződött komplexek összetételének és stabilitási szorzatának a meghatározása. Ezeket a számításokat is a PSEQUAD¹²⁸ programmal végeztük, ahol a pH-metriánál felsoroltak mellett további bemenő adatként szerepel a rendszerben képződő színes részecskék száma. Viszont a bemenő adatpárok ebben az esetben a V_{KOH} (cm³) és a különböző hullámhosszakon mért abszorbancia értékek. Az eredmények között a program a koncentrációeloszlás helyett az egyes részecskék moláris abszorbanciáit adja a vizsgált hullámhosszakon.

1. Táblázat A Fe(III)–hidroxamát kölcsönhatásokat jellemző töltésátviteli sávokhoz tartozó $\lambda_{\max}$ és moláris abszorbancia ($\epsilon_{\max}$) értékek^a

koordinálódó hidroxamátok száma	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon_{\max}$ (M ⁻¹ cm ⁻¹)
1	510-520	~1000
2	460-480	~1800
3	420-430	~2500

^aHiv. 5.

A tetragonálisan torzult oktaédes geometriájú Cu(II)-komplexek paramágnesesek, ami miatt lehetőség van ESR mérések elvégzésére. Az ESR paraméterek (elsősorban $g_{\parallel}$, $A_{\parallel}$) segítségével következtetni lehet a Cu(II) koordinációs szférájában lévő donortomok számára és típusára, valamint a komplex geometriájára. Többmagvú komplexek esetében azonban, ha a Cu(II)-ionok egymáshoz viszonylag közel helyezkednek el, a komplexek diamágnesessé válnak, vagyis ESR csendesek.

A kalorimetriás mérések során a mért ellenállásváltozásból az elvégzett elektromos kalibrálás segítségével a folyamat reakcióhőjét tudjuk számolni, melyből a komplexképződésben résztvevő részecskék anyagmennyiségének ismeretében a vizsgált folyamat entalpiaváltozása kiszámítható. A mérések során

kapott ellenállás–idő görbéket a Dickinson-féle grafikus módszerrel¹³² értékeltük ki.

3.3. Alkalmazott eszközök, módszerek és kísérleti körülmények

A pH-metriás mérésekhez Radiometer pHM 84 pH-mérőt, Metrohm 715 Dosimat típusú automata bürettát, valamint Metrohm 62104130 kombinált üvegelektrodát alkalmaztuk. A mérőműszer hitelesítése 0,05 mol/dm³ KH-ftalát oldatra ($t = 25^\circ\text{C}$; $\text{pH} = 4,008$), valamint a vízionszorzat értékére ($I = 0,2 \text{ mol/dm}^3$; $t = 25^\circ\text{C}$; $\text{pK}_w = 13,756 \pm 0,01$) történt. A pH-mérő által kijelzett értékek pH értékre való alakítását az Irving és munkatársai által javasolt módszerrel végeztük.¹²⁹

Valamennyi egyensúlyi mérésnél a hőmérséklet $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ volt. A méréseket argon atmoszféra alatt végeztük, ahol az argon egyúttal a keverést is biztosította.

A kisebb mennyiségben rendelkezésre álló Dampha, Dambha és koprogén vizsgálata során egy számítógép által vezérelt MOLSPIN pH-meter készüléket használtunk, melyhez automata MOL-AcS büretta és egy Metrohm 60234110 típusú kombinált üvegelektrod kapcsolódott. A ligandum adagolása 1 cm³ végtérfogatú Hamilton fecskendőből történt. A használt számítógépes program állandó térfogatú részletekben adagoltatta a lúgoldatot a mintához, majd az egyensúly beállásakor feljegyezte az addig hozzáadott lúg térfogatát és az aktuális pH-t. Azt az állapotot tekintettük egyensúlynak, amikor 40 másodperc alatt 0,002-nél kevesebbet változott a pH.

A Fe(II)–DFB rendszer tanulmányozásakor, a pH-stat mérések során Radiometer TTT60 titrátort, Radiometer REA 270 pH-stat egységet, REA 160 rekordert, Radiometer pHM84 pH-mérőt, Metrohm 62104130 kombinált üvegelektrodát és ABU 80 automata bürettát használtunk. Ezeket a méréseket $\text{pH} = 5,5 \pm 0,1$ értéken végeztük.

A pH-potenciometriás méréseket a lehetséges $\text{pH} = 2\text{--}11,5$ tartományban végeztük (ebben a tartományban hanyagolható el a diffúziós potenciálok különbsége az alkalmazott kombinált üvegelektrod esetén) ill., ha csapadék-képződést tapasztaltunk, akkor abbahagytuk a titrálást, a pH-tól függetlenül.

A mérésekhez elkészített minták 4, 5, 10, ill. 25 cm³ térfogatúak voltak a mérőrendszertől, valamint a rendelkezésünkre álló ligandumok mennyiségétől függően. Ezekben a ligandum koncentrációja $2 \cdot 10^{-3}\text{--}8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ között

változott. A ligandumok savi disszociációs állandóit külön titrálásokban, csak a ligandumot tartalmazó mintákban határoztuk meg. A komplexképződés tanulmányozása során a mintákban a fém-ligandum arány 1:1 és 1:10 között változott. Általában egy rendszer tanulmányozása során négy-öt aránynál történtek mérések, és legalább 160 mérési pontból történt a számolás.

A vegyes ligandumú rendszerek esetén 1:1:1, 1:2:1, 1:1:2, 1:2:2 fém–A ligandum–B ligandum arányok mellett történtek a vizsgálatok.

A *spektrofotometriás mérések* során a spektrumok felvétele *Hewlett Packard* 8453 típusú diódasoros készüléken történt, a 250-1000 nm hullámhossztartományban. A küvetta úthossza 1 cm volt. A Cu(II)-, Ni(II)-, Fe(III)-ionokat és csak egy ligandumot tartalmazó rendszereket általában 1:1 és 1:5 fém-ligandum arányok között (a kinetikai mérések kivételével), míg a vegyes ligandumú rendszereket 1:1:1 és 1:2:1 fém–A ligandum–B ligandum arányok mellett vizsgáltuk. A fémion koncentrációja a mérések során fémiontól függően $3 \cdot 10^{-4}$ – $1,6 \cdot 10^{-2}$ mol/dm³ között változott. A vizsgálatok során a vizsgálható pH-tartományban pH = 0,5 egységenként vettük fel a spektrumokat.

A Fe(III) esetében készült néhány pontonkénti mérés is pH = 0,7–1,3 között. Az egyedi mintákban a KCl tartalmat fokozatosan HCl-ra cserélve változtattuk a pH-t, amelynek értékét számoltuk.

Minden olyan rendszer spektrumát, mely oxigénre érzékeny (pl. Fe(II) – DFB), egy gumiszeptummal jól lezárható tandem küvetában vettük fel. A küvetta egyik ágába került a ligandum (pl. DFB oldat), a másik ágába a pH beállításához szükséges, számolt mennyiségű lúgoldat, vagy pufferoldat. A küvetta lezárása, majd mindkét ág – gumiszeptumon átszűrött injekciós tű segítségével történő – kiargonoztatása után, a szükséges harmadik oldatot (pl. FeCl₂) egy injekciós tűn keresztül jutattuk be a küvetába, majd a két ágban lévő oldatokat összekevertük és felvettük a spektrumot.

Kinetikai mérések során a fent említett tandemküvetát használtuk. A felvett abszorbancia-idő görbéket a spektrofotométer saját számítógépes programja segítségével értékeltük ki.

A *kalorimetriás vizsgálatok* LKB 8700 típusú készüléken készültek ampullás technikával. A vizsgálat célja a Cu(II)–B ligandum komplex és Aha, ill. KOH között lejátszódó kémiai reakció entalpiaváltozásának a meghatározása. A mérőedényben elhelyezett Cu(II)-iont és B ligandum oldatot (25 cm³, $c_{\text{CuB}} = 3,0 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³, pH = 10) és az ampullákban elhelyezett Aha ill. KOH

oldat koncentrációját és pH-ját úgy állítottuk be, hogy a két oldat elegyítésekor gyakorlatilag egyetlen folyamat, a $[\text{CuB}] + \text{Aha}$, ill. $[\text{CuB}] + \text{OH}^-$ legyen a hőeffektus meghatározója.

A Cu(II)-komplexek ESR spektrumait Varian E9 spektrométeren, 9,15 GHz-es frekvenciánál, 120 K hőmérsékleten vettük fel pH 2-11,5 tartományban az Sassari (Università di Sassari) Egyetemen. A mérések során a Cu(II) koncentrációja $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, a Cu(II)–ligandum arány általában 1:1, 1:2, a vegyes ligandumú rendszerek esetén a Cu(II)–A ligandum–B ligandum arány 1:2:1 volt.

Gázkromatográfiás méréseket használtunk a Fe(II)–DFB reakció tanulmányozásánál, annak a kérdésnek az eldöntésére, hogy a reakció folyamán képződik-e H_2 gáz, ezért az oldat fölötti térből vettünk mintát és azt injektáltuk a GC készülékbe. A vizsgálathoz 1,8m x 2mm rozsdamentes kolonnával felszerelt HP 5890 II. gázkromatográfot használtunk. A kolonna töltete: 13 x molekulaszűrő; szemcseméret: 60/80; kolonna hőmérséklet: 30 °C, vívőgáz: N_2 , 80 cm^3/perc ; injektálási mód: fecskendő; mintatérfogat: 100 μl ; detektor: TCD 120 °C; injektálási hőmérséklet: 80 °C. A kalibráció során 0–1 V/V%-ban H_2 -t tartalmazó Ar gázkeverékeket használtunk. Az adott kísérleti körülmények mellett 1 V/V%-t H_2 -t és 10 V/V% Ar-t tartalmazó levegős mintákkal határoztuk meg a retenciósidőket, melyek a következőnek adódtak: H_2 : 0,29 perc (pozitív csúcs), Ar: 0,45 perc (negatív csúcs), O_2 : 0,48 perc (pozitív csúcs).

A ^1H NMR spektrumok felvétele Bruker AM 360 típusú spektrométeren történt. A minták D_2O oldószerrel készültek, a pH-t (pD-t) pedig NaOD és DCl oldatokkal állítottuk a megfelelő értékre. Referenciaként TSP-t (trimetil-szilil-propán-szulfonát) használtunk.

A kapilláris elektroforézis vizsgálatok Hewlett Packard 3D készüléken történtek. Az elválasztó kvarckapilláris (Polymicro Technology) 64,5 cm x 50 μm méretű, az alkalmazott feszültség +25 kV volt. Az elválasztó kapillárison történő spektrofotometriás detektálást 200 és 220 nm-en végeztük. A mintabevitel hidrodinamikus módon történt (100 mbar-s). Az elektroferogramokat ChemStation 7.01 programmal értékeltük ki. A vizsgálatokhoz 1,67 g/dm^3 koncentrációjú DFB-t, 1,67 g/dm^3 koncentrációjú MES-t, és 6,67 g/dm^3 koncentrációjú DFB-t, MES-t és reakcióterméket együttesen tartalmazó oldatokat használtunk. Pufferelektroliként 25 mM Na_2HPO_4 oldat szolgált (pH = 9,1).

4. EREDMÉNYEK

4.1. A vizsgált rendszerek kiválasztása

A Bevezetésben kifejtett témaválasztásnak megfelelően a következő szempontok alapján választottuk ki a tanulmányozott rendszereket:

1. Az irodalomban megelőzően nem tanulmányozott, a mikroorganizmusok vas metabolizmusában bizonyítottan szerepet játszó *Fe(II)*–hidroxámát kölcsönhatások minél szélesebb körű vizsgálata.
2. „Hidroxámsavak, mint metalloenzim inhibitorok” kérdéskör alaposabb felderítése érdekében a kérdéses metalloenzimek aktív centrumában potenciálisan megtalálható kétértékű átmenetifém-ionok ($3d^{5-10}$) és hidroxámsavak közötti kölcsönhatások tanulmányozása.

Ezen szempontok alapján a választott ligandumok természetes és szintetikus hidroxámsavak voltak, ill. más csoportosítás szerint mono-, di- és trihidroxámsavak; a vizsgált fémionok $3d^{5-10}$, +2 töltésű átmenetifém-ionok, ill. bizonyos esetekben az összehasonlítás érdekében *Fe(III)* is.

4.2. A vizsgált hidroxámsavak savi disszociációs állandóinak meghatározása

Az oldategyensúlyi vizsgálatok első lépéseként minden rendszer esetében pH-potenciometriás módszerrel meghatároztuk az adott ligandum savi disszociációs állandóit. Amennyiben a mérési körülményeink között már korábban meghatározták ezen állandókat, akkor az általunk kapott értékeket mindig összevetettük az irodalmi adatokkal,^{40,42,43,84,101,110} melyek valamennyi esetben jó egyezést mutattak ($\pm 0,06$ lg egységen belül). A meghatározott állandókat a 2. táblázat foglalja össze. (A ligandumok képlete az 1-2. ábrákon láthatók.)

Az Irodalmi áttekintésben ismertetettek szerint a *monohidroxámsavak* a mérhető pH-tartományban egy disszociábilis protont tartalmaznak, és a disszociációs állandó értékét befolyásolják a funkciós csoporthoz kapcsolódó szubsztituensek. A tanulmányozott monohidroxámsavakat a szubsztituensek alapján három csoportba oszthatjuk.

- R_N -pozícióban hidrogén van (primer hidroxámsavak): R_C : $-CH_3$ (Aha), $-CH_2-CH_3$ (Pha), $-(CH_2)_4-CH_3$ (Hha), $-Ph$ (Bha).

- R_N-pozícióban nem hidrogén van (szekunder hidroxámsavaknak): R_N: –CH₃, R_C: –CH₃ (MAha); R_N: –Ph, R_C: –CH₃ (PhAha).
- A heterociklusos analóg PYRha a funkció csoportot aromás gyűrűben tartalmazza.

2. Táblázat A vizsgált hidroxámsavak disszociációs állandói

(t = 25 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl))

$$K_i = \frac{[H^+] \cdot [H_{i-1}A]}{[H_iA]} \quad H_iA \rightleftharpoons H^+ + H_{i-1}A$$

Monohidroxámsavak	név	pK	Aminohidroxámsavak	név	pK ₁	pK ₂	pK ₃
	Aha	9,27(1)		a-Alaha	7,34(1)	9,16(1)	–
	Pha	9,34(1)		b-Alaha	8,32(1)	9,59(1)	–
	Hha	9,41(1)		Dampha	6,40(3)	7,50(3)	9,48(2)
	Bha	8,70(1)		Dambha	6,01(5)	8,36(5)	10,02(3)
	MAha	8,70(1)		Lysha	6,98(3)	8,95(3)	10,62(2)
	PhAha	8,44(1)					
	PYRha	5,77(1)					
név				pK ₁	pK ₂	pK ₃	pK ₄
Dihs.*	2,5-DIHA			8,47(1)	9,26(1)	–	–
	3,4-DIHA			8,32(1)	9,26(1)	–	–
	3,3-DIHA			8,31(1)	9,33(1)	–	–
	Dimerumsav			7,80(1)	9,33(1)	–	–
Trihs.**	DFB			8,30(1)	9,00(1)	9,46(1)	10,84(3)
	koprogén			8,00(2)	9,00(1)	9,84(1)	–

* Dihs. = dihidroxámsavak, ** Trihs. = trihidroxámsavak

A primer és szekunder monohidroxámsavak disszociációs állandói nem különböznek számottevően egymástól (8,44–9,41), míg a heterociklusos származék, a PYRha pK értéke 5,77. A vártan megfelelően ezen utóbbi ligandum a legsavasabb, mert a C–N kötés delokalizát gyűrűrendszerben van.⁴⁰ Bizonyos karakterisztikus különbségek azonban a többi hat ligandum pK értéke között is megfigyelhetők. Az R_C alkilánc hosszának növekedésével nő a szubsztituensek

elektronküldő hatása, kis mértékben megnövelve a bázicitást, viszont a MAha esetén az Aha R_N -helyzetű hidrogénjéhez képest lecsökken az elektronküldő hatás, ezért kisebb a pK értéke az Aha-hoz képest. A fenilcsoport elektronszívó hatása révén R_N -, és R_C -helyzetben egyaránt jelentősen lecsökkenti a bázicitást, ezért a Bha és a PhAha esetén a savi disszociációs állandók értéke kisebb az Aha, ill. MAha-éhoz képest. Az R_N -helyzetű szubsztituensek hatása kifejezettebb az R_C -hez viszonyítva.

Külön csoportot alkotnak az egy hidroxámsavcsoportot tartalmazó vegyületeken belül az *aminohidroxámsavak*, melyekben különböző helyzetben $-NH_3^+$ -csoportot találunk. A két funkciós csoport disszociációs folyamatai átfednek egymással, és az egyes deprotonálódási folyamatokat ténylegesen jellemző mikroállandókat korábban a Tanszéken már meghatározták az általunk is vizsgált α -Alaha és a β -Alaha esetén (ld. 2.2. Fejezet),⁴³ így munkánk során ezeknek a ligandumoknak a makroállandóit határoztuk meg.

A *diaminohidroxámsavak* oldalláncában még egy második aminocsoport is található β -, γ -, vagy ϵ -helyzetben az α -helyzetű mellett. Az α -aminohidroxámsavakat jellemző két deprotonálódási folyamattal a terminális ammóniumcsoport hidrogénjének disszociációja is átfed. pH-metriás mérésekkel három makroállandót határoztunk meg, melyek a korábbi tanszéki adatokkal jó egyezést mutattak.^{104,110} Bár az egyes deprotonálódási folyamatokra vonatkozó mikroállandókat külön nem tanulmányoztuk, de összehasonlító adatok segítségével bizonyos következtetéseket erre vonatkozólag levonhatunk. A Lysha esetén, tekintve, hogy a lizin¹³³ pK értékei 2,15; 9,20 és 10,66; valószínűsíthetjük, hogy a pK_1 és pK_2 az α -aminohidroxámsav-csoporthoz, a pK_3 pedig döntően a láncvégi ammóniumcsoporthoz rendelhető. Minél közelebb van a terminális ammóniumcsoport az α -aminohidroxamát-részhez, a disszociációja egyre inkább átfed a másik két, egymással is átfedő folyamattal. A kölcsönös elektronos hatások miatt a Lysha $\rightarrow$ Dambha $\rightarrow$ Dampha irányba a bázicitások lecsökkennek, vagyis a pK értékek egyre kisebbek. A Dampha pK_1 értéke ettől a tendenciától azonban eltér, valószínűleg a két aminocsoport közötti intramolekuláris hidrogénkötés számottevő volta miatt.

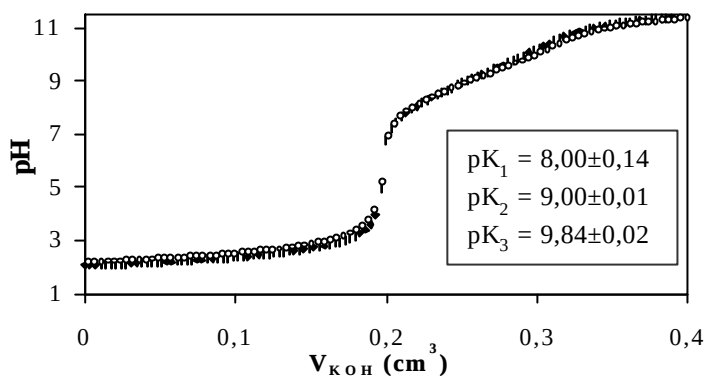
A *dihidroxámsavak*ban az egyes csoportok egymás sav-bázis sajátosságát kölcsönösen befolyásolhatják, egymástól való távolságuktól függően. Ha nincs semmilyen kölcsönhatás két azonos típusú hidroxámsavcsoport között, akkor a kapott disszociációs állandók logaritmusa közötti különbségnek 0,6-nek kellene

lenni statisztikus tényezőket figyelembe véve.^{41,134} Az általunk vizsgált dihidroxámsavakban az összekötő szénlánc elvben kellően hosszú ahhoz, hogy ne legyen kölcsönhatás a funkciós csoportok között a láncon át, és ha a molekula szimmetrikus, akkor valószínűsíthető, hogy a csoportok bázicitása is azonos. Ha a makroállandók közötti különbségek nagyobbak a statisztikus értéktől, az a hidroxámsavcsoportok közötti kölcsönhatásra utal. Mindegyik dihidroxámsav esetén a pK értékek közötti különbségek nagyobbak valamivel 0,6-től. Figyelembe véve a donorcsoportok távolságát, ez inkább téren keresztüli kölcsönhatás megvalósulására utal, főleg a dimerumsav esetén.

A *trihidroxámsavak* közül a DFB disszociációs állandóit többféle körülmény között, köztük az általunk használt ionerősség mellett és hőmérsékleten is meghatározták már korábban,^{42,78} de a koprogén esetén a vizsgálati körülményeink mellett nem voltak ismertek az állandók. Mivel a DFB-ben a vizsgálható pH-tartományban összesen négy disszociábilis proton van, négy pK értéket határoztunk meg. A három kisebb állandó (pK₁₋₃) a három hidroxámsavcsoporthoz rendelhető, deprotonálódásuk a pH = 7–10 tartományban játszódik le; a terminális ammóniumcsoport deprotonálódása csak pH = 10 felett történik meg, döntően ehhez a folyamathoz rendelhető a pK₄.⁴² A három hidroxámsavcsoport egymástól elég távol helyezkedik el, ám a hozzájuk rendelt makroállandók logaritmusa közötti különbségek (nagyobb, mint 0,48^{41,132}) bizonyos kölcsönhatásra utalnak, ami ebben az esetben is csak téren keresztül valósulhat meg, amit már korábban is feltételeztünk.⁴² A koprogénben egy dimerumsavnak megfelelő rész található, vagyis két hidroxamátot összekötő láncban van egy diketo-piperazin-gyűrű, a harmadik hidroxámsavcsoport észterkötésen át kapcsolódik a “dimerumsav” részhez, és mindhárom hidroxamát mellett β-helyzetű kettős kötés van. A koprogénre meghatározott állandók nem különböznek számottevően a DFB három legkisebb pK értékétől, ám az állandók közötti különbségek valamivel még nagyobbak, ami valamelyest erősebb kölcsönhatásra utal.

Külön megvizsgáltuk a koprogén hidrolitikus viselkedését a vizsgálati körülményeink mellett, amit az a tény indokol, hogy a molekulában lévő észterkötés hidrolizálhat, főleg nagyobb pH-n. Ezért a ligandum titrálása után a mintát visszasavanyítottuk és újból megtitráltuk. A két görbe alapján számolt savi disszociációs állandók a koncentrációváltozásra legérzékenyebb pK₁ kivételével mérhető különbséget nem mutattak, vagyis a titrálási idő alatt számottevő mértékű hidrolízis nem következett be. Azért hogy hosszabb idejű vizes oldatban való

tárolás során se lépjen fel a ligandum mérhető hidrolízise, törzsoldatot nem készítettünk a koprogénből. A titrálások eredményeit a 15. ábra mutatja a meghatározott pK értékekkel együtt.



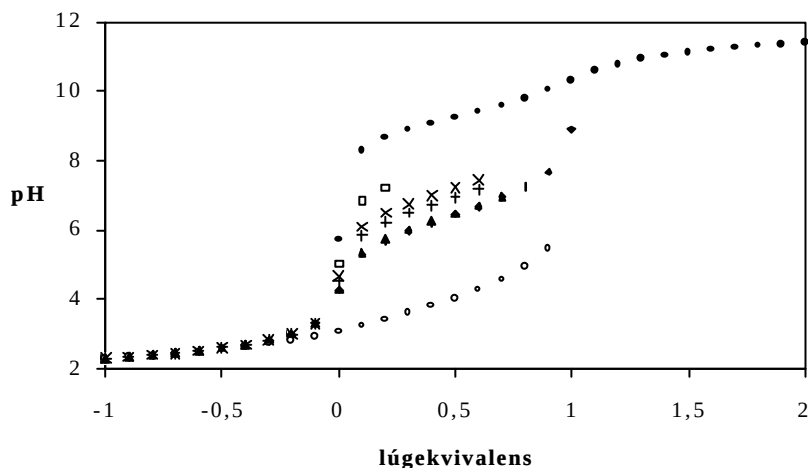
15. ábra Koprogén pH-potenciometriás titrálási görbéje (♦) és visszasavanyítás után ismételt titrálása során kapott görbéje (○) ($c_{\text{koprogén}} = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

4.3. Egy hidroxámsavcsoportot tartalmazó ligandumok fémkomplexei

4.3.1. Egyszerű monohidroxámsavak kölcsönhatásának vizsgálata kétértékű fémionokkal

A vizsgált ligandumok képletét a 2. ábra mutatja, melyek közül az Aha-t választottuk modellként és ezzel a ligandummal mind a hat vizsgált +2 töltésű fémion esetén tanulmányoztuk a komplexképződési folyamatokat, míg a többi monohidroxámsav esetén csak a Cu(II)-, Ni(II)- és Zn(II)-ionokkal történtek vizsgálatok. Csapadék leválása miatt a Cu(II)–Hha és –Bha rendszereket nem tanulmányoztuk.

A 16. ábra reprezentatív pH-potenciometriás titrálási görbéket mutat be a szabad ligandumra és a vizsgált M(II)–Aha 1:1 fém-ligandum arányú rendszerekre vonatkozólag. Az ábra egyértelműen mutatja a különböző fémionok esetén a komplexképződések eltérő pH-tartományát, és az azt kísérő pH-effektusok nagy különbségét. Láthatjuk, hogy a legstabilisabb komplexeket a Cu(II) képezi, a komplexképződés már pH = 2,5-n elindul, míg az Aha-nak a Mn(II)-ionnal pH = 6-ig nincs kölcsönhatása, igen kis stabilitású komplexek képződnek. A titrálási görbéket pH = 11,5-ig, ill. csapadék megjelenéséig regisztráltuk.



16. ábra Aha () és Mn(II) (○), Fe(II) (×), Co(II) (+), Ni(II) (◆), Cu(II) (□), Zn(II) (∗)–Aha rendszerek pH-potenciometriás titrálási görbéi
($c_{\text{Aha}} = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:Aha = 1:1) (A negatív lúgekvivalens savfelesleget jelöl.)

4.3.1. Egyszerű monohidroxámsavak kölcsönhatásának vizsgálata kétértékű fémionokkal

3. Táblázat M(II)–Aha rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\lg\beta$) ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl))

	$[\text{MA}]^+$	$[\text{MAH}_{-1}]$	$[\text{MA}_2]$	$[\text{MA}_2\text{H}_{-1}]^-$	$[\text{MA}_3]^-$
Mn(II)	3,81(1)	-7,27(9)	6,75(1)	–	–
Fe(II)	4,56(1)	–	8,18(1)	–	10,1(1)
Co(II)	4,83(1)	–	8,71(2)	-3,1(1)	11,15(6)
Ni(II)^a	5,15	-4,35	9,18	–	11,68
Cu(II)^a	7,89	–	14,06	4,44	–
Zn(II)^a	5,18	-3,40	9,45	–	11,57

^aHiv. 40.

4. Táblázat M(II)–monohidroxámsav rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\lg\beta$) ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl))

	komplex	Pha	HHA	Bha	MAha	PhAha	PYRha
Cu(II)	$[\text{MA}]^+$	7,89(1)	–	–	7,40(4)	7,31(2)	6,84 ^a
	$[\text{MA}_2]$	14,32(3)	–	–	13,3(1)	12,90(3)	12,46 ^a
	$[\text{MA}_2\text{H}_{-1}]^-$	5,32(6)	–	–	–	–	–
Ni(II)	$[\text{MA}]^+$	5,24(1)	5,15(2)	4,92(1)	4,73(2)	4,68(1)	4,84(1)
	$[\text{MA}_2]$	9,51(2)	9,06(5)	8,73(2)	8,27(4)	8,28(1)	9,06(2)
	$[\text{MA}_3]^-$	12,34(5)	–	10,7(1)	–	10,16(9)	11,91(5)
	$[\text{MA}_2\text{H}_{-1}]^-$	-0,76(9)	-0,4(4)	-2,7(4)	-3,2(3)	-2,42(5)	-0,78(8)
	$[\text{MAH}_{-1}]$	-3,78(8)	–	–	–	–	–
Zn(II)	$[\text{MA}]^+$	5,07(2)	5,29(1)	4,86(1)	4,51(6)	4,34(2)	4,87(1)
	$[\text{MA}_2]$	9,51(3)	9,41(5)	8,77(2)	8,35(6)	8,12(3)	9,04(2)
	$[\text{MA}_3]^-$	11,6(3)	–	–	–	–	11,80(6)
	$[\text{MA}_2\text{H}_{-1}]^-$	-0,32(6)	-0,0(1)	–	–	-1,9(3)	–
	$[\text{MAH}_{-1}]$	-3,7(2)	-2,93(8)	–	–	–	–

^aHiv. 40.

A pH-metriás eredmények legjobb illesztését adó modelleket, a számolt stabilitási állandókat a 3. és 4. táblázatok foglalják össze. Ahogyan azt a 2.5.

Fejezetben említettük a Cu(II)–, Ni(II)–, Zn(II)–Aha, ill. Cu(II)–PYRha rendszereket korábban már részletesen tanulmányozták,⁴⁰ így a táblázatban az irodalmi adatokat tüntettük fel. Az említett rendszerek vizsgálatát ellenőrzésként mi is elvégeztük, a kapott állandók jól megfeleltek a korábbi eredményeknek. A képződő komplexekben kialakuló kötőmód meghatározására a Cu(II)-ion, Ni(II) és Fe(II) esetén UV-látható spektrofotometriás módszert használtunk.

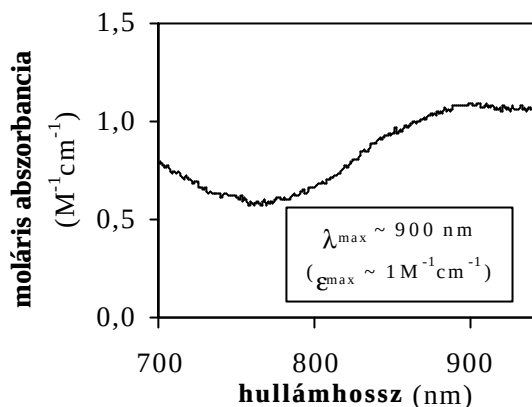
A vizsgálatainkban központi helyet elfoglaló **Fe(II)** esetén a 16. ábra alapján látható, hogy a komplexképződés csak kb. pH = 4-en indul el, vagyis kisebb pH értéknél nincs mérhető kölcsönhatás az Aha és a Fe(II)-ion között. A méréseink azt mutatták, hogy pH = 10 felett elindul a fémion hidrolízise nagy ligandum felesleg mellett is (pl. M:A = 1:8 esetén). (Ugyanilyen körülmények között a Fe(III)-ionnal a komplexképződés már pH = 2 alatt elindul, és a nagy stabilitású komplexek ($\lg b[Fe(Aha)]^{2+}$: 11,09; $[Fe(Aha)_2]^+$: 20,69; $[Fe(Aha)_3]$: 28,80)⁴⁰ képződése révén az Aha képes megvédeni az iont a hidrolízistől.) A Fe(II)–Aha komplexekre meghatározott stabilitási állandók a megfelelő Fe(III)–Aha komplexekétől jóval kisebbek (hidroxamát-kelátonként kb. 6 lg egységgel), és viszonylag jó egyezést mutatnak a Schwarzenbach által meghatározott állandókkal ($\lg b[Fe(Aha)]^+$: 4,5; $[Fe(Aha)_2]$: 8,5).⁷⁹

Mivel mind a hat vizsgált átmenetifém-ion esetén meghatároztuk az Aha-val képződő komplexek stabilitási állandóit, így össze is vethetjük őket egymással. A 3. táblázat adatai alapján elmondhatjuk, hogy a Fe(II) esetén kapott állandók jól beillenek a többi átmenetifém-ion állandóinak sorába az Irving-Williams-féle tendenciának⁶ megfelelően.

A kapott modellek alapján láthatjuk, hogy a Co(II) és Fe(II) esetén is a lépcsőzetes komplexképződés eljut három monohidroxámsav koordinációjáig, amikor is a képződő trizskomplexben a koordinálódó ligandumok teljesen telíteni tudják az oktaéderes geometriájú komplexek koordinációs szféráját, hasonlóan az irodalomban a Ni(II) és Zn(II) esetén leírtakhoz.⁴⁰ A Cu(II)-ionnak a négy stabilis ekvatoriális kötőhelye miatt, a fémionhoz maximálisan mindössze két Aha tud koordinálódni.⁴⁰ A hidroxámsavakkal kisebb stabilitású komplexeket képező Mn(II) esetén mono- és bisz-hidroxamátó-komplexek képződtek a vizsgálati körülmények között.

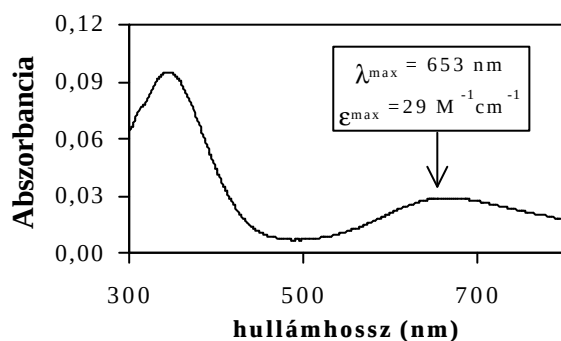
Az említett $[MA]^+$, $[MA_2]$, $[MA_3]^-$ komplexekben a monohidroxámsavak a hidroxamát-oxigéneken keresztül koordinálódnak, és így a koordinációs szférában öttagú hidroxamátó-kelátok találhatók.

Mivel a Fe(II)-komplexeknek d-d átmenetekhez tartozó jellegzetes elnyelésük van¹¹⁷ (ld. 3.1 Fejezet), ezért megpróbálkoztunk a Fe(II)–Aha rendszerben képződő monohidroxamátó-komplex spektrumának felvételével oxigénmentes körülmények között, melynek eredményét a 17. ábra mutatja, a meghatározott spektrális paraméterekkel együtt. Ez alapján megállapítható, hogy a Fe(II)–monohidroxamátó kölcsönhatásokat jellemző abszorpciós maximum megfelel a Fe(II)-komplexeket általánosan jellemzőnek.



17. ábra Fe(II) – Aha rendszer látható spektruma pH = 7,2-n 700-950 nm tartományban (M:Aha = 4:5)

A Cu(II)-komplexek esetén a mért $\lambda_{\max}$ értékből a Cu(II)-ionhoz koordinálódó donatorom kémiai minősége a ligandumok egy adott körében megadható a Sigel-Martin egyenletek segítségével.¹³⁰ (Ld. 3.1 Fejezet.) A hidroxamát-oxigénekre viszont nem voltak ismertek az egyenletekben szereplő hozzájárulási tényezők az irodalomban. Abban az esetben, ha a Cu(II)-ionhoz két monohidroxamát, vagyis négy oxigén koordinálódik,



18. ábra Cu(II) – Aha rendszer UV-látható spektruma pH = 7,6-n ($c_{\text{Cu(II)}} = 1,10 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:Aha = 1:5)

és ez a biszkomplex 100%-ban van jelen, akkor a mért $\lambda_{\max}$ értékből az egy hidroxamát-oxigénre eső hozzájárulási tényező kiszámolható. A 18. ábra a Cu(II)–Aha rendszer látható spektrumát mutatja olyan pH-n felvéve, ahol a $[\text{Cu(Aha)}_2]$ komplex képződése teljes. A különböző hidroxámsavak esetén (Aha, MAha,

PhAha) a mért $\lambda_{\max} = 650 \pm 3$ nm, $\epsilon_{\max} = 36 \pm 6$ M⁻¹cm⁻¹ volt, így a kapott hozzájárulási tényező 0,384±0,02-nak adódott.

A Ni(II)-komplexekben lévő kötémód és a komplexek geometriájának meghatározásában szintén segítséget nyújt az UV-látható spektrumok tanulmányozása. A Ni(II) az összes vizsgált monohidroxámsavval hasonló geometriájú és kötémódú komplexet alkotott. A $\lambda_{\max}$ értékek a 649±2 nm és 395±2 nm tartományba estek. Ezek az elnyelések jellemzően az oktaédes geometriájú Ni(II)-komplexek $^3A_{2g} \rightarrow ^3T_{1g}$ (F) ill. $^3A_{2g} \rightarrow ^3T_{1g}$ (P) átmeneteihez tartoznak.¹¹⁷

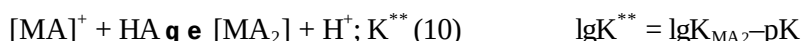
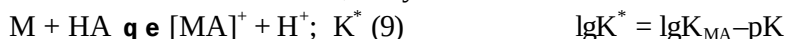
A meghatározott modellek alapján látható, hogy több esetben [MAH₁]⁻ és [MA₂H₁]⁻ összetételű komplexek is képződtek. Vajon mi lehet ezeknek a részecskének a szerkezete? A Cu(II)–primer hidroxámsav rendszerek kivételével az összes vizsgált rendszer esetén ezek minden valószínűség szerint vegyes hidroxokomplexek, vagyis valójában [MA(OH)] és [MA₂(OH)]⁻ részecskék, amit az is alátámaszt, hogy képződésüket követően a pH emelésével csapadékleválást tapasztaltunk. (pH-potenciometriás módszerrel a két-két részecske nem különböztethető meg, mert képződésük egyforma pH-effektussal jár.) A Cu(II)–Aha ill. –Bha rendszerek esetén viszont ESR és UV-látható spektrofotometriás mérések alapján az irodalomban leírták, hogy az egyik koordinált hidroxamát -NH-csoportjának deprotonálódása révén képződő hidroximáto-kelet található az így ténylegesen [MA₂H₁]⁻ összetételű részecskében.⁴⁰ Ez alapján feltételezhető, hogy Cu(II)-ionnal a Pha (mint primer hidroxámsav) esetén is megtörténik ez a második deprotonálódás, míg a szekunder hidroxámsavak esetén ez egyszerűen nem lehetséges.

A 4. táblázatból látható, hogy a metalloenzim-inhibíciós hatás szempontjából leginkább érdekesnek tűnő fémionok, a Ni(II), Cu(II) és Zn(II) esetén tanulmányoztuk szisztematikusan olyan monohidroxámsavak komplexképzését, melyekben a hidroxámsavcsoporthoz különböző szubsztituensek kapcsolódnak. Azt vizsgáltuk, hogy az eltérő helyzetű és típusú szubsztituensek hogyan befolyásolják a hidroxamát-kelet stabilitását ezen fémionok esetén.

A ligandumok hidroxamát-szénatomjához, ill. -nitrogénjéhez kapcsolódó szubsztituensektől függő bázicitásnak a változását már ismertettük a 4.1. Fejezetben. Jól ismert a ligandum bázicitása és a fémkomplexek stabilitása közötti összefüggés.⁴¹ Így a különböző komplexekre kapott stabilitási állandókból (ld. 3. és 4. táblázat) célszerű olyan származtatott állandókat képezni, melyekben figyelembe

4.3.1. Egyszerű monohidroxámsavak kölcsönhatásának vizsgálata kétértékű fémionokkal

vesszük a hidroxámsavak eltérő savasságát. Az első, ill. a második monohidroxámsav koordinációjára vonatkozólag a 9. és 10. egyensúlyok alapján származtatott állandókat számoltunk, melyeket az 5. táblázat mutat.



5. Táblázat Származtatott állandók ($\lg K^*$, $\lg K^{**}$) az M(II)–monohidroxámsav rendszerekben képződő mono-, ill. bisz-komplexek esetén

ligandum	Cu(II)		Ni(II)		Zn(II)	
	$\lg K^*$	$\lg K^{**}$	$\lg K^*$	$\lg K^{**}$	$\lg K^*$	$\lg K^{**}$
Aha	-1,38	-3,10	-4,12	-5,24	-3,95	-5,00
Pha	-1,45	-2,91	-4,10	-5,07	-4,27	-4,90
Hha	–	–	-4,26	-5,50	-4,12	-5,29
Bha	–	–	-3,78	-4,89	-3,84	-4,79
MAha	-1,30	-2,80	-3,97	-5,16	-4,19	-4,86
PhAha	-1,13	-2,85	-3,76	-4,84	-4,10	-4,66
PYRha	1,07	-0,15	-0,93	-1,55	-0,90	-1,60

Az $[MA_3]^-$ komplexek esetén nem számoltunk ki a fenti típusú származtatott állandókat, mert a képződésükkel verseng a vegyes hidroxokomplexek képződése. A táblázatban szereplő adatok minél nagyobbak (pozitívabbak), annál stabilisabbak a protonkomplexhez képest a képződő komplexek. Ez alapján látható, hogy a kapott származtatott állandók nem különböztek számottevően egymástól a PYRha kivételével, a különbségek szinte a mérési hiba tartományába esnek. Vagyis a komplexek stabilitása követi a ligandumok bázicitásának megfelelő stabilitási sorrendet.

A Fe(III) komplexeinél tapasztalt egyértelmű szubsztituenshatás (ld. 2.5. Fejezet) az általunk vizsgált rendszereknél nem volt mérhető értékű. Feltehetően a Fe(III)-iontól több nagyságrenddel kisebb stabilitású komplexeket képező fémionok esetén, a szubsztituens okozta effektus a mérhetőség tartománya alá esik, még ha százalékosan ugyanakkora is, mint a Fe(III) esetén.

A heterociklusos, hidroxámsavszerű PYRha esetén nagyobb stabilitású komplexek képződtek. A származtatott állandók értéke az Aha-hoz képest – pl. az első hidroxamát koordinációjára vonatkozólag – mind a három fémion esetén több

mint három nagyságrenddel megnőtt, vagyis a ligandum pK értéke alapján várható stabilitástól a kapott állandók nagyobbak. Ennek legvalószínűbb oka az, hogy a π -elektronok révén kedvezőbb elektroneloszlás alakul ki a hidroxamát-kelátban.

Mivel az általunk vizsgált összes +2 töltésű fémion közül a Cu(II), Ni(II) és Zn(II) képezi a legstabilisabb komplexeket a hidroxámsavakkal, és a szubsztituensek hatása nem volt egyértelműen mérhető ezen fémionok esetén, ezért a többi, még kisebb stabilitású komplexeket képező fémionokkal már nem is végeztük el ezeket a részletes vizsgálatokat.

4.3.2. Aminohidroxámsavak kölcsönhatása +2 töltésű $3d^{5-10}$ fémionokkal4.3.2.1. α -Alaha és β -Alaha komplexképzésének vizsgálata

Az aminohidroxámsavak ugyan a monohidroxámsavak közé tartoznak, de ahogyan az Irodalmi áttekintésből is kiderül, koordinációs kémiai szempontból alapvetően eltérően viselkedhetnek. Az egyszerű monohidroxámsavakhoz képest a koordinációs lehetőségek száma megnő, mert a hidroxamát (O,O)-kelát és (N,N) típusú kelát (ld. 12. ábra) is kialakul a fémion karakterétől és a pH-tól függően. Az (N,N)-kelát β -aminohidroxámsavak esetén hattagú, α -aminohidroxámsavak esetén öttagú lehet.

6. Táblázat M(II)- α -Alaha/ β -Alaha rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\lg\beta$) ($t = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ mol/dm}^3$ (KCl))

		Mn(II)	Fe(II)	Co(II)	Ni(II)	Cu(II)	Zn(II)
α -Alaha	$[\text{MAH}]^{2+}$	$10,92^a$	11,99(3)	$12,12^a$	–	–	$12,27^a$
	$[\text{MA}]^+$	$3,47^a$	4,57(4)	$4,74^a$	$6,76^a$	$10,89^a$	$5,29^a$
	$[\text{MAH}_1]$	$-5,99^a$	–	$-2,64^a$	–	–	$-2,26^a$
	$[\text{MA}_2\text{H}]^+$	$14,30^a$	–	–	–	–	–
	$[\text{MA}_2]$	$5,97^a$	9,3(1)	$9,39^a$	$14,13^a$	$19,87^a$	$9,32^a$
	$[\text{MA}_2\text{H}_1]^-$	–	–	$1,59^a$	$5,47^a$	$9,98^a$	–
	$[\text{M}_2\text{A}_2\text{H}_1]^+$	–	–	–	–	$20,89^a$	–
	$[\text{M}_2\text{A}_3]^+$	–	–	$17,69^a$	–	–	$18,77^a$
β -Alaha	$[\text{MAH}]^{2+}$	12,51(3)	13,47(2)	13,45(2)	$14,12^b$	–	$16,16^b$
	$[\text{MA}]^+$	3,67(3)	–	5,28(2)	–	$12,85^b$	–
	$[\text{MAH}_1]$	–	–	–	–	–	–
	$[\text{MA}_2\text{H}_2]^{2+}$	24,6(2)	26,58(3)	26,5(1)	–	–	$27,59^b$
	$[\text{MA}_2\text{H}]^+$	15,49(5)	18,67(2)	–	$20,26^b$	–	$19,65^b$
	$[\text{MA}_2]$	–	9,20(4)	–	$11,57^b$	–	$10,85^b$
	$[\text{MA}_2\text{H}_1]^-$	–	-1,31(5)	–	$1,99^b$	–	$1,05^b$
	$[\text{M}_5\text{A}_4\text{H}_1]^{5+}$	–	–	–	–	$46,66^b$	–

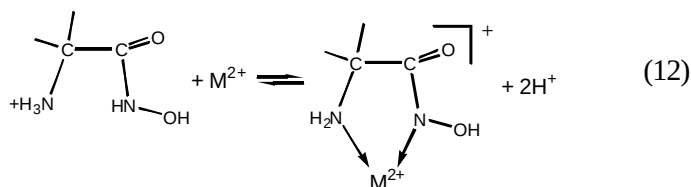
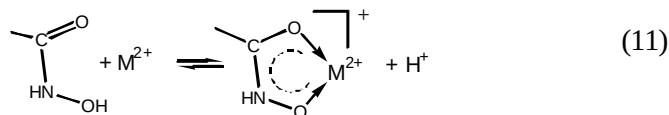
^aHiv. 84.

^bHiv. 81.

Az α -alanin és a β -alanin aminosavak hidroxámsav származékainak (α -Alaha, β -Alaha) oldategyensúlyi viszonyait a $3d^{5-10}$ kétértékű fémionok közül a legtöbbet a Tanszéken már tanulmányozták.^{81,84,100,107} A korábban még nem vizsgált

rendszerekre vonatkozó eredményeket a 6. táblázatban foglaltuk össze az irodalmi adatokkal együtt. A táblázatból látható, hogy az α -Alaha kölcsönhatását a Fe(II) kivételével már vizsgálták, a β -Alaha esetén a Fe(II)-, Mn(II)- és Co(II)-ionokkal hiányoztak a vizsgálatok. A kapott modellek mutatják, hogy többféle protonált és teljesen deprotonált részecske képződik. Az egyes komplexekben kialakuló kötőmódot különböző módszerekkel (UV-látható spektrofotometria, ESR spektroszkópia, röntgendiffrakciós mérések) a Cu(II) és Ni(II) esetén korábban már tisztázták.^{81,84,100,107} Ez alapján a Cu(II)-ion és α -Alaha közötti komplexképződés a hidroxamát-oxigéneken keresztüli kötődéssel indul, majd a pH emelésével létrejön egy többmagvú részecske, melyben a ligandum az (N,N)- és (O,O)-donorcsoportokon át koordinálódik egy-egy fémionhoz. Nagyobb pH-n tisztán nitrogéneken keresztüli koordináció valósul meg.^{84,105} A β -Alaha esetén is hidroxamátszerű koordinációval indul a komplexképződés, de nagyobb pH-n megmarad az (N,N)- és (O,O)-kelátok együttes jelenléte egy igen stabilis négymagvú komplexben.¹⁰⁷ A Ni(II) esetén mind a két ligandummal kizárólagos a nitrogéneken keresztüli koordináció.^{84,100} A Co(II)- és Zn(II)- α -Alaha rendszerben nagyobb pH-n bizonyított a nitrogéneken keresztüli kötődés.⁸⁴

Az α -Alaha és β -Alaha ligandum Fe(II)-, Mn(II)- és Co(II)-ionokkal képzett fémkomplexei esetén a kötőmódokat nehéz spektroszkópai módszerekkel vizsgálni, és a közvetlenül számolt stabilitási állandók számszerű értékeiből nem lehet a megvalósuló kötőmódokra következtetni. Ezért elemeztük a lehetséges keláttípusok stabilitását az egyes fémionok esetén különböző pH-kon. Amint a 11. és 12. egyensúlyok szemléltetik, a hidroxamátó-kelát kialakítása során a fémion a ligandumról egy protont szorít le, míg az (N,N)-kelát kialakulásakor két protont. Az egyes keláttípusok adott körülmények közötti képződését jellemző látszólagos stabilitási állandók tehát várhatóan eltérő pH-függést mutatnak.



4.3.2.1. α -Alaha és β -Alaha komplexképzésének vizsgálata

A számolásokhoz olyan modell ligandumokat választottunk, melyekkel a kérdéses keláttípusok kizárólagosan képződnek. Ilyen ligandum az Aha (öttagú (O,O)), az en (öttagú (N,N)) és az 1,3-diamino-propán (pn)) (hattagú (N,N)). Feltételeztük, hogy a nitrogének hasonló bázicitása miatt nincs számottevő stabilitásbeli különbség az α -Alaha és en, ill. a β -Alaha és pn megfelelő tagszámú (N,N)-kelátjai között. Számolásokat a monokomplexekre ([MA]) végeztünk, és a látszólagos stabilitási állandókat (K') a vizsgálati pH-tartományokban a különböző fémionok esetén a 13. és 14. egyenletek alapján képeztük.

$$K' = \beta_{MA} / \alpha_H \quad (13)$$

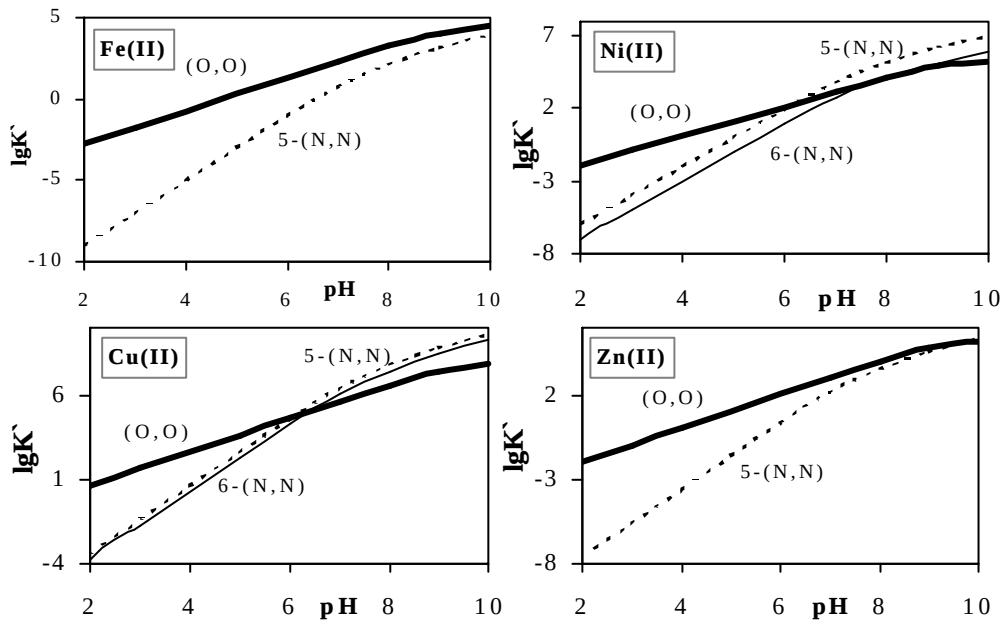
ahol β_{MA} a képződő komplexek stabilitási szorzatai¹³⁵

$$\alpha_H = [A] \left(1 + \sum_{i=1}^n \beta_{H_i A} [H]^i \right) \quad (14)$$

ahol $[A]$ = teljesen deprotonált Aha, en, pn koncentrációja

n = disszociálós protonok száma (Aha:1, en, pn:2)

$\beta_{H_i A}$ = megfelelő protonálódási állandók¹³⁵



19. ábra Látszólagos stabilitási állandók ($\lg K'$) pH-függése Aha, en és pn 1:1 fém-ligandum arányú komplexeire különböző fémionok esetén [Jelölések: (O,O): vastag folytonos, 5-(N,N): szaggatott, 6-(N,N): vékony folytonos vonal.]

A Fe(II), Ni(II), Cu(II) és Zn(II) esetén számolt látszólagos stabilitási állandók pH-függését mutatja a 19. ábra. A Fe(II), Mn(II) és Co(II) esetén a pn-ra vonatkozólag nem végeztünk számításokat, mert a vizsgálati körülményeinknek megfelelő adatot nem találtunk az irodalomban. Természetesen ott indul mérhető komplexképződés, ahol a látszólagos stabilitási állandó kellően nagy ($\lg K > -2$). Adott pH értéken pedig a különféle kelátok látszólagos állandóinak a viszonya az egymáshoz viszonyított képződési valószínűséget is tükrözi. Az ábrák alapján a következő megállapításokat tehetjük: a hattagú (N,N)-kelát látszólagos stabilitása mindig kisebb az öttagúnál. A Cu(II) esetén már pH = 2-n valószínű a mérhető komplexképződés hidroxámsavakkal, és az (O,O)-kelát látszólagos stabilitási állandója pH = 6-ig nagyobb az (N,N)-kelátokéhoz képest. Ezek a megállapítások jól összhangban vannak a spektrofotometriás és ESR mérési tapasztalatokkal, vagyis pl. az α -Alaha esetén pH = 6 alatt hidroxamát típusú, pH $\approx$ 6-n vegyes, nagyobb pH-n nitrogéneken keresztül a koordináció.⁸⁴ A Ni(II) esetén a látszólagos stabilitási állandók alapján a komplexképzés a Cu(II)-ionhoz képest nagyobb pH-kon indul, és pH = 6,5 felett az öttagú (N,N), pH = 7,5 felett a hattagú (N,N)-kelát a stabilisabb a hidroxamáthoz képest, ami megfelel az irodalmi adatoknak.^{84,100} A Zn(II)-ionnal kapott görbékhez hasonlóak a Co(II)-ionra vonatkozóak. A Zn(II) esetén az ábra mutatja, hogy az öttagú (N,N)-kelát stabilitása csak pH = 9 felett nagyobb az (O,O)-keláthoz képest, ami ugyancsak megfelel a korábban leírtaknak.⁸⁴ Mivel a fent említett fémionok esetén jó egyezést találtunk a látszólagos stabilitási állandók alapján feltételezett és a bizonyított koordináció között, ezért a Fe(II), Mn(II) és Co(II) esetén a látszólagos stabilitási állandók változása alapján valószínűsítettük a komplexekben kialakuló kötési módokat.

A Fe(II)- α -Alaha rendszerben képződő komplexek kapcsán elmondható, hogy a hidroxamát-kelát stabilisabb a teljes vizsgálati pH-tartományban az öttagú (N,N)-kelátnál, ami azt valószínűsíti, hogy ezzel a fémionnal valószínűbb a hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordináció. (A Mn(II) esetén számolt görbe a Fe(II)-ionra vonatkozóhoz hasonló.)

Fe(II), Mn(II) és Co(II) esetén is valószínű, hogy a hattagú (N,N)-kelátok stabilitása kisebb az öttagúhoz képest minden pH-n. Mivel mindhárom fémion esetén az (O,O)-kelátok stabilitása a komplexképződés pH-tartományában (pH = 6 felett) nagyobb az (N,N)-kelátokhoz képest, így feltehetően a β -Alaha ezekhez az ionokhoz hidroxamátszerűen koordinálódik.

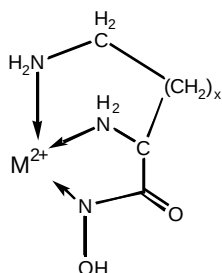
A 3. és 6. táblázat adatai azt mutatják, hogy az α -Alaha Fe(II)-ionnal képzett komplexeinek stabilitása az Aha megfelelő komplexeihez képest kisebb. Ennek oka feltehetően az, hogy az aminos csoport elektronszívó sajátsága miatt lecsökken a hidroxamát bázicitása, így a képződő komplexek stabilitása is. Az [MAH] komplexekben az α -aminocsoport protonált, ami miatt még inkább elektrofil, így még kisebbek a stabilitások. (Az adatok csak abban az esetben vethetők össze az Aha-ra vonatkozó állandókkal, ha a koordinálódó ligandum további disszociábilis protont nem tartalmaz, pl. [MA] komplex. A protonált komplexek esetén figyelembe kell venni a ligandumok savi disszociációs állandóit is (ld. 2. táblázat).) Az α -Alaha $3d^{5-10}$ fémionokkal képzett $[MA]^+$ komplexei oktaédres geometriájúak, többnyire (a Ni(II) kivételével) hidroxamát-kelátot tartalmaznak, így stabilitásuk összevethető. Ennek a komplexnek a stabilitási állandója a Fe(II)-ion esetén jól beillik az Irving-Williams⁶ tendenciának megfelelő állandók sorába. Ám megvizsgálva a lépcsőzetes állandókat láthatjuk, hogy az $MA + A \rightleftharpoons MA_2$ (K_2) folyamatra nagyobb, mint az $M + A \rightleftharpoons MA$ (K_1) folyamatra. ($\lg K_2 = 4,73$; $\lg K_1 = 4,57$) Ez a nagyobb $\lg K_2$ érték feltehetően annak köszönhető, hogy a valóságban ez a $[MA_2]$ részecske vegyes hidroxokomplex, vagyis $[MA_2H(OH)]$.

Az általunk vizsgált három fémion β -Alaha-val képzett protonált komplexeinek megfelelő stabilitási állandói az α -Alaha-hoz képest nagyobbak. Ennek oka az lehet, hogy az elektronszívó ammóniumcsoport a β -Alaha-ban a hidroxamát-résztől távolabb van, mint az α -Alaha-ban, így nem csökkenti le annyira annak bázicitását, melynek eredményeképpen a képződő komplexek stabilitása nagyobb.

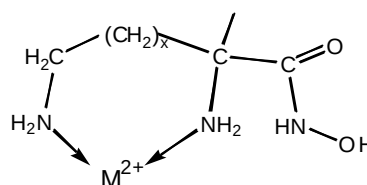
4.3.2.2. Oldalláncbeli aminos csoport szerepe

Az aminosavak esetén láttuk, hogy többféle koordinációs mód valósulhat meg a fémiontól, a pH-tól és a ligandum bázicitásától függően. Ha az aminosav az oldalláncában további koordinálni képes donorcsoportot tartalmaz, akkor a ligandum lehetséges koordinációs módjainak száma tovább nőhet, változhat a koordinatív kötés erőssége. A munkánk során olyan hidroxámsavakat vizsgáltunk, melyekben az α -aminocsoport mellett β , γ vagy ϵ pozícióban további aminos csoport található. Elvben amennyiben ez a terminális aminos csoport is koordinálódik, úgy az α -aminohidroxámsavaknál leírt (O,O) és ($N_{\text{hidroxamát}}, N_{\alpha\text{-amino}}$), ill. a Cu(II) esetén leírt vegyes kötésmód mellett (ld. 12. ábra)

újabbak is elképzelhetők, melyeket a 20. ábra mutat. Vagyis a diaminohidroxámsavak akár háromfogú ligandumként is koordinálódhat (I.), és az is elképzelhető, hogy a hidroxamát rész kiszorul a koordinációs szférából (II.) teljesen



I.

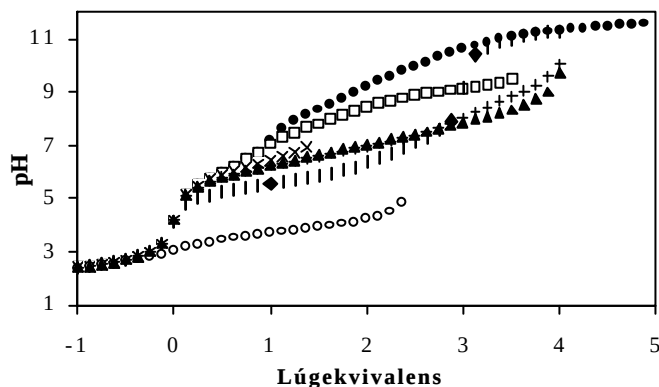


II.

20. ábra Diaminohidroxámsavak néhány lehetséges α -aminohidroxámsavaktól eltérő kötőmódjai

A Lysha esetén az ε -helyzetű aminocsoport koordinációja révén képződő ($N_{\text{terminális}}, N_{\alpha\text{-amino}}$)-kelát nyolctagú lenne, de ez feltehetően kis stabilitású, és a nyolctagú kelátgyűrű létezése az irodalomban sem bizonyított. A Dambha és Dampha esetén a terminális aminocsoport közelebb van az α -aminocsoporthoz, és koordinációjával hat-, ill. öttagú kelátok jönnek létre, ami viszont már lehetséges.

Reprezentatív titrálási görbéket mutat a 21. ábra a Dambha esetén, melyen jól láthatók a fémionok viselkedése közötti különbségek.



21. ábra Dambha () és Mn(II) ()-, Fe(II) (x)-, Co(II) (+)-, Ni(II) (◆)-, Cu(II) (□)-, Zn(II) (●)-Dambha rendszerek pH-potenciometriás titrálási görbéi ($c_A = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:2) (A negatív lúgekivalens savfelesleget jelöl.)

A Cu(II)-ionnal a komplexképződés már pH ~ 2,5-n elindul, míg a jóval kisebb stabilitású komplexeket képző Mn(II)-ionnal csak pH = 7 felett lép kölcsönhatásba a Dambha. A legtöbb fémion esetén nagyobb pH-n csapadék vált le, ami után a titrálásokat nem folytattuk tovább.

7. Táblázat M(II)–diaminohidroxámsav rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\lg\beta$) ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl))

		Mn(II)	Fe(II)	Co(II)	Ni(II)	Cu(II)	Zn(II)
Dampha	$[\text{MAH}_2]^{3+}$	–	–	–	–	22,25(6)	–
	$[\text{MAH}]^{2+}$	–	12,28(8)	–	15,92(3)	18,09(5)	13,58(3)
	$[\text{MA}]^+$	–	4,34(5)	–	–	–	–
	$[\text{MAH}_1]$	–	-5,54(7)	–	–	–	–
	$[\text{MA}_2\text{H}_2]^{2+}$	–	–	–	30,16(5)	33,31(6)	26,29(8)
	$[\text{MA}_2\text{H}]^+$	–	–	–	23,83(5)	26,60(7)	19,64(2)
	$[\text{MA}_2]$	–	–	–	16,22(6)	17,61(9)	11,20(3)
	$[\text{MA}_2\text{H}_1]^-$	–	–	–	6,10(7)	–	0,25(8)
	$[\text{M}_2\text{A}_2]^{2+}$	–	–	–	–	28,6(1)	–
Dambha	$[\text{MAH}_2]^{3+}$	–	–	–	–	23,20(7)	–
	$[\text{MAH}]^{2+}$	12,88(3)	14,02(3)	14,32(3)	15,70(8)	19,38(6)	14,34(3)
	$[\text{MA}]^+$	3,77(3)	–	7,31(2)	–	–	7,13(3)
	$[\text{MAH}_1]$	-4,93(6)	–	-1,38(9)	–	–	-0,96(4)
	$[\text{MA}_2\text{H}_2]^{2+}$	25,89(6)	–	–	31,00(8)	36,73(5)	–
	$[\text{MA}_2\text{H}]^+$	16,47(9)	–	20,82(7)	24,18(8)	29,05(8)	20,77(6)
	$[\text{MA}_2]$	–	–	13,03(4)	16,75(7)	19,87(9)	12,05(9)
	$[\text{MA}_2\text{H}_1]^-$	–	–	–	4,96(9)	8,9(2)	1,6(2)
	$[\text{M}_2\text{A}_2\text{H}]^{3+}$	–	–	–	–	38,08(5)	–
Lysha	$[\text{MAH}]^{2+}$	13,41(4)	14,92(2)	15,38(1)	16,73 ^a	20,72 ^a	15,49(5)
	$[\text{MA}_2\text{H}_2]^{2+}$	26,3(2)	–	29,83(4)	34,56 ^a	40,06 ^a	30,83(4)
	$[\text{MA}_2\text{H}]^+$	–	–	20,41(8)	26,40 ^a	30,62 ^a	22,24(6)
	$[\text{MA}_2]$	–	–	10,13(8)	16,12 ^a	20,22 ^a	12,5(1)
	$[\text{MA}_2\text{H}_1]^-$	–	–	-2,2(3)	5,43 ^a	9,30 ^a	2,4(2)
	$[\text{M}_2\text{A}_2\text{H}]^{3+}$	–	–	–	–	40,95 ^a	–

^aHiv.103.

A 7. táblázat a pH-potenciometriás mérési adatok alapján számolt eredményeket mutatja. A Dambha és a Dampha új, szintetikus ligandumok, ezért csak a jelen munka során történtek vizsgálatok a $3d^{5-10} + 2$ töltésű fémionok körében. A Lysha

esetén a Cu(II)- és Ni(II)-ionokkal a Tanszéken korábban már folytak vizsgálatok,¹⁰³ így a táblázat az ezekre a rendszerekre vonatkozó irodalmi adatokat is tartalmazza. A Dampha esetén néhány kiválasztott fémionnal végeztünk vizsgálatokat.

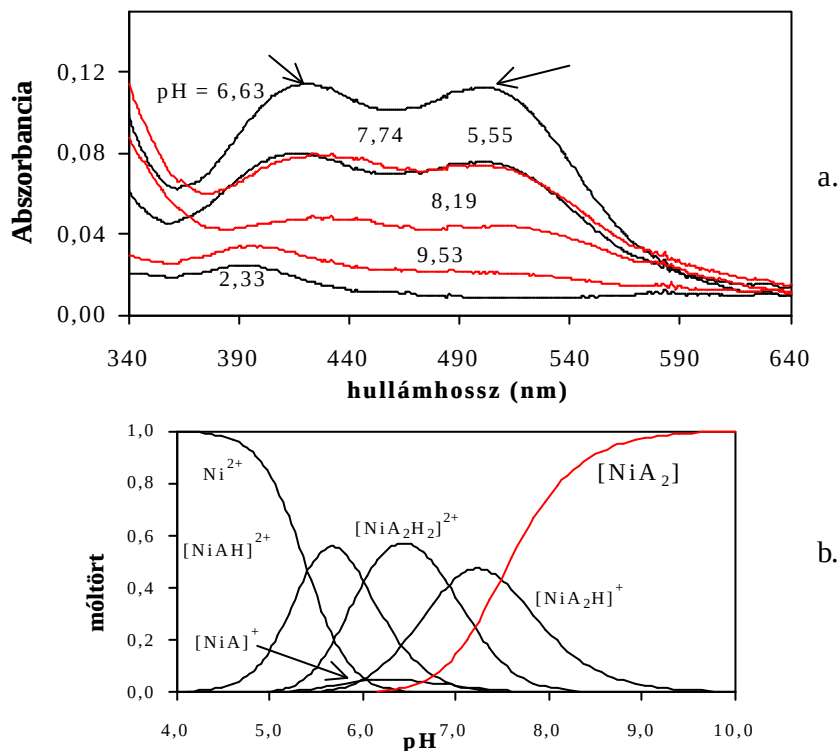
A 7. táblázat adataiból először is látható, hogy csak mono- és biszkomplexek képződnek, három ligandum ugyanazon fémionhoz való koordinációját nem tudjuk leírni. A Cu(II) esetén többmagvú komplexek képződése is megfigyelhető. Pecoraro¹⁰⁵ és Dallavalle¹⁰⁶ vizsgálatai alapján feltételezhető, hogy ezek a részecskék valójában nem kétmagvúak, hanem 5 fémiont és 5 ligandumot tartalmazó „metallacrown” vegyületek, viszont sem pH-metriás, sem ESR, sem UV-látható spektrofotometriás mérésekkel nem különböztethetők meg egymástól. A Cu(II)-ionnal $[\text{MAH}_2]^{3+}$ összetételű részecskék is képződnek. A komplexképződés ezzel a részecskével indul, és mivel a fémion csak egy protont szorít le, (O,O) koordináció valósul meg, az amino-N-ek még protonáltak. Minden rendszer esetén képződnek $[\text{MAH}]^{2+}$ típusú komplexek. Tekintve az (O,O) és (N,N) kelátok látszólagos stabilitását abban a pH-tartományban, ahol ez a részecske van jelen (ld. 19. ábra), a különböző kötési izomerek elvben megjelenhetnek. Hidrolitikus folyamatok miatt bizonyos esetekben akár $[\text{MAH}_2(\text{OH})]^{2+}$ vegyes hidroxokomplex is lehet. A képződött biszkomplexek esetén a lehetséges kötési izomerek száma még nagyobb.

A diaminohidroxámsavak és a modelljüknek számító α -Alaha esetén képződött protonált komplexek stabilitási állandóit nem lehet egymással közvetlenül összevetni, mert az α -Alaha kivételével nem ismertek az egyes protondiszociációs folyamatokhoz tartozó mikroállandók, sőt a diaminohidroxámsavakra kapott állandókat egymással sem tudjuk összehasonlítani az egyre jobban átfedő deprotonálódási folyamatok miatt. Így az állandók elemzéséből analógiák alapján nem lehet a kötésmódokra vonatkozó információkat nyerni. A Ni(II) és Cu(II) esetén (mely fémionok a metalloenzim-inhibíciós vizsgálatok miatt talán a legérdekesebbek) azonban spektrofotometriás, ill. a Cu(II)-komplexek esetén emellett ESR spektroszkópiás módszerrel a kialakuló koordinációs módok jól tanulmányozhatók. (ESR mérések a Dampha és Lysha mellett összehasonlítás céljából a pn ligandummal is készültek.) Az elvégzett vizsgálatok és az irodalmi eredmények alapján a Cu(II)-, ill. Ni(II)-diaminohidroxámsav rendszerekben képződő komplexek koordinációs módjára vonatkozólag a következő megállapítások tehetők:

A *Lysha* terminális aminocsoportjának koordinációját sem a Cu(II), sem a Ni(II) esetén nem írták le.¹⁰³ Az irodalmi adatok szerint a *Lysha* koordinációja teljesen α -aminohidroxámsavszerű. A Ni(II)-ionhoz kizárólag α -amino-, és hidroxamát-nitrogéneken keresztül koordinálódik, és jellegzetesen planáris biszkomplexek képződnek. Cu(II)-ionnal a spektrofotometriás és ESR mérések azt mutatták, hogy valóban a *Lysha* és α -Alaha esetén kapott spektrális paraméterek közel azonosak.¹⁰³

A *Dampha* és *Dambha* ligandum esetén lehetőség van a β -, ill. γ -helyzetű aminocsoport koordinációjára. Vajon képes-e kötődni ez a csoport a Ni(II)- és Cu(II)-ionokhoz?

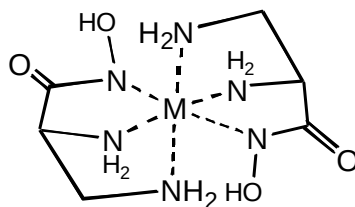
A Ni(II)–*Dambha* rendszerben a komplexképződés az α -Alaha-hoz teljesen hasonlóan indul, vagyis [NiAH] összetételű oktaéderes komplex képződik, majd a pH emelésével kialakul az $[\text{NiA}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplex. A 22. ábrán a koncentrációeloszlási görbék mellett a rendszer különböző pH-kon felvett spektrumai is láthatók.



22. ábra Ni(II)–*Dambha* rendszer UV-látható spektrumai különböző pH-kon (a) és koncentrációeloszlási görbéi (b) ($C_{\text{Ni(II)}} = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:4)

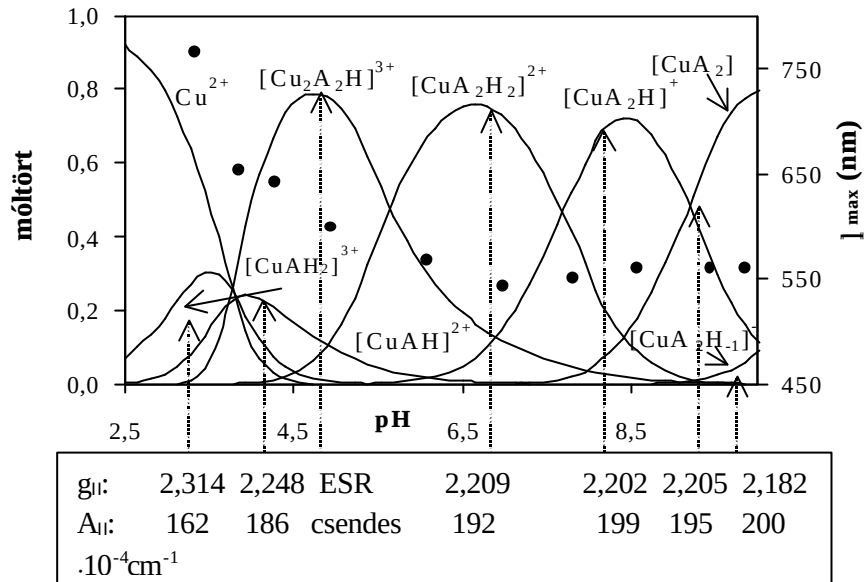
Az előzőekben említett biszkomplex képződési pH-tartományában a 423 nm és 500 nm-en megjelenő nagy moláris abszorbanációjú elnyelések azt mutatják, hogy a komplex már planáris geometriájú. A pH további emelésével ($\text{pH} > 7$), a $[\text{NiA}_2]$ komplex képződésével párhuzamosan az abszorbancia nagy mértékben lecsökken és a spektrum az oktaédes geometriájú Ni(II) -komplexekre jellemzőre változik. Mivel triszkomplexek nem képződtek, vagyis nem egy harmadik ligandum donorcsoportjának bekötődése következik be, az valószínűsíthető, hogy a terminális aminos csoport is részt vesz a koordinációban, vagyis a ligandum háromfogúként koordinálódik csatolt, öt- és hattagú kelátok kialakításával.

A *Dampha* Ni(II) -ionnal való kölcsönhatása a *Dambha*-hoz képest további különbségeket mutat. A spektrofotometriás mérések azt mutatták, hogy ezzel a ligandummal meg sem jelennek síknégyzetes geometriájú komplexek, a Ni(II) –*Dampha* rendszer spektrumai kizárólagosan oktaédes komplexek képződését mutatták. A $[\text{NiA}_2]$ komplex elnyelése ($\lambda_{\text{max}} = 529 \text{ nm}$ ($9 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), 350 nm ($15 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)) megfelel egy oktaédes, pl. $[\text{Ni(en)}_3]^{2+}$ komplexnek.¹¹⁷ A $[\text{NiA}_2]$ komplex legvalószínűbb szerkezetét a 23. ábra mutatja.



23. ábra A $[\text{Ni(Dampha)}_2]$ komplex feltételezett szerkezete

A Cu(II) esetén is mutat némi eltérést a *Dambha* és *Dampha* ligandum viselkedése az α -aminohidroxámsavakhoz képest. Részletes vizsgálatokat a *Dambha*-val végeztünk, a *Dampha* esetén nem készültek ESR mérések a ligandum rendelkezésünkre álló kis mennyisége miatt. A Cu(II) –*Dambha* komplexekben lévő kötismódokat jól jellemzik a λ_{max} értékek, ezért a koncentrációeloszlási görbékkel együtt ábrázoltuk a λ_{max} változását a pH-függvényében a 24. ábrán, melyen az egyes komplexekre kapott ESR paramétereket is feltüntettük.

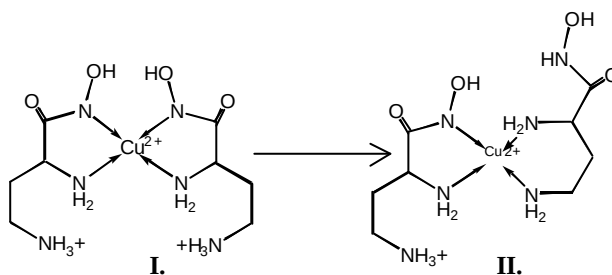


24. ábra Cu(II)–Dambha rendszer koncentrációeloszlási görbéi a $\lambda_{\max}$ értékek pH-függésével () együtt ábrázolva ($c_{\text{Cu(II)}} = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:2). Az ábrán feltüntetjük az egyes komplexek megfelelő ESR paramétereit is.

A legkisebb pH-kon képződő $[\text{MAH}_2]^{3+}$ monomer komplexet jellemző $\lambda_{\max}$, g_I , A_{II} értékek megfelelnek a hidroxamátszerű koordinációnak.⁴⁰ pH = 3-n megjelenik a $[\text{Cu}_2\text{A}_2\text{H}]^{3+}$ dimer részecske, mely ESR csendes, ami a két fémion közeli helyzetére utal. Ehhez a komplexhez tartozó $\lambda_{\max}$ érték ($\sim 600 \text{ nm}$) alapján a Cu(II)-ionhoz átlagosan két oxigén és két nitrogén koordinálódik, valószínűleg az α -aminohidroxámsavra jellemző vegyes kötőmód valósul meg. (Ld. 12. ábra. III.) Az ESR mérések a pH-potenciometriás mérésekkel összhangban azt mutatták, hogy a dimer részecske mellett jelen van a $[\text{CuAH}]^{2+}$ komplex is igen kis koncentrációban. Az igen kis jelintenzitás mellett kapott ESR paraméterek $g = 2,248$ $A_{II} = 186 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ jó egyezésben vannak a Cu(II)–glicil-glicin 1:1 arányú komplexének paramétereivel ($g_I = 2,248$ $A_{II} = 185 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$),¹³⁶ mely komplexben (NH_2 , N^- , COO^-) koordinációs mód valósul meg. Ez alapján valószínű, hogy a $[\text{CuAH}]^{2+}$ komplexben a nitrogének is koordinálódnak. pH = 6 felett elindul a biszkomplexek képződése, a $\lambda_{\max}$ értéke 540 nm, ami viszonylag jól megfelel a $2x(\text{N}_{\alpha\text{-amino}}, \text{N}_{\text{hidroxamát}})$ -jellegű koordinációnak. (α -Alaha: $\lambda_{\max} = 536 \text{ nm}$,⁸¹ Lysha: $\lambda_{\max} = 530 \text{ nm}$) A pH további emelésével viszont kis mértékben megnő a $\lambda_{\max}$

értéke (560 nm), és az ESR paraméterek is kissé megváltoznak. A Dampha esetén hasonló viselkedést tapasztaltunk a spektrofotometriás mérések során, nagyobb pH-n ebben az esetben a $\lambda_{\max}$ értéke 570 nm-re változott maximálisan.

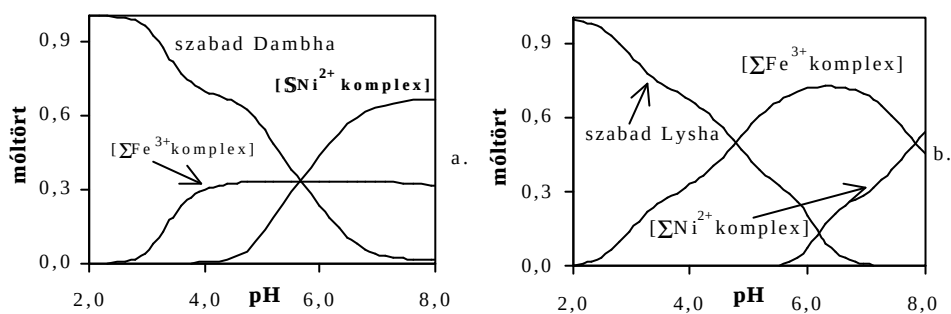
Hogyan értelmezhető a $\lambda_{\max}$ értékek növekedése a nagyobb pH-kon? Valószínűleg a terminális aminocsoport koordinációjához köthető ez a változás. Ha a két ligandum egyike háromfogúként koordinálódik, akkor egy donoratomnak el kell foglalnia a Cu(II)-ion axiális kötőhelyét, amit az irodalmi adatok,¹³⁷ ill. saját mérések (ld. 4.3.3.3. Fejezet) szerint jellemző batokróom eltolódás kísér, melynek mértéke erős axiális koordináció esetén kb. 60–70 nm. A Dambha és Dampha esetén ez a vörös irányú eltolódás csupán 25–30 nm. A kisebb mértékű eltolódás utalhat különböző izomerek együttes jelenlétére, melyek egy részében megvalósul az axiális koordináció, de másokban nem. A Dambha esetén lehetőség van egy további izomer kialakulására is, melyet a 25. ábra mutat (II.). Az öttagú (N_{α} -amino, $N_{\text{hidroxamát}}$) típusú kötőmódról való átrendeződéssel ($N_{\text{terminális amino}}$, N_{α} -amino) típusú hattagú kelát jöhet létre. Ezt a feltételezésünket összehasonlító adatok is alátámasztják. A Lysha esetén a $2x(N_{\alpha}$ -amino, $N_{\text{hidroxamát}}$) kötőmódot $g_{\text{I}} = 2,184$; $A_{\text{I}} = 205 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $\lambda_{\max} = 530 \text{ nm}$; a pn esetén a hattagú (N,N)-kelátot $g_{\text{I}} = 2,212$; $A_{\text{I}} = 194 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $\lambda_{\max} = 570 \text{ nm}$ értékek jellemzik. A deprotonált Dambha biszkomplexére általunk kapott értékek a fenti értékek közé esnek. A csatolt öt- és hattagú kelátok létrejöttét az irodalomban leírtak szerint is kedvezményezett.⁴¹



25. ábra A Cu(II)–Dambha rendszerben feltételezett kötőátrendeződés

Amennyiben egy fémion esetén a hidroxamát-kelát stabilitása a vizsgálati pH-kon mind az öttagú, mind a hattagú (N,N)-keláthoz képest nagyobb (Fe(II), Mn(II), ld. 19. ábra), akkor a diaminohidroxámsavaknak is az oxigéneken keresztüli koordinációja valószínű, az α -aminohidroxámsavakhoz hasonlóan. A Zn(II)- és Co(II)-ionok esetén nagy pH-n képződő komplexekben (pl. $[\text{MA}_2\text{H}_{-1}]^-$) lehetséges nitrogénen keresztüli kötődés is.

Összefoglalva az eredményeket elmondhatjuk, hogy az inkább oxigén donoratomokat kedvelő fémionok esetén az oldalláncbeli aminocsoport nem viselkedik potenciális donorcsoportként. A koordinációs módra számottevő hatása egy α -aminohidroxámsav oldalláncában elhelyezkedő aminocsoportnak akkor van, ha a fémion nitrogén donoratomokat is kedvel, pl. Cu(II) és Ni(II) esetén. A 26. ábrán látható koncentrációeloszlási görbék olyan hipotetikus rendszerekre vonatkoznak, melyek Fe(III)-iont, Ni(II)-iont, és Dampha-t, ill. Lysha-t tartalmaznak 1:1:2 arányban. Látható a szabad, valamint a Fe(III)-ionhoz és a Ni(II)-ionhoz kötött ligandumok mennyisége. A Dampha esetén viszonylag széles pH-tartományban a Ni(II)-ionnal képzett komplexek mennyisége a nagyobb, ami azért érdekes, mert a Fe(III)-ionnal kitüntetett stabilitású komplexeket képeznek nemcsak a hidroxámsavak, de az aminohidroxámsavak is (Lysha). Vagyis a Dampha egy olyan ligandum, ami szélesebb pH-tartományban jobb komplexképzője a Ni(II)-ionnak, mint a Fe(III)-ionnak.



26. ábra Koncentrációeloszlási görbék a hipotetikus Fe(III)–Ni(II)–Dampha (1:1:2) és Fe(III)–Ni(II)–Lysha (1:1:2) rendszerekre ($c_{\text{Fe(III)}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

4.3.3. Monohidroxámsavak vegyes ligandumú komplexei

Mivel az enzimek aktív centrumában lévő fémion(ok) koordinációs helyei nagy részben foglaltak az enzim donoratomjai által,¹⁴⁻²² így az inhibáló hidroxámsav elsősorban a szabadon maradt koordinációs helyeken kötődhet. Ezért a hidroxámsavak metalloenzim inhibíciós hatásának mélyebb megértéséhez információt nyújthat vegyes ligandumú komplexeiknek a vizsgálata. A hidroxámsavak által bizonyítottan gátolt enzimek közül (kollagenáz, 5-lipogenáz, stb.) pl. az ureáz aktív centrumában két oktaédes Ni(II)-ion található.¹⁴⁻¹⁵ Az aminohidroxámsavak a Ni(II)-ionnal síknégyzetes geometriájú biszkomplexekeket alkotnak,⁸¹ és számos vizsgálat eredménye szerint⁴¹ vegyes ligandumú komplexek képződése eltérő geometriájú törzskomplexekeket képző ligandumokkal igen kedvezőtlen, így az aminohidroxámsavakkal nem folytattunk ilyen jellegű vizsgálatokat.

A vegyes ligandumú komplexek vizsgálatához ezért monohidroxámsavakat (Aha, MAha, PhAha) választottuk. A Ni(II) mellett a metalloenzimek aktív centrumában ugyancsak megtalálható Zn(II) és Cu(II) komplexeit is vizsgáltuk, az utóbbi fémion bevonását a Cu(II)-komplexeek tanulmányozásának számos lehetősége (pl. UV-látható spektrofotometria, ESR spektroszkópia) is indokolta, és a kapott információk modell értékűek is a másik két fémionra vonatkozólag. Második (B) ligandumként különböző donoratom típusú (nitrogén, oxigén) és donoratom számú (2 vagy 3) vegyületeket választottunk, melyek képlete a 3. ábrán látható.

4.3.3.1. Fémion(II) – B ligandum törzskomplexe

A vizsgált két donoratomot tartalmazó B ligandumok közül az en és bipy is ötagú (N,N)-kelát kialakítására képes, de az en esetében a nitrogének alifás, a bipy esetén aromás jellegűek. Oxigén donoratomokat tartalmaz a Tiron, míg a Gly-nel a koordináció általában nitrogén és oxigén atomokon keresztül valósul meg. Három nitrogén donoratomot tartalmaz az alifás dien és az aromás terpy is, melyek a Cu(II) vegyes ligandumú komplexeinek vizsgálata során szerepeltek. A nevezett ligandumok jelenlétében tanulmányoztuk a hidroxamátok koordinációs lehetőségeit. Ezen vizsgálatok azonban az M(II)–B ligandum rendszerekben a vizsgálati körülményeink mellett képződő komplexek összetételét és stabilitási állandóit is igénylik. A legtöbb rendszer esetén korábbi tanszéki adatok álltak rendelkezésünkre,¹³⁸⁻¹⁴¹ de ellenőrző vizsgálatok minden esetben készültek.

Az első lépés a B ligandumok protondiszociációs állandóinak a meghatározása volt, melyeket a 8. táblázatban foglaltuk össze. Az állandók jó egyezést mutattak az irodalmi adatokkal.¹³⁸⁻¹⁴¹ A fémkomplexekre vonatkozó stabilitási állandókat is a 8. táblázatban tüntettük fel jelölve, hogy mely esetben használtunk irodalmi adatokat.

8. Táblázat B ligandumok pK értékei és a M(II)–B ligandum rendszerekben képződő komplexek* stabilitási állandói ($\lg \beta$) ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl))

		en	bipy	Gly	Tiron	dien	terpy
	pK ₁	7,25(2)	4,43(1)	2,32(1)	7,41(1)	4,46(1)	3,57(2)
	pK ₂	10,12(1)	–	9,60(1)	11,93(1)	9,13(6)	4,54(3)
	pK ₃	–	–	–	–	9,91(6)	–
Cu(II)	[MBH]	–	–	–	–	18,42(4)	–
	[MB]	10,57 ^a	9,06 ^c	8,07 ^a	–	16,10(2)	–
	[MB ₂ H]	–	–	–	–	29,50(4)	–
	[MB ₂]	19,68 ^a	14,96 ^c	14,84 ^a	–	20,98(2)	–
	[MB ₃]	–	18,21 ^c	–	–	–	–
	[MBH _{–1}]	–	–	–	–	6,86(1)	f
	[MBH _{–2}]	–	–9,10 ^c	–	–	–	–
	[MB ₂ H _{–1}]	–	5,38 ^c	–	–	–	–
	[M ₂ B ₂ H _{–2}]	–	7,27 ^c	–	–	–	–
	[M ₂ B ₄ H _{–1}]	–	23,46 ^c	–	–	–	–
Ni(II)	[MB]	7,36 ^b	7,07 ^d	5,65 ^b	9,21(1)	–	–
	[MB ₂]	13,52 ^b	13,93 ^d	10,40 ^b	15,88(2)	–	–
	[MB ₃]	17,78 ^b	20,13 ^d	13,78 ^b	–	–	–
	[MB ₂ H _{–1}]	–	–	–	4,55(1)	–	–
Zn(II)	[MB]	5,75 ^b	5,04 ^d	5,19 ^b	9,65(1)	–	–
	[MB ₂]	10,73 ^b	9,39 ^d	9,40 ^b	17,70(1)	–	–
	[MB ₃]	–	12,96 ^d	–	20,3(4)	–	–

* A teljesen deprotonált ligandumok eltérő töltése miatt a töltéseket nem tüntettük fel.

^aHiv. 138., ^bHiv. 139., ^cHiv. 140., ^dHiv. 141.

f. $[\text{CuB}] + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons [\text{CuBOH}] + \text{H}^+$ (K) folyamatra meghatározott állandó: $\lg K = 8,60(1)$

A Cu(II)–Tiron rendszerben valószínűleg a ligandum fémindukált oxidációja indult el anaerob körülmények mellett már pH = 3-n, emiatt nem tudtunk stabilitási állandókat meghatározni. Ugyanakkor pH = 10 felett a Ni(II) és Zn(II) esetén is elindult a Tiron oxidációja, így csak az oxidációt megelőző tartomány kísérleti

9. Táblázat M(II)–monohidroxámsav–B ligandum rendszerekben képződő vegyes ligandumú komplexek stabilitási állandói ($\lg\beta$), $\Delta\lg\beta$ ($= \lg\beta^{\text{mért}} - \lg\beta^{\text{stat}}$) és $\Delta\lg K_{\text{MAB}}$ értékek ($t = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ mol/dm}^3$ (KCl))

	A	B	[MAB]	[MABH]	[MA ₂ B]	[MAB ₂]	$\Delta\lg\beta_{\text{MAB}}$	$\Delta\lg\beta_{\text{MA}_2\text{B}}$	$\Delta\lg\beta_{\text{MAB}_2}$	$\Delta\lg K_{\text{MAB}}$
Cu(II)	Aha	en	17,65(2)	7,49(2)	–	–	+0,48	–	–	–0,81
		bipy	16,90(2)	7,31(2)	–	–	+2,09	–	–	–0,05
		Gly	14,92(1)	–	–	–	+0,17	–	–	–1,04
	MAha	en	17,07(2)	–	–	–	+0,28	–	–	–0,90
		bipy	16,67(1)	–	–	–	+2,24	–	–	+0,21
		Gly	14,36(3)	–	–	–	–0,01	–	–	+0,21
	PhAha	en	17,38(2)	–	–	–	+0,80	–	–	–0,50
		bipy	16,52(1)	–	–	–	+2,29	–	–	+0,15
Ni(II)	Aha	en	12,62(1)	1,8(2)	15,89(9)	17,85(4)	+0,97	+1,70	+1,63	+0,11
		bipy	12,78(4)	–	17,31(3)	–	+0,92	+2,33	–	+0,56
		Gly	10,20(2)	–	–	14,18(2)	+0,11	–	+0,62	–0,60
		Tiron	12,57(8)	–	–	–	–0,26	–	–	–1,79
Zn(II)	Aha	en	11,15(1)	1,77(6)	14,07(9)	14,4(1)	+0,76	–	–	+0,25
		bipy	10,65(4)	2,08(8)	14,3(1)	14,93(3)	+0,93	+1,79	+1,96	+0,43
		Gly	9,78(4)	–	–	13,08(5)	+0,05	–	–	–0,59
		Tiron	13,57(5)	–	–	–	–0,31	–	–	–1,26

adatait használtuk fel a kiértékelésekhez. Az oxidációt az oldatok színváltozása jelezte ($\lambda_{\max} = 590 \text{ nm}$, $\epsilon_{\max} = 30 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), ami a kinoidális szerkezet létrejöttéhez köthető.¹⁴²

A Cu(II)–terpy rendszer esetén a $[\text{CuB}]^{2+}$ komplex pH = 2-re gyakorlatilag 100%-ban kialakul a nagy stabilitása és a ligandum kis pK értékei miatt, így csak a mérhető pH-tartományban lejátszódó $[\text{CuB}]^{2+} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons [\text{CuB}(\text{OH})]^+ + \text{H}^+$ folyamatra határoztunk meg egyensúlyi állandót.

A Cu(II)-ion biszkomplexei esetén spektrofotometriás mérések alapján meghatároztuk a Sigel és Martin által felírt 8. félempirikus egyenletben szereplő hozzájárulási tényezőket, melyeket a vegyes ligandumú komplexben létrejövő kötésmódok meghatározásánál használtuk fel. A felhasznált értékeket a 10. táblázat alatt tüntettük fel.

4.3.3.2. Vegyes ligandumú komplexek képződése két donoratomot tartalmazó B ligandumokkal

Az M(II)–monohidroxámsav–B ligandum rendszerekben képződő vegyes ligandumú komplexeket elsősorban pH-metriás módszerrel vizsgáltuk, de számos esetben történtek spektrofotometriás és ESR mérések is. A komplexek stabilitási állandóit pH-metriásan határoztuk meg, a mérések eredményét a 9. táblázat foglalja össze. Nem vizsgáltuk a Cu(II)-iont és Tiront tartalmazó rendszereket a 4.3.3.1. Fejezetben említett oxidáció miatt, és a rendelkezésünkre álló PhAha kis mennyisége miatt nem tanulmányoztuk a Cu(II)–PhAha–Gly rendszert sem.

A 9. táblázat adataiból láthatjuk, hogy a Cu(II)-ionnal $[\text{MAB}]$ és $[\text{MABH}_{-1}]$, Ni(II) és Zn(II) esetén ezek mellett $[\text{MA}_2\text{B}]$ és $[\text{MAB}_2]$ vegyes ligandumú komplexek is képződnek. A komplexek sztöchiometriájában mutatkozó eltérés a fémionok eltérő geometriai viszonyainak köszönhető.

Spektrofotometriás és ESR mérésekkel a Cu(II)-ion esetén egyértelműen meghatározhatók voltak az $[\text{MAB}]$ összetételű komplexek koordinációs szférájában elhelyezkedő donoratomok típusai. Sigel és Martin által felírt félempirikus egyenleteket alkalmazva a törzskomplexek ($[\text{MA}_2]$, $[\text{MB}_2]$) spektrofotometriás vizsgálata során meghatározott hozzájárulási tényezőket használva számoltuk ki az általunk feltételezett kötésmódokhoz tartozó $\lambda_{\max}$ értékeket, mely szerint ezekben a vegyes ligandumú komplexekben egy

hidroxamát és a B ligandum két donoratomja koordinálódik a fémionhoz. A mért és számolt hullámhosszak a 10. táblázat adatai alapján jó egyezést mutatnak, tehát az előzőekben leírt kötési módok valósulnak meg.

10. Táblázat Cu(II)–monohidroxámsav–B ligandum rendszerekben képződő néhány vegyes ligandumú komplex spektrofotometriás és ESR spektroszkópiás paraméterei

komplex	feltételezett kötési mód	$\lambda_{\max}$ (nm) számolt ^c	$\lambda_{\max}$ (nm) mért
[Cu(Aha)en] ⁺	(O,O) ^a , (N,N)	596	592
[Cu(Aha)enH ₋₁]	(O,O) ^b , (N,N)	–	576
[Cu(MAha)en] ⁺	(O,O) ^a , (N,N)	594	600
[Cu(PhAha)en] ⁺	(O,O) ^a , (N,N)	595	605
[Cu(Aha)Gly] ⁺	(O,O) ^a , (N,O)	633	638
[Cu(MAha)Gly] ⁺	(O,O) ^a , (N,O)	631	632
komplex	feltételezett kötési mód	g	A (·10 ⁻⁴ cm ⁻¹)
[Cu(Aha)bipy] ⁺	(O,O) ^a , (N,N)	2,239	192
[Cu(Aha)bipyH ₋₁]	(O,O) ^b , (N,N)	2,219	199
[Cu(MAha)bipy] ⁺	(O,O) ^a , (N,N)	2,235	193

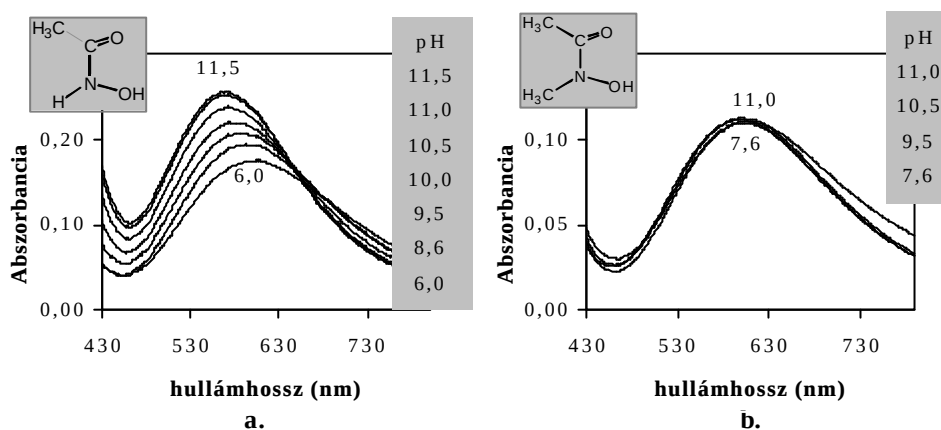
^a hidroxamátó

^b hidroximátó

^cA számoláshoz használt hozzájárulási tényezők: hidroxamát-O: 0,383 (Aha), 0,386 (MAha), 0,384 (PhAha); amin-N: 0,456 (en); Gly-N: 0,456, Gly-O: 0,357

Az Aha, MAha és bipy ligandumok esetén részletes ESR vizsgálatok is készültek. Az [MAB] komplexre mért értékek irodalmi adatok alapján megfelelnek egy planáris geometriájú Cu(II)-komplexnek,¹³⁶ mely részecske csak a vegyes ligandumú rendszerekben képződik, és melyben minden valószínűség szerint az ekvatoriális síkban két oxigén és két aromás jellegű nitrogén koordinálódik. (Az adatokat a 10. táblázat tartalmazza.)

Nagy pH-n a primer Aha és a szekunder hidroxámsavak viselkedése közötti különbség érdekesnek mutatkozott. A pH-metriás mérések alapján ugyanis a Cu(II)–Aha–en/ ill. –bipy rendszerekben $[MABH_{-1}]$ összetételű komplex is képződött, míg a szekunder MAha, PhAha esetén nem. A Ni(II), Zn(II) esetén is képződött ez a komplex, de a képződését követő csapadékleválás azt valószínűsíti, hogy ez a részecske vegyes hidroxokomplex, vagyis az összetétele $[MAB(OH)]$. A Cu(II) esetén a spektrofotometriás vizsgálat azt mutatta, hogy az $[MABH_{-1}]$ (A=Aha, B=en v. bipy) részecskében az $[MAB]$ komplexhez képest megnő a kötéserősség. Erre utal, hogy a λ_{max} eltolódott a nagyobb energiájú tartomány felé pl. a Cu(II)–Aha–en rendszerben (ld. 27. ábra, (a)), míg az MAha esetén (b) a vegyes ligandumú komplex kialakulását nem kísérte a λ_{max} változása.



27. ábra Cu(II)–Aha–en (a) és Cu(II)–MAha–en (b) rendszerek UV-látható spektrumai különböző pH-kon ($c_{Cu(II)} = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:A:B = 1:1:1)

Figyelembe véve a már korábban bizonyított $[Cu(Aha)_2]$ komplex nagy pH-n lejátszódó deprotonálódási folyamatait is, a vegyes ligandumú rendszerekben is legvalószínűbben a koordinált Aha deprotonálódása következik be a $[CuABH_{-1}]$ képződésekor, vagyis hidroximáto-kelát jön létre.

A vegyes ligandumú komplex törzskomplexekhez viszonyított stabilitását többféleképpen is elemeztük. Pl. kiszámoltuk a törzskomplexek megfelelő állandóinak a felhasználásával (amennyiben az a rendelkezésünkre állt) a statisztikus mértékű komplexképződésre vonatkozó állandókat ($\lg \beta^{stat}$).⁴¹ A mért és statisztikus állandók közötti különbségeket ($\Delta \lg \beta$) a 9. táblázatban tüntettünk fel. Az $[MAB]$, valamint az oktaédes $[MA_2B]$ és $[MAB_2]$ komplexek esetén a

statisztikus állandókat az alábbi egyensúlyok alapján a 15-17. egyenletek szerint számoljuk:

$$[MA_2] + [MB_2] \rightleftharpoons 2 [MAB] \quad \lg \beta_{MAB}^{stat} = 1/2 \lg \beta_{MA_2} + 1/2 \lg \beta_{MB_2} + \lg 2 \quad (15)$$

$$2 [MA_3] + [MB_3] \rightleftharpoons 3 [MA_2B] \quad \lg \beta_{MA_2B}^{stat} = 2/3 \lg \beta_{MA_3} + 1/3 \lg \beta_{MB_3} + \lg 3 \quad (16)$$

$$[MA_3] + 2 [MB_3] \rightleftharpoons 3 [MAB_2] \quad \lg \beta_{MAB_2}^{stat} = 2/3 \lg \beta_{MB_3} + 1/3 \lg \beta_{MA_3} + \lg 3 \quad (17)$$

A $\Delta \lg \beta$ adatok alapján megállapítható, hogy az en, és főleg a bipy esetén viszonylag nagy pozitív értékek kedvezményezett vegyes ligandumú komplex képződésére utalnak, míg a Tiron esetén a mért értékek a statisztikustól jóval kisebbek.

Az [MAB] komplexek esetén kiszámoltuk a 18. folyamatra vonatkozó egyensúlyi állandókat ($\Delta \lg K$) is a megfelelő $\lg \beta_{MA}$ és $\lg \beta_{MB}$ adatok felhasználásával,⁴¹ melyeket szintén a 9. táblázatban foglaltunk össze. A többi komplex esetében a megfelelő törzskomplexek stabilitási állandóinak hiánya miatt nem számolható a $\Delta \lg K$ értéke.

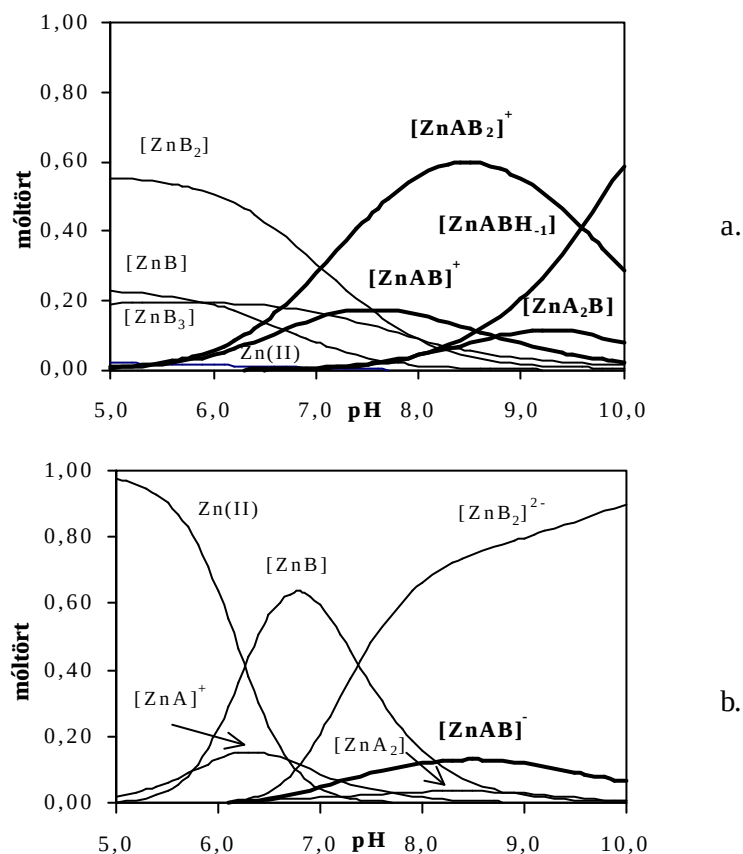
$$MA + MB \rightleftharpoons MAB + M \quad \Delta \lg K \quad (18)$$

$$\Delta \lg K = \lg \beta_{MAB} - \lg \beta_{MA} - \lg \beta_{MB}$$

Minél nagyobb a $\Delta \lg K$ értéke, az [MAB] komplex képződése az adott rendszerben annál kedvezőbb. Sigel számításai alapján $\Delta \lg K$ statisztikus értéke a Cu(II)-komplexekre vonatkozólag $-0,9$, a szabályos oktaéderes vegyes ligandumú komplex esetén $-0,4$.¹⁴³ Látható tehát, hogy olyan rendszerben ahol a B ligandum nitrogén donoratomokat tartalmaz, a vegyes ligandumú komplex képződése kedvezményezett, a $\Delta \lg K$ nagyobb, mint a statisztikus érték. Főleg az aromás bipy esetén képződtek nagyobb stabilitású komplexek, valószínűleg a lehetséges viszontkoordináció miatt. Az oxigén donoratomokat tartalmazó Tiron esetén ugyanakkor a $\Delta \lg K$ minden esetben jóval kisebb, mint a statisztikus érték, a Gly esetén pedig közel megfelel a statisztikus értéknek.

A fenti következtetések jól tükröződnek a Zn(II)–Aha–bipy/ ill. –Tiron rendszerek koncentrációeloszlási görbéin, melyek a 28. ábrán láthatók. Összehasonlítva a képződő vegyes ligandumú komplexek móltörtjét a bipy és Tiron esetén, egyértelmű hogy a Tironnal nem számottevő, míg a bipy esetén kifejezett a vegyes ligandumú komplexek képződése.

4.3.3.3. Vegyes ligandumú komplexek képződése két donoratomot...

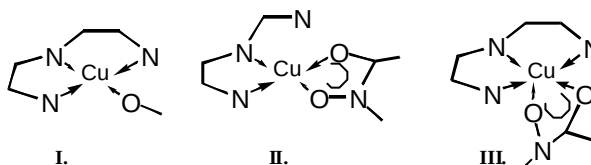


28. ábra Zn(II)–Aha–bipy (a) és Zn(II)–Aha–Tiron (b) rendszerek koncentrációeloszlási görbéi ($c_{Zn(II)} = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $M:A:B = 1:2:2$)

Akár a $\Delta \lg \beta^{\text{stat}}$, akár a $\Delta \lg K$ értékeket tekintjük, megállapításaink összhangban vannak Sigel azon következtetéseivel, mely szerint a vegyes ligandumú komplexek képződésekor kedvezményezett a különböző típusú donoratomok koordinációja a fémionhoz.¹⁴³

4.3.3.3. Vegyes ligandumú komplexek képződése három donoratomot tartalmazó B ligandumokkal

A három donoratomot tartalmazó B ligandumokkal csak a Cu(II) esetén végeztünk vizsgálatokat. Mivel a dien és a terpy a törzskomplexükben már elfoglal három ekvatoriális koordinációs helyet, felmerül a kérdés, hogy a hidroxamátnak hogyan valósul meg a koordinációja. A lehetséges kötés módokat a 29. ábra mutatja. Vagyis koordinálódhat egyfogúként (I.) vagy kétfogúként (II., III). Utóbbi esetekben a hidroxamát kiszorítja az ekvatoriális síkból az egyik nitrogént és a hidroxamátokelát a síkban alakul ki (II.), vagy az egyik oxigén ekvatoriálisan, a másik axiálisan koordinálódik (III.). A Ni(II) és Zn(II) esetén a szabályos oktaédres geometria miatt nincs megkülönböztetett koordinációs hely a komplexekben, ezért nem folytattunk vizsgálatokat az említett fémionok és a három donoratomot tartalmazó B ligandumok esetén.



29. ábra [CuAB] komplexek lehetséges kötés módjai
(A: monohidroxámsav, B: dien vagy terpy)

Ahogy a 4.3.3.1. Fejezetben már leírtuk, a terpy esetében az [MB] komplex képződése a titrálás induló pH-ján (pH = 2) gyakorlatilag 100%-os. Így csak az MB + A **q e** MAB folyamatra tudtunk egyensúlyi állandót meghatározni. A terpy, ill. a dien esetén kapott stabilitási állandók a 11. táblázatban találhatók meg.

A vegyes ligandumú komplexre kapott lépcsőzetes egyensúlyi állandók (lgK, ld. 11. táblázatban) jóval kisebbek a kétfogú ligandumoknál kapott lépcsőzetes állandóknál (pl. bipy esetén). A kalorimetriás mérések is azt mutatták, hogy a komplexképződést kísérő entalpiaváltozások között nagy különbség van a kétfogú és a háromfogú B ligandumok esetén. A dien és terpy esetén a bipy-hez képest jóval kisebb ΔH érték a kötések erősségének lecsökkenésére utal. (A kalorimetriás adatok is a 11. táblázatban láthatók.)

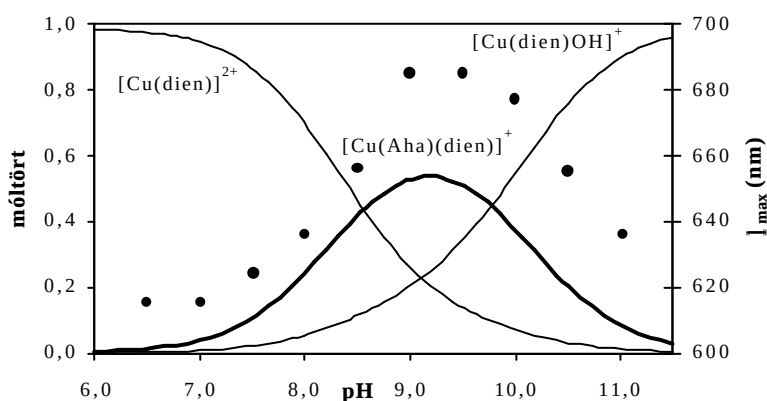
Továbbá a [Cu(Aha)(dien)/(ill. terpy)] vegyes ligandumú komplex kialakulásával párhuzamosan az abszorpciós maximum eltolódott a nagyobb hullámhosszak irányába. Mindezt jól szemlélteti a Cu–Aha–dien rendszer

4.3.3.3. Vegyes ligandumú komplexek képződése három donoratomot...

koncentrációeloszlási görbéivel együtt ábrázolt $\lambda_{\max}$ változása a pH-függvényében (30. ábra). A batokróóm eltolódás kb. 70 nm a dien, 50 nm a terpy esetén. A számottevő eltolódás az irodalmi adatok szerint erős axiális koordinációra utal.¹³⁷ Minden valószínűség szerint ötös koordinációs számú a kialakult [CuAB] komplex, de nem lehet egyértelműen megmondani, hogy melyik donoratom van az egyes koordinációs helyeken.

11. Táblázat Cu(II)–monohidroxámsav– dien/ –terpy (ill. –bipy) rendszerekben képződő vegyes ligandumú komplexekre vonatkozó stabilitási állandók ($\lg\beta_{\text{MAB}}$), a [CuB]+Aq e [CuAB] egyensúlyi folyamatra vonatkozó lépcsőzetes stabilitási állandók ($\lg K$) ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)); ESR spektroszkópiás és kalorimetriás adatok

A	B	$\lg\beta_{\text{MAB}}$	$\lg K$	(kJ/mol)	DH (kJ/mol)	DS (J/mol·K)	[CuAB]	
							$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}$ ($\cdot 10^{-4}\text{cm}^{-1}$)
Aha	dien	19,70(1)	3,60	-20,56	-0,2	68	2,240	181
MAha	dien	19,30(1)	3,20	–	–	–	2,241	182
PhAha	dien	19,85(3)	3,75	–	–	–	–	–
Aha	terpy	–	4,21	-24,02	+2,8	90	2,267	158
MAha	terpy	–	3,89	–	–	–	2,266	160
PhAha	terpy	–	3,67	–	–	–	–	–
Aha	bipy	16,90(2)	7,84	-45,49	-19,4	87	2,239	192



30. ábra Cu(II)–Aha–dien rendszer koncentrációeloszlási görbéi és a $\lambda_{\max}$ értékek pH-függése (•) ($c_{\text{Cu(II)}} = 3,0 \cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$, M:A:B = 1:1:1)

A $[\text{CuBH}_1]$ vegyes hidroxokomplex képződésével párhuzamosan, a pH további emelésével a λ_{max} eltolódik a kisebb hullámhosszak irányába, valószínűleg a hidroxámsav kiszorul a koordinációs szférából, és ismét nem lesz számottevő axiális koordináció.

Érdekes eredményeket hoztak az ESR vizsgálatok. pH = 11 alatti tartományban a pH-potenciometriás és látható spektrofotometriás mérések eredményeit jól alátámasztották az ESR paraméterek. A $[\text{CuAB}]$ komplex pH = 8 felett képződött, és a ESR spektruma megfelelt egy közel négyzetes piramisos geometriájú, ötös koordinációs számú Cu(II) komplexnek. A merevebb terpy esetén a geometria jobban torzult. A mérések azt is mutatták, hogy egyedül a Cu(II)–Aha–terpy rendszerben pH = 11 felett olyan komplex képződik, melyre vonatkozó ESR paraméterek ($g_{\parallel} = 2,217$; $A_{\parallel} = 203 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) tökéletesen egyeznek a Cu(II)–Aha rendszerben képződő $[\text{Cu}(\text{AH}_1)]^{2-}$ bisz-hidroximáto-komplexre vonatkozókkal.⁴⁰ A flexibilisebb dien esetén nem jön létre ez a komplex, ott a hidrolízis termék marad a domináns. Az eredmények legvalószínűbben úgy értelmezhetők, hogy a hidroximáto ($-\text{CNO}^{2-}$)-csoportok képesek a merevebb, kisebb stabilitású komplexeket képző terpy ligandumot a koordinációs szférából kiszorítani. Az a tény, hogy a szekunder hidroxámsavaknál ez a folyamat egyáltalán nem figyelhető meg, tovább erősíti a fenti következtetéseket.

4.4. Több hidroxámsavcsoportot tartalmazó hidroxámsavak és átmenetifém-ionok oldategyensúlyi viszonyai

4.4.1. Természetes sziderofórok vizsgálata

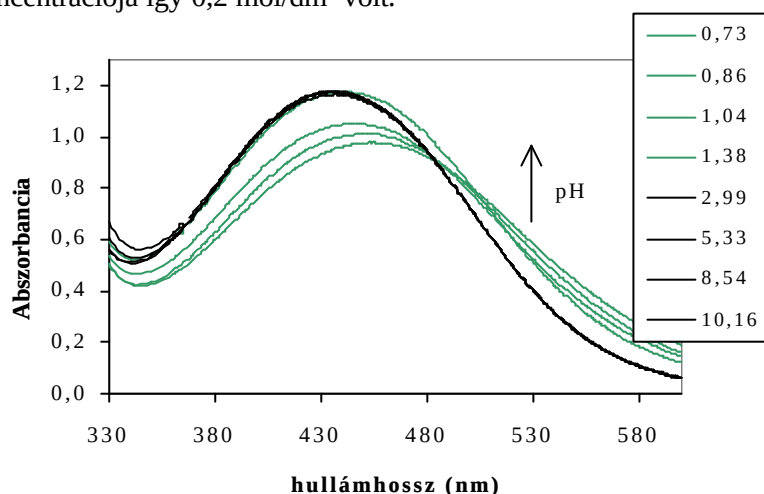
Munkánk másik része trihidroxámsav típusú sziderofórok Fe(II)-ionnal való kölcsönhatásának vizsgálata. A természetben bizonyítottan nem csak a Fe(III)-ionnal lépnek kölcsönhatásba a trihidroxámsavak, hanem a vas metabolizmusa során képződő Fe(II)-ionnal is,⁴ de ezeket a kölcsönhatásokat a már említett kísérleti nehézségek miatt gyakorlatilag még nem vizsgálták.

Ahogy az Irodalmi összefoglalóban részletesen leírtuk, a természetes trihidroxámsav típusú sziderofórokban lévő három kelátképző csoport egyidejűleg képes kötődni ugyanahhoz a Fe(III)-ionhoz, mert a csoportok térbeli távolsága és az őket összekötő szénlánc szerkezete ideális a koordinációhoz.^{4,5} A trihidroxámsavak így hatfogú ligandumként teljesen telíteni tudják a Fe(III) oktaédes koordinációs szféráját, igen nagy stabilitású 1:1 arányú komplexeket képezve. Az 2.5. Fejezetben részletesen elemzett koncentrációhatásnak köszönhetően a Fe(III) a trihidroxámsavakkal stabilisabb komplexeket képez mint a monohidroxámsavakkal, és emiatt a mikroorganizmusnak kevesebb többfogú sziderofórt kell kiválasztania ugyanannyi vas megkötéséhez, mint pl. a kétfogú monohidroxámsavakból kellene.⁴

Elsődleges célunk volt két természetes trihidroxámsav, a DFB és a koprogén oldategyensúlyi viszonyainak tanulmányozása. (A ligandumok képletei a 2. ábrán láthatók.) A jelen munka során a következő rendszereket vizsgáltuk: mindkét trihidroxámsav kölcsönhatását tanulmányoztuk Fe(II)-ionnal, az eredményeket a 4.4.3. Fejezetben ismertetjük. A Tanszéken a fémionok széles körében a DFB esetén már voltak megelőző eredmények,^{42,53} de a Mn(II) és Co(II) esetén nem, ezért elkészültek az ezekre a rendszerekre vonatkozó vizsgálatok. A koprogénnel az irodalomban csak a Fe(III) esetén találtunk előzményeket, de nem a mi mérési körülményeink között történtek a vizsgálatok. Így tanulmányoztuk a Fe(III)-, Ni(II)-, Cu(II)-, Zn(II)-koprogén rendszerek oldategyensúlyi viszonyait. A ligandum rendelkezésünkre álló kis mennyisége nem tette lehetővé, hogy a fémionok körét tovább bővítsük.

A képződő komplexek összetételét és stabilitási állandóit a vizsgált kétértékű fémionok esetén pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg. A Fe(III) viszont a koprogénnel a protonkomplexekhez viszonyítottan nagy stabilitású komplexeket

képez, ami miatt a ligandum és a fémion közötti kölcsönhatás igen kis pH-n fellép, és a fémkomplexek teljesen kialakulnak a pH-metriásan vizsgálható pH-tartomány alatt. Így pH = 2 felett már nincs pH-változással járó folyamat, a fémion további protont nem szorít le a ligandumról, vagyis a nagy stabilitás és a komplexképződés pH-tartománya gátat szabott a pH-metriás stabilitási állandó meghatározásnak. A karakterisztikus Fe(III)–hidroxamátó töltésátviteli sávok (ld. 1. táblázat) segítségével azonban spektrofotometriásan vizsgálható a komplexképződés pH = 2 alatt is, és stabilitási állandókat meg lehet határozni a különböző pH-kon mért spektrumok illesztésével. A vizsgálat során az ionerősség állandó értéken való tartása mellett a minta KCl tartalmát fokozatosan HCl-ra cseréltük, és a pH-t a minta erős sav tartalma alapján számoltuk ki. A legsavasabb minta savkoncentrációja így 0,2 mol/dm³ volt.



30. ábra Fe(III)–koprogén rendszer UV-látható spektrumai különböző pH-kon
($C_{\text{Fe(III)}} = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 4:5)

A 30. ábrán a Fe(III)–koprogén 4:5 fém-ligandum arányú rendszer különböző pH-kon felvett spektrumai alapján látható, hogy pH = 0,73-n átlagosan már több mint két hidroxamát koordinálódik a fémionhoz ($425 \text{ nm} > \lambda_{\text{max}} > 470 \text{ nm}$), és pH = 1,38-ra 100%-ban kialakul a triszhidroxamátó-komplex. A pH további emelésével a λ_{max} és ϵ_{max} nem változik. Spektrofotometriásan tehát csak a három koordinálódó hidroxamátot tartalmazó részecske kialakulása követhető nyomon. Erre a komplexre meghatározott állandót a többi rendszerre vonatkozó állandókkal és a korábbi tanszéki eredményekkel együtt a 12. táblázatban foglaltuk össze.

12. Táblázat M(II)/Fe(III)–DFB/ill. –koprogén rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\lg\beta$) ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3(\text{KCl})$)

		$[\text{MAH}_3]^{2+}$	$[\text{MAH}_2]^+$	$[\text{MAH}]$	$[\text{MA}]^-$	$[\text{M}_2\text{AH}]^{2+}$	$[\text{M}_2\text{A}]^+$
DFB	Mn(II)	31,8(6)	25,73(1)	17,37(2)	6,37(3)	–	–
	Co(II)	32,8(1)	27,44(2)	19,57(3)	8,55(4)	–	–
	Ni(II) ^a	33,20	27,66	19,71	8,89	–	–
	Cu(II) ^a	36,99	33,10	23,98	13,73	32,09	–
	Zn(II) ^a	33,40	28,17	20,40	10,36	–	–
	Fe(III) ^b	–	42,4 ^c	41,01 ^c	30,4	–	–
koprogén	Ni(II)	–	23,74(7)	18,53(1)	11,42(2)	–	–
	Cu(II)	–	26,89(3)	23,70(4)	15,25(8)	–	23,30(7)
	Zn(II)	–	23,6(3)	19,23(2)	11,80(4)	–	–
	Fe(III)	–	–	–	29,35(8) ^c	–	–

^aHiv. 42.

^bHiv. 53.

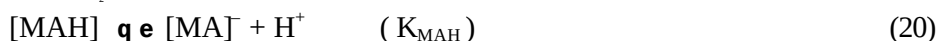
^c Spektrofotometriásan meghatározott állandók.

A Fe(III)-koprogén [MA] komplexére meghatározott stabilitási állandó az irodalomban ligandum kompetíciós módszerrel, eltérő körülmények között meghatározott 30,2 $\lg\beta$ értékkel jól egyezik.¹¹⁸

A Cu(II)-, Ni(II)- és Zn(II)-ionok esetén a koprogénnel $[\text{MAH}_2]^+$, $[\text{MAH}]$ és $[\text{MA}]^-$ komplexek képződtek, ill. a Cu(II) esetén kétmagvú $[\text{M}_2\text{A}]^+$ részecske is, melynek képződését alátámasztja az a kísérleti eredmény, hogy a titrálások során a koprogén fémfölösleget is oldatban tudott tartani. A 12. táblázatban található adatokból kiszámoltuk a koprogénnel képzett protonált komplexek lépcsőzetes protondisszociációs állandóit a 19. és 20. egyensúlyok alapján. Ni(II) és Zn(II) esetén ezek az állandók jóval kisebbek a szabad koprogén deprotonálódását jellemző állandótól ($\text{pK} \approx 9$). Mindez arra utal, hogy a protonokat a fémion szorítja le, és így az $[\text{MAH}_2]^+$, $[\text{MAH}]$ és $[\text{MA}]^-$ komplexekben valószínűleg egy, kettő, ill. három hidroxamát koordinálódik. A Cu(II) esetén a pK_{MAH_2} ugyancsak kisebb, de a pK_{MAH} már közel van a szabad liganduméhoz. Feltételezhető tehát, hogy a Cu(II)-komplexben a harmadik hidroxámsavcsoport deprotonálódását már nem követi koordináció.

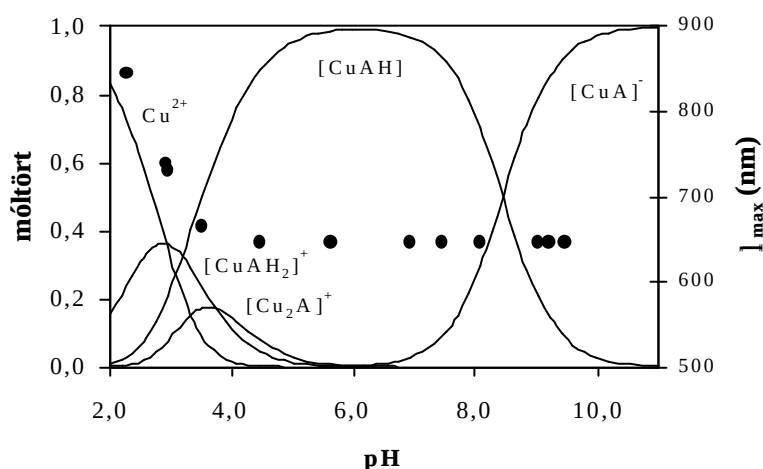


$$\text{p}K_{\text{MAH}_2} = \text{Ni(II): } 5,21; \text{ Zn(II): } 4,37; \text{ Cu(II): } 3,19$$



$$\text{p}K_{\text{MAH}} = \text{Ni(II): } 7,11; \text{ Zn(II): } 7,43; \text{ Cu(II): } 8,45$$

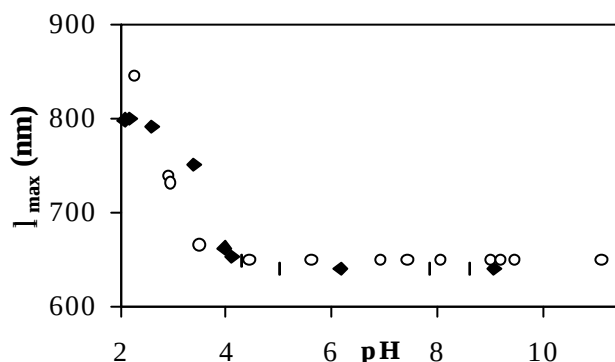
A 31. ábrán a Cu(II)–koprogén rendszerre vonatkozó koncentrációeloszlási görbékkel együtt ábrázoltuk a különböző pH-kon mért λ_{max} értékeket. A grafikon mutatja, hogy az [MAH] és [MA][−] komplexek λ_{max} értéke gyakorlatilag azonos, vagyis azonos a kötőmódjuk, és ez a λ_{max} érték – a 4.3.1. Fejezetben meghatározott hozzájárulási tényezők alapján – pontosan megfelel négy hidroxamát-oxigén koordinációjának. A spektrofotometriás vizsgálatok tehát egyértelműen mutatták, hogy a Cu(II) [MA][−] komplexében valóban csak két hidroxamát koordinálódik. Így az [MA][−] komplexben a kötött ligandumnak még van egy koordinálódni képes donorcsoportja, ezért nyílik lehetőség a kétmagvú [M₂A]⁺ komplex kialakulására.



31. ábra Cu(II)–koprogén rendszer koncentrációeloszlási görbéi és a λ_{max} értékek pH-függése (•) ($c_{\text{Cu(II)}} = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $M:A = 1:1,5$)

A Mn(II)– és Co(II)–DFB rendszerek esetén a mért stabilitási állandók alapján feltételezhető, hogy a hidroxámsavcsoportok lépcsőzetes koordinációjával jönnek létre a mono-, bisz-, és triszhidroxamátok ([MAH₃]²⁺, [MAH₂]⁺, [MAH],) komplexek, majd a terminális aminocsoport deprotonálódásával az [MA][−] részecske.

A koprogénnel vizsgált négy fémion esetén kapott eredményeket összevetettük a DFB-re vonatkozó irodalmi adatokkal. A stabilitási állandók összehasonlításakor figyelembe kell venni, hogy a DFB-ben van egy negyedik deprotonálódni képes csoport, a terminális aminocsoport, mely nem koordinálódik a fémionokhoz és csak nagy pH-n deprotonálódik. A Fe(III) esetén látható, hogy nincs számottevő különbség a koprogén [MA] komplexére kapott állandó (ld. 12. táblázat) és a DFB triszhidroxamátó komplexének stabilitási állandója ($\lg \beta = 30,17^*$) között. A Cu(II) esetén megvizsgáltuk, hogy ugyanolyan koncentráció viszonyok mellett a Cu(II)–koprogén / ill. –DFB rendszerekre vonatkozó $\lambda_{\max}$ értékek hogyan változnak a pH függvényében. (Ld. 32. ábra) Az ábra alapján megállapítható, hogy a koprogén esetén már valamivel kisebb pH-n kialakul a négy hidroxamát-oxigénes koordináció. Figyelembe véve, hogy a két ligandum disszociációs állandói nem különböznek számottevően egymástól, mindez arra utal, hogy a koprogénnel kis mértékben stabilisabb komplexek képződnek, de a különbség nem számottevő.



32. ábra Cu(II)–koprogén (○) és Cu(II)–DFB (◆) rendszerekre vonatkozó $\lambda_{\max}$ értékek pH-függése ($c_{\text{Cu(II)}} = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:1,5)

Megállapíthatjuk, hogy ugyan a DFB-ben és a koprogénben a lánchossz közel azonos (10, ill. 11 kötés), de jelentős különbség van a két vizsgált trihidroxámsav összekötő láncának szerkezete között. Ennek ellenére, a fémkomplexeik stabilitása és összetétele között számottevő eltérés nincsen. Vajon mi lehet a szerepe az egyes szerkezeti egységeknek ezekben a természetes vegyületekben? A hidroxámsav-csoportokat összekötő szénlánc hosszának komplexképződésre gyakorolt hatását már számos szerző elemezte, ahogyan azt az Irodalmi áttekintésben leírtuk. Viszont nem tanulmányozták még azt, hogy DFB esetén a láncot merevítő

* $\lg \beta_{\text{MAH}-\text{pK}_4}$

peptidkötés helyzetének van-e kiemelt szerepe. Ezért vontunk be a vizsgálatainkba olyan modell dihidroxámsavat, melyben a hidroxámsavcsoportokat összekötő lánc hossza és szerkezete pontosan megfelel a DFB-ben lévővel, valamint olyat, melyben ehhez képest változik a peptidkötés helyzete, vagy az összekötő lánc hossza. A koprogénben lévő diketo-piperazin-gyűrű és a mindhárom funkciós csoport mellett megtalálható β -helyzetű kettős kötés hatását pedig a dimerumsav, mint modell dihidroxámsav segítségével tanulmányoztuk. A vizsgálatokat a Fe(III)- és Fe(II)-ionok esetén végeztük el.

4.4.2. Fe(III)- és Fe(II)-ionok kölcsönhatása dihidroxámsavakkal

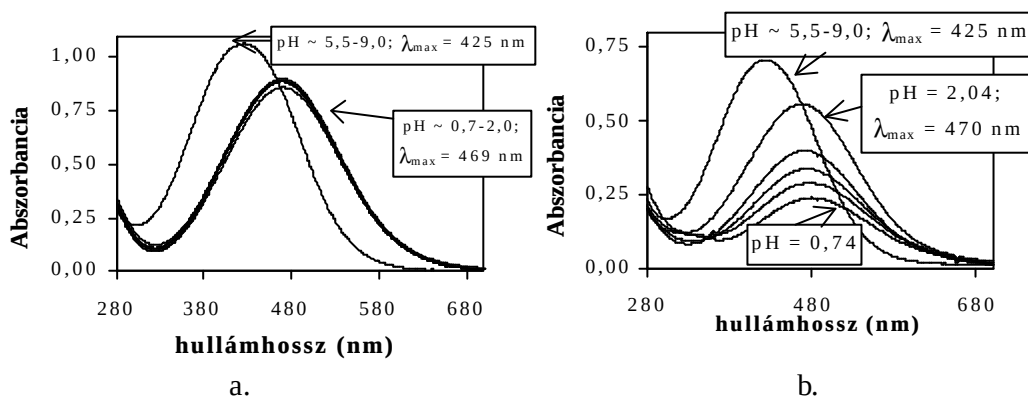
A modellként választott dihidroxámsavak (**2,5-DIHA**, **3,4-DIHA**, **3,3-DIHA**, **dimerumsav**) nem pusztán modellek a fémion–trihidroxámsav kölcsönhatások vizsgálatához, mert a természetben jónéhány dihidroxámsav is megtalálható, köztük pl. az általunk is tanulmányozott dimerumsav, melyek Fe(III)-ionnal bizonyítottan kölcsönhatásba lépnek.⁴ A dimerumsav a koprogén egy szegmensének felel meg, mindkét vegyületet a *Penicillium chrysogenum* gomba termeli, és ezzel a ligandummal korábban nem történtek még oldategyensúlyi vizsgálatok. A tanulmányozott 2,5-DIHA, 3,4-DIHA és 3,3-DIHA szintetikus ligandumok, a 2,5-DIHA-ban az összekötő lánc szerkezete és hossza teljesen megegyezik a DFB-ben lévővel. A 3,4-DIHA és 3,3-DIHA ligandumokban egyrészt a peptidcsoport helyzete a 2,5-DIHA-ban lévőétől eltérő, másrészt a 3,3-DIHA-ban egy metilcsoporttal rövidebb az összekötő lánc. (A ligandumok képletei a 2. ábrán láthatók.) A peptidkötés láncmerevítő és oldékonyságnövelő hatása az irodalomból már ismert,^{5,42} ezen ligandumok segítségével viszont megvizsgálható az a kérdés, hogy mi a szerepe annak, hogy a természetes DFB-ben kettős és öt metilcsoportot választ el a peptidkötés. Mind a négy dihidroxámsav komplexképzését tanulmányoztuk Fe(III)- és Fe(II)-ionokkal.

A három szintetikus dihidroxámsav esetén megvizsgáltuk erősen savas közegben a peptidkötés stabilitását. Amennyiben a peptidkötés hidrolizál, változás következik be a ligandum komplexképző sajátosságában is. A Fe(III)-bisztrihidroxamato-komplexek esetén a töltésátviteli sávok intenzitásának az időbeli változását követtük nyomon pH = 0,8-n. Megállapítottuk, hogy a mért jel intenzitása a 2,5-DIHA esetén 0,3%-kal, a 3,4-DIHA és 3,3-DIHA esetén 4,5%-kal

csökkent óránként. pH = 2 felett a mért spektrumok ugyanezen idő alatt nem változtak. Azért, hogy pH = 2 alatti méréseinknél is elkerüljük a peptidkötés hidrolízisét, a Fe(III) esetén a spektrumokat a minták összeállítása után azonnal felvettük.

4.4.2.1. Fe(III) – dihidroxámsav komplexek

A Fe(III) esetén a spektrofotometriás vizsgálataink azt mutatták, hogy 1 mol/dm³ erős sav oldatában (pH ~ 0) is már koordinálódni képes a dihidroxámsavak egy-egy hidroxámsavcsoportja ($\lambda_{\text{max}} \sim 510$ nm). Mivel a vizsgált dihidroxámsavakkal a Fe(III) kölcsönhatása már pH = 2 alatt is jelentős, ezért ebben a pH tartományban képződő komplexek stabilitási állandóit spektrofotometriásan határoztuk meg az előző fejezetben leírt módon, míg a pH = 2 felett képződő komplexre vonatkozó állandókat pH-potenciometriásan. Ugyanakkor spektrofotometriás vizsgálatokat a pH = 2 feletti tartományban is végeztünk.



33. ábra Fe(III)–2,5-DIHA (a) ($c_{\text{Fe(III)}} = 4,0 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³, M:A = 1:2) és Fe(III)–3,4-DIHA (b) rendszer ($c_{\text{Fe(III)}} = 2,5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³, M:A = 1:2) UV-látható spektrumai különböző pH-kon

A 33. ábra a Fe(III)–2,5-DIHA, ill. –3,4-DIHA rendszerek spektrumait mutatja. Ha összevetjük a pH < 2 tartományban a két ligandum viselkedését látható hogy a λ_{max} értékek (~ 470 nm) alapján ebben a pH-tartományban a koordinációs szférában két hidroxamátot tartalmazó komplexek képződnek. Ugyanakkor az abszorbancia a maximumot a 2,5-DIHA-nál már pH = 0,7-re eléri, vagyis teljes ennek a komplexnek a képződése már ezen a pH-n, míg a 3,4-DIHA esetén csak

pH = 2-re alakul ki 100%-ban ez a komplex. (A 3,3-DIHA esetén a spektrum a 3,4-DIHA-éhoz hasonló.) A spektrumok továbbá mutatják, hogy a bisz-hidroxamát-komplex kialakulását követően a pH = 5,5-9 tartományban a $\lambda_{\max}$ fokozatosan a trisz-hidroxamát-komplexekre jellemző ~ 425 nm-re tolódik.

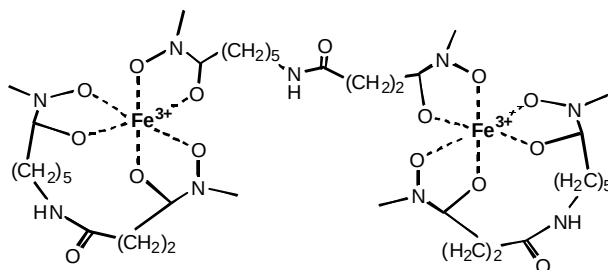
A spektrofotometriásan és pH-potenciometriásan meghatározott stabilitási állandókat a 13. táblázatban foglaltuk össze.

13. Táblázat Fe(II)–, ill. Fe(III)–dihidroxámsav rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói ($\lg \beta$) ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl))

		2,5-DIHA	3,4-DIHA	3,3-DIHA	dimerumsav
Fe(III)	$[\text{MA}]^{+a}$	21,05(4)	19,87(2)	19,84(3)	20,40(2)
	$[\text{M}_2\text{A}_3]$	61,01(6)	57,53(3)	58,99(5)	56,2(3)
Fe(II)	$[\text{MAH}]^{+}$	13,94(2)	13,91(6)	13,77(1)	14,62(8)
	$[\text{MA}]$	8,24(1)	7,40(2)	6,96(1)	7,4(1)
	$[\text{M}_2\text{A}_3]^{2-}$	–	22,23(8)	20,36(6)	–

^aSpektrofotometriásan meghatározott állandók.

A Fe(III) esetén a monohidroxamát-komplexek ($[\text{MAH}]^{2+}$) stabilitási állandóját nem tudtuk meghatározni a kísérleti körülményeink mellett. A pH = 2 alatt képződő két hidroxamátot tartalmazó $[\text{MA}]^{+}$ komplexre vonatkozó állandót spektro-fotometriásan, a trisz-hidroxamát $[\text{M}_2\text{A}_3]$ komplex stabilitási állandóját pedig pH-metriásan határoztuk meg. Ezen utóbbi kétmagvú komplexnek a szerkezete legvalószínűbben a dihidroxámsavaknál az irodalomban már többször leírt módon képzelhető el, vagyis két $[\text{MA}]^{+}$ egységet a harmadik ligandum hídként köt össze, úgy ahogy a 2,5-DIHA esetén a 34. ábra mutatja.



34. ábra Fe(III)–2,5-DIHA rendszerben képződő $[\text{M}_2\text{A}_3]$ komplex szerkezete

A 13. táblázatban szereplő stabilitási állandók összevetéséből láthatjuk, hogy a három szintetikus dihidroxámsav közül az $[MA]^+$ komplex stabilitása a 2,5-DIHA esetén a legnagyobb, vagyis ahhoz, hogy a két hidroxámsavcsoport ugyanahhoz a Fe(III)-ionhoz koordinálódjon, ebben a dihidroxámsavban a legideálisabb az összekötő lánc. A kétmagvú komplexek esetén is a bruttó állandók a 2,5-DIHA esetén nagyobbak, de az állandók közvetlen összevetése helyett a 21. egyensúlyi folyamatra számolt lépcsőzetes állandókat vizsgáltuk meg.

$$2 [MA]^+ + A^{2-} \rightleftharpoons [M_2A_3]; \quad K = \frac{[M_2A_3]}{[MA]^+{}^2 \cdot [A^{2-}]} \quad (21)$$

$$\lg K = \lg \beta_{[M_2A_3]} - 2 \lg \beta_{[MA]^+}$$

Az így kiszámolható állandók nem különböznek számottevően egymástól a három szintetikus dihidroxámsav esetén, vagyis abban az esetben ha a ligandum hídként viselkedik, már nincs hatása az összekötő lánc szerkezetének és hosszának.

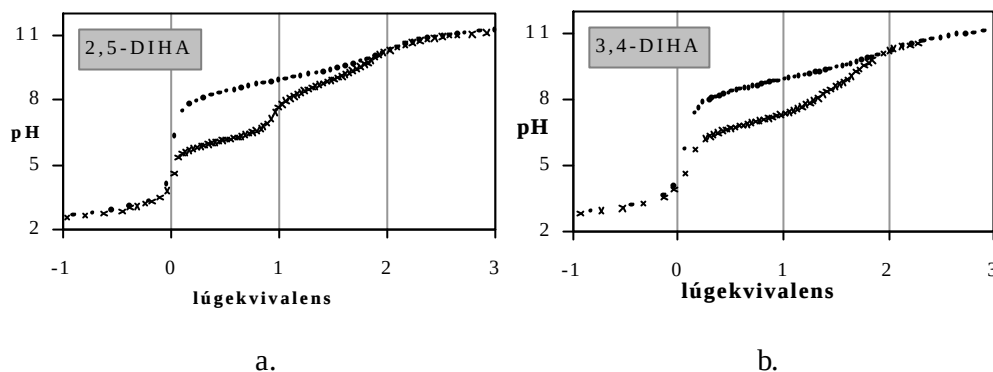
Molekulamechanikai számítások is azt mutatták, hogy a Fe(III) 2,5-DIHA-val képzett $[MA]^+$ komplexe kb. 21 kJ/mol energiával stabilisabb a 3,4-DIHA megfelelő komplexéhez képest. Emellett a szabad ligandumok esetén is kimutatható energiakülönbség is azt támasztotta alá, hogy a 2,5-DIHA-ban a funkciós csoportok térállása a legideálisabb ugyanazon fémionhoz való koordinációhoz.¹²¹

A 13. táblázat mutatja, hogy a dimerumsav esetén is a szintetikus dihidroxámsavakhoz hasonló összetételű komplexek képződtek a Fe(III)-ionnal. A kapott stabilitási állandók a 3,4-DIHA és 3,3-DIHA esetén kapottakhoz hasonlóak. A monohidroxámsav–Fe(III) rendszerek esetén a szubsztituenshatással kapcsolatban az irodalmi adatok azt mutatták, hogy ha a hidroxámsavcsoport mellett kettős kötés (ill. delokalizált aromás rendszer) van, akkor az megnöveli a hidroxamát-kelát stabilitását.⁴⁰ Így a dimerumsav esetén a három szintetikus dihidroxámsavhoz képest stabilisabb komplexek képződését várnánk, ám valószínűleg az összekötőláncban lévő diketo-piperazin-gyűrű szterikus gátlása miatt a kettős kötés stabilizáló hatása viszonylag háttérbe szorul.

4.4.2.2. Fe(II) – dihidroxámsav komplexek

Mivel a Fe(II) a Fe(III)-iontól jóval kisebb stabilitású komplexeket képez, a Fe(II) és dihidroxámsavak közötti komplexképződés a mérhető pH-tartományban játszódik le. A kísérleti eredmények reprezentatív példájaként a 35. ábra a szabad

ligandum és az 1:2 fém-ligandum arányú minták titrálási görbéit mutatja a 2,5-DIHA és a 3,4-DIHA esetén.

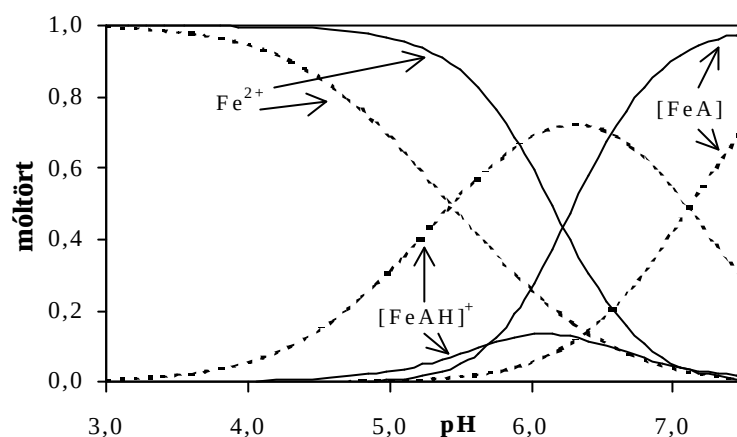


35. ábra 2,5-DIHA és Fe(II)–2,5-DIHA rendszer (a); 3,4-DIHA és Fe(II)–3,4-DIHA rendszer (b) pH-potenciometriás titrálási görbéi ($c_{\text{Fe(II)}} = 1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $M:A = 1:2$)
(A negatív lúgekvivalens savfelesleget jelöl.)

A 35. ábra alapján látható, hogy a komplexképződés kb. pH ~ 4,5-nél indul, ami megfelel a monohidroxámsavak esetén tapasztaltaknak. A 2,5-DIHA esetén csapadékkiválás nélkül pH 11,5-ig titrálhatók voltak a Fe(II)-iont tartalmazó minták. A 3,4-DIHA, 3,3-DIHA és dimerumsav esetén csapadék leválása miatt hagytuk abba a titrálást pH = 11 alatt.

A kísérleti adatok alapján meghatározott modelleket és stabilitási állandókat a 13. táblázat tartalmazza. A Fe(II)-ionnal – ahogyan az a táblázatból kiderül – $[\text{MAH}]^+$, $[\text{MA}]$ és $[\text{M}_2\text{A}_3]$ részecskék képződését tudtuk leírni. A komplexek stabilitási állandói nagyságrendileg jól megfelelnek a korábban egyéb dihidroxámsavakkal kapott állandóinknak.¹⁴⁴ A képződő komplexek közül az $[\text{MAH}]^+$ komplexekre vonatkozó stabilitási állandók a három szintetikus dihidroxámsav esetén közel azonosak, értékük kb. 9 lg egységgel nagyobb egy monohidroxámsav $[\text{MA}]$ komplexének stabilitási állandójától. Az $[\text{MAH}]^+$ komplexekben tehát a ligandum monohidroxámsavszerűen koordinálódik, a másik donorcsoport protonálva van. A dimerumsav esetén viszont a komplex nagyobb stabilitású, valószínűleg a β -ketokötés elektronküldő hatásának köszönhetően. A Fe(II)–bisz-hidroxamato-komplexek ($[\text{MA}]$) stabilitási sorrendje a Fe(III)-ionnál megfigyelt tendenciának felel meg, vagyis a legstabilisabb komplexet a 2,5-DIHA képezi, míg a többi számottevően nem különbözik egymástól. A dimerumsav esetén a kettős kötés $[\text{MAH}]^+$ komplexben megfigyelt stabilizáló hatását

valószínűleg a heterociklusos gyűrű térigénye csökkentette, úgy ahogy a koprogén és DFB összevetésénél is az már látszott. A Fe(II)–2,5-DIHA/ill. dimerumsav rendszerek koncentrációeloszlási görbéit egy ábrán bemutatva (36. ábra) jól látszik, hogy míg az $[\text{MAH}]^+$ komplexek mennyisége a dimerumsav esetén jóval nagyobb, addig a 2,5-DIHA esetén képződő $[\text{MA}]$ komplex már kisebb pH-n képződik.



36. ábra Fe(II)–2,5-DIHA (folytonos vonal) és Fe(II)–dimerumsav (szaggatott) rendszer koncentrációeloszlási görbéi pH = 3,0–7,5 tartományban
($c_{\text{Fe(II)}} = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 3:4)

A 3,3-DIHA és 3,4-DIHA esetén pH = 8 felett kétmagvú triszhidroxamátokomplexek képződését is le tudtuk írni, míg a másik két vizsgált dihidroxámsav esetén nem. A dimerumsavnál az $[\text{M}_2\text{A}_3]$ komplex képződési pH-tartományában hidrolitikus folyamatok akadályozták a mérést. A 2,5-DIHA esetén viszont feltételezésünk szerint az $[\text{MA}]$ komplex geometriája eltérő a 3,4-DIHA és 3,3-DIHA esetében szabályos oktaéderesnek valószínűsítettől. Elképzelhető, hogy a komplex tetraéderesen torzult, és emiatt nem tud a harmadik hidroxamát koordinálódni hozzá. Spektrofotometriás méréseink nem vezettek eredményre, mivel a tetraéderes és oktaéderes Fe(II)-komplexek elektron abszorpciós spektrumában nincs jelentős különbség,¹¹⁷ a kérdés megválaszolása további vizsgálatokat igényel még.

Összehasonlítva a Fe(II) és a Fe(III) dihidroxámsavakkal képzett megfelelő komplexeinek stabilitási állandóit megállapítható, hogy azok a Fe(II) esetén több nagyságrenddel kisebbek. Pl. az $[\text{MA}]$ komplexek stabilitási állandók közötti különbség kb. 12 lg egységnyi, azaz hidroxamátó-kelátonként kb. 6 lg egységgel

kisebb stabilitásúak a Fe(II)-komplexek, és ez az érték a monohidroxámsavaknál megfigyelt különbségnek felel meg. (Ld. 4.3.1. Fejezet.)

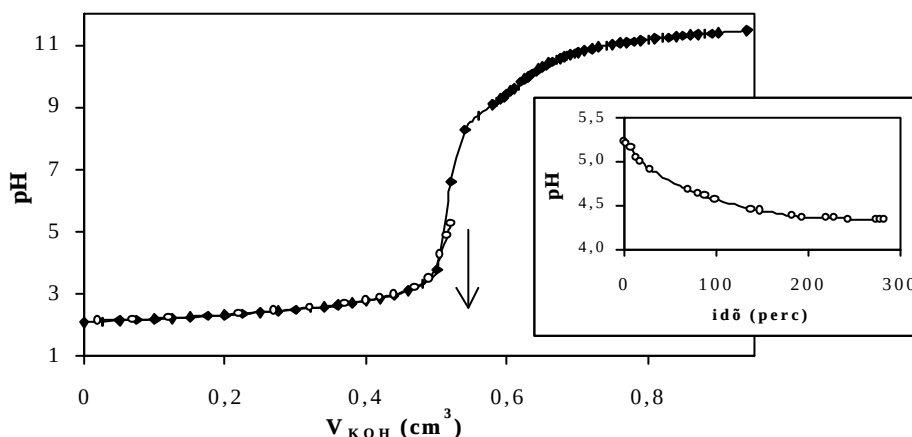
Munkánkkal párhuzamosan Tanszéken tanulmányozták a Cu(II), Ni(II), Zn(II), ill. magasabb oxidációs számú fémionok (V(V), Mo(VI)) kölcsönhatását is az eddig tárgyalt dihidroxámsavakkal.^{121, 144,145} Azt találták, hogy a 2,5-DIHA a többi dihidroxámsavhoz képest nagyobb stabilitású biszhidroxamátó-komplexekeket képez, és a dimerumsav monohidroxamátó-komplexeinek stabilitása nagyobb a többi ligandumhoz képest, összhangban az általunk vizsgált vasionok esetén tapasztaltakkal.

Összegezve a kapott eredményeket elmondhatjuk, hogy a vizsgált ligandumoknál igen fontos szerepe van a peptidkötés helyzetének a hidroxámsavcsoportokat összekötő szénláncban. A kelátképző csoportok koordinációhoz való legkedvezőbb elhelyezkedése a természetes DFB-ben is megtalálható $-(CH_2)_2-CONH-(CH_2)_5-$ típusú összekötőlánc esetén valósul meg. A dimerumsavban (ill. a koprogénben) a viszonylag nagyobb helyigényű diketo-piperazin-gyűrűnek valószínűleg szterikus okok miatt stabilitáscsökkentő hatása van, ugyanakkor a hidroxamátó-kelátok stabilitását megnöveli a β -helyzetű kettős kötés. A két hatás együttesen befolyásolja a komplexek stabilitását a képződő komplexek protonáltsági fokától függően.

4.4.3. Fe(II) kölcsönhatása trihidroxámsavakkal

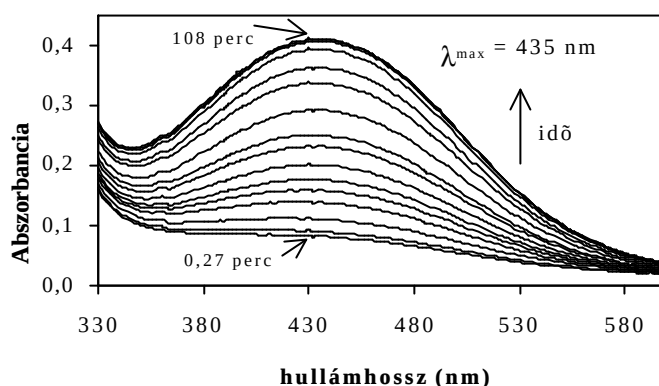
Ahogy a Bevezetésben említettük, a mikroorganizmusok a sejtbe bekerült Fe(III)-sziderofór komplexből a biológiai folyamatokhoz szükséges vashoz elsősorban a vas redukciója révén jutnak a hidroxamát típusú sziderofórok esetén. Előző eredményeink azt mutatták, hogy a hidroxámsavak a Fe(II)-ionnal lényegesen kisebb stabilitású komplexeket képeznek a Fe(III)-ionhoz képest. A redukcióval képződő Fe(II)-sziderofór komplex is valószínűleg kisebb stabilitású, és emiatt egy másik ligandum már képes kiszorítani a trihidroxamátot a komplexből.⁴ A Fe(II)-sziderofór kölcsönhatásokra vonatkozólag sem történtek azonban korábban oldategyensúlyi vizsgálatok. Ezért tanulmányoztuk részletesen a DFB kölcsönhatását ezzel az oxidációra igen hajlamos fémionnal. A koprogén esetén a rendelkezésünkre álló kis mennyisége miatt csak néhány mérés készült el. A kölcsönhatásokat szigorúan oxigénmentes körülmények között pH-potenciometriás, pH-stat és spektrofotometriás módszerrel vizsgáltuk.

A 37. ábra a DFB, és a DFB mellett Fe(II)-iont is tartalmazó minták titrálási görbéit mutatja. A Fe(II) és DFB között kb. pH = 4-ig nincs kölcsönhatás, a két görbe együtt fut. Az eddig vizsgált hidroxámsavak esetén is a komplexképződés ezen pH felett indult el a Fe(II)-ionnal. A DFB esetén viszont az egyensúly nem állt be pH = 4 felett, és egy lassú protontermelő folyamat indult el. A 37. ábra azt is mutatja, hogy ha a pH lecsökkent a komplexképzés pH-tartománya alá, akkor a pH stabilizálódott, a folyamat megállt.



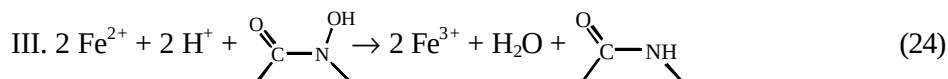
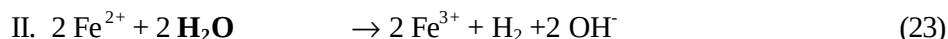
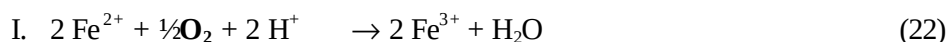
37. ábra DFB (♦) és Fe(II)–DFB (◻) rendszerek pH-potenciometriás titrálási görbéi ($C_{\text{DFB}} = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $M:A = 1:2$) és a pH időbeli változása (beszúrt ábra)

Miközben csökkent a pH, a minta a Fe(III)-triszhidroxamátó-komplexekre jellemző színűvé változott, ami azt jelenti, hogy a Fe(II) oxidálódhatott. A koprogén esetében is ugyanezt a jelenséget észleltük. Független, szigorúan anaerob körülmények között végzett spektrofotometriás vizsgálatok azt mutatták, hogy Fe(II)–DFB ill. –koprogén rendszerekben a vas oxidációja valóban megtörténik. A 38. ábra a koprogén esetén mutatja, hogy az idő előrehaladtával fokozatosan kifejlődik a Fe(III)-triszhidroxamátó-komplexekre jellemző töltésátviteli sáv.



38. ábra Fe(II)–koprogén rendszer UV-látható spektrumai az idő függvényében ($c_{\text{Fe(II)}} = 1,3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:5, pH = 6,0 (MES))

Felmerül a kérdés, hogy mi oxidálja a Fe(II)-iont. A lehetséges redoxifolyamatokat az alábbiakban foglaltuk össze:



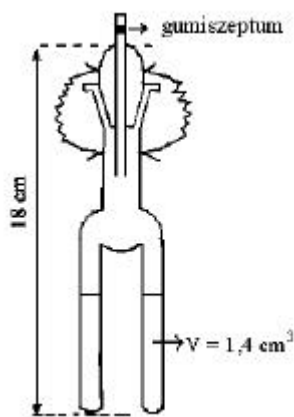
Az összes lehetséges úton a reakció protonfogyasztó, viszont a képződő Fe(III) a jelenlévő nem redukálódott trihidroxámsavval azonnal komplexet képezhet, melynek révén a folyamat összességében protontermelővé válik.

I. Oxidálhat tehát a mintákba bekerülő *oxigén*, de lúgos pirogallol oldatokat használva ellenőriztük a rendszer zártságát, és azt találtuk, hogy nem kerül be

oxigén a mintákba az elvégzett műveletek során. Vagyis a Fe(II) oxidációjáért nem lehet felelős a légköri oxigén.

II. Elvben lehetséges a *víz általi oxidáció* is. Ez esetben figyelembe kell venni, hogy mind a H^+/H_2 , mind a Fe(III)-trihidroxamát/Fe(II)-trihidroxamát rendszer redoxipotenciálja pH-függő.^{4,115,118} Az irodalmi adatok azt mutatták, hogy gyengén savas, semleges pH-kon lejátszódhat a víz általi oxidáció is, mert pl. pH = 6-n a H^+/H_2 redoxirendszer elektródpotenciája $-0,4\text{ V}$,¹¹⁵ a Fe(III)–DFB/Fe(II)–DFB rendszeré $-0,48\text{ V}$.¹¹⁸

Amennyiben a Fe(II) redukálja a vizet, a folyamat során H_2 gáznak kellene képződnie. Ezért részletes *gázkromatográfias vizsgálatokat* végeztünk a kérdés eldöntésére. A vizsgálathoz készítettünk egy a 39. ábrán látható edényt, mely gumiszeptummal tökéletesen lezárható. Ezt a reakcióedényt egy argonnal megtöltött nagyobb, zárható edénybe helyeztük.



39. ábra Anaerob vizsgálatokhoz használt üvegedény rajza

A pH-metriás vizsgálatok azt mutatták, hogy csak egy adott pH felett játszódik le a redoxireakció a Fe(II) és DFB között, azért hogy az összességében protontermelő folyamat miatt a pH ne csökkenjen le a komplexképződés induló pH-ja alá, a mintákat pufferteltük. A puffereléshez 2-morfin-etán-szulfonsavat (MES) használtunk, melynek pK értéke 6,06.¹⁴⁶ (Független mérésekkel igazoltuk, hogy nem játszódik le reakció sem a MES és DFB között, sem

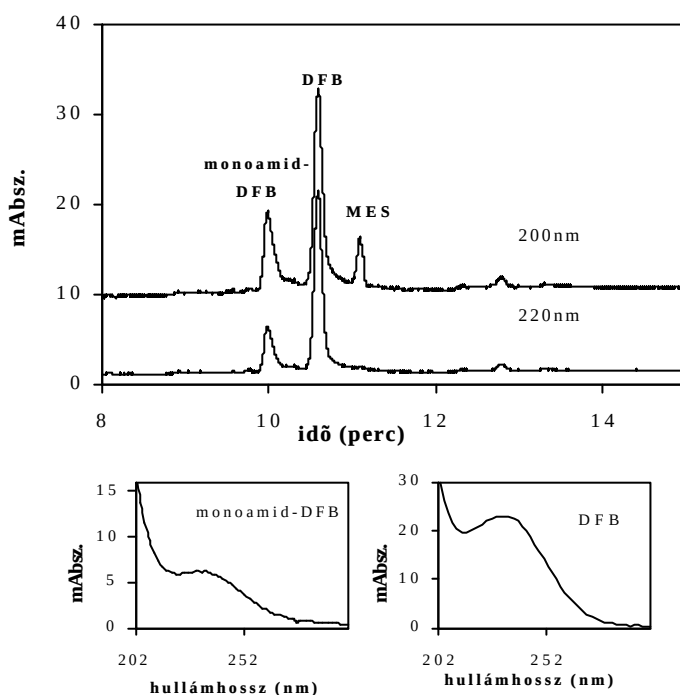
a MES és Fe(II) között.) A reakcióedényt tandemküvetához hasonlóan használtuk. Az egyik ágába helyeztük a savas DFB oldatot, a másikba pedig a MES kellően tömény oldatát. (A puffertelt pH = 6,06 volt.) A két térrész kb. 10-10 percig történő kiargonozása után az edényt lezártuk, majd a szeptumon keresztül juttattuk a DFB oldathoz a $FeCl_2$ oldat megfelelő mennyiségét. A reakció az oldatok gyors összerázása után indult el, majd az edényt az Ar gázzal teli edénybe tettük. Több párhuzamos mérés is azt mutatta, hogy egy nap eltelte után sem lehet hidrogén gázt detektálni az oldat feletti légtérből vett gázmintákban. Ugyanakkor vakpróbát is végeztünk a fentiekhez hasonló körülmények között, a reakció folyamán maximálisan várható H_2 gáz mennyiségének kb. a felét injektáltuk a csak MES

oldatot tartalmazó mintatérbe. A bejuttatott H_2 gázt még több nap eltelte után is gázkromatográfiás mérésekkel nagy biztonsággal ki lehetett mutatni. Mivel a vizsgálatok azt mutatták, hogy H_2 gáz nem termelődik a Fe(II) és DFB között lejátszódó reakció során, ezért a víz általi oxidációt is kizártuk.

III. Az első két lehetséges reakcióút kizárása miatt a *ligandum általi oxidáció* a legvalószínűbb. Az irodalomból ismert, hogy hidroxámsavak anaerob körülmények között képesek oxidálni bizonyos fémionokat, mint pl. Mo(V), V(III), U(IV), miközben a ligandum hidroxámsavcsoportja amiddá redukálódik, amit 1H NMR mérésekkel bizonyítottak is.^{74,75}

Az általunk tanulmányozott rendszerek esetén a DFB egy hidroxámsavcsoportjának redukciójával kapott termék és a DFB szerkezete igen hasonló. A Fe(II) oxidációjával képződő Fe(III) nagy stabilitású komplexet képezhet a nem redukálódott DFB-vel. Ennek eredményeképpen a redukált termék mellett biztosan marad át nem alakult trihidroxámsav is a mintában. Emellett a Fe(III)-ionok jelenléte is megnehezíti a redukált termék (amid) kimutatását. Ezért először is a 39. ábrán látható reakcióedény segítségével oxigénmentes körülmények között a H_2 kimutatására irányuló vizsgálatainknál leírt módon a Fe(II) és DFB közötti reakciót hagytuk közel teljesen lejátszódni. Egy nap várakozás után a kapott keveréket vastalanítottuk, a koprogén tisztításánál leírt oxinos módszerrel,¹²⁶ majd ezt a keveréket vizsgáltuk, ami elméletileg tartalmazta a redukálódott DFB-t, az át nem alakult DFB-t és a puffereleshez használt MES-t. 1H NMR méréseket nem végeztünk, mert nem találtunk alkalmas deuterált oldószert, D_2O -ban pedig nincs különbség a redukált és az eredeti DFB spektruma között. Amennyi hidroxámsavcsoportja redukálódik a DFB-nek, a keletkező termék móltömege annyszor 16 g/mól-lal kisebb. (Ld. 24. egyenlet.) Ezért MALDI-tömegspektrometriás módszerrel is vizsgáltuk a DFB-t, ill. a kapott vastalanított mintát. Viszont a méréshez használt mátrix vizsgálati anyaggal együtt repülő kationjainak (Na^+ , K^+) a móltömege között is pont 16 g/mól a tömegkülönbség, ami miatt nem vezettek eredményre ezek a mérések sem. A DFB redukált, ill. eredeti formája között nemcsak tömegkülönbség van, hanem a töltésükben is különbözniük kell némileg, hiszen legalább egy hidroxámsavcsoporttal kevesebb van a redukált formában, ami miatt a nem redukálódott csoportok pK értéke is megváltozhat. Ezért *kapilláris elektroforézis* vizsgálatokat is végeztünk, melyek azt mutatták, hogy a különbség van a tiszta DFB és a vastalanított termék elektroferogramja között. A puffereleshez használt

MES-en, és a DFB-n kívül jelen van a keverékben egy olyan anyag, melynek a töltés/tömeg viszonya különbözik a DFB-től, de az UV spektruma igen hasonló hozzá. A keverék elektroferogramját a DFB és az ismeretlen anyag spektrumaival együtt a 40. ábra mutatja. Az ismeretlen anyag feltehetően a DFB redukált formája. Amennyiben sikerülne elválasztani a redukált terméket a DFB-től, pH-potenciometriás módszerrel a protondiszociációs folyamatok elemzésével bizonyítani lehetne a hidroxamát→amid átalakulást.



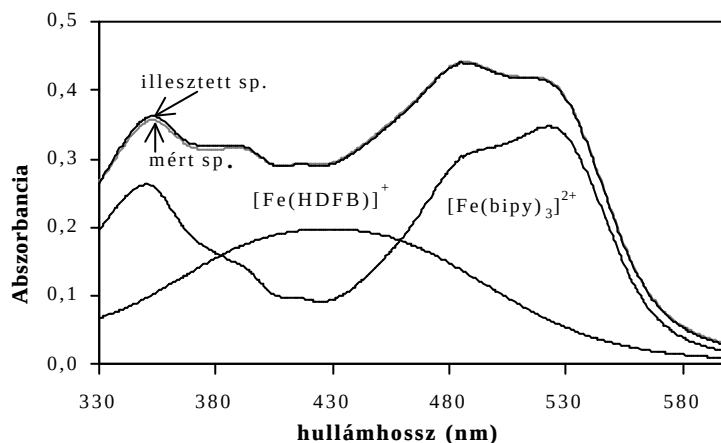
40. ábra A vizsgált keverék elektroferogramja és a DFB és ismeretlen anyag (feltehetően monoamid-DFB) UV-spektrumával együtt

Vizsgálataink célja a képződő amid kimutatása mellett a Fe(II) és a trihidroxámsavak között lejátszódó reakció sztöchiometriájának és kinetikájának a felderítése. A vizsgálatokat általában MES segítségével pH = 6-on végeztük, de a kinetikai mérések MES és HEPES (2-[4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazinil]-etánszulfonsav, pK = 7,50) pufferek segítségével a pH = 5,5–8,0 tartományban történtek. Ebben a pH-tartományban a szabad ligandum teljesen protonált, az

oxidáció révén képződő Fe(III)-ionnal a nem redukálódott DFB $[\text{MAH}]^+$ összetételű triszhidroxamato-komplexet alkot.

pH-stat mérésekkel Fe(II)-iont és DFB-t tartalmazó minták esetén különböző arányok és analitikai koncentrációk mellett mértük a pH állandósulásáig eltelt időt, és az addig fogyott KOH mennyiségét. A mérések során a pH-t $5,5 \pm 0,1$ állandó értéken tartottuk. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a lúg fogyása függ a fém-ligandum aránytól, és a Fe(II) analitikai koncentrációjától. Jó közelítéssel egy mól Fe(II)-ionra két mól lúg fogyott, ha a másfélszeres ligandumfelesleget biztosítottuk. Lúgos pirogallol oldatokkal végzett ellenőrző vizsgálatok azt mutatták, hogy a nagy mennyiségű mintába jutatott lúgoldat nyomnyi oxigént tartalmazott, ami zavarta a kvantitatív kiértékelést.

A Fe(II)-ion és a DFB között lejátszódó reakció pontos sztöchiometriáját spektrofotometriás úton határoztuk meg. A vizsgálatokhoz a 39. ábrán látható üvegeszközt használtuk, a minta összeállítása ugyanúgy történt, ahogyan a $\text{H}_{2(g)}$ fejlődésének ellenőrzésekor. MES-sel puffertelt különböző fém-ligandum arányú párhuzamos mintákkal meghatároztuk a reakció teljesen lejátszódásához szükséges időt úgy, hogy a mintákhoz eltérő időpontokban feleslegben bipy oldatot adtunk, mellyel a reakciót "befagyasztottuk", majd azonnal felvettük a minták spektrumát 330–600 nm tartományban. Egy ilyen spektrumot mutat a 41. ábra.



41. ábra Fe(II)–DFB rendszer UV-látható spektruma (szürke vonal), az illesztett görbe (fekete vonal) és komponensei ($[\text{Fe}(\text{HDFB})]^+$, $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$)
($c_{\text{DFB}} = 6,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:1,5)

Ha egymást követő két különböző időpontban befagyasztott minta spektruma egyforma volt, akkor a reakció teljesen lejátszódott. A kapott spektrum minden

esetbenösszagspektrum volt, hiszen a mintában a $[\text{Fe(III)(HDFB)}]^+$ komplex és a $[\text{Fe(II)(bipy)}_3]^{2+}$ komplex együtt volt jelen. Mind a két részecskéhez karakterisztikus töltésátviteli sávok tartoznak. A komplexekre 330–600 nm tartományban minden mért hullámhosszon meghatároztuk a moláris abszorbancia értékeket, melyek alapján a mért összagspektrum komponenseire bontható a 25. egyenletrendszer segítségével:

$$A_i = \epsilon_{[\text{Fe(HDFB)}]^+}^i \cdot C_{\text{Fe(III)}} + \epsilon_{[\text{Fe(bipy)}_3]^{2+}}^i \cdot C_{\text{Fe(II)}} \quad (25)$$

A_i = az adott i hullámhosszon mért abszorbancia

ϵ^i = az adott i hullámhosszon az egyes komponens moláris abszorbanciája

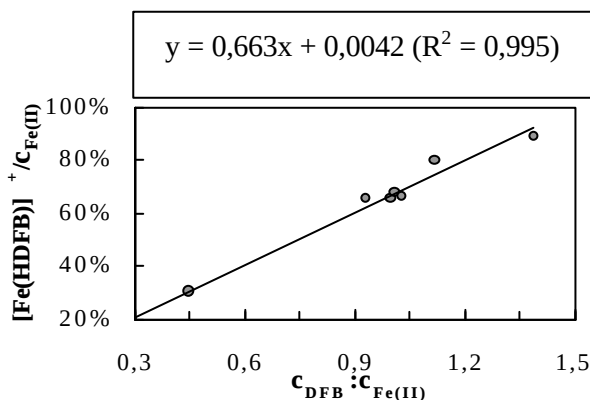
$C_{\text{Fe(III)}}$ = a képződött Fe(III) illesztett koncentrációja

$C_{\text{Fe(II)}}$ = a nem oxidálódott Fe(II) illesztett koncentrációja

$C_{\text{Fe(III)}} + C_{\text{Fe(II)}}$ = a vas analitikai koncentrációja

Az egyes komplexekre számolt spektrumok, ill. az azok összegeként kapott illesztett spektrum is a 41. ábrán látható. A Fe(II) analitikai koncentrációja segítségével a reakció lejátszódása után megadható a $(C_{\text{Fe(III)}}/C_{\text{Fe(III)}}+C_{\text{Fe(II)}})$ hányados, vagyis az átalakulás aránya. (Külön vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy nagy mennyiségű DFB képes a $[\text{Fe(II)(bipy)}_3]^{2+}$ komplexből, ill. nagy mennyiségű bipy a $[\text{Fe(III)(HDFB)}]^+$ komplexből a vasat megkötni, de ez a folyamat igen lassú, 1 óra alatt is maximum néhány %-os a ligandumcsere.)

Különböző fém-ligandum arányoknál így meg tudtuk adni a százalékos átalakulási fokot, melyet a 42. ábra mutat.

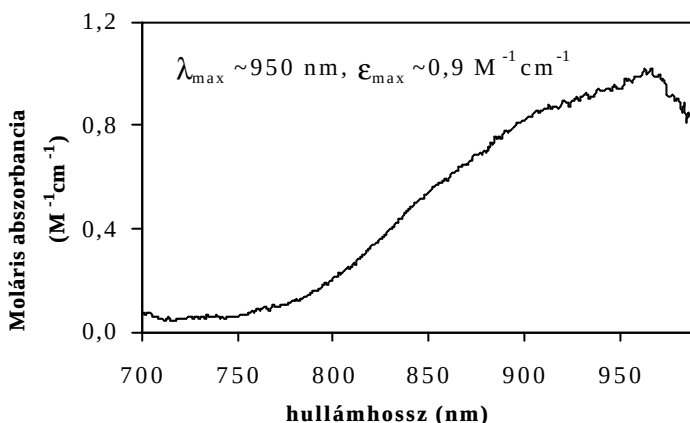


42. ábra $[\text{Fe(HDFB)}]^+$ komplex képződésének százalékos aránya a DFB és Fe(II) kiindulási koncentrációjának hányadosa függvényében

Az illesztett egyenes meredeksége 0,663, ami megfelel a 2:3 fém-ligandum aránynak, vagyis az oxidáció ilyen aránynál teljes. Mindezek alapján a Fe(II) és DFB között a 26. egyenlet írható fel:



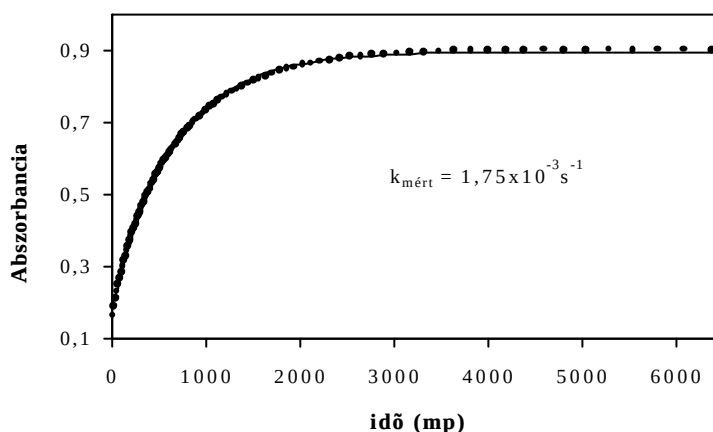
A 26. egyenlet csak a bruttó folyamatot adja, nem nyújt információt a kinetikára vonatkozólag. A kinetikai vizsgálatok elvégzése előtt a Fe(II) és DFB közötti reakció kiindulási pH-ja már erősen sugallta, hogy a kölcsönhatás során képződik Fe(II)-komplex, mert az eddigi vizsgálataink azt mutatták, hogy ebben a pH-tartományban indul a Fe(II) hidroxámsavakkal való komplexképződése is. Miután a Fe(II)–hidroxamát kölcsönhatást jellemző abszorpciós spektrumot ismerjük (ld. 16. ábra), felvettük a Fe(II)-DFB rendszer spektrumát, az IR közeli hullámhossz tartományban szeptummal lezárt tandemküvetében, melyet a 43. ábra mutat.



43. ábra Fe(II)–DFB rendszer látható spektruma (M:A = 1:1,5)

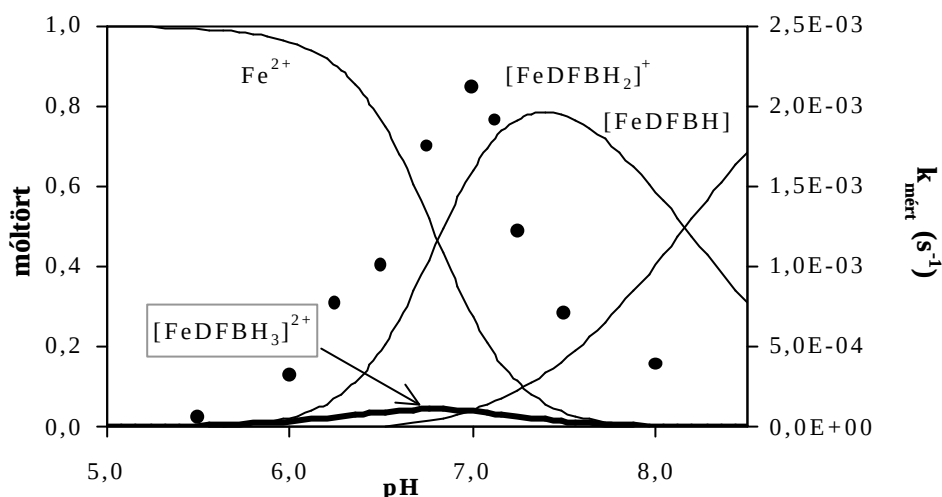
A tandemküvetta egyik ágába került a savas DFB oldat, a másik ágába pedig a MES oldat. A Fe(II)-oldatot a minta kiargonozása után a szeptumon keresztül a DFB oldathoz injektáltuk. A reakció a küvetta tartalmának összerázása után indult. A 43. ábrán bemutatott spektrumot az összerázás után azonnal rögzítettük. A mért λ_{max} és ϵ_{max} értéke megfelel a Fe(II)-monohidroxamátó komplexre vonatkozóknak (~950 nm, 0,9 M⁻¹cm⁻¹), ám mivel nem túlságosan jól definiált ez a sáv, a továbbiakban nem ennek a sávnak a változását detektáltuk a reakció során.

Az oxidációs folyamatban képződő $[\text{Fe(III)(HDFB)}]^+$ komplexre jellemző λ_{max} értéken (429 nm) tudtuk jól nyomon követni a reakció előrehaladását. Vizsgáltuk, hogy a reakció sebessége hogyan függ a pH-tól és a koncentrációarányoktól. Abban az esetben, ha nagy fémfölösleget alkalmaztunk, akkor valószínűleg a Fe(II)-ion hidrolízise zavarta a mérést, így inkább ligandumfelesleg mellett dolgoztunk. Pszeudoelsőrend biztosítása végett legalább 1:10 fém-ligandum arányú mintákat használtunk a kinetikai vizsgálatokhoz, miközben a Fe(II)-koncentráció állandó volt. A Fe(III)-komplex nagy moláris abszorbanciája miatt viszonylag kis vas analitikai koncentrációk mellett kellett dolgoznunk. ($c_{\text{Fe(II)}} \sim 3 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$) Egy tipikus, többszörös ligandum felesleg mellett felvett kinetikai görbét mutat a 44. ábra MES-sel pufferelt pH = 6,75-n.



44. ábra Fe(II)–DFB rendszer kinetikai görbéje (429 nm-en mért abszorbancia az idő függvényében.) () az illesztett görbével együtt (folytonos vonal)
pH = 6,75-n ($c_{\text{Fe(II)}} = 3,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, M:A = 1:10)

A ligandum koncentrációjának növelésével a mért reakciósebességi állandó értéke pH = 6-n nőtt, de még ezek a mérések nem fejeződtek be teljesen, a kapott adatok alapján nem lehetett egyértelmű reakciórendet meghatározni. Fontos eredményünk viszont a kinetikai vizsgálatokkal kapcsolatban az a mérésorozat, amikor MES, ill. HEPES pufferek segítségével 1:10 fém-ligandum arány mellett különböző pH-kon határoztuk meg a reakció sebességét $c_{\text{Fe(II)}} \sim 3,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ koncentráció mellett. A mért sebességi állandók pH-függését a 45. ábra mutatja.



45. ábra Fe(II)- DFB rendszerben lejátszódó redoxireakció sebességének pH függése () a rendszer feltételezett koncentrációeloszlási görbéjével együtt
($c_{\text{Fe(II)}} = 3,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, Fe(II) : DFB = 1:10)

Látható, hogy a reakció csak egy adott pH-tartományban játszódik le, és fiziológias pH-n a leggyorsabb. A Fe(II)–DFB rendszerben a redoxireakció miatt nem lehetett stabilitási állandókat meghatározni, viszont ismertek a $3d^{5-10} + 2$ töltésű fémionok DFB-vel képzett komplexeire vonatkozó stabilitási állandók (ld. 13. táblázat). Mivel a Fe(II)-ion esetén meghatározott állandók az eddig vizsgált ligandumok körében jól beilleszkedtek az említett fémionokra vonatkozó állandók sorába, így a DFB esetén a Fe(II)-ionnal képződő komplexek stabilitási állandóit az Irving-Williams-féle tendencia alapján akár meg is jósolhatjuk. Az így kapott állandók segítségével a kinetikai méréseknek megfelelő koncentrációviszonyok mellett koncentrációeloszlási görbéket szerkeszthetünk, melyeket szintén a 45. ábrán tüntettük fel. Látható, hogy a mért sebességi állandó változása a $[\text{Fe(II)(DFBH}_3\text{)}]^{2+}$ komplex koncentrációjával korrelál. Ez alapján feltételezhetjük, hogy a redoxifolyamat során ez a komplex lehet az aktív részecske.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkámban biológiailag aktív hidroxámsavak vizes oldatbeli kölcsönhatását tanulmányoztuk elsősorban a $3d^{5-10} + 2$ töltésű fémionokkal, ill. néhány esetben a Fe(III)-iont is bevontuk a vizsgálatokba.

A munka során 50 törzsrendszert és 22 vegyes ligandumú rendszert tanulmányoztunk. Vizsgálati módszerünk elsősorban pH-potenciometria volt, ami mellett UV-látható spektrofotometriás, ESR, kalorimetriás, gázkromatográfiás, kapilláris elektroforézis méréseket is végeztünk a képződő komplexekben megvalósuló kötésmódok és a lejátszódó kémiai reakciók feltárása érdekében. Az oldategyensúlyi vizsgálatok elsődleges célja a képződő komplexek összetételének és stabilitási állandóinak a meghatározása volt.

A munka legfontosabb eredményeit az alábbi pontokban foglaltuk össze:

- Mindenek előtt a ligandumok protondiszociációs állandóit határoztuk meg. Az újonnan vizsgált természetes koprogén, dimerumsav és a szintetikus 2,5-DIHA, 3,4-DIHA és 3,3-DIHA ligandumok pK értékei megfelelnek az analóg vegyületekre vonatkozóknak. Továbbá egy adott di-, ill. trihidroxámsav pK értékei közötti különbségek azt mutatták, hogy kismértékű kölcsönhatás fellép a hidroxámsavcsoportok között, ami a donorcsoportok távolsága alapján valószínűleg nem a láncon keresztül valósul meg.
- A kétértékű fémionok esetén a hidroxámsavcsoporthoz kapcsolódó szubsztituensek stabilitásra gyakorolt hatása a nagyobb stabilitású komplexeket képező Fe(III) esetén tapasztaltaktól jóval kisebb, a komplexek stabilitási állandói követik a ligandumok bázicitásának megfelelő sorrendet a heterociklusos PYRha kivételével, mely a protonkomplexhez képest stabilisabb fémkomplexeket képez, valószínűleg a π -elektronok révén kedvezőbb elektroneloszlás alakul ki a kelátban.
- Megállapítottuk, hogy a Cu(II) – Pha rendszerben $pH = 11$ felett a bisz-komplexben koordinált hidroxamát deprotonálódásával nagyobb stabilitású hidroximáto-kelát jön létre. Spektrofotometriás és ESR mérésekkel kimutattuk, hogy a Cu(II)-komplexben kötött primer monohidroxamátok NH-csoportjának deprotonálódása en és bipy jelenlétében vegyes ligandumú komplexekben is megtörténik.
- Monohidroxámsavak vegyes ligandumú komplexeinek tanulmányozása során megállapítottuk, hogy a fémionokhoz a különböző kémiai minőségű donoratomok koordinációja kedvező.
- A Cu(II) – dien /ill. terpy – monohidroxámsav rendszerekben képződő vegyes ligandumú [MAB] komplexekben az ESR és spektrofotometriás mérések szerint a Cu(II) ötös koordinációjú, vagyis az axiális kötőhelyen is koordinálódik egy

donoratom. Ebből a komplexből azonban $\text{pH} = 9$ felett a OH^- fokozatosan kiszorítja a monohidroxamátot. Érdekes eredmény, hogy a $\text{Cu(II)}\text{--Aha}\text{--terpy}$ rendszerben $\text{pH} = 11$ felett a hidroxámsav visszakerül a koordinációs szférába úgy, hogy a terpy-t kiszorítva bisz-hidroximáto-komplexet képez.

- Megállapítottuk, hogy a Fe(II) , Co(II) és Mn(II) esetén nem, vagy csak alig játszik szerepet a koordinációban a hidroxámsavak oldalláncában lévő aminocsoport, a vizsgált amino-, ill. diaminohidroxámsavak a hidroxamát-O-eken keresztül koordinálnak a fémionhoz. Egyértelműen kimutattuk viszont, hogy a nitrogén donoratomokat is kedvelő Ni(II) ill. Cu(II) esetén potenciális donorcsoportként viselkedik a diaminohidroxámsavak β - és γ -helyzetben lévő aminocsoportja, olyannyira, hogy pl. a Dampha szélesebb pH -tartományban jobb komplexképzője ezeknek az ionoknak, mint a Fe(III) -ionnak.
- Sikertelenül reprodukálhatóan anaerob körülmények mellett tanulmányoznunk Fe(II) –hidroxámsav rendszereket. Ezen rendszerekben képződő komplexek stabilitási állandói jól beillenek a többi $3d^{5-10} + 2$ töltésű fémionokkal képzett komplexek állandóinak sorába az Irving-Williams féle tendenciának megfelelően. A Fe(II) –mono-, ill. –dihidroxámsav-komplexek stabilitási állandói hidroxamátokelátonként kb. 6 lg egységgel kisebbek a Fe(III) komplexeihez viszonyítva.
- A természetes dimerumsav Fe(II) -, Fe(III) -ionokkal és a koprogén Fe(III) -ionnal való komplexképzésének vizsgálata során megállapítottuk, hogy a β -helyzetű kettős kötés stabilizáló hatása csak a monohidroxamátokomplexek esetén érvényesül, míg a bisz-, ill. trisz-hidroxamátokomplexekben ezt a hatást ellensúlyozza a diketo-piperazin-gyűrű szterikus hatása.
- Megállapítottuk, hogy a vizsgált szintetikus dihidroxámsavak közül a koordináció szempontjából a természetes DFB analógjában, a 2,5-DIHA-ban helyezkednek el legideálisabban a kelátképző csoportok a Fe(III) -ionhoz, ill. a hozzá hasonló méretű fémionokhoz való koordinációhoz.
- Elsőként írtuk le, hogy anaerob körülmények között a DFB és a koprogén oxidálja a Fe(II) -iont, miközben a trihidroxámsav redukálódik. Gáz-kromatográfiás mérésekkel kizártuk a víz általi oxidáció lehetőségét. A DFB esetén meghatároztuk a lejátszódó reakció sztöchiometriáját. A redoxireakció sebességének pH -függése azt mutatta, hogy a reakció csak egy adott pH -tartományban megy végbe ($\text{pH} \sim 5,5\text{--}8,5$) és fiziológiás pH -n a leggyorsabb. Valószínűsítettük, hogy a reakcióban a $[\text{H}_3\text{Fe(II)DFB}]^{2+}$ komplex az aktív részecske. Kísérleti eredményeink azt mutatták, hogy a mikroorganizmusok anaerob körülmények mellett is képesek lehetnek vasfelvételre úgy, hogy a sziderofór oxidálja a Fe(II) -iont, és a nem redukálódott trihidroxámsav komplexben megkötí a képződő Fe(III) -iont.

6. SUMMARY

Microbial siderophores are synthesised in order to solubilize and transport Fe(III) into the cells in the required concentrations. Most of the hydroxamate type siderophores contain three metal binding groups, which are able to complete the octahedral coordination sphere of Fe(III) forming very stable 1:1 complexes. It has been proved that this reduction of the metal centre of the Fe(III)-siderophore complex in the cell plays an important role in the mechanism of iron release. Complexes of Fe(II) formed by the reduction are more labile and less stable than those of Fe(III). Consequently, Fe(II) is more available for the cells. It means that characterisation of complexes formed between Fe(II) and siderophores or different siderophore model hydroxamic acids may contribute to a better understanding of the above mentioned biological processes. However, only few studies on **complexation between Fe(II) and hydroxamic acids** have been published previously. Therefore, the aim of this work is to reveal these interactions. The results have been compared with both those of Fe(III) and the corresponding data of complexes formed with other $3d^{5-10}$ bivalent metal ions. These data were either available from the literature or in a number of cases, they were determined in the present work.

Besides serving as siderophores, hydroxamic acids have a wide spectrum of biological activities, *e.g.* hydroxamic acids and aminohydroxamic acids (derivatives of amino acids) are effective inhibitors of metalloenzymes such as urease, collagenase, 5-lypogenase. In the active centre of these enzymes, bivalent transition metal ions *e.g.* Ni(II), Zn(II), Cu(II), Co(II), Mn(II) can usually be found and the basis of the inhibition is the direct interaction between these metal ions and hydroxamic acids. Consequently, systematic equilibrium studies on complexation between hydroxamic acids and bivalent metal ions may give an insight into understanding of the inhibition. Moreover, investigations of the effects of substituents on the stability of hydroxamate complexes can help in the selection of a suitable hydroxamic acid inhibitor. This is the reason why we have studied **complexation of different mono and aminohydroxamic acids with the above mentioned bivalent metal ions**. Mixed ligand complexes are more adequate models for the more complicated biological systems. Since data for the formation of mixed ligand complexes of monohydroxamic acids cannot be found in the

literature, **detailed investigations of systems containing Ni(II), Cu(II), or Zn(II) ions, monohydroxamic acid and a secondary (B) ligand have been performed.**

Different ligands such as *monohydroxamic acids*: acetohydroxamic acid (Aha), propionohydroxamic acid (Pha), hexanohydroxamic acid (Hha), benzohydroxamic acid (Bha), N-methyl-acetohydroxamic acid (MAha), N-phenyl-acetohydroxamic acid (PhAha) and a hydroxamic acid analogue compound, 2-hydroxy-pyridin-N-oxide (PYRha), *aminohydroxamic acids*: α - and β -alaninehydroxamic acids (α -Alaha and β -Alaha), lysinehydroxamic acid (Lysha), 2,4-diaminobutyrylhydroxamic acid (Dambha), 2,3-diamino-propionohydroxamic acid (Dampha), *dihydroxamic acids*: N-methyl-N-hydroxy-N'-[3-(N-methyl-N-hydroxycarbamoil)-propyl]-heptane-1,7-dicarboxamide (2,5-DIHA), N-methyl-N-hydroxy-N'-[3-(N-methyl-N-hydroxy-carbamoil)-propyl]-hexane-1,6-dicarboxamide (3,4-DIHA), N-methyl-N-hydroxy-N'-[3-(N-methyl-N-hydroxycarbamoil)-propyl]-pentane-1,5-dicarboxamide (3,3-DIHA), dimerum acid, and *trihydroxamic acids*: desferrioxamine B (DFB) and coprogen have been studied. Dimerum acid, DFB, and coprogen are natural compounds. Ethylenediamine (en), 2,2'-bipyridine (bipy), glycine (Gly), disodium-4,5-dihydroxybenzene 1,3-disulfonate (Tiron), diethylenetriamine (dien) and 2,2':6,2''-terpyridine (terpy) have been used as B ligands.

Proton dissociation constants of the ligands, the stoichiometry and the stability constants of the complexes have been determined by pH-potentiometric or spectrophotometric techniques. For characterisation of the binding modes in the complexes UV-vis spectrophotometric, EPR, calorimetric methods have been applied. Since Fe(II) can be easily oxidised to Fe(III) by atmospheric oxygen in aqueous solution, a suitable equipment for equilibrium measurements under anaerobic conditions has been constructed. To reveal the nature of the redox reaction between Fe(II) and trihydroxamic acids, pH-potentiometry, pH-stat measurements, spectrophotometry, gas chromatography, and capillary electrophoresis have been used.

Proton dissociation constants of coprogen, dimerum acid and the synthetic 2,5-DIHA, 3,4-DIHA, and 3,3-DIHA have been not known before. The pK values determined for these ligands are in good agreement with the corresponding values for analogous compounds. Furthermore, in the case of a given di, or trihydroxamic acid the differences between the stepwise proton dissociation constants are

somewhat larger than the statistical values showing a weak interaction between the hydroxamic acid groups. Considering the length of the connecting chain between the functional groups in these hydroxamic acids the interaction is probably effective through space but not through the chain.

Equilibrium studies for complexation between Ni(II), Cu(II) and Zn(II) and a series of monohydroxamic acids containing different R_C- and R_N-substituents have shown that the stability of the complexes follows the basicity order of the ligands. In other words, the electron withdrawing or donating effect of the substituents is not measurable in the case of bivalent metal ions, which form lower stability complexes compared to Fe(III). However, the heterocyclic PYRha forms more stable complexes in the fairly acidic pH range than it can be expected based on its proton dissociation constants, which can be explained by a more favoured charge distribution in the chelates due to the ring π - electrons.

It has been pointed out that in the Cu(II)–Pha system the deprotonation of the coordinated hydroxamate in the bis complex above pH = 11 results in the formation hydroximato chelate, similarly to other primary hydroxamic acids, where the formation of hydroximato chelates was proved with EPR.

The formation of mixed ligand complexes between bivalent metal ions (Ni(II), Cu(II) or Zn(II)), monohydroxamic acids and two donor atoms containing B ligands is favoured if the coordinating ligands have different types of donor atoms. Namely, the coordination of hydroxamate oxygens is favoured if B ligand has nitrogen donor atoms (*e.g.* en, bipy) and unfavoured if B ligand has oxygen donor atoms (*e.g.* Tiron). It has been proved with spectrophotometry and EPR that in Cu(II)–en/or bipy–primary hydroxamic acid systems mixed ligand hydroximato complexes are formed at high pH.

Dien and terpy ligands occupy three out of the equatorial positions of Cu(II) and in the [MAB] complex, which is formed in the Cu(II)–dien/or terpy–monohydroxamic acid ternary systems in pH range 7.0–10.5, Cu(II) is five-coordinated. It means that one of the donor atoms is coordinated at axial position, which is proved by the red shift of the electron absorption spectra parallel to the formation of this complex. At higher pH the replacement of hydroxamate by hydroxide is documented by both pH-potentiometry and spectrophotometry. The

EPR results indicate that $[\text{Cu}(\text{AhaH}_{-1})_2]^{2-}$ bis hydroximato complex is formed only in the Cu(II) – terpy–Aha system above pH = 11, that is, the hydroxamic acid comes back to the coordination sphere replacing terpy. This phenomenon cannot be observed in systems containing the relatively flexible dien or secondary hydroxamic acids (which do not have dissociable –NH protons).

Amino groups can be found at α -, and β -positions in the aminohydroxamic acids studied. In addition to the hydroxamate type (O,O) binding mode, the coordination of amino and hydroxamate nitrogen donor atoms is also possible due to the presence of the amino group. According to the results, these ligands coordinate as simple hydroxamic acids through the hydroxamate oxygens to Fe(II), Co(II) and Mn(II). If there is a second amino group at various positions in an α -aminohydroxamic acid (Dampha, Dambha and Lysha) only hydroxamate type complexes are formed with the above mentioned metal ions, similarly to the simple α -derivatives. However, the side chain amino group is an effective binding group for Ni(II) or Cu(II) if it is at chelatable position, *e.g.* Dampha and Dambha. Ni(II) forms only octahedral complexes with Dampha and the $[\text{Ni}(\text{Dambha})_2]$ complex is also octahedral, which is unusual in the case of aminohydroxamic acids, and this geometry suggests that Dampha and Dambha coordinate tridentatly. These two diamino hydroxamic acids can also coordinate tridentatly to Cu(II) when one of the axial positions is also occupied, or bidentatly when the side chain and the α position amino nitrogen donor atoms bind at the equatorial plane replacing the hydroxamate from the coordination sphere. It has been pointed out that Dampha is a more effective chelator for Ni(II) and Cu(II) at a wider pH range than for Fe(III), although hydroxamic acids and also aminohydroxamic acids form more stable complexes with Fe(III) than with the above mentioned bivalent metal ions.

Fe(II)–hydroxamic acid systems have been studied under anaerobic conditions. Stability constants have been determined for the complexes formed in Fe(II)–Aha, – α -Alaha, – β -Alaha, –Dambha, –Lysha, –dimerum acid, –2,5-DIHA, –3,4-DIHA, –3,3-DIHA systems and have been compared to those of the other $3d^{5-10}$ bivalent metal ions. The stability order corresponds to the Irving-Williams series. The stability constants of Fe(II) complexes are always much lower than those of Fe(III), and the difference between the logarithm of the constants of each hydroxamate chelate of Fe(II) and Fe(III) is *ca.* 6.

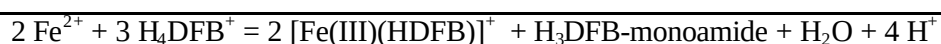
Complexation of dimerum acid, 2,5-DIHA, 3,4-DIHA, 3,3-DIHA and coprogen has been investigated also with Fe(III) in the present work.

A study of the complexes of Fe(II)/or Fe(III) formed with the natural dimerum acid has been shown that double bonds at β position to the hydroxamate residues in the ligand result in higher stability of mono complexes ([MAH]) due to the electron donating effect. In bis and tris complexes, however, this effect is compensated by the steric effect of the bulky piperazine-2,5-dione ring.

Among the synthetic dihydroxamic acids (2,5-DIHA, 3,4-DIHA, 3,3-DIHA) the arrangement of the connecting chain between the two hydroxamic acid groups, *e.g.* the position of the peptide bond, is the most favoured in 2,5-DIHA, since the stability of the [MA] complexes of 2,5-DIHA is higher than those of 3,4-DIHA, 3,3-DIHA. 2,5-DIHA has the same special connecting chain like the natural DFB has.

Complexation processes between coprogen and Fe(III), Ni(II), Cu(II), Zn(II) have been also studied. Results have been compared to those of DFB. Although, the structures of DFB and coprogen are different, the stoichiometry and the stability of the complexes of coprogen are similar to those of DFB. The stability increasing effect of the β -keto bonds is probably compensated by the steric effect of the piperazine-2,5-dione ring as in the case of dimerum acid.

It has been observed at the first time that DFB and coprogen oxidise Fe(II) to Fe(III) under strictly anaerobic conditions while the trihydroxamic acid is reduced. The possibility of the oxidation by water could be precluded with gas chromatography measurements. In the case of DFB the reaction equation has been determined by spectrophotometric and pH-stat measurements at pH = *ca.* 6. In addition to the stoichiometry of the redox reaction, the dependence of the reaction rate on pH has also been studied. According to these kinetic measurements, the reaction proceeds only in a given pH range (pH ~ 5,5–8,5) and the reaction rate is the highest at physiological pH. It has been suggested that the $[\text{Fe(II)H}_3\text{DFB}]^{2+}$ mono complex acts as the active species in the reaction.



On the basis of the above results we have concluded that this redox reaction may play an important role in microbial iron uptake under anaerobic conditions.

7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. N.N. Greenwood, A. Earnshaw, Az elemek kémiája, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (1999)
2. Körös Endre, Bioszervetlen kémia, Gondolat, Budapest (1980)
3. I. Bertini, H.B. Gray, S.J. Lippard, J.S. Valentine, Bioinorganic Chemistry, University Science Books, Canada (1994)
4. A.-M. Albrecht-Gary and A.L. Crumbliss, Metal Ions in Biological Systems, H. Sigel and A. Sigel (eds.) Vol. 35, Marcel-Dekker, INC, New York (1998)
5. A.L. Crumbliss, Handbook of Microbial Ion Chelates, G. Winkelmann (ed), CRC Press, Boca Raton FL. (1991)
6. H.M. Irving and R.J.P. Williams, J. Chem. Soc., (1953) 3192
7. D.A. Brown and M.V. Chidabaram, Metal Ions in Biological Systems, H. Sigel (ed.) Vol. 14, Marcel-Dekker, INC, New York (1982)
8. P.M. May, D.R. Willims, P.W. Linder, Metal Ions in Biological Systems, H. Sigel (ed) Vol. 7, Marcel-Dekker, INC, New York (1978)
9. T.W. Failes, T.W. Hambley, J. Inorg. Biochem., 74 (1999) 125
10. L.L. Huang, A.B. Pardee, Molecular Medicine, 6 (2000) 849
11. H. Kehl, Chemistry and Biology of Hydroxamic Acids, Karger, New York (1982)
12. H. Maehr, Pure Appl. Chem., 28 (1971) 603
13. B.A. Holmen, J.D. Sison, D.C. Nelson, W.H. Casey, Geochim. & Cosmochim. Acta, 53 (1999) 225
14. M. Arnold, D.A. Brown, O. Deeg, W. Errington, W. Haase, K. Herlihy, T.J. Kemp, H. Nimir, R. Werner, Inorg. Chem., 37 (1998) 2920
15. D.A. Brown, L.P. Cuffe, O. Deeg, W. Errington, N.J. Fitzpatrick, W.K. Glass, K. Herlihy, T.J. Kemp, H. Nimir, Chem. Commun., (1998) 2433
16. T. Yatabe, Y. Kawai, T. Oku, H. Tanaka, Chem. Pharm. Bull., 46 (1998) 966
17. A. Thorarensen, M.R. Douglas, D.C. Rohrer, A.F. Vosters, A.W. Yem, V.D. Marshall, J.C. Lynn, M.J. Bohanon, P.K. Tomich, G.E. Zurenko, M.T. Sweeney, R.M. Jensen, J.W. Nielsen, E.P. Seest, L.A. Dolak, Bioorg. & Med. Chem. Lett., 11 (2001) 1355
18. W.L. Mock, H. Cheng, Biochem., 39 (2000) 13945
19. L.R. Scolnick, A.M. Clements, J. Liav, L. Grenshaw, M. Hellberg, J. May, T.R. Dean, D.N. Christianson, J. Am. Chem. Soc., 119 (1997) 850
20. J.E. Yazal, Y.P. Pang, J. Phys. Chem. B, 104 (2000) 6499

21. P.J. Connolly, S.K. Wetter, K.N. Beers, S.C. Hamel, R.H.K. Chen, M.P. Wachter, J. Ansell, M.M. Singer, M. Steber, D.M. Ritchie, D.C. Argentieri, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 9 (1999) 979
22. W.M. Moore, C.A. Spilberg, *Biochem.*, 25 (1986) 5189
23. H. Lossen, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 150 (1869) 314
24. H. L. Yale, *Chem. Rev.*, 33 (1943) 209
25. K.N. Raymond, G. Müller and B.F. Matzanke, *Topics in Current Chemistry*, Vol. 123, Springer-Verlag, Berlin (1984)
26. A.H. Blatt, *Organic Synthesis Collection*, Wiley, New York (1943) Vol. 2., 67
27. A.E. Harvey and D.L. Manning, *J. Am. Chem. Soc.*, 72 (1950) 4498
28. D.A. Brown, W.K. Glass, R. Mageswaran, S.A. Mohamed, *Magn. Reson. Chem.*, 29 (1991) 40
29. N.J. Fitzpatrick and R. Mageswaran, *Polyhedron*, 8 (1989) 2255
30. J.E. Yazal, Y.P. Pang, *J. Phys. Chem. A*, 103 (1999) 8346
31. C. Muñoz-Caro, A. Niño, M.L. Senent, J.M. Leal and S. Ibeas, *J. Org. Chem.*, 65 (2000) 405
32. D.A. Brown, W.K. Glass, R. Mageswaran, B. Girmay, *Magn. Reson. Chem.*, 26 (1988) 970
33. D.A. Brown, R.A. Coogan, N.J. Fitzpatrick, W.K. Glass, D.E. Abuksima, L. Shiels, M. Ahlgrén, K. Smolander, T.T. Pakhanen, T.A. Pakhanen and M. Peräkylä, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, (1996) 2673
34. O.N. Ventura, J.B. Rama, L. Turi and J.J. Dannenberg, *J. Am. Chem. Soc.*, 115 (1993) 1109
35. B. Monzyk, A.L. Crumbliss, *J. Org. Chem.*, 45 (1980) 4670
36. L. Bauer, O. Exner, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 13 (1974) 376
37. B. García, S. Ibeas, J.M. Leal, M.L. Senent, A. Niño and C. Muñoz-Caro, *Chem. Eur. J.*, 6 (2000) 2644
38. B. García, S. Ibeas, F.J. Hoyuelos, J.M. Leal, F. Secco, M. Venturini, *J. Org. Chem.*, 66 (2001) 7986
39. M.T. Craudle and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, 33 (1994) 4077
40. E. Farkas, E. Kozma, M. Pethő, K.M. Herlihy and G. Micera, *Polyhedron*, 17 (1998) 3331
41. M.T. Beck and I. Nagypál, *Chemistry of Complex Equilibria*, Ellis Horwood, London (1990)
42. E. Farkas, H. Csóka, G. Micera, A. Dessi, *J. Inorg. Biochem.*, 65 (1997) 281
43. E. Farkas, T. Kiss, B. Kurzak, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, (1990) 1255
44. B. Kurzak, H. Kozłowski and P. Decock, *J. Inorg. Biochem.*, 41 (1991) 71
45. C.F. Baes, R.E. Mesmer, *The Hydrolysis of Cations*, John-Wiley & Sons, New-York (1976)

46. I. Spasojević, M. Boukhalfa, R.D. Stevens and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, 40 (2001) 49
47. C.J. Carano and K.N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.*, 100 (1978) 5371
48. Z. Hou, C.J. Sunderland, T. Nishino and K.N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (1996) 5148
49. A. Duhme, J. Dauter, R.C. Hider, S. Pohl, *Inorg. Chem.*, 35 (1996) 3059
50. G.J. Seth, C.E. Ruggiero, L.E. Hersman, T. Chang-Shung, M.P. New, *Environmental Science & Technology*, 35 (2001) 2942
51. M. Pethő, *Acta Agronomica Hung.*, 42 (1993) 197
52. K. Sugihara, S. Kitamura, S. Ohta and K. Tatsumi, *Xenobiotica*, 30 (2000) 457
53. E. Farkas, É.A. Enyedy, H. Csóka, *Polyhedron*, 18 (2000) 2391
54. H. Boukhalfa and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, 39 (2000) 4318
55. H. Boukhalfa and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, 40 (2001) 4183
56. M. Biruš, G. Krznarić, Vohalski, N. Kujundžić, B. Nigović, M. Pribanić, *J. Inorg. Biochem.*, 70 (1998) 253
57. R.J. Motekaitis, Y. Sun, and A.E. Martell, *Inorg. Chem.*, 30 (1991) 1554
58. M.A. Santos, M.A. Esteves, M.C.T.Vaz, and M.L.S.S. Goncalves, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1993) 927
59. M.A. Santos, M.A. Esteves, M.C.T.Vaz, and M.L.S.S. Goncalves, *Inorg. Chim. Acta*, 214 (1993) 47
60. T.G. St. Pierre, W. Chua, J. Webb, D.J. Macey, *Hyperfine Interaction*, 126 (2000) 75
61. G.P. Ellis and G.B. West (ed.), *Progress in Medicinal Chemistry*, Elsevier, New-York (1991)
62. S. Desroches, F. Biron, G. Berthon, *J. Inorg. Biochem.*, 75 (1999) 27
63. O. Andersen, *Chem. Rev.*, 99 (1999) 2683
64. G. Faa, G. Crisponi, *Coord. Chem. Rev.*, 184 (1999) 291
65. A.E. Martell, R.J. Motekaitis, Y. Sun, R. Ma, M.J. Welch, T. Pajeau, *Inorg. Chim. Acta*, 291 (1999) 225
66. A.M. Barrios, S.J. Lippart, *J. Am. Chem. Soc.*, 122 (2000) 9172
67. M.I. Roushdy, Y.M. Issa, S.M. El-Zein, F.M.S.E. Marb, *Asian J. Chem.*, 11 (1999) 359
68. D.A. Brown, D. McKeith and W.K. Glass, *Inorg. Chim. Acta*, 35 (1979) 57
69. A. Shah and S. Devi, *Anal. Chim. Acta*, 236 (1990) 469
70. A. Shaban, E. Kalman, J. Telegdi, *Electrochim. Acta*, 43 (1998) 159
71. D.A. Brown and A.L. Roche, *Inorg. Chem.*, 22 (1983) 2199
72. R.Y. Ning, R.I. Fryer and B.C. Sluboski, *J. Org. Chem.*, 42 (1977) 3301
73. J.W. Munson, *Chemistry and Biology of Hydroxamic Acids*, H. Kehl (ed.), Karger, New York (1982)

74. W.L. Smith and K.N. Raymond, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 41 (1979) 1431
75. D.A. Brown, H. Bögge, R. Coogan, D. Doocey, T.J. Kemp, A. Müller and B. Neumann, *Inorg. Chem.*, 35 (1996) 1674
76. C.J. Marmion, T. Murphy, J.R. Docherty and K. Nolan, *Chem. Commun.*, (2000) 1153
77. D.M. Griffith, C.J. Marmion, T. Murphy and K.B. Nolan, *J. Inorg. Biochem.*, 86 (2001) 241
78. G. Schwarzenbach and K. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, 154 (1963) 1390
79. G. Anderegg, F.L. Eplattener and G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, 154 (1963) 1400
80. G. Anderegg, F.L. Eplattener and G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, 154 (1963) 1409
81. B. Kurzak, H. Kozłowski, E. Farkas, *Coord. Chem. Rev.*, 114 (1992) 169
82. E. Farkas, E. Kozma, T. Kiss, I. Tóth and B. Kurzak, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1995) 477
83. M.A. Esteves, M.C.T. Vaz, M.L.S.S. Concalves, E. Farkas and M.A. Santos, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1995) 2565
84. E. Farkas, J. Szőke, T. Kiss, H. Kozłowski and W. Bal, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1989) 2247
85. M. Biruš, M. Gabrieli and O. Kronja, *Inorg. Chem.*, 34 (1995) 3110
86. Farkas E., Nem publikált Tanszéki eredmények
87. E. Farkas, É.A. Enyedy, H. Csóka, *J. Inorg. Biochem.*, 79 (2000) 205
88. E. Farkas, D.A. Brown, R. Cittaro, W.K. Glass, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1993) 2803
89. Gerlei V., Diplomamunka (2001)
90. C.P. Brink, and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, 23 (1984) 4708
91. B. Monzyk and A.L. Crumbliss, *J. Am. Chem. Soc.*, 101 (1979) 6203
92. A. Evers, R.D. Hancock, A.E. Martell and R.J. Motekaitis, *Inorg. Chem.*, 28 (1989) 2189
93. S.J. Barclay, B.H. Huynh, and K.N. Raymond, *Inorg. Chem.*, 23 (1984) 2011
94. M.T. Craudle and R.D. Stevens and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, 33 (1994) 6111
95. B. Kurzak, L. Nakonieczna, G. Rusek, H. Kozłowski and E. Farkas, *J. Coord. Chem.*, 28 (1993) 17
96. D. Monnier, C. Jegge, *Helv. Chim. Acta*, 40 (1957) 513
97. J. Wiśnik-Kozłowska, I.O. Fritsky, A. Dobosz, A. Karaczyn, N.M. Dudarenko, T. Yusliva, E. Gumienne-Kontecka, L. Jerzykiewicz, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (2000) 4064

98. D.A. Brown, A.L. Roche, T.A. Pakkanen, T.T. Pakkanen, and K. Smolander, J. Chem. Soc., Chem. Commun., (1982) 676
99. Enyedy É.A., TDK dolgozat (1997)
100. B. Kurzak, E. Farkas, J. Coord. Chem., 28 (1993) 203
101. E. Farkas, K. Megyeri, L. Somsák, L. Kovács, J. Inorg. Biochem., 70 (1998) 41
102. E. Farkas, H. Csóka, G. Bell, D.A. Brown, L.P. Cuffe, N.J. Fitzpatrick, W.K. Glass, W. Errington and T.J. Kemp, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1999) 2789
103. P. O'Sullivan, J.D. Glennon, E. Farkas and T. Kiss, J. Coord. Chem., 38 (1996) 271
104. É.A. Enyedy, H. Csóka, I. Lázár, G. Micera, E. Garribba, E. Farkas, J. Chem. Soc. Dalton Trans., beküldve
105. J.J. Bodwin, A.D. Cutland, R.G. Malkani, V.L. Pecoraro, Coord. Chem. Rev., 216 (2001) 489
106. F. Dallavalle, M. Tegoni, Polyhedron, 20 (2001) 2697
107. B. Kurzak, E. Farkas, T. Glowiak, H. Kozłowski, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1991) 163
108. E. Farkas, P. Buglyó, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1990) 1549
109. E. Farkas, B. Kurzak, J. Coord. Chem., 22 (1990) 145
110. Csóka H., PhD értekezés (2001)
111. E. Farkas and A. Kovács, J. Coord. Chem., 24 (1991) 325
112. E. Farkas, H. Csóka, J. Inorg. Biochem., (nyomdában)
113. E. Farkas, P. Buglyó, Magy. Kém. Folyóirat, 96 (1990) 192
114. F. Dallavalle, G. Folesani, A. Sabatini, M. Tegoni, A. Vacca, Polyhedron, 20 (2001) 103
115. B. Kurzak, K. Bogusz, D. Kroczevska, J. Jezierska, Polyhedron, 20 (2000) 2627
116. D.T. Richens, The Chemistry of Aqua Ions, John Wiley & Sons, Chichester, England (1997)
117. Császár J., Bán M., Optikai színeképek, ligandumtér-elmélet, komplexszerkezet; Akadémiai Kiadó, Budapest (1972)
118. G.B. Wong, M.J. Kappel, K.N. Raymond, B. Matzanke, G. Winkelmann, J. Am. Chem. Soc., 105 (1983) 810
119. I. Spasvjevic, S.K. Armstrong, T.J. Brickman, A.L. Crumbliss, Inorg. Chem., 38 (1999) 449
120. R. Helman and G.D. Lawrence, J. Electroanal. Chem., 276 (Bioelectrochemistry and Bioenergetics), 22 (1989) 187

121. E. Farkas, P. Buglyó, M.A. Santos, É.A. Enyedy, V. Gerlei, (Inorg. Chim. Acta, nyomdában)
122. É. Leiter, T. Emri, G. Gyémánt, I. Nagy, I. Pócsi, G. Winkelmann, I. Pócsi, Folia Microbiol., 46(2) (2001) 127
123. G. Gran, Acta. Chem. Scand., 4 (1950) 559
124. M.A.F. Jalal, van der Helm, Handbook of Microbial Chelates (1991) 235
125. Erdei L., A kémiai analízis súlyszerinti módszerei, Akadémiai Kiadó, Budapest (1960)
126. Schulek E., Szabó Z.L., A kvantitatív analitikai kémia elvi alapjai és módszerei, Tankönyvkiadó, Budapest (1973)
127. G.H. Khoe, P.L. Brown and R.N. Sylva, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1986) 1901
128. Zékány, I. Nagypál, Computational Methods for the Determination of Stability Constants, D. Leggett (ed.), Plenum Press, New York (1985)
129. H.M. Irving, M.G. Miles, L.D. Pettit, Anal. Chim. Acta, 38 (1967) 475
130. H. Sigel and R.B. Martin, Chem. Rev., 82 (1982) 385
131. E. Prenesti, P.G. Daniele, M. Prencipe, G. Ostacoli, Polyhedron, 18 (1999) 3233
132. I. Wadsö, The LKB Instrumental Journal, 13 (1966) 33
133. A. Gergely, E. Farkas, I. Nagypál and E. Kas, J. Inorg. Nucl. Chem., 40 (1978) 1709
134. B. Noszál, Acid-Base Properties of Bioligands, Biocoordination Chemistry, K. Burger (ed), Ellis Horwood, New-York (1990)
135. SCQuery, The IUPAC Stability Constants Database, Academic Software (verziószám: 3.02), Royal Society of Chemistry, (1992-97)
136. I. Sóvágó, D. Sanna, A. Dessí, K. Várnagy, and G. Micera, J. Inorg. Biochem., 63 (1996) 99
137. H. Gampp, H. Sigel, A.D. Zuberbühler, Inorg. Chem., 21 (1982) 1190
138. I. Sóvágó, A. Gergely, Inorg. Chim. Acta, 20 (1976) 27
139. I. Sóvágó, A. Gergely, Inorg. Chim. Acta, 37 (1979) 233
140. I. Fábián, Inorg. Chem., 28 (1989) 3805
141. H. Irving, D. Mellor, J. Chem. Soc., (1962) 5222
142. Dinya Zoltán, Elektron Spektroszkópia, Tankönyvkiadó, Budapest (1979)
143. H. Sigel, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 14 (1975) 394
144. E. Farkas, É.A. Enyedy, L. Zékány, Gy. Deák, J. Inorg. Biochem., 83 (2001) 107
145. E. Farkas, Z. Pataki, Nem publikált Tanszéki eredmények
146. Q. Yu, A. Kandegedara, Y. Xu, and D.B. Rorabacher, Anal. Biochem., 253 (1997)

8. FÜGGELÉK

I. Az értekezés anyagához kapcsolódó közlemények:

1. E.Farkas, É.A.Enyedy, H.Csóka
A comparison between the chelating properties of some dihydroxamic acids, desferrioxamine B and acetohydroxamic acid
Polyhedron, 18 (1999) 2391

2. E.Farkas, É.A.Enyedy, H.Csóka
Some effects modifying metal – ion monohydroxamate interaction in aqueous solution
J. Inorg. Biochem., 79 (2000) 205

3. E.Farkas, É.A.Enyedy, G.Micera, E.Garibba
Coordination modes of hydroxamic acids in copper(II), nickel(II) and zinc(II) mixed-ligand complexes in aqueous solution
Polyhedron, 19 (2000) 1727

4. E.Farkas, É.A.Enyedy, L.Zékány, Gy. Deák
Interaction between iron(II) and hydroxamic acids: oxidation of iron(II) to iron(III) under anaerobic conditions by desferrioxamine B
J. Inorg. Biochem., 83 (2001) 107

5. E.Farkas, P.Buglyó, É.A.Enyedy, V.Gerlei, A.M.Santos
Factors affecting the metal ion - hydroxamate interaction: Effects of the position of the peptide function in the connecting chain on the Fe(III), Mo(VI) and V(V) complexation of some new desferrioxamine B (DFB) model dihydroxamic acids
Inorg. Chim. Acta, (nyomdában)

6. É. A.Enyedy, H.Csóka, I.Lázár, G.Micera, E.Garibba and E.Farkas
Effects of side chain amino nitrogen donor atoms on metal complexation of aminohydroxamic acids: New aminohydroxamates chelating more strongly Ni(II) than Fe(III)
J. Chem. Soc. Dalton Trans., (beküldve)

II. Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások, posztterek:

13. É. A. Enyedy, E. Farkas, I. Pócsi (poszter)

Complexation of a natural siderophore, coprogen produced by *Penicillium chrysogenum* fungus

10th International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2001.08.31-26., Firenze, Olaszország

12. E. Farkas, P. Buglyó, É. A. Enyedy, V. Gerlei and A.M.Santos (poszter)

Syntheses and metal ion binding strength of desferrioxamine B model dihydroxamic acids

10th International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2001.08.31-26., Firenze, Olaszország

11. É.A.Enyedy, E.Farkas (előadás)

A *Penicillium chrysogenum* gomba által szintetizált természetes sziderofór, a koprogén fémmegkötő sajátosságának vizsgálata

XXXVI. Komplexkémiái Kollokvium, 2001.05.23-25, Pécs

10. É.A.Enyedy, E.Farkas (poszter)

Effects of side chain imidazole and amino nitrogen donor atoms on complexation of aminohydroxamic acids with 3d bivalent metal ions

COST D8 Final Meeting, 2001.03.29.-04.01., Dublin, Írország

9. É.A.Enyedy, E.Farkas (poszter)

Interaction between iron(II) and hydroxamic acids, oxidation of iron(II) by desferrioxamine B under anaerobic conditions

Hungarian COST Chemistry Day, 2000.10.22., Budapest

8. E.Farkas, É.A.Enyedy (előadás)

Ternary systems as models of metalloenzyme inhibition by hydroxamic acids in copper(II), nickel(II) and zinc(II) mixed-ligand complexes in aqueous solution

Hungarian COST Chemistry Day, 2000.10.22., Budapest

7. E.Farkas, É.A.Enyedy (poszter)

Iron(II) Complexation by Hydroxamic Acids

34th International Conference on Coordination Chemistry, 2000.07.9-14., Edinburgh, Skócia

6. E.Farkas, É.A.Enyedy (előadás)

A vas(II) kölcsönhatása hidroxámsavakkal

XXXV. Komplexkémiái Kollokvium, 2000.05.26-28, Kecskemét

5. É.A.Enyedy, E. Farkas (előadás)

A nikkel(II)-hidroxámsav kölcsönhatások oldategyensúlyi vizsgálata: az ureáz hidroxámsavak általi inhibíciójának modellezése

MTA Koordinációs Kémiai Munkabizottsági ülése, 1999.04.26., Debrecen

4. É.A.Enyedy, E. Farkas (előadás)

A hidroxamát-kelát képződésének lehetőségei egyéb ligandumok jelenlétében

XXI. Kémiai Előadói napok, 1998.10.26-28., Szeged

3. E. Farkas, É.A.Enyedy (poszter)

Equilibrium Studies on Metal Complexes of Hydroxamates

33rd Equilibrium Studies on Coordination Chemistry, 1998.08.30.-09.04., Firenze, Olaszország

2. É.A.Enyedy, E. Farkas (előadás)

Vegyes ligandumú komplexek képződése átmenetifém-monohidroxámsav-B ligandum rendszerekben

XXXIII. Komplexkémiái Kollokvium, 1998.05.4-6., Paks

1. É. A. Enyedy, E.Farkas (előadás)

Kalcium(II)- és magnézium(II)ionok kölcsönhatásának vizsgálata hidroxámsavakkal

XXIII. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Kémiai és Vegyipari Szekció, 1997.04.2-4., Pécs

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm Dr. Sóvágó Imre tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette számomra doktori munkám elkészítését az Általa irányított tanszéken.

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Farkas Etelka egyetemi tanárnak sokoldalú segítségéért, hasznos tanácsaiért és biztatásáért.

Köszönettel tartozom Dr. Fábián Istvánnak a kinetikai, Dr. Deák Györgynek a gázkromatográfiás, Dr. Giovanni Miceranak és Eugenio Garribbanak az ESR, Dr. Buglyó Péternek a kapilláris elektroforézis, Nagy Zoltánnak a kalorimetriás mérések során és Zékány Lászlónak a látható spektrumok kiértékelésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm a *Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport* minden tagjának a munkám során adott hasznos tanácsait és segítségüket, valamint azt, hogy munkám elvégzéséhez baráti légkört biztosítottak.

Köszönöm férjemnek és családom minden tagjának a szeretetteljes támogatásukat és türelmüket.