



**Átmenetifém-ionok kölcsönhatása kis biomolekulákkal.
Újabb eredmények a ligandumok fémion szelektivitásában.**

doktori (Ph.D.) értekezés

Nagy Eszter Márta

Debreceni Egyetem
Debrecen, 2006

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TEK Kémiai Doktori Iskola koordinációs kémiai programja keretében készítettem 2002 – 2006. között, és ezúton benyújtom a Debreceni Egyetem TEK doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2006. március 07.

Nagy Eszter Márta

Tanúsítom, hogy Nagy Eszter Márta doktorjelölt 2002 – 2006. között a fent megnevezett Doktori Iskola koordinációs kémiai programja keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglaltak a jelölt önálló munkáján alapulnak, az eredményekhez önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javasolom.

Debrecen, 2006. március 07.

Dr. Sóvágó Imre
egyetemi tanár

Átmenetifém-ionok kölcsönhatása kis biomolekulákkal.
Újabb eredmények a ligandumok fémion szelektivitásában.

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a Kémia tudományában

Írta: **Nagy Eszter Márta** okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem Kémiai Doktori Iskolája
(Koordinációs Kémia programja) keretében

Témavezető: **Dr. Sóvágó Imre**

A doktori szigorlati bizottság:

elnök:

tagok:

.....

A doktori szigorlat időpontja: 2006.

Az értekezés bírálói:

.....

.....

A bírálóbizottság:

elnök:

tagok:

.....

.....

.....

.....

Az értekezés védésének időpontja: 2006.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, *Dr. Sóvágó Imre* egyetemi tanárnak sokoldalú segítségéért és hasznos tanácsaiért.

Köszönöm *Dr. Buglyó Péter*nek a doktori munkám elkészítésében nyújtott nagyfokú témavezetői segítségét.

Köszönettel tartozom *Dr. Farkas Etelka* egyetemi tanárnak a peptidhidroxámsavak területén nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért, *Dr. Daniele Sannan*nak az ESR mérésekben, *Seprényi Ágnes*nek a peptidhidroxámsavak szintézisében, *Dr. Ősz Katalinnak* a mikroállandók számolásában, *Dr. Lázár Istvánnak* a szintetikus munkában, *Dr. Kurtán Tibornak* és *Dr. Antus Sándornak* a CD spektrumok felvételében, *Dr. Kéki Sándornak* a tömegspektrometriás, *Dr. Braun Mihálynak* az ICP–AES mérésekben nyújtott segítségéért. Köszönöm *Hüse Ilona* és *Dr. Gönczy Árpádné* technikusoknak a laboratóriumi munkában való segítségüket.

Köszönettel tartozom továbbá az *Erasmus* és *Marie Curie* ösztöndíjakért, amelyek külföldi tanulmányútjaimat anyagilag biztosították.

Köszönöm a *Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport* minden jelenlegi és volt tagjának a hasznos tanácsaikat, valamint a munkám elvégzéséhez biztosított baráti légkört.

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés és célkitűzések.....	3
2.1. A vanádium.....	3
2.1.1 A vanádium bioszervetlen kémiája.....	3
2.1.2 A vanádium inzulinutánzó hatása.....	5
2.1.3 A VO(IV)-ion koordinációs kémiája.....	7
2.1.4 A V(III)-ion koordinációs kémiája.....	8
2.2. Az aminosavak és peptidek.....	10
2.2.1. Sav – bázis tulajdonságok.....	10
2.2.2. Az aminosavak és a peptidváz koordinációs kémiája.....	10
2.2.3. Az oldallánc hatása a komplexképződésre.....	12
2.2.4. Az arginin és arginin tartalmú peptidek.....	14
2.3. A hidroxámsavak.....	15
2.3.1. A hidroxámsavak biológiai hatása.....	15
2.3.2. A hidroxámsavak koordinációs kémiája.....	16
2.3.3. A peptidhidroxámsavak.....	18
2.4. Célkitűzések.....	19
3. Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek.....	22
3.1. Felhasznált vegyszerek.....	22
3.2. A vizsgálati módszerek elvi alapjai, alkalmazott kísérleti körülmények.....	28
3.2.1. pH–potenciometria.....	28
3.2.2. UV–látható spektrofotometria.....	31
3.2.3. CD spektroszkópia.....	34
3.2.4. ESR spektroszkópia.....	35
3.2.5. ¹ H-NMR spektroszkópia.....	38
3.2.6. ESI–MS spektroszkópia.....	38
4. Eredmények.....	40
4.1. A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav rendszer.....	40
4.1.1. A vizsgált ligandum disszociációs állandói.....	40
4.1.2. A ligandum VO(IV)–törzskomplexei.....	40
4.1.3. Vegyes ligandumú rendszerek.....	43
4.2. A V(III)-ion komplexképződésének oldategyensúlyi vizsgálata.....	49
4.2.1. A V(III) törzsoldat előállítása.....	49
4.2.2. A V(III)-ion hidrolízise.....	49
4.2.3. Komplexképződés aminosavakkal.....	51
4.2.4. Komplexképződés pikolinsav-származékokkal.....	53
4.2.5. Komplexképződés (O,O) donor ligandumokkal.....	60
4.3. Az arginin oldallánc hatásának tanulmányozása.....	64
4.3.1. A vizsgált peptidek disszociációs állandói.....	64
4.3.2. Komplexképződés Cu(II)-ionnal.....	65

TARTALOMJEGYZÉK

4.3.3. Vegyes ligandumú rendszerek.....	68
4.3.4. Az amilin 17–29 fragmens kölcsönhatása Cu(II)-ionnal.....	70
4.4. A peptidhidroxámsavak vizsgálata.....	73
4.4.1. A peptidhidroxámsavak szintézise.....	73
4.4.2. A ligandumok disszociációs állandói.....	74
4.4.3. Komplexképződés Fe(III)-ionnal.....	76
4.4.4. Komplexképződés Al(III)-ionnal.....	79
4.4.5. Komplexképződés Zn(II)-ionnal.....	80
4.4.6. Komplexképződés Cu(II)-ionnal.....	83
4.4.7. Komplexképződés Ni(II)-ionnal.....	96
5. Összefoglalás.....	101
6. Summary.....	105
7. Irodalmi hivatkozások.....	110
8. Függelék.....	117

1. BEVEZETÉS

A vanádium biokémiai szerepe magasabb rendű élő szervezetek esetén napjainkig nem tisztázott, így létfontosságú nyomelemként általánosan nem elfogadott, az utóbbi két évtizedben mégis az érdeklődés középpontjába került. Míg a vanádium egyes alacsonyabb rendű élőlények esetén nélkülözhetetlen, addig a magasabb rendű szervezetek számára már kis mennyiségben is mérgező lehet. Egy 1979-ben megjelent közlemény azonban rámutatott, hogy bizonyos vanádium vegyületek állatkísérletekben igazoltan inzulinutánzó hatásúak.¹ Kimutatták, hogy ezek a vegyületek nemcsak csökkentik a magas vércukorszintet, de a cukorbetegséggel járó egyéb tüneteket is enyhítik. Így a vanádium vegyületeinek lehetséges gyógyászati alkalmazása fellendítette a fémion iránti érdeklődést. A kezdeti kutatások a szerves vanádium(V)-sókra és a peroxovanadát(V)-vegyületekre irányultak, mivel fiziológiás pH-n a fémionnak ez a legstabilisabb és leginkább oldható formája, és aniontranszporttal könnyen szállítható.² Viszont a vanadát(V) a vanádium legmérgezőbb formája is,³ így a vizsgálatok a kevésbé mérgező oxovanádium(IV) vegyületei irányába folytatódtak. Számos olyan VO(IV)-komplext állítottak elő, melyek semlegesek, vízoldhatók, ugyanakkor lipofilek, és passzív transzporttal a szervezetben könnyen felszívódnak.^{4,5} Az ezen vegyületeket alkotó ligandumok V(III)-komplexei szintén vércukorszint csökkentő hatást mutattak. A szabad V(III)-ion igen érzékeny az oxidációra, ezzel szemben az előállított szilárd vegyületekben a kis oxidációs állapotú fémion stabilan eltartható, a vegyületek könnyen előállíthatók, és a szervezetbe bekerülve *in vivo* oxidálódhatnak +4-es és +5-ös oxidációs állapotú vanádiummá, mely egyensúlyt a szervezet redox pufferként szabályozza (un. *pro drog*).⁶

A V(III)-ion oldategyensúlyi tanulmányozására az irodalomban nagyon kevés eredmény található, mivel a vizsgálatok a fémion oxidációra és hidrolízisre való erős hajlama miatt nehezen kivitelezhetőek. A V(III)-ion komplexei esetén az inzulinutánzó hatás megértéséhez, valamint a fémion szervezetbeli szállításának a modellezésére viszont szükség van a kialakuló rendszerek oldategyensúlyi tanulmányozására – mindenekelőtt a fémion hidrolízisének a részletes vizsgálatára. További kérdésként vetődhet fel, hogy a fémion a szervezetbe bekerülve, az ott nagy mennyiségben található kis biomolekulákkal, elsősorban aminosavakkal, peptidekkel, milyen kölcsönhatásba lép. A vizsgálataink alapján ezek a biomolekulák a V(III)-ionnak gyenge komplexképzői, a fémion hidrolízisét nagy

ligandumfelesleg esetén sem tudják visszaszorítani. Abban az esetben, ha a peptidláncon olyan, horgony donorcsoportként működő funkciócsoportot alakítunk ki, mely a V(III)-ionnak savas pH-tartományban jó komplexképzője lehet, akkor visszaszorítható a fémion hidrolízise, és nagyobb pH értékeknél akár a peptidlánc koordinációja is bekövetkezhet. Ilyen funkciócsoport lehet a hidroxámsavcsoport, mely ismertén jó komplexképzője egyes +3 oxidációs állapotú hard fémionoknak (pl. Fe(III)- és Al(III)-ion). A V(III)-ion hasonló karaktere ezzel a ligandummal szemben hasonló viselkedést eredményezhet. Azonban az is ismert, hogy az egyszerű hidroxámsavak a kisebb oxidációs állapotú vanádiumot oxidálják.⁷ A peptidlánccal funkcionizált hidroxámsav alaptulajdonsága viszont akár jelentősen is módosulhat. Továbbá a szervezetbe bekerülve, a peptidláncnak szerepe lehet a molekuláris felismerésben, a makromolekulákkal kialakított specifikus, másodrendű kölcsönhatások révén. Emellett maga a molekula komplexképződés szempontjából igen érdekes, mivel mind a peptidlánc, mind a hidroxámsavcsoport eltérő karakterű fémionoknak jó komplexképző ligandumai, vagyis várhatóan nagy a fémion szelektivitásuk.

A hidroxámsavcsoport koordinációs kémiai viselkedését különböző tulajdonságú és oxidációs állapotú fémionokkal már számos munkában tanulmányozták. Az aminosavak és peptidek fémionokkal szembeni viselkedését ugyancsak vizsgálták. Noha nagy számban jelent meg az irodalomban összefoglaló közlemény ezen a területen, az oldallánc szerepe nem minden aminosavnál tisztázott. Különösen igaz ez az arginin esetén, melyre vonatkozóan igen kevés adat található, az oldallánc koordinációs kémiai viselkedését egyszerű fémionokkal is bizonytalanul írják le, illetve az összefoglaló tanulmányokban sem definiálják egyértelműen. Az arginin számos létfontosságú fehérjében, enzimben előfordul, és egyre többet említik a biokémiai folyamatokban betöltött szerepét. A fehérjelánc fémionokkal szembeni viselkedése szempontjából fontos az oldallánc szerepének a tisztázása, a komplexképződés szisztematikus oldategyensúlyi tanulmányozása.

A peptidhidroxámsavak az irodalomban, mint metalloenzim inhibitorok ismertek.⁸⁻¹¹ Az ezen vegyületekre vonatkozó oldategyensúlyi eredmények száma kevés, és azok között is ellentmondásokba ütközünk.¹²⁻¹⁴ A fémion és a ligandum közötti kölcsönhatás modellezésének a megértéséhez viszont elengedhetetlenek az oldategyensúlyi vizsgálatok. Az irodalmi adatok hiányára való tekintettel mind a fémion, mind a ligandum szempontjából az egyszerűbb rendszerek tanulmányozása szükséges, figyelembe véve a molekula két, koordinációs kémiai szempontból eltérő sajátságú donorcsoportját.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

2.1. A vanádium

2.1.1. A vanádium bioszervetlen kémiája

A vanádium bár az elterjedt elemek közé sorolható – a földkéreg 19. leggyakoribb eleme, valamint az 5. leggyakoribb átmenetifém –, mégis viszonylag elszórtan fordul elő, a természetben található vanádiumércsek száma kevés. A tengervizekben a vanádium koncentrációja 20–35 nmol/dm³, mellyel a vizek második leggyakoribb átmenetiféme.¹⁵ Valószínűsíthető, hogy az evolúció kezdetén nagyobb szerepe volt, majd a helyét folyamatosan más fémek vették át. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy néhány alacsonyabb rendű tengeri és szárazföldi élőlény szervezetében a vanádium felhalmozódott.¹⁶ A fémion stabil oxidációs állapota a +5 (vanadát) és a +4 (vanadil), de biológiai rendszerekben megtalálható +3, ritkán akár +2 oxidációs állapotban is.

A tengeri zsákállatkák altörzsébe tartozó ascidiánok¹⁷ és a legyezőférgek egyik faja¹⁸ képes a tengervízből a vanadát(V)-iont felvenni, redukálni és a szervezetükben a tengervíz koncentrációjának akár 10⁷-szeresére is felhalmozni. A zsákállatkákban a fém 5%-a VO(IV), míg 95%-a V(III) formájában van jelen. A fémiont speciális üregekben tárolódik, közel semleges pH-n.¹⁹ Feltételezik, hogy a vanádium az anyagcsere melléktermékeként halmozódik fel, és kölcsönhatásba lép a zsákállatka speciális véresejtjeiben, a vanadocitákban lévő festékanyagokkal, a tunikrómokkal, melyek dopa és hidroxidopa egységekből felépülő oligopeptidek.^{16,20} A legyezőférgekben a fém szintén V(III) formájában tárolódik, és funkciója eddig még nem ismert.¹⁸ A galócák családjába tartozó mérgefgombafajok rendszerint mind tartalmazznak vanádiumot. Néhány faj, mint a légyölő galóca (*Amanita muscaria*) azonban jelentős mennyiségben halmozza fel a fémiont.²¹ A gombából izolált vegyület, az amavadin szerkezete pontosan ismert – az N-hidroxi- α,α' -imino-dipropionsav V(IV) biszkomplexe, melyben az oxocsoport nélküli V(IV)-ion koordinációs száma 8. A vegyület biológiai funkcióját azonban még nem tudták azonosítani, elektrontranszfer reakciók közvetítőjeként feltételezik.²²

Ismertek olyan enzimek, amelyek az aktív centrumukban vanádiumot tartalmazznak. A barna- és vörösmozzatokból, zúzmókból és gombákból izolált vanádiumfüggő haloperoxidázok a halogenidek oxidációját katalizálják hidrogénperoxid jelenlétében.^{23,24} Az aktív centrum szerkezetét röntgendiffrakcióval

határozták meg, és valamennyi esetben azt találták, hogy az enzim +5-ös oxidációs állapotban tartalmazza a fémiont.²⁵ Ezek az enzimek szerkezetükben jelentősen hasonlítanak egyes foszfatázokhoz, sőt kismértékű foszfatáz aktivitást is mutatnak.²⁶ A nitrogénfixáló baktériumokban található nitrogénáz enzim is tartalmazhat vanádiumot az aktív centrumában. Az enzim a nitrogén redukív protonálódását katalizálja, és bár kimutathatóan csak molibdénhiány esetén aktiválódik, ennek ellenére széles körben elterjedt.²⁷ Szerkezetében a Mo-nitrogénázhoz hasonlóan kén – vas klaszterek találhatóak, melyekben az egyik vasat vanádium helyettesíti.

A vanádium magasabb rendű élőlények számára egy adott mennyiség felett mérgező. Állatokon és embereken végzett kísérletek azt mutatták, hogy károsítja az idegrendszert, mérgező hatása van a vesére, májra és a vörösvérsejtekre, gátolja a növekedést, hasmenést, étvágytalanságot és halált okoz. Emberek esetén a toxicitás küszöbértékét 10–20 mg/nap értékben állapították meg.^{28,29} Legmérgezőbb, ha injekció formájában adagolják. Kevésbé mérgező a szájon át bejuttatva, mivel a kísérletek szerint a vanádium kevesebb, mint 10%-a szívódik fel a gyomor- és bélrendszeren keresztül. A fémion oxidációs számának a növekedésével a mérgező hatása is nő, a legmérgezőbb a vanadát(V), mely kb. 5-ször nagyobb mértékben szívódik fel, mint a VO(IV).³ A gyomor savas környezetében a vanadát(V) nagy része VO(IV)-gyé redukálódik, és így jut keresztül a bélrendszeren.³⁰ A vérbe bekerülő vanadát(V)-ot a vörösvérsejtekben lévő glutation,³¹ vagy a vérplazmában található aszkorbát,³² katecholaminok³³ vagy cisztein³⁴ VO(IV)-gyé redukálja, így a vanádium a vérben is nagyrészt +4-es oxidációs állapotban van jelen, és többnyire nagy molekulatömegű ligandumokhoz (albumin, transferrin) kötődve szállítódik.^{30,35,36} Vanádiumkezelés hatására a fémion különböző mértékben felhalmozódik az egyes szervekben, mint a csontban, vesében, tüdőben, izomban, májban és a lépben.²⁸ A legnagyobb koncentrációt a vesében érheti el, ahol a kiválasztása is történik, illetve a csontokban, ahol a foszfáthoz kötődik.^{37,38} A májban és a lépben fehérjékhez (transzferrin, ferritin) kötődve azonosították.^{28,30} A vanádium toxicitása mellett ismert néhány gyógyászati hatása is. Kimutatták, hogy a szerves V(V) sóknak, peroxo-vanadátoknak, különböző V(V)-, VO(IV)- és V(III)-komplexeknek inzulinutánzó,^{1,4-6,20,39-45,53-58} míg a vanadocén-dikloridnak és polioxo-vanadátoknak antitumor hatásuk van.⁴⁶ A vanádium élettani hatásai egyrészt a VO(IV)-ion jó komplexképző tulajdonságán, másrészt a vanadát(V) és a foszfát kémiai hasonlóságán alapulnak.¹⁶ A vanadát(V) kölcsönhatásba léphet különböző, biológiai szempontból fontos molekulákkal (pl. aminosavakkal,

peptidekkel, nukleozidokkal ill. cukrokkal). Szerepe lehet olyan fiziológiai folyamatokban, amelyekben a foszfát részt vesz, és szabályozhat számos foszfát-anyagcsere enzimet, pl. inhibitora a Na^+ - és K^+ -ATPáz enzimnek és a ribonukleázoknak.^{47,48}

2.1.2. A vanádium inzulinutánzó hatása

A cukorbetegség (*diabetes mellitus*) napjaink egyik legszélesebb körben elterjedt betegsége. A betegek vércukorszintje a normális értéknél jóval magasabb, és ha a glükóz mennyisége a vérben meghaladja az ún. veseküszöbértéket, akkor a vizelettel glükóz távozik a szervezetből. A betegséggel járó tünetek pl. a feltűnően nagy mértékű táplálék- és vízfogyasztás, a rövid időn belül bekövetkező jelentős súlyvesztés, a pajzsmirigy csökkent működése, látási zavarok, bőrkiütések, ill. fertőzések megjelenése. A magas vércukorszint károsan befolyásolja a glükóz, a fehérjék és a lipidek anyagcseréjét, és hosszú távon, kezelés nélkül, ún. másodlagos károsodásokhoz vezet, mint veseelégtelenség, szívrendellenesség, érlemeszesedés, különböző szem-, ideg- és fertőző betegségek.^{4,5}

A cukorbetegség kialakulásáért – közvetlenül vagy közvetve – az inzulin nevű hormon a felelős, amely két, diszulfid-híddal összekötött peptidláncból (α és β) felépülő, 51 aminosavból álló polipeptid. Az inzulinnak számos szabályozó feladata van, többek között a glükóz, az aminosavak és a zsírsavak véráramból történő felvételének és a májban, izomban és zsírsejtekben való tárolásának a szabályozása. Emellett gátolja a zsírok és egyes aminosavak elégetésekor keletkező ketontestek (aceton, acetecetsav, β -oxivajsav) felhalmozódását a vérben, valamint serkenti a fehérjék, a DNS és az RNS szintézisét. A hormont a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteinek β -sejtjei termelik.⁴⁹ A hatását úgy fejt ki, hogy olyan sejt felszíni receptorokhoz kötődik, amelyek membránáthidaló tirozinspecifikus fehérjekinázok. Ezek az enzimek katalizálják a fehérje tirozin sejten belüli foszforilációját, ami annak a reakciósornak az első lépése, amely a glükóz felvételéhez és anyagcseréjéhez vezet.⁴

A cukorbetegségnek két típusát különböztetik meg:^{4,5}

– I. típusú vagy inzulinfüggő cukorbetegség (IDDM), mely esetben a betegség oka az inzulin hiánya. A Langerhans-szigetek inzulintermelő β -sejtjeinek genetikailag programozott károsodása vagy elpusztulása váltja ki. Általában gyerekkorban alakul ki. Kezelése naponta inzulin injekció formájában történik, mivel a szájon át bevett inzulin az emésztési folyamatokban elbomlik.

– II. típusú vagy nem inzulinfüggő cukorbetegség (NIDDM), melynél a kiváltó ok az inzulinnal szembeni teljes vagy részleges rezisztencia, amikor is az inzulin receptorban valamilyen károsodás következik be. Ilyenkor bár a hormon jelen van a szervezetben, azonban a hatását nem tudja kifejteni, mivel a receptorsejtek nem reagálnak rá. Ez a típusú betegség elsősorban felnőttkorban alakul ki. Kezelése szigorú diéta mellett szintetikus gyógyszerekkel történik.⁵⁰

A kutatók már hosszú ideje keresik a lehetőségét egy olyan szájon át szedhető gyógyszerkészítmény kifejlesztésének, amellyel kiváltható az inzulin, ezáltal lényegesen megkönnyíthető az inzulinfüggő cukorbetegség kezelése. A kutatások néhány átmenetifémmel (vanádium, króm, molibdén, mangán, wolfram) ígéretesnek bizonyultak, viszont ezen fémionok klinikai alkalmazását meglehetősen korlátozza a mérgező hatásuk.⁵¹ A vanádium esetén az *in vivo* vizsgálatok azt mutatták, hogy az inzulinutánzó hatás nemcsak a glükóz felvételét és a glikogénszintézis serkentését jelenti, hanem a vegyületek hatással vannak a lipídanyagcserére is. Azonban az inzulinnal ellentétben nem hatnak a fehérjeszintézisre. Viszont képesek csökkenteni a cukorbetegséggel járó egyéb tüneteket is, mint a túlzott mértékű táplálék- és vízfogyasztást, a látási problémákat, vagy a pajzsmirigy csökkent működését.^{1,4} A fémion toxikus hatását úgy próbálják kivédeni, hogy egyrészt a kevésbé mérgező, kisebb oxidációs állapotú vanádiumvegyületek irányába történnek kutatások, másrészt olyan vegyületeket igyekeznek találni, amelyek membránon keresztüli transzportja a komplex szerkezete révén finomítható, javítható, ezáltal a szervezetbe juttatott elégséges dózis a mérgezési küszöbérték alá csökkenthető.^{6,52}

Számos olyan kis molekulatömegű VO(IV)-komplexet állítottak elő, amelyek semlegesek, fiziológiás pH-n megfelelő stabilitásúak, vízoldhatók, ugyanakkor lipofilek, így a membránon keresztül könnyen felszívódnak. Ezeknek a vegyületeknek az inzulinutánzó hatását patkányokon végzett kísérletekben igazolták. A vegyületek többsége a VO(IV)-ionnak olyan ligandumokkal képezett bisz-komplexei, amelyek kén, nitrogén vagy oxigén donoratomot tartalmaznak.

Az [N,S] típusú koordinációra képes ligandumok közül a cisztein-metil-észter, a pirrolidin-N-ditiokarbamát és a szarkozin-N-ditiokarbamát VO(IV) bisz-komplexe bizonyult a leghatékonyabbnak.⁵³⁻⁵⁵

Az [N,O] típusú ligandumok esetén a pikolinsavval és a 6-metil-pikolinsavval tudták a legjobb vércukorszint csökkentő hatást elérni.^{44,56}

Az [O,O] típusú ligandumok köréből vizsgált maltol, szalicilsav, oxálsav, malonsav és borostyánkősav, valamint a kojisav biszkomplexei szintén inzulinutánzó hatásúnak bizonyultak.^{39-42,53,57}

Néhány ligandum V(III) trisz-komplexét is előállították – maltollal, 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinonnal, kojisavval, pikolinsavval – és inzulinutánzó hatásukat szintén igazolták.^{6,43,58} Mivel ezen komplexek szerkezete eltér a VO(IV)-komplexeiktől, így eltérő viselkedés várható a membrántranszportban.

Az eredményeket tekintve egyértelmű kapcsolat nehezen vonható le a komplexek szerkezete és az inzulinutánzó aktivitásuk között. Egy összehasonlító vizsgálat *in vivo* azt mutatta, hogy az [O,O] donoratomokkal koordinálódó ligandumok VO(IV)-komplexei hatékonyabb vércukorszint csökkentést valósítanak meg, mint az [N,O] koordinációjú vegyületek.⁴² Ugyanakkor egy másik tanulmány szerint nincs lényeges különbség az általuk vizsgált kb. húsz eltérő szerkezetű komplex hatásának mértékében.⁴⁵ Másrészt a vanádium inzulinutánzó hatásának a mechanizmusa sem tisztázott még, bár számos elképzelés vetődött fel. Egyesek szerint a vanadát – foszfát analógián alapszik, míg a másik vélemény az inzulinhoz hasonlóan a receptor aktiválását tartja valószínűnek. Egy újabb elképzelés szerint a sejttérben található „nem-receptor fehérje tirozin kináz” a katalizátora a vanádium által előidézett glükózlebontásnak.⁵⁹ A komplexeket az állatkísérletekben mindkét típusú cukorbetegség esetén tesztelték. Az I. típusnál azt találták, hogy a kezelés következtében helyreáll a vér glükózszintje, megtörténik a glükóz felvétele a szövetek mellett a májban és a vázizomban is, valamint a kezelés a lipidanyagcserére is kedvezően hat. A II. típusú betegség esetén bár a kezelés csökkenti a vércukorszintet, ugyanakkor nem növeli az inzulin receptorok számát, sem az inzulin és a receptor közötti kötés erősségét.⁵⁹ Megfigyelték, hogy a szervezetben található inzulin mennyisége és a vanádium glükózszintet csökkentő hatása között összefüggés van, amiből arra következtettek, hogy a vanádiumnak talán csak inzulin érzékenyítő hatása van.⁶⁰

2.1.3. A VO(IV)-ion koordinációs kémiája

Az oxovanádium(IV)-ion savas közegben nagyrészt a kék színű $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ akvakomplex formájában van jelen, majd a pH-t növelve a fémion koordinációs szférájában lévő vízmolekulák fokozatosan deprotonálódnak, és különböző összetételű hidroxokomplexek képződnek.^{16,20} A hidrolízis a $[\text{VO}(\text{OH})]^{+}$ és a $[(\text{VO})_2(\text{OH})_2]^{2+}$ részecske képződésével indul, majd a fémion koncentrációjától

függően pH ~ 4,5 – 5-nél VO(OH)₂ csapadék válik le, ami a vanádium amfoter karaktere miatt lúgos közegben visszaoldódik. Az ebben a tartományban képződő, feltehetően többmagvú részecskék összetételéről megoszlanak a vélemények. Az egyensúlyi rendszereink leírásakor mi azt a modellt fogadtuk el, amely ebben a tartományban [(VO)₂(OH)₅]⁻ és [VO(OH)₃]⁻ összetételű hidroxokomplexek képződését valószínűsíti.^{61,62}

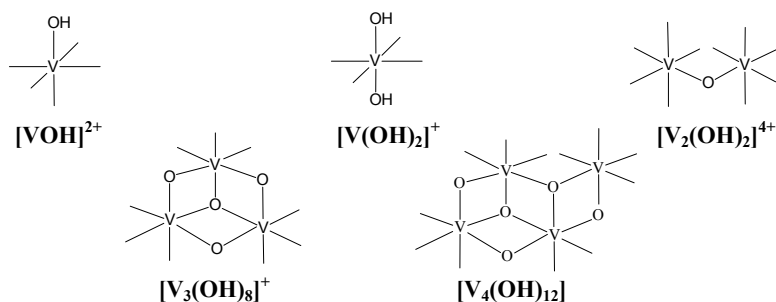
A VO(IV)-ion egy oxokation – a 3d átmenetifémek oxokationjai között a legstabilisabb¹⁵ –, amelyben a fémion belső koordinációs szférájában található az oxigén kettős kötéssel, és mellette még további öt koordinációs hely kialakítására van lehetőség (négy ekvatoriális, míg egy axiális pozícióban). Az így képződő komplexek geometriája tetragonális bipiramis, tetragonális piramis, ritkán trigonális bipiramis.² Vizes oldatban a belső szférában található oxigén csak nagyon erős komplexképzőkkel – mint pl. pirokatechin vagy hidroxámsav – szorítható ki.⁶³ Az ekvatoriális pozícióban lévő donoratomok kötődése erősebb, a kötéstávolság rövidebb, mint az axiális pozícióban lévő donoratomé. A bidentát ligandumok biszkomplexe esetén kimutatható a *cisz-transz* izoméria, ami az ötödik koordinációs helyen lévő vízmolekula pozícióját adja meg a vanadil-oxigénhez képest.⁶⁴

A VO(IV)-ion a koordinálódó donoratomok preferáltságát tekintve inkább hard sajátságú, erős kölcsönhatást elsősorban az oxigén donoratomokkal alakít ki.⁶⁵⁻⁷⁴ A nitrogén és kén donoratomok esetén a kölcsönhatás gyengébb, azonban ha ezen donoratomokkal kelátképző helyzetben oxigén is található a ligandumban, az növeli a kialakuló komplex stabilitását.⁷⁵⁻⁷⁸

2.1.4. A V(III)-ion koordinációs kémiája

Az V(III)-ion koordinációs kémiai viselkedésének oldategyensúlyi tanulmányozására az irodalomban csak kevés eredmény áll rendelkezésünkre. Ezt a fémion vizes oldatokban mutatott két igen jellemző viselkedésével magyarázhatjuk: az oxidációra való érzékenységgel és a hidrolízisre való erős hajlamával. A szabad V(III)-ion oxigén jelenlétében VO(IV)-gyé oxidálódik. Ezért ha a V(III)-ionnal akarunk dolgozni az oxidáció kizárásával, első lépésben megfelelő tároló- és adagolórendszer kiépítésére van szükség a fémtörzsoldat tárolásához, illetve a mérőrendszerek speciális kialakítása szükséges a mérések kivitelezéséhez. A V(III)-ion hidrolízisét az irodalomban korábban már részletesen tanulmányozták.⁷⁹⁻⁸¹ *Meier és munkatársai* a fémion hidrolízisét ciklikus

voltametriás és spektrofotometriás mérésekkel vizsgálták, 25,0 °C-on, 1 mol/dm³ NaCl ionerősség mellett.⁸¹ Azt találták, hogy a hidrolízis során a pH = 1 – 4,5 tartományban a [VOH]²⁺, [V(OH)₂]⁺, [V₂(OH)₂]⁴⁺, [V₃(OH)₈]⁺ és [V₄(OH)₁₂] összetételű egy- és többmagvú részecskék képződnek, melyek szerkezetére is tettek javaslatot (1. ábra). Azt is megállapították, hogy a [V₂(OH)₂]⁴⁺ összetételű oxohidas dimer hidroxokomplexhez a spektrofotometriás mérések során a pH függvényében egy nagy intenzitású sáv rendelhető ($\lambda_{\max} = 430$ nm) növekvő, majd csökkenő intenzitással. A mérések során pH ~ 4,5-nél a fémion koncentrációjától függően csapadékkiválást tapasztaltak, mely csapadék lúgos pH-n sem oldódott vissza.



1. ábra A V(III)-ion hidrolízisekor képződő részecskék szerkezetei.⁸¹

A V(III)-ion koordinációs kémiája a VO(IV)-ionétól eltérően kationos kémiával írható le, vizes oldatban pH ~ 2 alatt a szabad fémion [V(H₂O)₆]³⁺ akvakomplekként van jelen, szürkészöld színnel.¹⁶ A koordinálódó ligandumok száma 3 – 7 között változhat, a leggyakoribb a 6 koordinációs szám oktaéderes geometriával. Az irodalomban találunk néhány szilárd formában előállított komplexet, melyek szerkezetét röntgendiffrakcióval igazolták. Cisztein esetén oxigén, nitrogén és kén donoratomokon keresztüli koordinációval VL₂ összetételű biszkompleket találtak.⁸² Hisztidinnel lúgos közegben egy V₂L₄H₂ összetétellel leírható oxohidas dimer részecske képződött, amelyben két-két ligandum bidentát, ill. tridentát módon koordinálódik a fémionokhoz, oxigéneken és nitrogéneken keresztül.^{83,84} Az [O,O] típusú koordinációt kialakító pirokatechin, maltol, etil-maltol, kojisav és 1,2-dimetil-3-hidroxi-4(1H)-piridinon,^{6,58} valamint az [O,N_{Ar}] koordinációjú pikolinsav⁸⁵ esetén VL₃ összetételű komplexeket állítottak elő, oktaéderes geometriával. Ezen komplexeknél azt találták, hogy mind a termodinamikai, mind az oxidatív stabilitásuk nagy. Néhány esetben oldategyensúlyi vizsgálatokra is találtak eredményeket hisztidinnel,⁸⁶ ciszteinnel és penicillammal,⁸² valamint néhány egyszerű aminosavval.⁸⁷

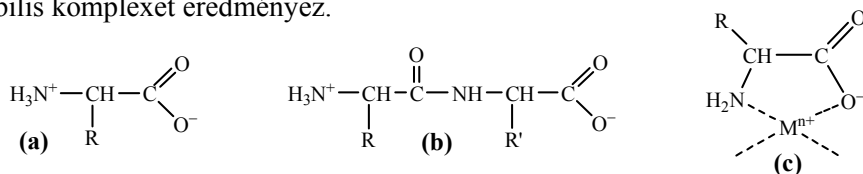
2.2. Az aminosavak és peptidek

2.2.1. Sav – bázis tulajdonságok

Az élő szervezetben előforduló α -aminosavak vizes oldatban ikerionos szerkezetűek, és ha az oldalláncban nincs savas vagy bázikus tulajdonságú csoport, akkor a mérhető pH = 2 – 12 tartományban egy proton felvételére ($pK_{\text{karboxil}} \sim 2 - 2,5$), valamint egy proton leadására ($pK_{\text{amino}} \sim 9 - 10$) képesek (2. ábra). A dipeptidekben ez a két csoport egymástól távolabb helyezkedik el, és a láncban lévő peptidkötés csökkenti a karboxilcsoport savasságát ($pK_{\text{karboxil}} \sim 3$), valamint az aminocsoport bázicitását ($pK_{\text{amino}} \sim 7 - 8$).⁸⁸⁻⁹⁰ A peptidkötésben a karbonilcsoport π -kötése delokalizálódik az OCN atomokon, így a C–N kötés kettős kötés jellegűvé válik (2. ábra). Ennek következtében a peptidkötés a mérhető pH-tartományban semleges, csak nagyon bázikus vagy savas oldatokban viselkedik gyenge savként vagy bázisként.⁹¹ Szintén a delokalizáció miatt a peptidkötés planáris szerkezetű. A peptidlánc hosszának további növelése nem eredményezi a láncvégi csoportok bázicitásának számottevő változását.⁸⁸⁻⁹⁰

2.2.2. Az aminosavak és a peptidváz koordinációs kémiája

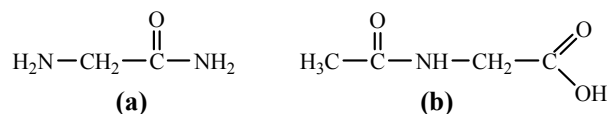
Az aminosavak és peptidek koordinációs kémiáját különböző fémionokkal már számos munkában tanulmányozták.⁹²⁻¹⁰⁰ A képződő komplexek szerkezete, ill. stabilitása a fémion sajátosságaitól, valamint az oldalláncbeli donoresoportok jelenlététől függ. Az oldalláncukban donoresoportot nem tartalmazó α -aminosavak az amino- és karboxilátcsoporthoz keresztül koordinálódva a fémionhoz öttagú kelátgyűrűt alakítanak ki (2. ábra). Ez a szerkezet számos átmenetifémion esetén stabilis komplexet eredményez.



2. ábra Egy aminosav (a) és egy dipeptid (b) általános szerkezeti képlete, illetve egy aminosav [MA] komplexe (c).

A peptidekben az amino- és a karboxilátcsoporthoz a lánc két végén, egymástól távol helyezkedik el, így nincsenek kelátképző helyzetben, az egyidejű koordinációjuk nem valósul meg. A fémion karaktere határozza meg, hogy a két csoport közül melyik lesz az elsődleges fémmegkötő hely. A két láncvég koordinációs kémiai viselkedésének tanulmányozására a legegyszerűbb modellvegyületek a

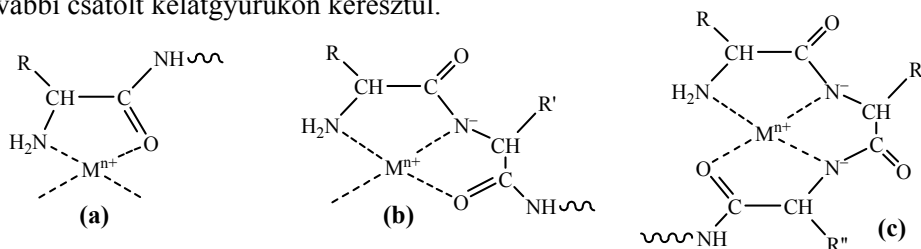
glicinamid¹⁰¹ (az aminosoporra) és az N-acetil-glicin¹⁰² (a karboxilátcsoporra) (3. ábra). Az N-acetil-glicin egyfogú ligandumként a karboxilát-oxigéne keresztül koordinálódik a fémionhoz, és a kialakuló komplex stabilitása igen kicsi. Ez a koordináció nem képes visszaszorítani a fémion hidrolízisét, a pH növelésével hidroxidcsapadék válik le.^{93,102} A glicinamid kétfogú ligandumként viselkedik, az amino-nitrogén és a karbonil-oxigén koordinációjával öttagú kelátgyűrű alakul ki. A komplexek stabilitása a kétértékű 3d átmenetifémionok esetén ezzel a ligandummal nagyobb, mint a monodentát koordinációra képes N-acetil-glicinnel, így a fémion hidrolízise visszaszorítható. A kialakuló kelátgyűrű stabilitása azonban az aminosavakhoz képest kisebb, mivel a fémion koordinációs szférájában a negatív töltésű karboxilát-oxigén helyett itt a semleges karbonil-oxigén található.¹⁰¹ Gyengén bázikus közegben az amid-nitrogén deprotonálódása és koordinációja is bekövetkezik – pl. Cu(II)-ionnal –, kialakítva az ún. peptidszerű koordinációt.



3. ábra A glicinamid (a) és az N-acetil-glicin (b) szerkezeti képlete.

A peptidek esetén a terminális aminosoport az átmenetifémionok elsődleges koordinálódási helye. A glicinamidhoz hasonlóan az amino-nitrogénnel kelátképző helyzetben van a peptidkötés karbonil-oxigénje. Az így kialakuló [MA] összetételű, közepes stabilitású komplex savas pH-tartományban valamennyi vizsgált fémion esetén kimutatható (4/a. ábra). Lúgos közegben azonban csak az amid-nitrogén deprotonálódása és koordinálódása képes visszaszorítani a fémion hidrolízisét. Az irodalomban ismert az, hogy az amid-nitrogén deprotonálódása csak akkor következik be, ha a ligandum az amid-nitrogénnel kelátképző helyzetben tartalmaz egy erősen koordinálódó horgony donorcsoportot. Az, hogy egy ligandum mely csoportja tölti be a horgony szerepét, nagyrészt a fémion sajátosságaitól, hard–soft jellegétől függ. Azon fémionok esetén, melyek képesek az oldalláncban donorcsoportot nem tartalmazó peptidekben az amid-nitrogén deprotonálódását indukálni, a terminális aminosoport a horgonycsoport. Ilyen fémion a Pd(II), Pt(II), Cu(II), Ni(II) és Au(III), melyek jelentősen csökkentik az amid-nitrogén pK-ját, így annak deprotonálódása a mérhető pH-tartományban bekövetkezik. A kialakuló komplex [MAH₁] összetételű (4/b. ábra), és benne a fémionhoz az amino- és az amid-nitrogén mellett a dipeptidek esetén a karboxilát-oxigén, míg oligopeptidek esetén a következő karbonil-oxigén koordinálódik. Az

így kialakuló kettős kelátgyűrű igen nagy stabilitású komplexet eredményez. A pH további növelésével a peptidláncban található második (4/c. ábra) és harmadik amid-nitrogén deprotonálódása és fémionhoz való koordinálódása is bekövetkezik, további csatolt kelátgyűrűkön keresztül.



4. ábra A peptidok [MA] **(a)**, [MAH₋₁] **(b)** és [MAH₋₂] **(c)** komplexeinek szerkezeti képletei.

Vannak olyan fémionok, amelyeknél az aminos csoport nem jó horgony, és ha a peptid oldalláncában nem található valamely más, a fémionhoz erősen koordinálódni képes donatorom, az amid-nitrogén deprotonálódása és koordinációja nem következik be. A VO(IV)-ion megfelelő horgony donorcsoport hiányában szintén nem képes az amid-nitrogén deprotonálódását indukálni.^{103,104} Ezen fémion esetén a szalicil-glicin fenolos hidroxilcsoportja¹⁰⁵ és a 2-merkaptopropionil-glicin tiolátcsoportja¹⁰⁶ bizonyult jó horgony donorcsoportnak.

2.2.3. Az oldallánc hatása a komplexképződésre

A természetben előforduló α -aminosavak oldalláncaikban különböznek egymástól. A fémionhoz nem koordinálódó, ill. gyengén vagy erősen koordinálódó oldalláncokat különböztethetünk meg.

A koordinálódó donoratomot nem tartalmazó oldallánc esetén újabb koordinációs módok kialakulására nincs lehetőség, de az oldalláncnak a képződő komplexek összetételére, ill. stabilitására gyakorolt kismértékű hatása kimutatható.^{93,95} Alifás oldalláncot tartalmazó dipeptideknél – pl. alanin (Ala), leucin (Leu), izoleucin (Ile), valin (Val) – azt találták, hogy az α -szénatom szubsztituense hatással van az [MA] komplexben kialakuló kelátgyűrű stabilitására, valamint az amid-nitrogén deprotonálódására. Ez a hatása függ a szubsztituált aminosav dipeptidben elfoglalt helyétől. Az aromás oldallánc – tirozin (Tyr), fenilalanin (Phe) és triptofán (Trp) esetén – a kialakuló komplexek stabilitását közvetlen elektrosztatikus, aromás gyűrűk között fellépő stacking, vagy hidrofób kölcsönhatásokon keresztül befolyásolhatja. A kialakuló kölcsönhatásokat számos tanulmányban vizsgálták, és azt találták, hogy az oldalláncnak a

komplekxképződésre csak kis hatása van, és a peptidlánc növelésével ez a kölcsönhatás csökken.¹⁰⁷⁻¹¹¹

A prolin (Pro) az egyetlen olyan, fehérjékben előforduló aminosav, amely szekunder aminocsoportot tartalmaz. Ha a peptidlánc N-terminális végén helyezkedik el, akkor horgonycsoportként viselkedhet. Ha a láncban található, a deprotonálódása és koordinációja nem következik be, mivel a peptidkötésben lévő amid-nitrogén nem tartalmaz disszociábilis protont. Ezért a peptidláncban lévő prolin a fémion hatására bekövetkező lépcsőzetes amid-deprotonálódást és koordinációt megállítja.¹¹² Másrészt a prolin a láncban egy törést hoz létre, igen merev szerkezettel. A komplexeikben gyakran alakulnak ki makrokélat szerkezetek, melyekben az aminocsoport mellett a peptidlánc egy távolabbi csoportja koordinálódik.

Abban az esetben, ha az aminosav oldalláncában a fémionhoz koordinálódni képes donoratomb található, az jelentősen módosíthatja a kialakuló komplex szerkezetét illetve a stabilitását,^{113,114} és egyes esetekben felválthatja az aminocsoportot a horgony donorcsoport szerepkörben. Gyengén koordinálódó donorcsoportoknak tekinthető a szerin (Ser) és a treonin (Thr) alkoholos hidroxilcsoportja, a tirozin (Tyr) fenolos hidroxilcsoportja, a lizin (Lys) ϵ -aminocsoportja, illetve az aszparaginsav (Asp) és a glutaminsav (Glu) karboxilátcsoportja. Hatásuk általában N-terminális helyzetben jelentősebb, bár csak kis mértékben növelik a kialakuló komplexek stabilitását, és sokszor nem is mutatható ki a fémionhoz való koordinálódásuk. Számos esetben dimer, vagy polimer részecskék képződését okozhatják, melyben az oldallánc egy másik fémionhoz koordinálódik. A legjelentősebb stabilitásnövelő hatása ezen csoportok közül az Asp és Glu karboxilátcsoportjának van, ahol az aminocsoport és az oldalláncbeli karboxilátcsoport hat- illetve héttagú kelátgyűrűt alakít ki.^{115,116} A metionin (Met) tiétercsoportja soft karakteréből adódóan kifejezetten soft fémionok számára, mint az Ag(I), Pd(II) és Pt(II), elsődleges kötőhelynek tekinthető.

Erősen koordinálódó donorcsoport a hisztidin (His) imidazol-oldallánc és a cisztein (Cys) tiolátcsoportja. Mindkét oldallánc horgonycsoportként is viselkedhet.¹¹⁷⁻¹¹⁹ N-terminális helyzetben meggátolják az amid-nitrogén deprotonálódását és koordinálódását, és stabilis biszkomplexek képződnek hisztaminszerű $[\text{NH}_2, \text{N}_{\text{im}}]$ illetve ciszteinszerű $[\text{NH}_2, \text{S}^-]$ koordinációval. C-terminális, valamint közbelső helyzetben pedig elősegítik az aminosavszekvenciában a megelőző peptidcsoport koordinálódását és megakadályozzák a következő amid-nitrogén deprotonálódását.

2.2.4. Az arginin és arginin tartalmú peptidek

Az arginin (Arg) oldalláncában a nagy térkitöltésű guanidino-csoport található, mely erősen bázikus tulajdonságú ($pK \sim 15$). Ez az aminosav bár számos peptidben megtalálható, koordinációs kémiája az egyik legkevésbé tanulmányozott, így az irodalomban ide vonatkozóan csak néhány eredmény áll rendelkezésre. Az oldallánc komplexképződésben betöltött konkrét szerepét bizonytalanul, ellentmondásokkal írják le, és az összefoglaló tanulmányokban sem definiálják azt egyértelműen. Az egyik tanulmányban egy tizennégy aminosavból álló oligopeptid komplexképződését vizsgálták Cu(II)-ionnal, mely peptid szekvenciájában négy Arg aminosav található, és azt találták, hogy a guanidino-csoport $pH \sim 10$ felett koordinálódik a fémionhoz.¹²⁰ Egy másik munka szerint az oldallánc nem közvetlenül a fémionhoz koordinálódva vesz részt a komplexképződésben, hanem másodrendű kölcsönhatással a pozitív töltésű guanidinium-csoport a láncban található negatív töltésű, nem koordinálódó oldallánccal – elsősorban az Asp és Glu karboxilátcsoportjával – elektrosztatikus kölcsönhatásba lép, ezáltal segítve elő a peptidlánc fémionhoz való koordinálódását.¹²¹ Egyre inkább az a fajta szemlélet az elfogadott az Arg-nel kapcsolatban, miszerint inkább a peptidláncban szerkezetalkító szerepe van a másodlagos kölcsönhatások révén. Tanulmányozták az arginin-vazopresszin (AVP) és néhány származéka komplexképződését Cu(II)- és Ni(II)-ionnal.^{122,123} Az AVP a szervezet által termelt hormon, mely egy diszulfid híddal összekapcsolt gyűrűből áll, és a ProArgGly-NH₂ tripeptidet tartalmazza oldalláncként. Azt találták, hogy a peptid négy nitrogéne keresztül koordinálódik a fémionhoz, és egy igen nagy stabilitású komplex képződik. Az Arg oldallánc koordinációját nem tudták kimutatni. A nagy stabilitást a peptidekben található, a diszulfid híddal körbezárt fémion-kötőhely szerkezetével magyarázták. Ugyancsak tanulmányozták az AsnSerPheArgTyr-NH₂ pentapeptid komplexképzését Cu(II)-ionnal, és az AVP-hez képest egy jóval stabilabb, szintén négy nitrogéne keresztül koordinálódó komplexet találtak, holott a szerkezete teljesen eltér az AVP-tól.¹²⁴ Az eredményt azzal magyarázták, hogy a fémion megkötésében részt nem vevő oldalláncok mintegy körbezárják a fémiont, megakadályozva annak az oldószerrel való érintkezését, ezáltal visszaszorítva a hidrolízisét. A pentapeptid több szubsztituált származékát vizsgálták, és hasonló eredményeket kaptak.¹²⁵ Az utóbbi években egyre több tanulmány jelenik meg az Arg fehérjékben betöltött szerepéről. Az irodalomban ismert, hogy a biológiai folyamatokban a makromolekulák oldalláncai között kialakuló másodlagos kölcsönhatásoknak igen

jelentős szerepe van a molekuláris felismerésben, az enzimátikus reakciókban és a peptid szerkezetének a stabilizálásában.^{126,127} A DNS bázisszekvenciájának a felismerésében fontos szerepet játszó, illetve a DNS szál replikációja során a genetikai információ átadását szabályozó enzimek, az un. „cink ujjak” is tartalmaznak Arg-t.¹²⁸ Egy tanulmány szerint a HIV vírus és a sejtfalon lévő receptor között is kimutatható az Arg guanidino-csoportja és a karboxilátcsoport közötti másodrendű kötés, melyet a molekuláris felismerés egy fontos lépéseként írnak le.¹²⁹ Valamint az is ismert, hogy egyes enzim – szubsztrát komplexek esetén – ilyen pl. a Cu,Zn–szuperoxid diszmutáz és a szuperoxid ion¹³⁰ – az Arg a szubsztrát megkötésében játszik szerepet.

Az amilin egy 37 aminosavból álló polipeptid. A II. típusú cukorbetegség során a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteiben a peptidlánc aggregációja következik be, melynek mechanizmusa és oka eddig még nem ismert. Kimutatták, hogy a humán amilin mind az ember, mind a patkány hasnyálmirigyében található inzulintermelő β -sejtekre mérgező.¹³¹ A patkányból és az emberből izolált amilin a 18. és 23. aminosavban tér el egymástól: míg az emberi amilinben ezen a két helyen His, ill. Phe található, addig a patkányban Arg, ill. Leu. Mivel a His köztudottan jó fémion-megkötő hely, így felvetődhet a patkány amilinjében azonos helyen található Arg szerepe a fémion megkötésében.

2.3. A hidroxámsavak

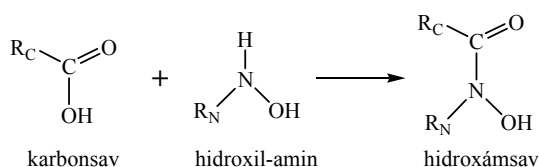
2.3.1. A hidroxámsavak biológiai hatása

A hidroxámsavak csak az utóbbi pár évtizedben kerültek igazán az érdeklődés középpontjába, miután felismerték, hogy bizonyos természetes vegyületek is tartalmaznak hidroxámsavcsoportokat, és néhányat biológiai rendszerekből izolálni is tudtak.¹³² A hidroxámsavaknak számos biológiai hatása ismert, mely szinte minden esetben a vegyület erős kelátképző sajátosságával van összefüggésben. Ilyen az antibiotikus,¹³³ antitumor hatás, ill. a sejtosztódásra és sejtnövekedésre kifejtett hatásuk.¹³⁴⁻¹³⁶ Bizonyos metalloenzimeknek (pl. ureáz,^{137,138} kollagenáz¹³⁹) a hidroxámsavak és az amino-hidroxámsavak (aminosavak hidroxámsavszármazékai) igen hatásos inhibitorai. Az inhibíció mindig az enzim aktív centrumában lévő kétértékű fémion – pl. Ni(II), Zn(II), Co(II), Cu(II), Mn(II) – és a hidroxámsav közötti közvetlen kölcsönhatással magyarázható. A hidroxámsavak egyik legfontosabb biológiai szerepe a sziderofórokhoz köthető. A sziderofórok olyan viszonylag kis molekulatömegű kelátképző vegyületek, melyeket elsősorban

mikroorganizmusok szintetizálnak, és a Fe(III)-ion környezetből való felvételére és tárolására használják.^{133,140} A molekulában általában három kelátképző donorcsoport található, mely csoport a gombák esetén hidroxamát, míg a baktériumokban lehet hidroxamát, pirokatechinszerű vagy α -hidroxi-karboxilát. A mikroorganizmus a sziderofórt vashiányos környezetben termeli és a sejten kívüli térbe juttatja, ahol az a Fe(III)-ionnal nagy stabilitású komplexet képez. A sejtmembrán receptorfehérjéi ezt a komplexet ismerik fel, és a fémion aktív transzporttal jut be a sejten belüli térbe.¹³³ A sziderofórok Fe(III)- és Al(III)-ionnal való igen nagy stabilitású komplexképzését használják a humán gyógyászatban. A Desferal[®] nevű gyógyszer hatóanyaga egy trihidroxámsav típusú sziderofór (DFB), melyet akut vagy krónikus mérgezést okozó Fe(III)- és Al(III)-ionok szervezetből való eltávolítására használják.¹⁴¹

2.3.2. A hidroxámsavak koordinációs kémiája

A hidroxámsavak szerkezetileg a karbonsavakból és a hidroxil-aminból származtathatók (5. ábra). Többnyire aktív acilcsoportot tartalmazó karbonsavszármazékok és hidroxil-amin reakciójával állítják elő.¹⁴² A hidroxamát-nitrogénhez kapcsolódó csoporttól függően beszélhetünk primer (ha $R_N = H$) és szekunder (ha $R_N =$ alkil, aril) hidroxámsavakról. Csoportosíthatók a molekulában található hidroxámsavcsoportok számától függően (mono-, di-, trihidroxámsavak).

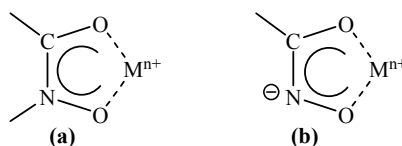


5. ábra A hidroxámsavak általános képlete.

A hidroxámsavak egyértékű gyenge savak ($pK \sim 9$), vizes oldatban az OH-csoport deprotonálódása következik be.¹⁴¹ A kialakuló hidroxamátcsoportban a nitrogén nemkötő elektronpárja részben delokalizálódhat az $N-C=O$ kötéseken. A savi disszociációs állandó értékét a hidroxamát-nitrogéneken található szubsztituensek befolyásolják. Elektronküldő szubsztituensek (pl. metilcsoport) a fenti delokalizációt stabilizálják, így a hidroxámsavcsoport bázicitását, illetve protonálódási állandóját pedig csökkentik.¹⁴¹

A deprotonálódott hidroxamátcsoport a fémionokhoz kizárólagosan oxigéneken keresztül koordinálódik, hidroxamátó-kelátot kialakítva (6/a. ábra), melyet több

fémionnál röntgendiffrakciós vizsgálatokkal bizonyítottak.¹⁴³ Ennek megfelelően a hidroxámsavak főleg oxigén donoratomot kedvelő fémionoknak (pl. Fe(III)-, Al(III)-, Ga(III)-ion) jó ligandumai.^{133,140} Primer hidroxámsavak esetén a kellően nagy stabilitású biszkomplexben pH = 10 felett az oxigéneken keresztül koordinált hidroxamátcsoport nitrogénjének deprotonálódását is kimutatták Cu(II)-ionnal, ahol a nagy stabilitású hidroximáto-kelát alakul ki (6/b. ábra).¹⁴⁴

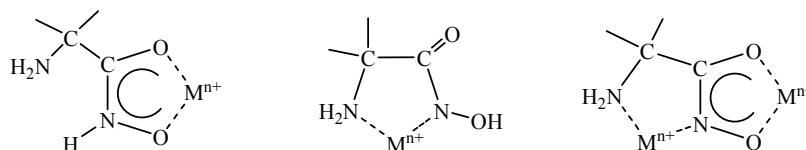


6. ábra A hidroxamát- (a) és a hidroximáto-kelát (b).

A komplexek stabilitása függ a kialakuló hidroxamát-kelát stabilitásától, így a hidroxamátcsoport szén- illetve nitrogénatomján található szubsztituensek a fémkomplexek stabilitását is befolyásolják.^{140,144,145} Azt találták, hogy ha a szubsztituens elektronküldő, akkor az R_C pozícióban kismértékben, míg az R_N pozícióban számottevően növeli a komplexek stabilitását.

Az utóbbi években számos munkában tanulmányozták az aminosavak hidroxámsav-származékait, az amino-hidroxámsavakat. Ezekben a vegyületekben a hidroxámsavcsoport mellett aminocsoport is található. Azért is kerülhettek a figyelem középpontjába, mert mint aminosav-származékok, a természetes anyagokhoz közel állnak, és leírták alkalmazhatóságukat a kemoterápiában, illetve a fémion transzport folyamatok modellezésében.¹⁴³ Mivel az amino- és hidroxámsavcsoport protondisszociációs folyamatai átfednek egymással, így a pH-potenciometriával meghatározott makroállandók egyik donorcsoporthoz sem rendelhetők egyértelműen. $^1\text{H-NMR}$ mérésekkel meghatározták az α -Ala- és β -Ala-hidroxámsav mikroállandóit, és azt kapták, hogy az α -származéknál az aminocsoport bázicitása a hidroxamátcsoportétól valamivel kisebb, míg a β -származéknál fordított tendencia valósul meg.¹⁴⁶ Az N-metil-glicinhidroxámsav esetén az α -Ala-hidroxámsavhoz képest megfordul a bázicitási sorrend, amit a metilcsoport elektronküldő sajátosságával értelmeztek.¹⁴⁷ Az amino-hidroxámsavak esetén a hidroxamát-típusú koordináció mellett, vagy helyett $[N_{\text{amino}}, N_{\text{hidroxamát}}]$ típusú kelát is létrejöhet (7. ábra), így ezen ligandumok jó komplexképzői lehetnek a nitrogén donoratomokat is kedvelő fémionoknak (pl. Cu(II)-, Ni(II)-ion).¹⁴³ Az oxigén donoratomokat kedvelő fémionokkal – Fe(III), Al(III), Ga(III) – csak hidroxamát-típusú koordinációt találtak, viszont a komplexek stabilitása a

megfelelő hidroxámsavéhoz képest kisebb volt, melyet az ammóniumcsoport és a pozitív töltésű fémion között fellépő elektromos taszítással, illetve az aminocsoport elektronszívó sajátsága miatt lecsökkent hidroxamát bázicitással magyaráztak.¹⁴⁸ A Co(II)- és Zn(II)-ionokkal szintén domináns a hidroxamát-oxigén koordináció, de a rendszerben kétmagvú részecskét is feltételeznek, melyben vegyes kötésmód valósul meg, azaz a hidroxamát-típusú koordináció mellett a $[N_{\text{amino}}, N_{\text{hidroxamát}}]$ típusú kelát is kialakul.¹⁴⁹ A Cu(II)-ion esetén kis pH-n a hidroxamátcsoport koordinálódik, majd többmagvú, ESR inaktív részecskék képződnek vegyes kötésmóddal.^{143,149} A Ni(II)-ionok esetén kizárólag nitrogéneken keresztüli koordináció valósul meg, és nagy stabilitású biszkomplex képződik.¹⁴³ A Cu(II)-ionnal β -amino-hidroxámsavakkal leírtak olyan korona típusú vegyületeket, amelyekben négy fémiont és négy ligandumot tartalmazó egység közepébe egy ötödik Cu(II)-ion – vagy akár más fémion is – be tud kötődni.¹⁵⁰



7. ábra Az α -aminohidroxámsavak esetén megvalósuló kötésmódok.

Az irodalomban ismert, hogy a hidroxámsavcsoport komplexképződés közben egyes fémionokat – pl. Fe(II), Mo(V), V(III), V(IV), U(IV)^{7,151,152} – oxidál. A kölcsönhatást szigorúan oxigénmentes körülmények között tanulmányozták, és azt találták, hogy a hidroxámsavból a megfelelő amid képződik. Valószínűsítették, hogy valamennyi fémion esetén az oxidáció előtt kialakul a hidroxamátkomplex.

2.3.3. A peptidhidroxámsavak

A peptidhidroxámsavak olyan hidroxámsav-származékok, ahol a peptidlánc C-terminális végén, a karboxilcsoporton egy hidroxámsavcsoportot alakítunk ki. Ezek a vegyületek biológiai rendszerekben részt vesznek a sejtfelszíni reakciók szabályozásában, valamint egyes metalloenzimek inhibitorai. Ilyen inhibíciós hatást írtak le a kollagenázok mellett a termolizin,^{8,9} az enkefalináz B¹⁰ és az angiotenzin átalakító enzim¹¹ esetén. Az amino-hidroxámsavakhoz hasonlóan alkalmazhatók a kemoterápiában is. Az inhibíciós hatást az enzim aktív centrumában lévő fémion és a hidroxámsavcsoport közötti kölcsönhatás eredményezi. A peptidlánc segítségével ez a kölcsönhatás az enzimekre nézve sokkal inkább specifikussá tehető. A peptidhidroxámsavak érdekessége, hogy

koordinációs kémiai szempontból kétfajta funkciós csoportot tartalmaznak: a hidroxámsavcsoportot, mely elsősorban oxigén donoratomot kedvelő fémionokkal alakít ki erős kölcsönhatást, illetve a peptidvázat, mely a nitrogén donoratomot kedvelő fémionoknak jó komplexképző liganduma.

Ezen vegyületek esetén az oldategyensúlyi vizsgálatok száma az irodalomban meglehetősen kevés, melynek feltehető oka, hogy a vegyületek kereskedelmi forgalomban nem hozzáférhetők. Egy tanulmányban vizsgálták a Z-AlaGlyNHOH származék (Z = benzil-oxikarbonil-csoport) koordinációs kémiai viselkedését különböző fémionokkal, és azt kapták, hogy a ligandum csak a hidroxamátcsoport oxigénjein keresztül koordinálódik a fémionhoz.¹² Egy másik kutatócsoport eredményei azt mutatták, hogy a H-GlyGlyNHOH és H-GlyGlyGlyNHOH peptidhidroxámsavak Fe(III)- és Ni(II)-ion esetén szintén csak a hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordinációval képeznek komplexeket.¹³ Ez elég meglepő eredmény a Ni(II)-ion esetén, hiszen az irodalomban ismert, hogy a Ni(II) a nitrogén donoratomokat kedveli, és ezen ligandumoknál az N-terminálison szabad peptidlánc koordinációját egyáltalán nem tudták kimutatni, még igen nagy ligandumfelesleg mellett sem. Ezzel a munkával ellentétben vannak a H-ProLeuNHOH és a H-ProLeuGlyNHOH származékok esetén kapott eredmények.¹⁴ A vizsgálatokat mindkét ligandumnál Fe(III)-, Zn(II)-, Co(II)-, Cu(II)- és Ni(II)-ionnal végezték, és a következő eredményeket kapták: míg Fe(III)-, Zn(II)- és Co(II)-ionokkal csak a hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordinációt tudták kimutatni, addig a Cu(II)- és Ni(II)-ionoknál bekövetkezett a peptidváz koordinációja is. A Cu(II)-ionnal a komplexképződés a hidroxamátcsoport koordinációjával indult, majd a pH növelésével a koordinációs mód átrendeződött a nitrogénekre, az amino-, amid- és hidroxamát-nitrogének részvételével. A Ni(II) esetén a komplexképződés a Cu(II)-hez képest nagyobb pH-n kezdődött, és érdeklősen hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordináció nem volt kimutatható, a három illetve négy nitrogéneken keresztüli koordinációval kialakuló komplex síknégyszetes geometriájú.

2.4. Célkitűzések

Az inzulinutánczó hatást mutató VO(IV) komplexek esetén az irodalomban számos eredmény található a vegyületek oldategyensúlyi vizsgálatára. Munkánk során ezen a vonalon bekapcsolódva a kutatásokba, a VO(IV)-ion komplexképződésének oldategyensúlyi tanulmányozását terveztük a pikolinsav egy

olyan származékával, ahol a szubsztituens közvetlenül nem vesz részt a kelátképzésben, de hatással lehet a kialakuló komplex stabilitására, illetve a membránon keresztüli transzportjára. A vizsgált ligandum az 5-metoxi-karbonil-pikolinsav volt, amelynél a piridingyűrűn egy elektronszívó észtercsoport található. A ligandum VO(IV)-ionnal képződő törzsrendszerének tanulmányozása mellett terveztük a vérszérumban található kis molekulatömegű, a VO(IV)-ion megkötésére alkalmas biomolekulákkal (oxálsav, tejsav, citromsav és foszforsav) kialakuló vegyes ligandumú rendszerek vizsgálatát is. A terner rendszerek tanulmányozása azért szükséges, hogy modellezni tudjuk a potenciális gyógyszerkészítményként használható VO(IV) komplex vérszérumbeli részecskeeloszlását.

A V(III) inzulinutánzó hatást mutató vegyületei esetén oldategyensúlyi vizsgálatok nem történtek, holott a kialakuló komplexek stabilitásának az ismerete elengedhetetlen a vegyületek szerkezetbeli speciációja modellezésének a megértéséhez. Emellett fontos a fémion kölcsönhatásának tisztázása a szerkezetben nagy mennyiségben előforduló bioligandumokkal, pl. az aminosavakkal és peptidekkel. Munkánk első fázisában terveztük a fémion oxigénmentes körülmények közötti tárolására alkalmas rendszer kiépítését, módszer kidolgozását a V(III) fémtörzsoldat előállítására, illetve a fémion- és savtartalmának a meghatározására. Vizsgálni kívántuk a fémion hidrolízisét a saját mérési körülményeink között. Továbbá céljaink között szerepelt a V(III)-ion komplexképződésének oldategyensúlyi tanulmányozása az inzulinutánzó hatást mutató kismolekulákkal (pikolinsav, 6-metil-pikolinsav, dipikolinsav, 4-hidroxi-dipikolinsav, maltol, 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon és tiron), valamint néhány egyszerű aminosavval és származékaival (glicin, N-acetil-glicin, hisztidin, aszparaginsav és penicillamin).

Az arginin oldalláncában található guanidino-csoport komplexképződésben való részvételének tisztázása céljából munkánk során terveztük olyan, az N- és C-terminális végeken szabad amino- és karboxilcsoportot tartalmazó dipeptidek komplexképződésének szisztematikus oldategyensúlyi tanulmányozását Cu(II)-ionnal, melyek az arginint különböző pozícióban tartalmazzák. Emellett vizsgálni kívántuk a di-, tri- és tetraarginint is. Az oldalláncnak a kialakuló komplexre esetlegesen kifejtett stabilizáló hatását olyan vegyes ligandumú rendszerekben terveztük tanulmányozni, ahol B ligandumként nagy térkitöltésű csoportot tartalmazó vegyületet választottunk (1-metil-uracil, uridin, fenilalanin-etil-észter és

tirozin-metil-észter). Továbbá vizsgálni kívántuk a patkányból izolált amilin fehérje egy arginin tartalmú fragmensét, a 17 – 29. tartományt.

Céljaink között szerepelt olyan modellvegyület tervezése, szintézisének kivitelezése, illetve koordinációs kémiai viselkedésének tanulmányozása, amelynél a peptidláncon a V(III) számára megfelelő horgony donorcsoportot alakítunk ki, elősegítve a peptidlánc fémionhoz való koordinálódását. Ez a vegyületcsalád a peptidhidroxámsavak, melyekre vonatkozó oldategyensúlyi eredményt az irodalomban csak kis számban találhatunk. Ezért terveztük a H-AlaAlaNH₂ és a H-AlaSerNH₂ dipeptid-hidroxámsavak, valamint a H-AlaGlyGlyNH₂ tripeptid-hidroxámsav komplexképződésének szisztematikus oldategyensúlyi tanulmányozását az egyéb, így Fe(III)-, Al(III)-, Zn(II)-, Cu(II)- és Ni(II)-ionok esetén, pH-potenciometriával, illetve a kialakuló komplexek szerkezeteinek meghatározására a fémionoktól függően különböző spektroszkópiás módszerekkel (UV-látható spektrofotometria, ¹H-NMR, ESI-MS, CD és ESR spektroszkópia). Továbbá vizsgálni kívántuk ezen ligandumok szekunder származékait, ahol a hidroxamátcsoport nitrogénjén lévő hidrogént metilcsoportra cseréljük, annak tanulmányozására, hogy ha a hidroxamát-nitrogén fémionhoz való koordinálódására nincs lehetőség, bekövetkezik-e a koordinációs mód átrendeződése a peptidlánc nitrogénjeire. Céljaink között szerepelt a fenti peptidhidroxámsavak N-terminálison védett származékainak vizsgálata is, hogy értelmezni tudjuk, szükség van-e az N-terminális aminocsoportra, mint horgony donorcsoportra, az amid-nitrogének deprotonálódásához, vagy elégséges a peptidlánc C-terminális végén található hidroxámsavcsoport, és a deprotonálódás bekövetkezik a peptidvázon a C-terminális végről elindulva is. A nemvédett származékok esetén várhatóan a ligandumok protonálódási folyamatai az aminosav-hidroxámsavakhoz hasonlóan két, egymással teljesen átfedő folyamatban játszódnak le. Így a pH-potenciometriában meghatározott protonálódási makroállandók mellett terveink között szerepelt a H-AlaAlaNH₂ és a H-AlaSerNH₂ esetén a protonálódási mikroállandók meghatározása ¹H-NMR spektroszkópia segítségével, annak eldöntésére, hogy a molekulában található amino- és hidroxamátcsoport bázicitása hogyan viszonyul egymáshoz.

3. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

3.1. Felhasznált vegyszerek

A vizsgálatainkhoz használt, kereskedelemben kapható ligandumokat a *Sigma*, *Fluka* és *Bachem* cégektől szereztük be. Az 5-metoxi-karbonil-pikolinsavat *Prof. D. Rehder* (Hamburg), az amilin 17–29. peptid fragmenst *Prof. E. Rizzarelli* (Catania) laboratóriumában állították elő. A pH-potenciometriás mérésekhez a ligandumokból további tisztítás nélkül, beméréssel minden nap friss törzsoldatot készítettünk. A ligandumok tisztaságát, ill. a törzsoldatok pontos koncentrációját a ligandum titrálási görbéjének Gran-féle linearizálásával¹⁵³ határoztuk meg.

A kereskedelemben nem kapható peptidhidroxámsavak szintézisének használt *Z-AlaAla-OCH₃-t*, *Z-AlaSer-OCH₃-t* és *Z-AlaGlyGly-OH-t* a *Bachem*, az *N*-hidroxiszukcinimidet, diciklohexil-karbodiimidet, *NH(Me)OH·HCl-t* és *NH₂OH·HCl-t* a *Fluka*, a *Pd/C* katalizátort a *Merck* cégektől vásároltuk, és azokat további tisztítás nélkül használtuk. A szintézishez felhasznált valamennyi szerves oldószert a *Fluka* cégtől szereztük be. A metanol tisztítását és szárítását az irodalomban leírt módon végeztük.¹⁵⁴ A vegyületeket klasszikus, oldatfázisú laboratóriumi szintézissel állítottuk elő, *N₂* atmoszférában. A reakció lejátszódását vékonyréteg kromatográfiával követtük (futtatószer: metanol/víz (9/1) elegye, előhívás: UV fény, ill. *FeCl₃* oldat permete). A *Z*-védett és a redukció utáni termékek tisztaságát ¹H-NMR-rel és pH-potenciometriás titrálással is ellenőriztük.

Z-AlaAlaNH₂OH: az *absz.* metanolban (4 cm³) feloldott és 0 °C-ra lehűtött *NH₂OH·HCl*-hoz (290 mg, 4,17 mmol) *N₂* atmoszféra alatt hozzáadtuk bázisként az 5,2 mol/dm³ *NaOCH₃* oldatot (1,33 cm³, 6,92 mmol). Az elegyet a kiváló *NaCl*-től Schlenk technikával a *Z-AlaAla-OCH₃* (1,157 g, 3,75 mmol) *absz.* metanolos oldatához (4,5 cm³) szűrtük, majd *N₂* atmoszféra alatt, 5 órán keresztül 0 °C-on kevertettük. A reakcióelegyhez 8 cm³ desztillált víz és 10 cm³ 1 mol/dm³ sósavoldat elegyét adtuk. A kapott tiszta oldatot egy éjszakán keresztül 4 °C-on tartottuk. A kivált kristályos, fehér nyersterméket szűrtük és víz/metanol (6/4) elegyből átkristályosítottuk. Kitermelés: 577 mg (48 %).

Analízis: ¹H-NMR (360 MHz, *D₂O/DMSO-d₆* (6/1)) δ : 7,42 (5H, m, *C₆H₅*); 5,12 (2H, s, *C₆H₅CH₂*); 4,22 (1H, q, CH); 4,10 (1H, q, CH); 1,35 (3H, d, *CH₃*); 1,32 (3H, d, *CH₃*). MS (ESI) *m/z* (%): 332,133 (100) [*M+Na*]⁺ (elméleti: [*C₁₄H₁₉N₃O₅Na*]⁺ 332,122), 641,267 (29) [*2M+Na*]⁺).

H-AlaAlaNHOH·HCl: a Z-AlaAlaNHOH-t (550 mg, 1,78 mmol) *absz.* metanol (20 cm³) és metanolos sósavoldat (1,06 mol/dm³, 2 cm³) elegyében feloldottuk, majd Pd/C katalizátort (10 %(m/m)) adva hozzá H₂ gáz túlnyomással, 5 órán keresztül redukáltattuk. A reakcióelegyből a katalizátort kettős redősszűrővel kiszűrtük, az oldatot vákuumon (40 °C) szárazra pároltuk. A kapott termék fehér kristályos, finom eloszlású, higroszkópos. Kitermelés: 335 mg (89 %).

Analízis: ¹H-NMR (360 MHz, D₂O) δ: 4,26 (1H, q, CH); 4,08 (1H, q, CH); 1,53 (3H, d, CH₃); 1,39 (3H, d, CH₃). MS (ESI) *m/z* (%): 143,094 (99) [M-NHOH+H]⁺ 176,118 (100) [M+H]⁺ (elméleti: [C₆H₁₄N₃O₃]⁺ 176,103), 198,101 (12) [M+Na]⁺.

Z-AlaSerNHOH: a Z-AlaAlaNHOH előállításánál leírt lépéseken keresztül az *absz.* metanolban (7 cm³) feloldott és lehűtött NH₂OH·HCl-hoz (472 mg, 6,79 mmol) hozzáadtuk az 5,2 mol/dm³ NaOCH₃ oldatot (2,19 cm³, 11,39 mmol) és a Z-AlaSer-OCH₃ (2,00 g, 6,17 mmol) *absz.* metanolos oldatát (10 cm³). A reakcióelegyhez 9 cm³ desztillált víz és 11 cm³ 1 mol/dm³ sósavoldat elegyét adtuk. Az oldószer felét vákuumban bepároltuk, és az oldatot egy éjszakán keresztül 4 °C-on tartottuk. A kivált kristályos, fehér nyersterméket szűrtük és víz/metanol (6/4) elegyből átkristályosítottuk. Kitermelés: 836 mg (42 %).

Analízis: ¹H-NMR (360 MHz, D₂O/DMSO-d₆ (6/1)) δ: 7,42 (5H, m, C₆H₅); 5,13 (2H, s, C₆H₅CH₂); 4,34 (1H, t, CH); 4,16 (1H, q, CH); 3,79 (2H, d, CH₂); 1,35 (3H, d, CH₃). MS (ESI) *m/z* (%): 348,134 (100) [M+Na]⁺ (elméleti: [C₁₄H₁₉N₃O₆Na]⁺ 348,117), 673,266 (27) [2M+Na]⁺.

H-AlaSerNHOH·HCl: a vegyület előállítása a H-AlaAlaNHOH·HCl-nál leírt lépéseken keresztül, a Z-AlaSerNHOH (500 mg, 1,54 mmol) redukciójával történt. Kitermelés: 328 mg (94 %).

Analízis: ¹H-NMR (360 MHz, D₂O) δ: 4,40 (1H, t, CH); 4,14 (1H, q, CH); 3,83 (2H, d, CH₂); 1,55 (3H, d, CH₃). MS (ESI) *m/z* (%): 120,075 (40) [M-COCH(CH₃)NH₂+H]⁺, 131,090 (61) [M-CONHOH+H]⁺, 159,086 (100) [M-NHOH+H]⁺, 192,109 (83) [M+H]⁺ (elméleti: [C₆H₁₄N₃O₄]⁺ 192,098), 214,098 (5) [M+Na]⁺, 383,199 (19) [2M+H]⁺.

Z-AlaAlaN(Me)OH: az NH(CH₃)OH·HCl-ot (363 mg, 4,35 mmol) N₂ atmoszféra alatt *absz.* metanolban (7,5 cm³) feloldottuk, 0 °C-ra lehűtöttük, hozzáadtuk a 3 mol/dm³ NaOCH₃ bázis oldatot (2,40 cm³, 7,40 mmol) és a szilárd Z-AlaAla-OCH₃-t (1,16 g, 3,76 mmol). Az elegyet N₂ atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten 6 órán keresztül kevertettük, majd 2 cm³ desztillált víz és 3 cm³ 2 mol/dm³ sósavoldat elegyét adtuk hozzá. A tiszta oldat etil-acetáttal történő extrakciója (3x15 ml) után a szerves fázist 0,2 mol/dm³ NaOH oldattal (3x5 ml) extraháltuk,

majd a vizes fázist 2 mol/dm^3 sósavoldattal gyorsan átsavanyítva, azt újból etil-acetáttal extraháltuk (5x20 ml). Az utóbbi szerves fázist egy éjszakán keresztül Na_2SO_4 -on szárítottuk. A Na_2SO_4 -ot kiszűrtük, majd az oldatot vákuumban szárazra pároltuk. Kitermelés: 662 mg (54 %).

Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O) δ : 7,43 (5H, m, C_6H_5); 5,13 (2H, s, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$); 5,03 (1H, q, CH); 4,13 (1H, q, CH); 3,24 (3H, s, NCH_3); 1,34 (6H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 324,156 (6) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 346,140 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (elméleti: $[\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}]^+$ 346,137), 669,288 (15) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

H-AlaAlaN(Me)OH·HCl: a vegyület előállítását a H-AlaAlaNH₂·HCl-nél leírt lépéseken keresztül, a Z-AlaAlaN(Me)OH (170 mg, 0,53 mmol) redukciójával történt. A termék finom eloszlású, fehér kristályos. Kitermelés: 109 mg (92 %).

Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O) δ : 4,95 (1H, q, CH); 4,09 (1H, q, CH); 3,26 (3H, s, NCH_3); 1,54 (3H, d, CH_3); 1,37 (3H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 175,111 (57) $[\text{M}-\text{CH}_3+\text{H}]^+$, 190,121 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$ (elméleti: $[\text{C}_7\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3]^+$ 190,119), 212,102 (9) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

Z-AlaSerN(Me)OH: a Z-AlaAlaN(Me)OH előállításánál leírt lépéseken keresztül az $\text{NH}(\text{CH}_3)\text{OH}\cdot\text{HCl}$ -ot (350 mg, 4,19 mmol) absz. metanolban (7 cm^3) feloldottuk, majd hozzáadtuk az $5,2 \text{ mol/dm}^3$ NaOCH_3 bázis oldatot ($1,35 \text{ cm}^3$, 7,02 mmol) és a szilárd Z-AlaSer-OCH₃-t (1,22 g, 3,76 mmol). A reakcióelegyhez desztillált víz (4 cm^3) és 1 mol/dm^3 sósavoldat (5 cm^3) elegyét adva, az oldószer felét vákuumon bepárooltuk. Az elegyet a Z-AlaAlaN(Me)OH esetén leírt lépéseken keresztül dolgoztuk fel. A kapott fehér színű, porszerű anyagot forró acetonitrilből való átkristályosítással tisztítottuk. Kitermelés: 610 mg (48 %).

Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O) δ : 7,43 (5H, m, C_6H_5); 5,14 (2H, s, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$); 5,08 (1H, t, CH); 4,21 (1H, q, CH); 3,85 (2H, d, CH_2); 3,26 (3H, s, NCH_3); 1,38 (3H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 362,135 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (elméleti: $[\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}]^+$ 362,132), 378,109 (10) $[\text{M}+\text{K}]^+$, 701,278 (12) $[2\text{M}+\text{Na}]^+$.

H-AlaSerN(Me)OH·HCl: a vegyület előállítását a H-AlaAlaNH₂·HCl-nél leírt lépéseken keresztül, a Z-AlaSerN(Me)OH (400 mg, 1,18 mmol) redukciójával történt. A katalizátor kiszűrése után, az oldatot bepároolva olajszerű terméket kaptunk, melyet dietil-éterrel, majd acetonitrillel kezeltük, vákuumban ($50 \text{ }^\circ\text{C}$) szárítottuk. A termék fehér, higroszkópos. Kitermelés: 254 mg (89 %).

Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O) δ : 5,11 (1H, t, CH); 4,15 (1H, q, CH); 3,88 (2H, d, CH_2); 3,26 (3H, s, NCH_3); 1,55 (3H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 191,104

(36) $[M-CH_3+H]^+$, 206,115 (100) $[M+H]^+$ (elméleti: $[C_7H_{16}N_3O_4]^+$ 206,114), 228,096 (7) $[M+Na]^+$.

Z-AlaGlyGlyNHOH: a reakció első lépésében a Z-AlaGlyGly-OH-t (2,0 g, 5,93 mmol) dimetil-formamidban (DMF) (10 cm³) feloldottuk, majd hozzáadtuk az N-hidroxi-szukcinimidet (HO-Succ) (700 mg, 6,08 mmol) és a diciklohexil-karbodiimidet (1,22 g, 5,91 mmol). A reakcióelegyet egy napon keresztül N₂ atmoszféra alatt, szobahőmérsékleten kevertettük. A melléktermékként képződő diciklohexil-karbamidot az oldatból kiszűrtük. Az oldószert vákuumban bepároltuk, majd toluolt adva a maradékhoz, azt szárazra pároltuk. A sárgás olajszerű anyagot dietil-éterrel átdörzsölve a kristályos, fehér Z-AlaGlyGly-OSucc köztiterméket kaptuk. Kitermelés: 2,56 g (96 %).

A második lépésben a Z-AlaGlyGly-OSucc-ot (1,0 g, 2,30 mmol) *absz.* DMF-ben (8 cm³) feloldottuk, majd az oldatot 0 °C-ra lehűtöttük. Az NH₂OH·HCl-ot (320 mg, 4,60 mmol) *absz.* DMF-ben (12 cm³) feloldottuk, 0 °C-ra lehűtöttük és hozzáadtuk a trietil-amin bázist (0,63 cm³, 4,53 mmol). A második oldatot 15 perc kevertetés után, Schlenk technikával az első oldathoz szűrtük, majd két napon keresztül N₂ atmoszféra alatt, 0 °C-on tartva kevertettük. Az oldószert vákuumban lepároltuk, majd a maradékhoz toluolt (2x2 ml) adva újra bepároltuk. A kapott olajat telített NaCl oldatban (15 ml) feloldottuk, majd etil-acetáttal extraháltuk (7x35 ml). A szerves fázist Na₂SO₄-on szárítottuk. A Na₂SO₄-ot kiszűrve, az etil-acetátot kb. harmadára vákuumban bepárolva az oldatból nyerstermék vált ki, melyet forró acetonitrilből való átkristályosítással tisztítottunk. Kitermelés: 417 mg (51 %).

Analízis: ¹H-NMR (360 MHz, DMSO-d₆) δ : 10,58 (1H, s, OH); 8,97 (1H, s, CONHOH); 8,24 (1H, t, NH); 8,16 (1H, t, NH); 7,66 (1H, d, NH); 7,49 (5H, m, C₆H₅); 5,16 (2H, m, C₆H₅CH₂); 4,20 (1H, q, CH); 3,86 (2H, d, CH₂); 3,76 (2H, d, CH₂); 1,35 (3H, d, CH₃). MS (ESI) *m/z* (%): 375,132 (100) $[M+Na]^+$ (elméleti: $[C_{15}H_{20}N_4O_6Na]^+$ 375,128), 727,273 (46) $[2M+Na]^+$.

H-AlaGlyGlyNHOH·HCl: a vegyület előállítására a H-AlaAlaNHOH·HCl-nál leírt lépéseken keresztül, a Z-AlaGlyGlyNHOH (527 mg, 1,50 mmol) redukciójával történt. A katalizátor kiszűrése után, az oldatot bepárolva olajszerű terméket kaptunk, mely vákuumban (40 °C) szárítva lassan átkristályosodott. A nyersterméket metanol/dietil-éter elegyből történő átkristályosítással tisztítottuk. Fehér, kristályos, higroszkópos anyag. Kitermelés: 125 mg (33 %).

Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O) δ : 4,16 (1H, q, CH); 4,06 (2H, s, CH_2); 4,03 (2H, s, CH_2); 1,56 (3H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 219,109 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$ (elméleti: $[\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_4]^+$ 219,109), 241,091 (4) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 437,213 (22) $[\text{2M}+\text{H}]^+$.

Z-AlaGlyGlyN(Me)OH: a reakció első lépésében a Z-AlaGlyGly-OSucc észtert a Z-AlaGlyGlyNHOH előállításánál leírt lépéseken keresztül állítottuk elő. A második lépésben a Z-AlaGlyGly-OSucc-ot (600 mg, 1,38 mmol) *absz.* dimetil-formamidban (10 cm^3) feloldottuk, majd 0 °C-ra lehűtöttük. A $\text{NH}(\text{CH}_3)\text{OH}\cdot\text{HCl}$ -ot (235 mg, 2,81 mmol) *absz.* dimetil-formamidban (5 cm^3) feloldottuk, 0 °C-ra lehűtöttük és hozzáadtuk a trietil-amin bázist (0,38 cm^3 , 2,73 mmol). 15 perces kevertetés után a második oldatot Schlenk technikával az első oldathoz szűrtük, majd két napon keresztül N_2 atmoszféra alatt, 0 °C-on tartva reagáltattuk. A reakció lejátszódása után az oldószert vákuumon lepároltuk, majd a maradékhoz toluolt (2x2 ml) adva újra bepároltuk. A bepárlás után visszamaradt nyersterméket forró etil-acetátból való átkristályosítással tisztítottuk, a terméket szűrtük és hexánnal mostuk. Kitermelés: 152 mg (30 %).

Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, DMSO-d_6) δ : 10,09 (1H, s, OH); 8,29 (1H, t, NH); 7,96 (1H, t, NH); 7,65 (1H, d, NH); 7,47 (5H, m, C_6H_5); 5,13 (2H, m, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$); 4,19 (1H, q, CH); 4,09 (2H, s, CH_2); 3,85 (2H, s, CH_2); 3,21 (3H, s, NCH_3); 1,33 (3H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 389,145 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (elméleti: $[\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6\text{Na}]^+$ 389,143), 405,119 (5) $[\text{M}+\text{K}]^+$, 755,298 (45) $[\text{2M}+\text{Na}]^+$.

H-AlaGlyGlyN(Me)OH·HCl: a vegyület előállítása a H-AlaAlaNH $\text{OH}\cdot\text{HCl}$ -nál leírt lépéseken keresztül, a Z-AlaGlyGlyN(Me)OH (350 mg, 0,96 mmol) redukciójával történt. A katalizátor kiszűrése után, az oldatot bepárolva olajszerű terméket kaptunk, mely vákuumon (40 °C) szárítva lassan átkristályosodott. A termék fehér, kristályos. Kitermelés: 200 mg (78 %).

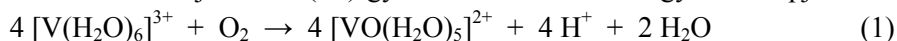
Analízis: $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O) δ : 4,14 (1H, q, CH); 4,07 (2H, s, CH_2); 4,05 (2H, s, CH_2); 3,25 (3H, s, NCH_3); 1,56 (3H, d, CH_3). MS (ESI) m/z (%): 233,123 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$ (elméleti: $[\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_4]^+$ 233,124), 255,104 (10) $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 465,241 (30) $[\text{2M}+\text{H}]^+$.

A fémtörzsoldatokat a *Reanal* cégtől vásárolt $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ és $\text{NiCl}_2\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a.l.t. minőségű vegyszerből kétszer desztillált vízben, ill. az $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ és ZnO ismert mennyiségű sósavban való feloldásával készítettük. A sósavra a fémionok hidrolízisének visszaszorítása miatt volt szükség. A törzsoldatok pontos koncentrációjának meghatározása 8-hidroxi-kinolinnal gravimetriásan történt

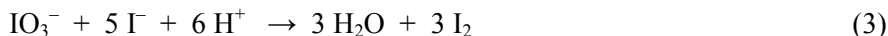
oxinát formájában, a Fe(III) esetén oxid formájában.¹⁵⁵ Az oldatok savtartalmát pH-potenciometriás méréssel határoztuk meg.

A VO(IV)-perklorát oldatot a *Nagypál és Fábián* módszerével¹⁵⁶ előállított fémtörzsoldatból hígítva használtuk, melynek pontos koncentrációját permanganometriás titrálással, ICP–AES és spektrofotometriás méréssel is meghatároztuk. A permanganometriás titrálás kénsavas közegben, katalitikus mennyiségű MnSO₄ jelenlétében, 60 – 80 °C-on történt. A spektrofotometriás és az ICP–AES mérésekhez kalibráló egyenest vettünk fel, melyhez fém vanádiumot (*Sigma*, 99,7 %) kevés cc. salétromsavban feloldva törzsoldatot készítettünk. A fotometria esetén a kalibráló és a mérendő oldatokat úgy állítottuk össze, hogy tartalmazták a VO(IV) oldatot, azonos mennyiségben ~ 20 %-os kénsav oldatot, és telített aszkorbinsav oldatot a mintában esetlegesen előforduló V(V) redukálásához, majd a térfogatokat pontosan 10,00 cm³-re egészítettük ki. A VO(IV) oldat savtartalmát az Irving-féle savkorrekciós módszerrel¹⁵⁷ határoztuk meg.

A V(III) oldatot a kereskedelemben kapható szilárd vanadil-klorid (*Reanal*) kétszer desztillált vízben való oldásával készítettük ~0,1 mol/dm³ sósavtartalom mellett úgy, hogy finom eloszlású palládium katalizátor jelenlétében H₂ gázt buborékolattunk át az oldaton, két napon keresztül. A redukció végbemeneteléről az oldatból vett kis mennyiségű minta spektrofotometriás mérésével győződünk meg. A redukció során a VO(IV)-ion kék színe ($\lambda_{\max} = 760$ nm) folyamatosan átment a V(III)-ion szürkészöld színébe ($\lambda_{\max} = 397$ és 588 nm). A V(III) oldatot a fémion oxidációra való hajlama miatt Schlenk technikával juttattuk a speciálisan kialakított tárolóedénybe, ahol azt oxigéntől teljesen elzárva, savas króm(II)-kloridot tartalmazó gázmosókon oxigénmentesített argon gáz alatt tároltuk. Az oldat rendszerben történő mozgatása és kimérése argon túlnyomás segítségével történt. A minta teljes fémion koncentrációját a VO(IV) oldatnál leírt módszerekkel (permanganometria, spektrofotometria, ICP–AES) határoztuk meg úgy, hogy a V(III) oldat ismert mennyiségét több napig levegőn, mágneses keverővel kevertetve teljesen VO(IV)-gyé oxidáltuk az alábbi egyenlet alapján:



A törzsoldat pontos V(III)-ion koncentrációját közvetlenül is meg tudtuk határozni jodometriás titrálással,¹⁵⁸ ahol a fémiont ismert mennyiségű oxigénmentes kálium-jodát oldattal VO(IV)-gyé oxidáltuk, miközben jód keletkezett. A jodát feleslegét joddal jóddá redukáltuk. A végbemenő reakciók egyenletei a következők:



Az összes képződő jód mennyiségét nátrium-tioszulfát mérőoldattal meghatározva az eredeti V(III) oldat fémiontartalma számolható. Az így kapott fémion koncentráció jó egyezésben volt a permanganometriás és a spektrofotometriás mérés eredményével. A V(III) oldat savtartalmát úgy határoztuk meg, hogy a fémiont a hidrolízisre való erős hajlama miatt levegőn VO(IV)-gyé oxidáltuk (1. egyenlet), majd a savtartalmat a VO(IV)-ion esetén alkalmazott Irving-féle savkorrekciós módszerrel¹⁵⁷ mértük. Az oxidáció során keletkezett savmennyiséget a törzsoldat savtartalmának számolásánál figyelembe vettük.

A fémionok hidrolízisét a saját vizsgálati körülményeink között külön csak a V(III)-ion esetén tanulmányoztuk. Hidrolitikus folyamat valamennyi vizsgált fémionnál lehetséges,¹⁵⁹ azonban számottevő mennyiségben már kis pH-kon is oldékony hidroxokomplexek a VO(IV)-, V(III)-, Fe(III)- és Al(III)-ion esetén képződnek, melyekre vonatkozó hidrolízis állandókat az irodalomban megtalálhatjuk.^{61-62,81,160,161} A számolások során ezen fémionoknál a hidroxokomplexeket rögzített stabilitási állandókkal (a Davies egyenlet segítségével 0,2 mol/dm³ ionerősségre átszámolva) mindig figyelembe vettük, a V(III)-ion esetén az általunk meghatározott stabilitási állandókat használva.

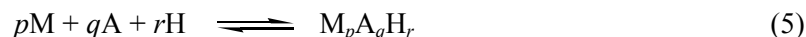
Az ionerősséget valamennyi vizsgált mintában KCl oldattal 0,2 mol/dm³ értékre állítottuk be. A titrálásokhoz 0,2 mol/dm³ koncentrációjú karbonátmentes (a V(III) esetén végzett méréseknél karbonát- és oxigénmentes) KOH oldatot használtunk, melynek pontos koncentrációját 0,0500 mol/dm³ kálium-hidrogén-ftalátra (a.l., *Reanal*) határoztuk meg. A 0,2 mol/dm³ koncentrációjú HCl mérőoldatot koncentrált sav hígításával készítettük, és pontos koncentrációját a már ismert töménységű lúggal mértük.

3.2. A vizsgálati módszerek elvi alapjai, alkalmazott kísérleti körülmények

3.2.1. pH-potenciometria

Az oldatfázisban lejátszódó komplexképződési folyamatok egyensúlyi vizsgálatának legáltalánosabb kísérleti módszere a pH-potenciometria. Alkalmazhatóságának feltétele, hogy a ligandumhoz koordinálódó fémion hatással legyen annak protonálódási egyensúlyára, azaz a komplexképződés pH-effektussal járjon. A ligandum gyenge bázis, ezért a komplexképződés kompetitív reakciót

jelent a H^+ -ion és a fémion között. Így a pH méréséből következtetni lehet a képződő komplex(ek) stabilitására. A komplexképződésre az alábbi általános egyensúly írható fel (a töltésektől az egyszerűség kedvéért eltekintünk):



A pH-potenciometriás vizsgálat célja a képződő asszociátumok összetételének és stabilitási állandóinak a meghatározása. A részecskék stabilitási szorzata a következő egyenlettel írható fel:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pA_qH_r]}{[M]^p[A]^q[H]^r} \quad (6)$$

A kísérleti adatokból a stabilitási szorzatokat a PSEQUAD¹⁶² nevű számítógépes programmal számítottuk ki. Az értékelések során komponensként szerepeltek: a fémion (M), a teljesen deprotonált ligandum (A) és a proton (H). A mintához adott mérőoldat térfogat – pH kísérleti adatpárokon kívül bemenő adatként meg kell adnunk az asszociátumok (különböző protonáltsági fokú ligandum, $M_pA_qH_r$ fémkomplexek és hidroxokomplexek) számát, az asszociátumok összetételét, a komponensek kiindulási teljes koncentrációját, az ismert és az ismeretlen (közelítő) stabilitási szorzatokat, illetve különböző állandókat, pl. a mérőoldat koncentrációját, a vízionszorzatot és az Irving-féle korrekciós tényezőt.¹⁶³ A program a keresett stabilitási szorzatokat az M, A és H komponensekre felírt anyagmérlegek (7–9. egyenletek) megoldásával adja, ahol n a rendszerben képződő asszociátumok számát, p , q , r a sztöchiometriai együtthatókat jelöli. Amennyiben vegyes ligandumú rendszereket vizsgálunk, a komponensek száma eggyel nő a második (B) ligandum miatt, így az anyagmérleg négy komponensre írható fel.

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

$$c_A = [A] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [A]_i^q [H]_i^r \quad (8)$$

$$c_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{pqr} [M]_i^p [A]_i^q [H]_i^r \quad (9)$$

A program a kiindulási adatok figyelembevételével, Newton–Raphson iterációval végzi a közelítést mindaddig, míg a mérőoldatra nézve a $\Sigma(V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}})^2$ értéke minimumot ad (V a mérőoldat térfogata). Valamennyi 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 $|V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}}|$ értékek átlagát (illesztési paraméter), 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. A ligandumok protonálódási állandóinak meghatározására minden esetben a SUPERQUAD¹⁶⁴ nevű programot használtuk, aminek további előnye, hogy a protonálódási állandó értéke mellett lehetőség van a ligandum- és a protonkoncentrációk finomítására is. A kapott stabilitási állandó értékek alapján a rendszerre jellemző koncentráció-eloszlási görbéket a SED és a CED program¹⁶⁵ segítségével szerkesztettük meg.

A pH-potenciometriás mérésekkel nyert információk alapvető fontosságúak a komplexkémiai vizsgálatokban, de sok esetben azokból egyértelmű következtetések nem vonhatók le. Előfordulhat, hogy egy rendszer több, kémiaileg reális modellel is egyformán jól leírható, vagy két részecske képződése azonos pH-effektussal jár és ezzel a módszerrel egymástól nem különböztethetők meg. Továbbá, a meghatározott stabilitási állandók nem adnak felvilágosítást arról, hogy a képződő komplexekben milyen kötési mód valósul meg, milyen a komplex geometriája. Ilyenkor más, szerkezeti információkat is nyújtó vizsgálatok szükségesek (pl. UV-látható spektrofotometria, CD vagy ESR spektroszkópia) a pH-potenciometriás mérések eredményeinek a kiegészítésére.

A pH-potenciometriás mérésekhez *Radiometer PHM 84* pH-mérőt, *Radiometer ABU 80* illetve *Metrohm 715 Dosimat* típusú automata bürettát és *Metrohm 6.0234.100*, valamint csiszolatos *Metrohm 6.0233.100* kombinált üvegelektrodát használtunk. A kisebb mennyiségben rendelkezésre álló ArgArgArg és ArgArgArgArg vizsgálata során egy számítógép által vezérelt *MOLSPIN pH-meter* készüléket használtunk, melyhez automata *MOL-AcS* büretta és egy *Metrohm 6.0234.110* típusú kombinált üvegelektrod kapcsolódott. A KOH oldatot 1 cm³ végtérfogatú *Hamilton* fecskendőből adagoltuk.

A mérőrendszer hitelesítése 0,0500 mol/dm³ koncentrációjú KH-ftalát oldatra (t = 25,0 °C, pH = 4,005), valamint a vízionszorzat (I = 0,2 mol/dm³, t = 25,0 °C, pK_w

= $13,756 \pm 0,01$) értékére történt. A mért pH értékből a hidrogénion-koncentráció számolására az Irving és munkatársai által javasolt módszert alkalmaztuk.¹⁵⁷

Valamennyi általunk vizsgált rendszert vizes oldatban tanulmányoztuk. Az egyensúlyi méréseknél a minták hőmérséklete $25,0 \pm 0,1$ °C volt, melyet *ultratermosztáttal* tartottunk állandó értéken. A méréseket argon atmoszféra alatt végeztük, ahol a gáz a mintán átburorékolva egyben a kevertetést is biztosította.

A V(III)-ionot tartalmazó minták esetén az egyensúlyi mérések kivitelezésénél különös gonddal kellett eljárunk a fémion oxidációra való hajlama miatt. Ezért a mérések kivitelezése O₂ és CO₂ mentes körülményeket biztosító, általunk speciálisan kialakított csiszolatos titrálóedényekben történt, tisztított argon atmoszféra alatt. A titrálások elindítása előtt a mintákat még kb. 20 percig argonoztuk, mielőtt a fémiont hozzámértük. A keverést az argon gáz buborékoltatása mellett mágneses keverővel is elősegítettük.

A pH-potenciometriás méréseket a lehetséges pH = 2,0 – 11,5 tartományban végeztük, mivel ebben a tartományban hanyagolható el a diffúziós potenciálok különbsége az alkalmazott kombinált üvegelektrod esetén. Csapadékképződésnél a pH-tól függetlenül abba hagytuk a titrálást. A mérésekhez elkészített minták 3, 4, 5, 10 illetve 20 cm³ térfogatúak voltak a mérőrendszerből, ill. a rendelkezésünkre álló ligandumok mennyiségétől függően. A mintákban a ligandum mennyisége $2 \cdot 10^{-3}$ – $4 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ között változott. A ligandumok savi disszociációs állandóit külön titrálásokban, csak a ligandumot tartalmazó mintákban határoztuk meg. A komplexképződés tanulmányozása során a fém – ligandum arány 1:1 és 1:5 között változott, a peptidhidroxámsavak esetén Cu(II)-ionnal mért fémfelesleges rendszerek 1,2:1 és 1,5:1 arányúak voltak. A VO(IV)-gyel mért egyes ligandumú rendszereknél 1:1:1, 1:2:2, 1:1:2, 1:2:1 fém – A – B ligandum arányok mellett végeztük a méréseket.

3.2.2. UV-látható spektrofotometria

UV-látható spektrofotometriás méréseket Cu(II)-, Ni(II)-, Fe(III)- és V(III)-komplexekkel végeztünk. Ezen fémionoknak az elektronszerkezetükből adódóan jellegzetes, d–d átmenetekhez tartozó elnyelésük van elsősorban a látható hullámhossztartományban.¹⁶⁶ Az átlagos környezeti szabálynak megfelelően egy adott fémion esetén az elektronabszorpciós spektrum elnyelési maximuma (λ_{\max}) alapvetően függ a fémionhoz koordináló donoratomok típusától és a komplex geometriájától.⁹³ Így a kapott spektrumok elemzésével a képződött komplexek

szerkezetére, geometriájára, valamint a koordinálódó donortomok számára és minőségére következtethetünk.

A tetragonálisan torzult oktaédes geometriájú Cu(II)-komplexek esetén az 2E_g alap- és a ${}^2T_{2g}$ gerjesztett állapotú energiaszintek felhasadnak – a gyenge és az erős terű ligandumokkal különbözőképpen, de mind a két esetben négyfelé –, és az így létrejött szintek között háromféle d–d átmenet lehetséges. Ezek az átmenetek gyakran egyetlen sávva olvadnak össze, és az energiájukat, ill. az intenzitásukat nagyban befolyásolja a koordinált donortomok száma és minősége. Abban az esetben, ha nincs számottevő axiális koordináció, a Cu(II)-komplexek várható abszorpciós maximuma számolható a Sigel és Martin által felírt empirikus egyenlettel (10. egyenlet),⁹³ melyben nagyszámú spektrofotometriás mérés alapján számos aminosav és peptid jellemző donortomjainak adták meg az un. hozzájárulási tényezőit (x_i).^{93,167}

$$\lambda_{\max} = \frac{1000}{\sum_{i=1}^4 x_i} \quad [\text{nm}] \quad (10)$$

ahol pl. $x_i = 0,456$ (NH_2); $0,397$ ($\text{O}^-_{\text{hidroxamát}}$);
 $0,346$ (COO^-); $0,294$ (H_2O);
 $0,494$ (N^-_{amid}); $0,470$ ($\text{N}^-_{\text{hidroxamát}}$);

Az egyenlet alapján a vizes oldatban jelenlévő $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ ion négy ekvatoriális vízmolekulájának oxigén- vagy nitrogéndonorokkal történő szubsztitúciója az abszorpciós maximumot a kisebb hullámhosszak felé tolja el. Ez az effektus különösen nitrogéndonoroknál jelentős. A kvantitatív összefüggés megadását azonban nehezíti, hogy az effektus nagysága a donortom kémiai természetén kívül függ a kelátgyűrű méretétől, valamint a ligandumhoz kapcsolódó, de a koordinációban részt nem vevő szubsztituensektől is. Valamint ezek az összefüggések nem alkalmazhatók abban az esetben, ha kelátképződés van az egyik axiális pozícióval, ugyanis az axiális koordináció a λ_{\max} értékének kismértékű eltolódását eredményezi a nagyobb hullámhosszak felé (un. vörös eltolódás).¹⁶⁸

A Ni(II)-komplexek két leggyakoribb koordinációs száma 6 és 4. A 6-os koordinációs számú, oktaédes komplexekhez három, viszonylag kis intenzitású d–d átmenet tartozik ($\epsilon_{\max} < 30 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$), 770–1430 nm (${}^3A_2 \rightarrow {}^3T_2$), 500–910 nm (${}^3A_2 \rightarrow {}^3T_1$ (F)) és 370–520 nm (${}^3A_2 \rightarrow {}^3T_2$ (P)) hullámhosszaknál. Ezen sávok

mellett létezik egy még kisebb intenzitású, spintiltott (${}^3A_2 \rightarrow {}^1E$) átmenet is, amely általában csak vállként jelenik meg valamelyik csúcson. A 4-es koordinációs számú, tetraédes Ni(II)-komplexek spektrumában már nagyobb intenzitású ($\epsilon_{\max} \sim 10^2\text{--}10^3 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$) sávok találhatóak 500–900 nm hullámhossznál. A szintén 4-es koordinációs számú, diamágneses sajátságú, síknégyzetes geometriájú komplexek, melyek könnyen alakulnak ki más geometriájú komplexekből, és gyakran képződnek különösen erős terű ligandumokkal való kölcsönhatásban (pl. amid-nitrogént tartalmazó peptidekkel), 400–550 nm körül adnak egy elég intenzív sávot ($\epsilon_{\max} \sim 50\text{--}500 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$). Valamint egy második, még intenzívebb sáv található 430 nm alatt, amely gyakran töltésátviteli eredetű.¹⁶⁶

A Fe(III)-ion peptidhidroxámsavakkal képződő komplexekait tanulmányoztuk spektrofotometrián. Mivel a komplexek igen nagy stabilitásúak, és pH \sim 2-nél a rendszerben gyakorlatilag már nincs szabad fémion, ezért csak pH-potenciometriával nem lehet stabilitási állandót meghatározni.¹⁶⁹ Ebben az esetben a rendszerek leírására a spektrofotometria jó kiegészítő módszer lehet. A látható hullámhossztartományban a Fe(III)-hidroxamátokra jellemző töltésátviteli sáv jelenik meg, ahol a λ_{\max} és ϵ értéke egyértelműen a Fe(III)-ionhoz koordinálódó hidroxamátok számától függ ($\lambda_{\max} = 510\text{--}520 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 1000 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ egy hidroxamát; $\lambda_{\max} = 460\text{--}480 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 1800 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ két hidroxamát; $\lambda_{\max} = 420\text{--}430 \text{ nm}$, $\epsilon \sim 2500 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ három hidroxamát koordinációja esetén).¹⁴⁰ A pH = 0,7–1,6 tartományban felvett spektrumokból (ahol az ionerősséget úgy tartottuk állandó értéken, hogy a KCl-ot fokozatosan HCl-ra cseréltük, és a pH értékét számoltuk) a fémionhoz koordinálódó első hidroxamát-kelátra számolható stabilitási állandó értéke határozható meg. Ezen értéket lerögzítve már a pH-potenciometriás görbék is kiértékelhetők. A pH > 2 esetén felvett spektrumok segítségével pedig a képződő komplexek összetétele, ill. a stabilitási szorzatuk is számolható. Ezeket a számításokat is a PSEQUAD¹⁶² programmal végeztük, ahol a pH-potenciometriánál felsoroltak mellett további bemenő adatként szerepel a rendszerben képződő színes részecskék száma, ill. ebben az esetben a mintához adott mérőoldat térfogat függvényében a különböző hullámhosszakon mért abszorbancia értékeket adjuk meg. Az eredmények között a program az egyes színes részecskék moláris abszorbanciáit is megadja a vizsgált hullámhosszakon.

A V(III)-ion leggyakoribb koordinációs száma a 6, oktaédes geometriával, ahol a fémionra jellemző d^2 konfiguráció három spinmegengedett átmenetet ad. A spektrumokban többnyire két sáv található a látható tartományban, mely

feltehetően a d–d átmenetektől ered, és egy további, sokkal nagyobb intenzitású töltésátviteli sáv az UV-tartományban. A legnagyobb energiájú d–d sávot a töltésátviteli sáv általában elfedi.¹⁷⁰ Az irodalomban ismert a V(Pic)₃ komplex pontos szerkezete, ahol a fémionhoz három ligandum koordinálódik (N,O) kelátokon keresztül, szabályos oktaéderes geometriával.⁸⁵ Ezen komplex UV-látható spektrumában három d–d sáv különíthető el 375, 515 és 628 nm-nél. Abban az esetben, ha ez a három abszorpciós sáv egymással átfed, az utalhat az oktaéderes geometria torzulására.

Az UV-látható spektrofotometriás mérések *Hewlett Packard 8453* és *Perkin Elmer Lambda 35* típusú spektrofotométeren történtek, a 250–800 nm hullámhossz tartományban. A kuvetta úthossza 1 cm volt. A V(III)-iont tartalmazó minták vizsgálatakor alaposan kiargonozott, jól zárható dugós kuvettát használtunk. A pH változtatását a már említett csiszolatos edényben argon atmoszféra alatt végeztük, és a fotometriás méréshez kivett mintarészletet a mérés után már nem használtuk. A V(III)-ion hidrolízisének vizsgálatakor $5 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ – $1 \cdot 10^{-2}$ mol/dm³ közötti, a ligandumot is tartalmazó rendszereknél $1 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ – $4 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ közötti fémion koncentrációnál, valamint 1:1 és 1:4 fémion – ligandum arányánál történtek a mérések. A Cu(II)-ion esetén 1:1, 1:2 és 1,5:1 fém – ligandum arányoknál, míg a Ni(II)-ionnál 1:1, a Fe(III)-ionnál 1:5 fém – ligandum arányánál mértünk. A fémionok koncentrációja a rendszerekben $4 \cdot 10^{-4}$ – $4 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ között változott.

3.2.3. CD spektroszkópia

A síkban polarizált fény egy balra és egy jobbra cirkulárisan polarizált fénysugár összegének tekinthető. Az optikailag aktív anyagok, mint az aminosavak és a peptidok, a síkban polarizált fényre nézve különböző törésmutatójúak. Egy ilyen közegen a polarizált fényt átbocsátva, a fény polarizációs síkja elfordul. Az elfordulás mértéke a törésmutatón kívül függ az oldószertől, a hőmérséklettől, valamint a mérés hullámhosszától. A síkban polarizált fény két összetevőjének különböző abszorpcióját cirkuláris dikroizmusnak, vagy felfedezője után Cotton-effektusnak nevezik. A cirkuláris dikroizmus görbét (CD görbe) akkor kapjuk, ha a kétféle fénysugár abszorpciójának különbségét ($\Delta\varepsilon = \varepsilon_{\text{bal}} - \varepsilon_{\text{jobb}}$) a hullámhossz (λ) függvényében ábrázoljuk. A CD görbe maximumai, illetve minimumai az elektrongerjesztési spektrum maximumainál, illetve ahhoz igen közeli hullámhosszaknál jelentkeznek. A CD spektroszkópia előnye az elektrongerjesztési spektrummal szemben, hogy sávjai viszonylag keskeny Gauss-görbék, és közöttük

jóval ritkábban fordul elő átfedés, emellett a Cotton-effektus előjele is szolgáltathat további információkat a komplex szerkezetéről.¹⁷¹

Optikailag aktívak az úgynevezett diszimmetrikus molekulák, melyek másodrendű szimmetriaelemet (tükörsíkot (σ), inverziós centrumot (i) vagy tükrözéses forgatást (S)) nem tartalmaznak. A fémkomplexek optikai aktivitását okozhatja a ligandum saját – a komplexképződés előtt is meglévő – aszimmetriája, vagy a koordináció során képződő komplex aszimmetriája. Utóbbi a központi atom körüli aszimmetrikus elrendeződés következménye lehet. Ha a komplex optikai aktivitása a komplexképződés alatt alakul ki, vagyis a ligandum maga optikailag inaktív volt, akkor a komplexképződéssel a két enantiomer racém elegyét kapjuk, melyekhez ellentétes előjelű, azonos nagyságú Cotton-effektus tartozik, amik így kioltják egymást. Ezeket az enantiomerpárokat csak kinetikailag inert komplexek esetében lehet elválasztani és vizsgálni.

A cirkuláris dikroizmus spektroszkópia Cu(II)-, Ni(II)- és Pd(II)-peptidkomplexek szerkezetének a felderítésében széles körben használt módszer.^{172,173} Az egyszerű di- és tripeptidkomplexekkel kapcsolatban számos irodalmi adat áll rendelkezésünkre. Az ezekből levonható legfontosabb következtetéseket Sigel és Martin foglalta össze.⁹³

CD spektroszkópiás méréseket a peptidhidroxámsavak és az arginin tartalmú peptidek esetén végeztünk, Cu(II)-ionnal. A mérések *JASCO-810* spektrométeren történtek, a 300–800 nm hullámhossz tartományban, szobahőmérsékleten, 1 cm úthosszúságú küvetát használva. A mintákban a ligandum koncentrációja $3 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³, a Cu(II) – ligandum arány 1:1 és 1:2 és 1,5:1 volt.

3.2.4. ESR spektroszkópia

Az elektronspin-rezonancia spektroszkópia fontos vizsgálati módszer olyan molekulák és ionok tanulmányozására, melyek párosítatlan elektront tartalmaznak, azaz paramágnesesek. Ide tartoznak az általunk tanulmányozott Cu(II)- és VO(IV)-komplexek. A módszer az elektron és a mágneses tér kölcsönhatásán alapul. Mágneses térben az elektron mágneses momentuma kétféle orientációt vehet fel: a térhez képest párhuzamos vagy antiparallel irányba állhat be. A kétfajta orientáció különböző energiaállapotot jelent, és arányát a Boltzmann-eloszlás adja meg:

$$\frac{N_{\text{antiparallel}}}{N_{\text{parallel}}} = e^{-\Delta E / k} \quad (11)$$

Egy H indukciójú mágneses térben az elektronspin lehetséges energiaszintjei:

$$E_{m_s} = g_e \cdot \mu_B \cdot m_s \cdot H \quad (12)$$

ahol g_e : a szabad elektron g tényezője (= 2,00232)
 μ_B : Bohr-magneton (= $9,27401 \cdot 10^{-24}$ J/T)
 m_s : az elektron spinkvantumszáma (= $\pm 1/2$)

A parallel és az antiparallel beállítású elektronok energiaszintjei közötti távolság:

$$\Delta E = g_e \cdot \mu_B \cdot H \quad (13)$$

A spinhez kapcsolódó mágneses momentum a lokális mágneses térrel lép kölcsönhatásba, és a rezonancia feltétele:

$$h \cdot \nu = g_e \cdot \mu_B \cdot H_{\text{lokális}} = g \cdot \mu_B \cdot H \quad (14)$$

ahol h : a Planck-állandó (= $6,625 \cdot 10^{-34}$ J/s)
 ν : a besugárzás frekvenciája

ESR-abszorpciót akkor kapunk, ha a statikus térre merőlegesen polarizált nagyfrekvenciájú, rendszerint mikrohullámú elektromágneses teret alkalmazunk, és az elektromágneses sugárzás energiája pontosan megegyezik a két állapot energiakülönbségével.¹⁷⁴ A g -tényező és a g_e érték közötti eltérés attól függ, hogy az alkalmazott tér milyen lokális elektronáramokat indukál a vizsgált komplexben, így az eltérés értéke információt szolgáltat az elektronszerkezetről.

Az ESR spektrumok legfontosabb sajátága a hiperfinom szerkezet, ami az egyedi spektrumvonalak komponensekre való felhasadását jelenti. A felhasadás oka a mag mágneses momentumától származó mágneses tér hatása a párosítatlan elektron mágneses momentumára. Egy I spinű mag általános esetben $(2I + 1)$ -szeres, azonos intenzitású vonalból álló finomszerkezetet hoz létre. A Cu(II)-ion esetén ($I = 3/2$) négy, míg a VO(IV)-ion esetén ($I = 7/2$) nyolc vonalból áll a hiperfinom szerkezet.

Az ESR spektrumban két tartományt tudunk elkülöníteni: a merőlegest (\perp) és a párhuzamost (\parallel), attól függően, hogy az alkalmazott mágneses tér milyen szöget zár be a vizsgált molekula szimmetriatengelyével. Mi a méréseinket fagyasztott mintákban végeztük, melyben a molekulák orientációja a térhez képest eltérő, de helyzetük a mérés során állandó, így a paraméterek szögfüggése vizsgálható.¹⁷⁵ A rendszereink kiértékelésénél csak a párhuzamos paramétereket használtuk. A spektrumból számolható A_{\parallel} hiperfinom csatolási állandók és a g_{\parallel} értékek jellemzőek a fémionhoz az ekvatoriális síkban koordinálódó donoratomokra. A paraméterek a következő összefüggéssel adhatók meg:

$$g_{\parallel} = g_{\parallel}^0 \cdot \frac{H_0}{H_{\parallel}} \quad (15)$$

$$A_{\parallel} [\text{cm}^{-1}] = \frac{g_{\parallel} \cdot \mu_B \cdot a_{\parallel}}{h \cdot c} \quad (16)$$

ahol H_{\parallel} : a mintában mért mágneses térerő [Gauss]
 H_0 : a standardra kapott mágneses térerő [Gauss]
 a_{\parallel} : parallel csatolási állandó [Gauss]

Több vizsgálat mutatta korábban, hogy az ESR spektroszkópia igen jól használható spektroszkópiái módszer Cu(II)–peptid rendszerek vizsgálatára.^{176,177} A kapott paramétereiből következtetni lehet a fémion koordinációs szférájában lévő donoratomok számára és típusára, valamint a komplex geometriájára.

A VO(IV)-komplexek esetén – nagyszámú és ismert kötőmódú VO(IV)-komplexek paramétereit felhasználva – jó közelítéssel megbecsülhető a fémionhoz ekvatoriálisan koordinálódó egyes donoratomok hozzájárulása a hiperfinom csatolási állandó értékéhez az ESR spektrumban (un. additivitási szabály):¹⁷⁸

$$A_{\parallel(\text{számolt})} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n n_i \cdot A_{\parallel i} \quad (17)$$

ahol n_i : adott típusú donoratomok száma (1 – 4)
 $A_{\parallel i}$: adott típusú donoratomra jellemző érték

$A_{\parallel i} = 45,65$ (H ₂ O);	31,93 (S);
42,73 (COO ⁻);	37,00 (N);
43,67 (C=O);	38,68 (OH);
38,88 (ArO ⁻);	40,70 (=N ⁻);

Többszörös komplexek esetében, ahol a fémionok egymáshoz viszonylag közel helyezkednek el, és közöttük a kölcsönhatás erős, a spinicserélődési effektus miatt az ESR jel nagymértékben kiszélesedhet, vagy teljesen meg is szűnhet, un. ESR inaktív komplex alakul ki.

Az ESR spektroszkópiái méréseket a VO(IV)-komplexek esetén a japán kyotoi egyetemen *Prof. H. Sakurai* laboratóriumában, 77 K hőmérsékleten lefagyasztott vizes oldatokban végezték *Bruker ESP 300E* készüléken (9,75 MHz). A Cu(II)-komplexek esetén a spektrumokat *Bruker ER 200D* spektrométeren vettük fel az olaszországi *Università degli Studi di Sassari* egyetemen, ⁶³Cu(NO₃)₂ oldatot használva, 9,15 GHz állandó frekvenciánál, 150 K hőmérsékleten lefagyasztott vizes oldatokban, etilén-glikolt adva a mintákhoz. A mintákban a fémion koncentrációja 5·10⁻³ mol/dm³, a Cu(II) – ligandum arány 1:1 és 1:2 és 1,5:1 volt.

3.2.5. ¹H-NMR spektroszkópia

A peptidhidroxámsavak szintéziséhez valamennyi esetben felvettük a ligandumok ¹H-NMR spektrumait azonosítás, illetve a tisztaság ellenőrzése céljából. Ezen ligandumoknál mivel a makroszkópikus protonálódási állandók egymáshoz közeli értékek – a folyamatok egymással átfednek –, lehetőség van a protonálódási mikroállandók számolására is, azaz megadhatjuk, hogy egy adott ligandum-protonáltság esetén a proton melyik csoporton hány százalékos valószínűséggel helyezkedik el, és mennyi az egyes csoportok jellemző protonálódási állandó értéke. Ehhez a számoláshoz a különböző pD értékeknél az egyes protonokhoz tartozó kémiai eltolódásokat (δ) használtuk, és az adatok kiértékelését a PSEQUAD és MATLAB programmal végeztük.¹⁷⁹

Zn(II)-komplexek esetében a részecskék oldatbeli szerkezetének a vizsgálatára számításba jöhet a ¹H-NMR spektroszkópia. Bár a gyors ligandumcsere miatt a szabad és a komplexben kötött ligandum jelei nem különülnek el egymástól, így átlagjeleket kapunk, azonban az egyes csoportokra jellemző jelek kémiai eltolódás értékeinek a változásából, fémion jelenlétében, következtethetünk a ligandum különböző csoportjainak protonáltságára, illetve fémionhoz való koordinálódására.

A ¹H-NMR spektrumok felvétele Bruker AM360 típusú FT-NMR készüléken történt. A minták 99,8 % izotóptisztaságú D₂O, illetve DMSO-d₆ oldószerrel készültek. A pH-t (pD-t) NaOD és DCl oldatokkal állítottuk a megfelelő értékre. Referenciaként nátrium-3-trimetil-szilil-propánszulfonátot (TSP, $\delta_{\text{TSP}} = 0$ ppm) használtunk. A spektrumok kiértékelését a WIN-NMR 960901 verziószámú Bruker szoftverrel végeztük.

3.2.6. ESI-MS spektroszkópia

A tömegspektroszkópiás méréseknél első lépésként a vizsgált molekulát a gerjesztés során ionos formába kell hozni. Az ionizáció egyik lehetséges megvalósítása az „Electrospray Ionisation” (ESI).¹⁸⁰ A vizsgálat során képződő ionokat az alapján választjuk el, hogy egy állandó feszültséget kapcsolva a térre, azon a molekulák a tömeg/töltés (m/Z) hányadosuk alapján, különböző idő alatt érnek keresztül. A tömegspektrometriában használható detektoroknak az a célja, hogy ezt a tömeg/töltés szeparációt minél érzékenyebbé tegyék. Ez az érzékenység növelhető azáltal, hogy hosszabb utat biztosítunk a molekulák számára a tömegspektrométer és a detektor között. Az úthossz növelése a tényleges távolság növelése nélkül, iontükrök alkalmazásával is megvalósítható. A módszert széles

körben alkalmazzák peptidek és fémkomplexeik vizsgálatára.¹⁸¹ Az adott komplex pontos molekulatömegének az ismerete jelentős segítséget nyújthat a más spektroszkópiai módszerrel feltételezett szerkezet alátámasztásában. Emellett a komplex fragmentálódását, hasadását vizsgálva egyéb szerkezeti információ is nyerhető.¹⁸²

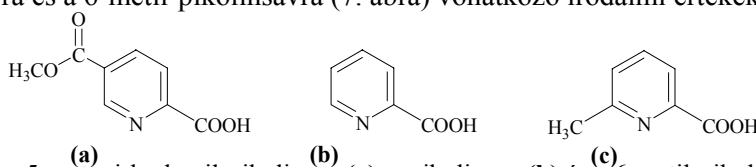
Az ESI-MS mérésekhez *Bruker BioTOF II ESI-TOF* tömegspektrométert használtunk. Az előállított peptidhidroxámsavak analíziséhez a minták koncentrációja $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³, a fémet is tartalmazó rendszerek esetén a ligandum koncentráció $1 \cdot 10^{-4}$ mol/dm³ – $1 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³ volt. Az oldatot közvetlenül az ESI forrásba vezettük egy fecskendő segítségével (Cole-Parmer Ins. Comp. 74900 típus), 2 µL/min sebességgel. A szárító gáz (N₂) hőmérsékletét 100 °C-on tartottuk, a porlasztógáz (N₂) nyomása 30 psi volt. A kapillárisra kapcsolt feszültség 4500 V, 120 V, 40 V és 30 V. A spektrofotométer kalibrációja tömegegység mérésére, nátrium-trifluor-acetátra történt. Az adatgyűjtést *BioTOF v 2.2*, míg az adatfeldolgozást *XmassBioTOF v 6.0.0* szoftver végezte.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav rendszer

4.1.1. A vizsgált ligandum disszociációs állandói

Az 5-metoxi-karbonil-pikolinsav egy karboxilcsoportot és egy piridin-nitrogént tartalmaz (7. ábra), így a teljesen protonált ligandumnak a mérhető pH-tartományban két disszociálható protonja van. A meghatározott savi disszociációs állandók értékei az 1. táblázatban találhatóak, ahol összehasonlításként feltüntettük a pikolinsavra és a 6-metil-pikolinsavra (7. ábra) vonatkozó irodalmi értékeket is.¹⁸³



7. ábra Az 5-metoxi-karbonil-pikolinsav (a), a pikolinsav (b) és a 6-metil-pikolinsav (c) szerkezeti képlete.

A ligandum karboxilcsoportja nagyon savas ($pK < 1$), ami azzal magyarázható, hogy a deprotonálódás után a karboxilátcsoport oxigénje és a protonált piridin-nitrogén között intramolekuláris hidrogénkötés alakul ki, mely folyamat kedvezményezetté teszi az első proton disszociációját. Továbbá, ha az értékeket összevetjük a pikolinsavra és a 6-metil-pikolinsavra vonatkozó értékekkel,¹⁸³ azt kapjuk, hogy a piridingyűrűn található észter-csoport elektronszívó sajátsága növeli a karboxilcsoport savasságát, illetve csökkenti a piridin-nitrogén bázicitását.

4.1.2. A ligandum VO(IV)–törzskomplexei

A VO(IV)-ion 5-metoxi-karbonil-pikolinsavval képződő komplexeire számolt stabilitási szorzat értékeket az 1. táblázatban, míg a komplexek ESR spektroszkópiái paramétereit a 2. táblázatban tüntettük fel. Mindkét esetben összehasonlításként megtalálhatók a pikolinsavra és a 6-metil-pikolinsavra vonatkozó irodalmi értékek is.¹⁸³

Az ESR mérések azt mutatták, hogy a rendszerben négy ESR aktív részecske jelenik meg (2. táblázat). Az ESR jel intenzitása a pH növelésével fokozatosan csökkent (pH = 6-nál ~ 50%, 7,4-nél ~ 30%, 8,8-nél ~ 10%), amiből arra következtethetünk, hogy többmagvú, ESR inaktív részecskék is képződnek. A pH-potenciometriás mérések kiértékelésénél az ESR mérések eredményeit is figyelembe vettük, és ennek függvényében a rendszert legjobban leíró modell

alapján számoltuk a képződő komplexek összetételét és stabilitási szorzatait (1. táblázat). A komplexek koncentráció-eloszlási görbéit a pH függvényében a 8. ábra, míg a képződő részecskék javasolt szerkezeteit a 9. ábra mutatja be.

1. táblázat Az 5-metoxi-karbonil-pikolinsav (MKP), a pikolinsav (Pic)¹⁸³ és a 6-metil-pikolinsav (MePic)¹⁸³ savi disszociációs állandói, a VO(IV)–komplexek stabilitási szorzatai (lgβ), ill. néhány származtatott állandó értéke (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

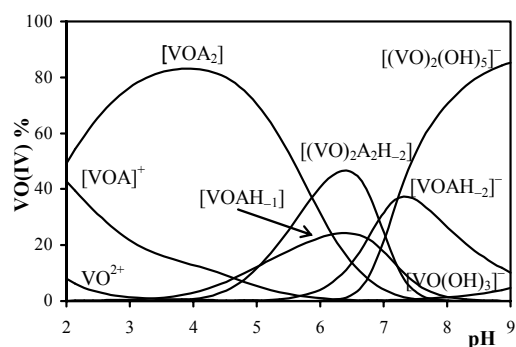
	MKP	Pic ¹⁸³	MePic ¹⁸³
pK _{COOH}	< 1	~ 1	~ 1
pK _{piridin-N}	3,35(1)	5,19	5,82
[VOAH]	—	—	7,27
[VOA] ⁺	5,16(4)	6,66	5,13
[(VO) ₂ A ₂ H ₂]	3,75(4)	6,15	3,25
[VOAH ₁]	0,38(4)	—	—
[VOAH ₂] ⁻	-6,8(2)	—	-6,56
[VOA ₂]	9,52(4)	12,11	9,28
[VOA ₂ H ₁] ⁻	—	5,13	—
VO ²⁺ + HA = VOA + H ⁺	1,81	1,47	-0,69
VO ²⁺ + 2HA = VOA ₂ + 2H ⁺	2,82	1,73	-2,36

2. táblázat Az 5-metoxi-karbonil-pikolinsav (MKP), a pikolinsav (Pic)¹⁸³ és a 6-metil-pikolinsav (MePic)¹⁸³ VO(IV)-ionnal képezett komplexeinek ESR paraméterei.

	MKP		Pic ¹⁸³		MePic ¹⁸³	
	g _{II}	A _{II} (·10 ⁻⁴ cm ⁻¹)	g _{II}	A _{II} (·10 ⁻⁴ cm ⁻¹)	g _{II}	A _{II} (·10 ⁻⁴ cm ⁻¹)
[VOA] ⁺	1,939	179,8	1,939	175	1,939	178
[VOA ₂] _{cisz}	1,947	168	1,945	165	1,943	162
[VOA ₂] _{transz}	—	—	—	—	1,949	149
[VOAH ₁]	1,947	171	—	—	—	—
[VOAH ₂] ⁻	1,948	167	—	—	—	—

A rendszer különböző protonáltsági fokú mono- és biszkomplexekkel írható le, hasonlóan a VO(IV) – pikolinsav és a VO(IV) – 6-metil-pikolinsav esetén számolható modellekhez (1. táblázat). Az általunk vizsgált ligandummal képződő komplexek számszerű stabilitási állandó értékei kisebbek, mint a pikolinsav komplexei esetén. A ligandumok eltérő bázicitása miatt azonban közvetlenül ezek az értékek nem hasonlíthatók össze. Az egyes komplexek képződésére vonatkozó származtatott állandók (az 1. táblázat utolsó két sora) összevetése azt mutatja, hogy

a vizsgált ligandum a pikolinsavhoz hasonló erősséggel köti a fémiont. A 6-metil-pikolinsav esetén a komplexek stabilitása csökken, melyet az irodalomban azzal magyaráznak, hogy a piridingyűrűn található metilcsoport – valószínűleg sztérikus okok miatt – csökkenti a kialakuló kelát(ok) stabilitását.¹⁸³

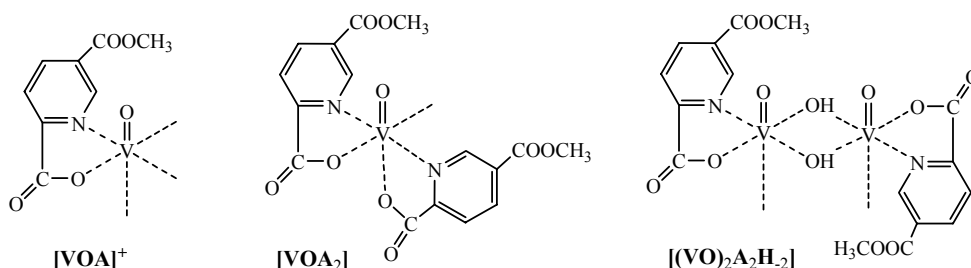


8. ábra A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{\text{VO(IV)}} = 0,002 \text{ mol/dm}^3$, VO(IV):MKP = 1:4).

A vizsgált ligandum kisebb bázicitása miatt a komplexképződés a pikolinsavhoz képest a savasabb pH-tartományba tolódik, és a $[\text{VOA}]^+$ és $[\text{VOA}_2]$ összetételű mono- és biszkomplex képződésével indul. Az ezen részecskékre kapott ESR paraméterek egyezésben vannak a pikolinsavra és a 6-metil-pikolinsavra kapott paraméterekkel (2. táblázat). Mind a mono-, mind a biszkomplexben a fémionhoz a ligandum a karboxilátcsoporthoz és a piridin-nitrogénen keresztül koordinálódik $[\text{N}, \text{COO}^-]$ kötésmóddal, öttagú kelátot alakítva ki (9. ábra). A biszkomplex esetén az ESR paraméterek arra utalnak, hogy a komplex *cisz* geometriájú, azaz a két ligandum közül az egyik két ekvatoriális, a másik egy ekvatoriális és egy axiális helyet foglal el. Így az ötödik koordinációs helyet elfoglaló vízmolekula a fémion oxocsoportjához képest *cisz* helyzetű.

A pH = 5 – 7 tartományban a $[\text{VOAH}_{-1}]$ összetételű monomer és a $[(\text{VO})_2\text{A}_2\text{H}_{-2}]$ összetételű dimer komplex képződik egymással egyensúlyban. Mivel a két komplex képződése azonos pH effektussal jár, ezért csak a pH-potenciometria alapján nem tudunk közöttük különbséget tenni. Azonban az ESR méréseknél ebben a pH tartományban tapasztalható kb. 50%-os intenzitás csökkenés arra utal, hogy ESR inaktív dimer részecske is képződik. Ezért a komplexek stabilitási szorzatait egymás mellett úgy határoztuk meg, hogy a dimer stabilitási szorzatát olyan számértékkel rögzítettük le, amellyel a visszszámolt koncentráció-eloszlásban az ESR intenzitásnak megfelelő százalékot kaptuk. A $[\text{VOAH}_{-1}]$ összetételű komplex egy vegyes hidroxokomplex, melynél a fémion koordinációs

szférájában lévő egyik vízmolekula deprotonálódik, majd a komplex dimerizálódásával a $[(VO)_2A_2H_2]$ kétmagvú részecske képződik (9. ábra).



9. ábra A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav rendszerben képződő komplexek javasolt szerkezetei.

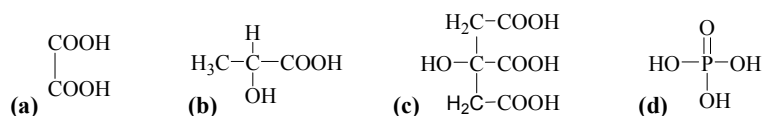
Lúgos pH-tartományban a $[VOAH_2]^-$ összetételű vegyes dihidroxokomplex jelenik meg, melyben egy újabb, a fémionhoz koordinálódó vízmolekula deprotonálódik. A komplex képződése átfedésben van a VO(IV)-ion hidrolízisével, amikor is a ligandum a fémion koordinációs szférájából kiszorul és többmagvú, ESR inaktív VO(IV)–hidroxokomplexek képződnek. Ezt alátámasztja az ESR jelek intenzitásának jelentős csökkenése is a lúgos pH értékeken.

4.1.3. Vegyes ligandumú rendszerek

Az általunk vizsgált 5-metoxi-karbonil-pikolinsav VO(IV)-ionnal képezett, semleges biszkomplexének lehetséges gyógyászati alkalmazásakor mindenképpen felmerülhet a kérdés, hogy mi történik a komplexszel, ha az bekerül a vérérszumba. Az egyik lehetséges folyamat, hogy a szérumban található különböző biomolekulák a fémion koordinációs szférájában lévő szállító ligandumot részlegesen vagy teljesen kiszorítják. Ezen lehetséges kölcsönhatás megvalósulását kívántuk modellezni olyan vegyes ligandumú rendszerek tanulmányozásával, ahol a fémion és a vizsgált pikolinsav-származék mellett a rendszer B ligandumként különböző kis molekulatömegű biomolekulákat is tartalmaz. A kiválasztott B ligandumok az oxálsav, a D,L-tejsav, a citromsav és a szervesetlen foszforsav, melyek ismertek alkalmasak a VO(IV)-ion komplexben történő stabil megkötésére. A ligandumok szerkezeti képlete a 10. ábrán látható.

A komplexképződést pH-potenciometriás módszerrel tanulmányoztuk, a képződő komplexek szerkezetét pedig ESR spektroszkópiával határoztuk meg. Az egyes rendszerekben képződő vegyes ligandumú komplexek stabilitási szorzatait a 3.

táblázatban tüntettük fel. A részecskék ESR paramétereit és a komplexben megvalósuló kötémódokat a 4. táblázat tartalmazza.



10. ábra A vegyes ligandumú rendszerek esetén B ligandumként vizsgált oxálsav (a), D,L-tejsav (b), citromsav (c) és foszforsav (d) szerkezeti képlete.

3. táblázat A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav – B rendszerben képződő vegyes komplexek* stabilitási szorzatai (lgβ) (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

komplex	oxalát (B ²⁻)	laktát (B ⁻)	citrát (B ³⁻)	foszfát (B ³⁻)
[VOABH ₂]	—	—	—	26,3(1)
[VOABH]	—	—	15,43(3)	22,70(7)
[VOAB]	11,33(1)	8,16(4)	11,84(3)	16,51(8)
[VOABH ₁]	3,89(5)	4,09(2)	7,38(2)	10,13(7)

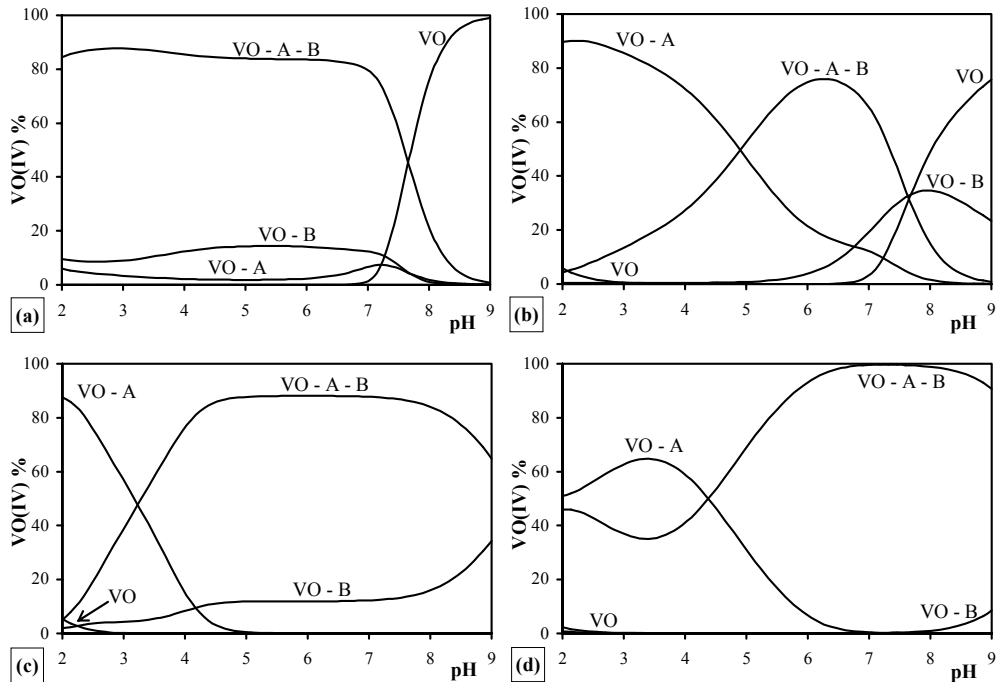
* a teljesen deprotonált ligandumok eltérő töltése miatt az egyes komplexek töltéseit nem tüntettük fel

4. táblázat A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav – B rendszerben képződő vegyes komplexek ESR paramétereit és a komplexekben megvalósuló kötémódok.

	g _{II}	A _{II} (·10 ⁻⁴ cm ⁻¹)	kötémód
<u>oxalát:</u> [VOAB] ⁻ <i>cisz</i>	1,943	170	[N,COO ⁻]; [COO ⁻ ,COO ⁻ _{ax}]; H ₂ O
<u>laktát:</u> [VOAB] ⁻ <i>cisz</i>	1,946	166	[N,COO ⁻]; [COO ⁻ ,OH ⁻ _{ax}]; H ₂ O
<u>citrát:</u> [VOAB] ²⁻	1,945	169	[N,COO ⁻]; [COO ⁻ ,OH,COO ⁻ _{ax}]
[VOABH ₁] ³⁻	1,948	159	[N,COO ⁻]; [COO ⁻ ,O ⁻ ,COO ⁻ _{ax}]
<u>foszfát:</u> * [VOABH _x] ^{(2-x)-}	1,940	177	[N,COO ⁻]; H _x PO ₄ ^{(3-x)-} ; H ₂ O

* x = 0, 1, 2

Mind a négy rendszernél összesített koncentráció-eloszlási görbéket készítettünk, melyeket a 11. ábrán mutatunk be. A VO – A és VO – B az egyes ligandumokkal képződő valamennyi törzskomplexet, míg a VO – A – B a vegyes ligandumú komplexek móltörtjeinek, a VO pedig a fémion akvakomplexének és a hidroxokomplexeinek az összességét jelenti.



11. ábra A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav – oxalát (a) / laktát (b) / citrát (c) / foszfát (d) rendszerben képződő komplexek összesített koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{\text{VO(IV)}} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$, VO(IV):A:B = 1:2:2).

Az *oxálsav* esetén két vegyes ligandumú részecske jelenik meg $[\text{VOAB}]^-$ és $[\text{VOABH}_1]^{2-}$ összetétellel (3. táblázat), és képződésük széles pH-tartományban kedvezményezett (11/a. ábra). A ligandumok törzskomplexei kis mennyiségben, a vegyes ligandumú komplexekkel párhuzamosan képződnek. Fiziológiás pH-n (pH $\sim 7,4$) már elkezdődik a fémion hidrolízise, pH $> 8,5$ -nél gyakorlatilag csak a fémion hidroxokomplexei vannak jelen a rendszerben.

A vegyes ligandumú komplexek kedvezményezett képződését támasztják alá a $[\text{VOAB}]^-$ komplex képződésére számolható származtatott egyensúlyi állandók is. Eszerint az oxalát kötődése a $[\text{VOA}]^+$ komplexhez – $[\text{VOA}]^+ + \text{B}^{2-} \rightarrow [\text{VOAB}]^-$ ($\lg K = 6,17$) –, vagy a pikolinát kötődése a $[\text{VOB}]$ komplexhez – $[\text{VOB}] + \text{A}^- \rightarrow [\text{VOAB}]^-$ ($\lg K = 5,44$) – kedvezményezettebb, mint az egyes ligandumok törzrendszerében a $[\text{VOB}_2]^{2-}$ ($\lg K = 4,79$),¹⁸⁴ vagy a $[\text{VOA}_2]$ ($\lg K = 4,36$) képződése. Az ESR paraméterek azt mutatták, hogy a $[\text{VOAB}]^-$ összetételű részecske esetén a fémion ekvatoriális koordinációs helyein $[\text{N}, \text{COO}^-, \text{COO}^-, \text{H}_2\text{O}]$ kötésmód alakul ki. Ez jó egyezésben van mind a pikolinsavra ($g_{\parallel} = 1,941$,

$A_{II} = 167 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$), mind a 6-metil-pikolinsavra ($g_{II} = 1,941$, $A_{II} = 166 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) kapott értékekkel, ahol a vegyes ligandumú komplexben az oxalát koordinációja *cisz* geometriájú, azaz a ligandum axiális–ekvatoriális helyzetben koordinálódik a fémionhoz, míg a negyedik ekvatoriális koordinációs helyet a vízmolekula foglalja el.¹⁸³ A $[\text{VOABH}_{-1}]^{2-}$ komplexben a VO(IV)-ion ötödik koordinációs helyén található vízmolekula deprotonálódása következik be.

A *tejsav* esetén az oxálsavhoz hasonlóan a $[\text{VOAB}]$ és $[\text{VOABH}_{-1}]^{-}$ összetételű vegyes ligandumú komplexek képződnek (3. táblázat). Képződésük az oxálsavhoz képest kevésbé kedvezményezett (11/b. ábra). Savas pH értékeken inkább a pikolinát törzskomplexei a meghatározóak, míg lúgos pH-tartományban a laktát törzskomplexei vannak jelen, a fémion hidrolízisével párhuzamosan. A vegyes ligandumú komplexek a pH = 4,5 – 7,5 tartományban a dominánsak.

Az irodalomban ismert, hogy a VO(IV) – laktát rendszerben a ligandum a karboxilátsoporton és az alkoholos hidroxilcsoporton keresztül koordinálódik a fémionhoz, majd a hidroxilcsoport deprotonálódása is bekövetkezik, amely folyamatra számolható $pK_{[\text{VOB}]} = 4,13$.⁷⁰ Az általunk vizsgált ligandummal a $[\text{VOABH}_{-1}]^{-}$ részecske képződésére számolható $pK_{[\text{VOAB}]} = 4,02$ érték jó egyezésben van az irodalmi értékkel. Az ESR paraméterek alapján a $[\text{VOAB}]$ összetételű komplexben a fémion ekvatoriális koordinációs helyein a kialakuló koordinációs mód $[\text{N}, \text{COO}^{-}, \text{COO}^{-}, \text{H}_2\text{O}]$, illetve a $[\text{VOABH}_{-1}]^{-}$ komplex képződése során az ESR paraméterekben jelentős változás nem tapasztalható. Mindebből arra következtethetünk, hogy az alkoholos hidroxilcsoport a fémion axiális koordinációs helyét foglalja el.

A *citromsav*nál a fenti két ligandumtól eltérően három vegyes ligandumú részecske jelenik meg a rendszerben $[\text{VOABH}]^{-}$, $[\text{VOAB}]^{2-}$ és $[\text{VOABH}_{-1}]^{3-}$ összetétellel (3. táblázat). Savas pH-tartományban jelentős mennyiségben a pikolinát törzskomplexei vannak jelen, míg a pH = 4–8 tartományban a vegyes ligandumú komplexek a meghatározóak. A citrát törzskomplexei a vegyes komplexekkel párhuzamosan képződnek, de jóval kisebb mennyiségben. A fémion hidrolízise pH = 9-ig nem következik be (11/c. ábra).

Az ESR paraméterek alapján a $[\text{VOAB}]^{2-}$ komplexben a kialakuló koordinációs mód $[\text{N}, \text{COO}^{-}, \text{COO}^{-}, \text{OH}]$ az ekvatoriális koordinációs helyeken, a pikolinsav és a 6-metil-pikolinsav esetén kapott eredményekkel megegyezően.¹⁸³ A citromsav másik karboxilátsoportja feltehetően axiális pozícióban koordinálódik a fémionhoz, csatolt kelátot alakítva ki. A $[\text{VOABH}_{-1}]^{3-}$ komplexben az alkoholos hidroxilcsoport deprotonálódása következik be, melyet mind az ESR paraméterek

változása, mind a részecske képződésére számolható $pK_{[VOAB]} = 4,42$ érték alátámaszt, ami jó egyezésben van a tejsavra kapott irodalmi értékkel.⁷⁰

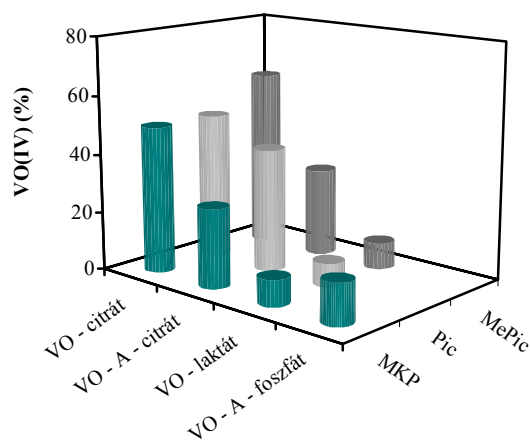
A foszforsavval $[VOABH_2]$, $[VOABH]^-$, $[VOAB]^{2-}$ és $[VOABH_{-1}]^{3-}$ összetételű vegyes ligandumú komplexek képződnek (3. táblázat). Savas pH-tartományban a pikolinát törzskomplexei vannak nagyobb mennyiségben jelen. A vegyes komplexek a pH = 6 – 9 tartományban dominánsak, míg a foszfát törzskomplexei és a VO(IV)-ion hidroxokomplexei pH = 9-ig nem jelennek meg (11/d. ábra).

A vegyes ligandumú komplexek képződésének egész tartományában a mért ESR paraméterek gyakorlatilag nem változtak, amiből arra következtethetünk, hogy a komplexképződés során a fémion koordinációs szférájában nem következik be változás. A foszfát egyfogú ligandumként koordinálódik a VO(IV)-ionhoz, és az egyes részecskék képződése a ligandum lépcsőzetes deprotonálódásához rendelhető, a pikolinsav esetén kapott eredményekkel megegyezően.¹⁸³ Ha a deprotonálódás lépéseire számolható pK_{VOABH_x} értékeket ($x = 2,1$) összevetjük a pikolinsavra számolható értékekkel (MKP: 3,55 és 6,17; Pic: 4,27 és 7,21), azt kapjuk, hogy a vizsgált 5-metoxi-karbonil-pikolinsavval a fémionhoz koordinálódó foszfát deprotonálódása kisebb pH értékeken következik be, ami arra utal, hogy a fémion és a ligandum között erősebb kölcsönhatás alakul ki, mint a pikolinsavval.

Annak modellezésére, hogy az esetleges gyógyászati hatású, a hordozó ligandum által komplexben kötött VO(IV)-ion bekerülve a vérszérumba, milyen koordinációs kémiai folyamatokon mehet keresztül, egy olyan hipotetikus modellt állítottunk fel, ahol a rendszer egyszerre tartalmazza a VO(IV)-iont, az 5-metoxi-karbonil-pikolinsavat és az általunk vizsgált négy biomolekulát, fiziológiás pH-n (pH ~ 7,4) és a sérumban található koncentrációban. Az így számolható eloszlást mutatja a 12. ábra, ahol a potenciális inzulinutánzó vegyületet $[VOA_2]$ biszkomplex formájában vettük figyelembe, $c_{[VOA_2]} = 0,01$ mmol/dm³ koncentrációval. Az egyes biomolekulák vérszérumbeli koncentrációi: $c_{\text{oxalát}} = 0,01$ mmol/dm³, $c_{\text{citrát}} = 0,10$ mmol/dm³, $c_{\text{laktát}} = 1,51$ mmol/dm³ és $c_{\text{foszfát}} = 1,10$ mmol/dm³.¹⁸⁵ Az általunk vizsgált 5-metoxi-karbonil-pikolinsav mellett összehasonlításként ábrázoltuk a pikolinsavval és a 6-metil-pikolinsavval számolható modellt is.¹⁸³

Az ábra jól szemlélteti, hogy az eredetileg a biszkomplexben bevitt VO(IV)-ion mindhárom ligandum esetén részben vagy teljesen elengedi a hordozómolekulát. A hipotetikus számítás alapján a fémion nagyrészt a citráthoz kötve található, törzs- és vegyes komplexben egyaránt, míg az oxaláttal képződő VO(IV)-komplexek

fiziológiás pH-n számottevő mennyiségben nem jelennek meg. Az általunk tanulmányozott 5-metoxi-karbonil-pikolinsav annyiban tér el a másik két ligandumtól, hogy a vérérszumban a fémmion foszfáttal képzett vegyes komplexei is megtalálhatóak.



12. ábra A VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav (MKP) / pikolinsav (Pic)¹⁸³ / 6-metil-pikolinsav (MePic),¹⁸³ mint inzulinutánczó hatású komplexek vérérszumbeli speciációjára végzett hipotetikus modellszámításokkal kapott koncentráció-eloszlások (pH = 7,4; t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

4.2. A V(III)-ion komplexképződésének oldategyensúlyi vizsgálata

4.2.1. A V(III) törzsoldat előállítása

A $[\text{V}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ ion igen érzékeny az oxidációra, ezért a törzsoldat készítése nem valósítható meg valamilyen V(III)-só desztillált vízben való oldásával. Még abban az esetben is, ha nagy tisztaságú V(III)-vegyületből indulunk ki, és az oldatkészítést szigorúan az oxigén kizárása mellett végezzük, néhány százalékban szennyeződésként VO(IV) mindig megjelenik az oldatban, ami az oldategyensúlyi méréseket zavarja. Ezért a munka első fázisában megoldást kellett találnunk gyakorlatilag VO(IV)-mentes V(III) törzsoldat előállítására. Az általunk kidolgozott módszer alapján VO(IV)-sót oldottunk desztillált vízben, és frissen leválasztott palládium iszap katalizátor mellett a fémiont H_2 gázzal redukáltuk. A redukciót $\sim 0,1 \text{ mol/dm}^3$ sósavat tartalmazó közegben végeztük, amellyel a képződő V(III)-ion hidrolízisét szorítottuk vissza. A redukció előrehaladását spektrofotometriás méréssel ellenőriztük, melyet a VO(IV)-ionra jellemző, 760 nm-nél jelentkező abszorpciós sáv folyamatos eltűnése, és a V(III)-ionra jellemző, 397 és 588 nm-nél jelentkező sáv megjelenése mutatott. Az így elkészített fémtörzsoldatot Schlenk technikával, az oxigén teljes kizárásával jutattuk a megfelelően kialakított tárolóedénybe, ahol azt oxigénmentes argon gáz alatt tároltuk. A pH-potenciometriás és spektrofotometriás mérések szintén speciálisan kialakított, csiszolatos titrálóedényekben, argon atmoszféra alatt történtek, úgyelve a mérés során az oxigén rendszerből való teljes kizárására.

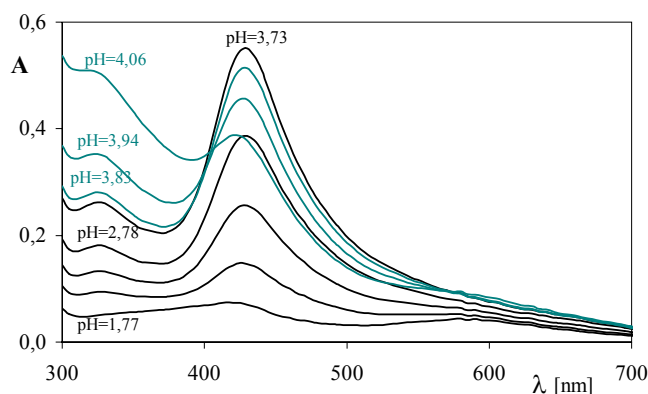
4.2.2. A V(III)-ion hidrolízise

A fémion hidrolízisét pH-potenciometriásan és UV-látható spektrofotometriás módszerrel, saját mérési körülményeink között ($t = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ mol/dm}^3$ (KCl)), széles fémion koncentráció tartományban részletesen tanulmányoztuk.

A különböző pH értékeken felvett spektrumok a 13. ábrán láthatók. A spektrumok változása jó egyezésben van az irodalomban, a *Meier és mtsai.* által leírt eredménnyel,⁸¹ a 430 nm-nél található abszorpciós sáv pH = 3,73-ig növekvő, majd csökkenő intenzitású. A görbék kiértékelése során a bekövetkező spektrális változásokhoz döntően hozzájáruló $[\text{V}_2(\text{OH})_2]^{4+}$ összetételű dimer részecske⁸¹ stabilitási szorzat értékét tudtuk meghatározni.

A V(III)-ion hidrolízisének pH-potenciometriás tanulmányozása során azt kaptuk, hogy az irodalmi modellben megadott összetételű hidroxokomplexekkel a titrálási görbék jól leírhatók, egyetlen jelentős eltéréssel: a $[\text{V}_4(\text{OH})_{12}]$ összetételű,

semleges részecske képződését a vizsgált pH tartományban pH-potenciometriásan nem tudtuk igazolni. *Meier és mtsai.* szerint $0,005 \text{ mol/dm}^3$ V(III)-ion koncentráció mellett $\text{pH} > 4$ -nél ez a részecske a meghatározó, mely lényegében a V(OH)_3 oldható formája. A saját mérési körülményeink között ilyen fémion koncentrációnál $\text{pH} = 4,3$ körül az oldatban csapadék jelent meg, mely a pH további növelésével sem oldódott vissza. Ez az eredmény összhangban van azzal az irodalomban leírt jelenséggel, miszerint V(IV) és V(V) rendszerekben az ionerősség és a koncentráció növelése elősegíti a többmagvú részecskék képződését.¹⁸⁶ Az 5. táblázat a fémion hidroxokomplexeire kapott stabilitási szorzat értékeket tartalmazza, ahol összehasonításként feltüntettük az irodalmi modell⁸¹ adatait is.



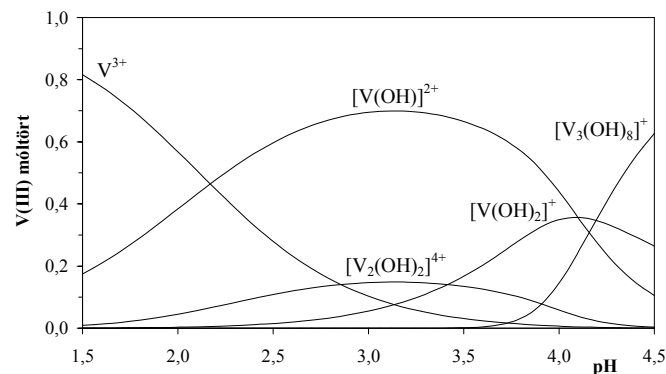
13. ábra A V(III)-ion hidrolízisekor felvett UV-látható spektrumok ($c_{\text{V(III)}} = 0,005 \text{ mol/dm}^3$).

5. táblázat A V(III)-ion hidroxó-komplexeinek általunk meghatározott ($t = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ mol/dm}^3$ (KCl)), és az irodalomban található ($t = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$, $I = 1,0 \text{ mol/dm}^3$ (NaCl))⁸¹ stabilitási szorzatai ($\lg\beta$).

	$\lg\beta$	$\lg\beta^{81}$
$[\text{V(OH)}]^{2+}$	-2,17(2)	-2,60
$[\text{V}_2(\text{OH})_2]^{4+}$	-2,76(3)	-3,59
$[\text{V(OH)}_2]^+$	-6,27(3)	-6,83
$[\text{V}_3(\text{OH})_8]^{4+}$	-21,96(4)	-23,3
$[\text{V}_4(\text{OH})_{12}]$	—	-33,80

Mivel a $[\text{V(OH)}]^{2+}$ összetételű monohidroxó- és a $[\text{V}_2(\text{OH})_2]^{4+}$ összetételű dihidroxókomplex képződése azonos pH effektussal jár, így a pH-potenciometria a

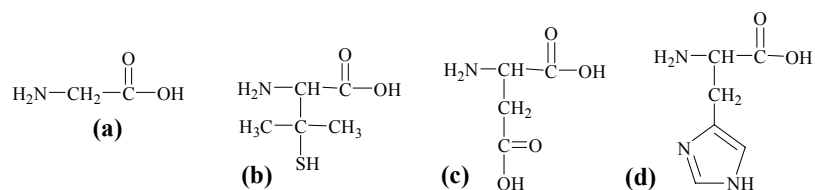
két részecske között nem tud különbséget tenni. Ezért a kiértékelést a dimer részecskére a fotometriából kapott stabilitási szorzat értéket lerögzítve végeztük. A modell alapján a hidroxokomplexekre számolható koncentráció-eloszlási görbéket a pH függvényében a 14. ábra mutatja.



14. ábra A V(III)-ion hidrolízisekor képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{V(III)} = 0,005 \text{ mol/dm}^3$).

4.2.3. Komplexképződés aminosavakkal

A V(III)-ion kölcsönhatását az élő szervezetben található legegyszerűbb aminosavval, a glicinnel, illetve az oldalláncban a fémionhoz koordinálódni képes donoratomot tartalmazó aminosavakkal tanulmányoztuk. Ilyen donoratom a kén a D-penicillamin esetén, az oxigén az aszparaginsavnál, és a nitrogén a hisztidinnél. A vizsgált ligandumok szerkezeti képletei a 15. ábrán láthatók.

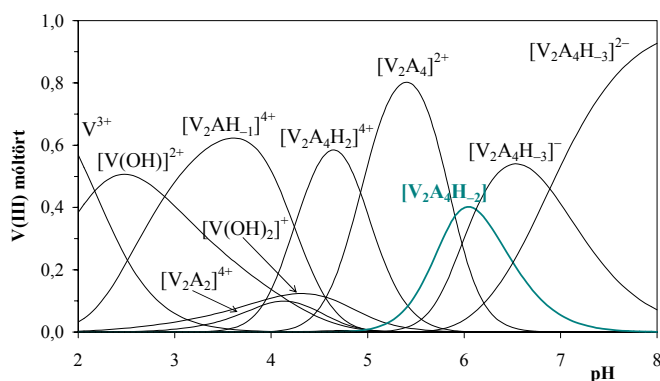


15. ábra A glicin (a), D-penicillamin (b), aszparaginsav (c) és hisztidin (d) szerkezeti képlete.

Valamennyi vizsgált aminosav esetén azt találtuk, hogy a V(III)-ionnal kialakuló kölcsönhatás igen gyenge. Bár a $V(OH)_3$ csapadék megjelenése a titrálás során az egyes rendszerekben mindig nagyobb pH értékeknél jelentkezett, mint a csak fémiont tartalmazó rendszer esetén – utalva a fémion és a ligandum között kialakuló kölcsönhatásra –, a fémion hidrolízisét ezek az egyszerű aminosavak nagy ligandumfelesleg mellett sem tudták visszaszorítani. Ez nagyban nehezítette

az egyes rendszerek kiértékelését, mivel a komplexképződést megelőzi, vagy azzal párhuzamos a fémion hidrolízise, ami igen összetett egyensúlyi rendszereket eredményez, bonyolult összetételű vegyes hidroxokomplexekkel. Így az aminosavakkal képződő komplexek összetételére és a stabilitási állandók értékére nem tudunk megbízható modellt megadni. A komplexképződés tanulmányozását tovább nehezíti, hogy a V(III)-ion oxidációra való erős hajlama nem teszi lehetővé egyéb, a képződő komplexek szerkezetének meghatározására alkalmas szerkezetvizsgáló módszerek alkalmazását.

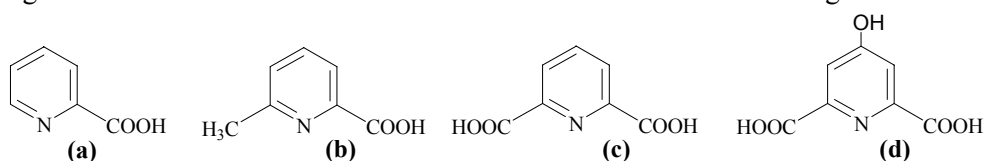
A fémionnal erősebb kölcsönhatásra képes hisztidinnel az irodalomban találunk arra vonatkozóan oldategyensúlyi eredményt, mely szerint a ligandum mono- és bisz-komplexeket képez a V(III)-ionnal.⁸⁶ A mi eredményeink azt mutatták, hogy ezzel a modellel a rendszer nem írható le. Ugyancsak ismert egy, lúgos körülmények között előállított $V_2L_4H_2$ összetételű részecske, amely egy V–O–V maghoz két (N,N,O) kötőmódú tridentát, és két (N,N) kötőmódú bidentát koordinációjú His-t tartalmaz.^{83,84} Ha ezen komplex sztöchiometriájából kiindulva, különböző protonáltsági fokú, dimer részecskék képződését feltételezzük, akkor a 16. ábrán látható koncentráció-eloszlási görbéknek megfelelő modellt kapjuk. Ezen feltételezett modell helyességét azonban egy másik, a pH-potenciometriától független módszerrel nem tudtuk alátámasztani. A modell alapján savas pH-tartományban egyértelműen a fémion hidrolízise a meghatározó. A dimer részecskék képződése mellett monomer komplexek nem számolhatók.



16. ábra A V(III) – hisztidin rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{V(III)} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$, V(III):His = 1:4).

4.2.4. Komplexképződés pikolinsav-származékokkal

A vizsgált ligandumok a pikolinsav, 6-metil-pikolinsav, dipikolinsav és 4-hidroxi-dipikolinsav voltak, melyek szerkezeti képletei a 17. ábrán láthatók. A ligandumok savi disszociációs állandóinak értékeit a 6. táblázatban foglaltuk össze.



17. ábra A pikolinsav (a), 6-metil-pikolinsav (b), dipikolinsav (c) és 4-hidroxi-dipikolinsav (d) szerkezeti képlete.

6. táblázat A pikolinsav (Pic), 6-metil-pikolinsav (MePic), dipikolinsav (DiPic) és 4-hidroxi-dipikolinsav (DiPicOH) savi disszociációs állandói (pK) (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

	Pic	MePic	DiPic	DiPicOH
pK _{COOH}	—	—	< 1	< 1
pK _{COOH}	~ 1	~ 1	2,04(1)	~ 1
pK _{piridin-N}	5,16(1)	5,79(1)	4,56(1)	3,19(2)
pK _{OH}	—	—	—	10,71(2)

A teljesen protonált pikolinsavnak és 6-metil-pikolinsavnak a mérhető pH-tartományban két disszociálható protonja van. A karboxilcsoport mindkét esetben nagyon savas, ami a deprotonálódott karboxilátcsoport oxigénje és a protonált piridin-nitrogén között kialakuló intramolekuláris hidrogénkötéssel értelmezhető.¹⁸³ A 6-metil-pikolinsav nagyobb bázicitását a ligandumon lévő elektronküldő metilcsoport okozza. A dipikolinsav és a 4-hidroxi-dipikolinsav esetén a piridingyűrűn két karboxilcsoport van, melyek szintén nagyon savasak. Mindkét ligandum bázicitása kisebb a pikolinsavhoz képest, a molekulán található elektronszívó csoportoknak köszönhetően. A 4-hidroxi-dipikolinsav esetén a pK = 10,71 érték a piridingyűrűn lévő fenolos hidroxilcsoport deprotonálódásához rendelhető. Az általunk meghatározott pK értékek mind a négy ligandum esetén jó egyezést mutatnak az irodalomban található adatokkal.^{183,187}

A pH-potenciometriás és a spektrofotometriás mérések kiértékelése során a ligandumok V(III)-ionnal képezett komplexeinek összetétele és stabilitási szorzat értékei a 7. táblázatban láthatók. A teljesen deprotonált ligandumok eltérő töltése miatt az egyes komplexek töltéseit a táblázatban nem tüntettük fel.

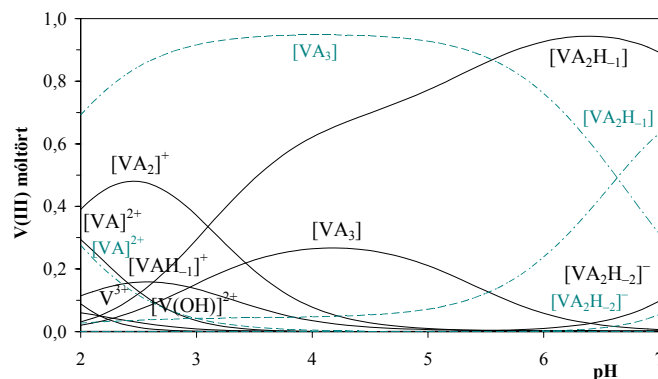
7. táblázat A V(III) – pikolinsav (Pic), 6-metil-pikolinsav (MePic), dipikolinsav (DiPic) és 4-hidroxi-dipikolinsav (DiPicOH) rendszerben képződő komplexek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	Pic	MePic	DiPic	DiPicOH
[VAH]	—	—	—	19,57(R) 19,57(8)*
[VA]	6,28(6)	5,98(5)	9,45(R) 9,45(5)*	15,23(1) 15,15(8)*
[VAH ₁]	3,87(3) 4,01(4)*	2,67(3) 2,83(8)*	4,63(9)	9,95(2) 9,7(1)*
[VA ₂ H ₂]	—	—	—	33,30(4)
[VA ₂ H]	—	—	18,02(7)	28,94(7)
[VA ₂]	12,16(4) 12,49(6)*	—	15,18(5) 15,2(1)*	22,8(3)
[VA ₂ H ₁]	9,06(4) 9,16(6)*	6,90(4) 7,49(4)*	8,52(6)	—
[VA ₂ H ₂]	1,1(2)	—	—	—
[VA ₃]	16,63(9)	—	—	—

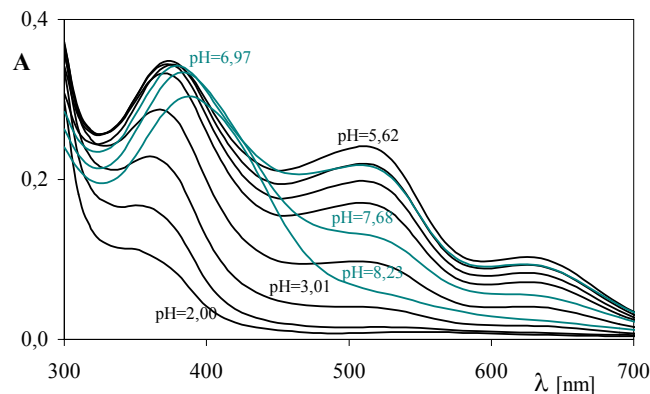
* spektrofotometriából meghatározott adatok
(R) spektrofotometriából számolt és rögzített érték

A *pikolinsav* esetén a pH-potenciometriás adatokból számolható komplexek koncentráció-eloszlási görbéi a 18. ábrán láthatók. A komplexképződés a fémionnal már $\text{pH} < 2$ -nél elkezdődik, a képződő komplexek savas pH-tartományban intenzív vörös, míg $\text{pH} \sim 8$ -nál erős sárga színűek. A rendszerben mono-, bisz- és triszkomplexek képződnek, melyekben a ligandum a karboxilát-oxigéneken és a piridin-nitrogéneken keresztül koordinálódik a fémionhoz, öttagú kelátgyűrűt alakítva ki. Emellett a $[\text{VAH}_1]^+$, a $[\text{VA}_2\text{H}_1]$ és a $[\text{VA}_2\text{H}_2]^-$ összetételű vegyes hidroxokomplexek is megjelennek, amelyekben a fémion koordinációs szférájában található vízmolekula deprotonálódik. A vizsgált pH-tartományban a komplexképződés a fémion hidrolízisét képes teljesen visszaszorítani. Ismert az irodalomból,⁸⁵ hogy a V(III)-ion trisz pikolinát-komplexe savas pH-tartományból szilárdan is kinyerhető, így számításokat végeztünk az általunk kapott modell helyességének ellenőrzésére, jóval nagyobb koncentráció mellett. Amint azt a 18. ábra mutatja (szaggatott vonal), $0,1\text{ mol/dm}^3$ fémion koncentráció és 1:4 fémion – ligandum arány esetén széles pH-tartományban a triszkomplex a fő részecske. A komplexképződést tanulmányoztuk

spektrofotometriásan is, mely lehetőséget adott a képződő részecskék stabilitási szorzatainak meghatározására egy, a pH-potenciometriától független módszerrel. Az egyes pH értékeken felvett spektrumok a 19. ábrán találhatóak. A spektrumokon három abszorpciós maximum jelentkezik 375, 515 és 628 nm-nél, ami jellemző a V(III)-ionra oktaéderez környezetben.⁸⁵ A spektrumok kiértékelésével kapott stabilitási szorzat értékek (7. táblázat) jó egyezésben vannak a pH-potenciometriás adatokból meghatározott értékekkel.



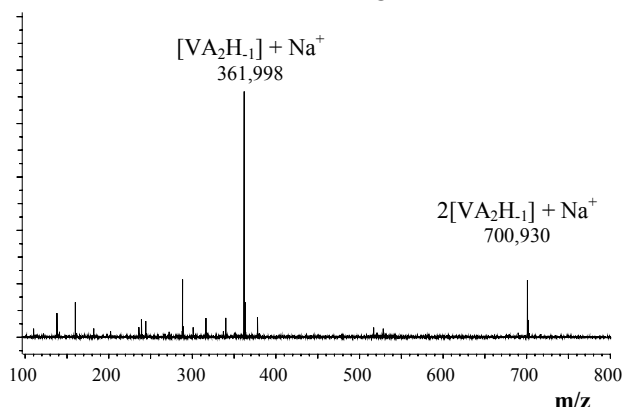
18. ábra A V(III) – pikolinsav rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{V(III)} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$ (—), $c_{V(III)} = 0,100 \text{ mol/dm}^3$ (---), V(III):Pic = 1:4).



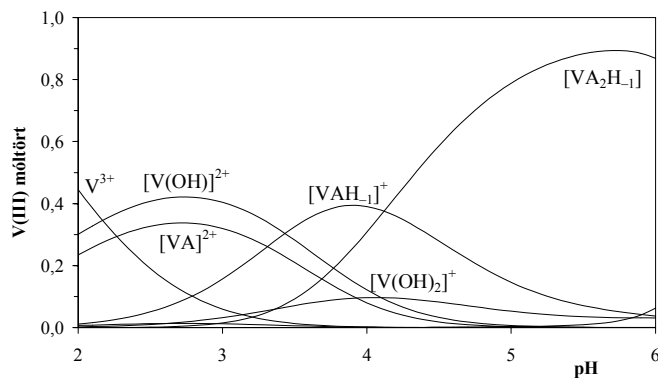
19. ábra A V(III) – pikolinsav rendszerben felvett UV-látható spektrumok ($c_{V(III)} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$, V(III):Pic = 1:4).

A *6-metil-pikolinsav* esetén a pikolinsavhoz képest a komplexképződés nagyobb pH-n indult és $0,004 \text{ mol/dm}^3$ ligandum koncentráció esetén pH ~ 5,5-nél lilásrózsaszín csapadék vált ki. A pH-potenciometriás adatok kiértékelése során a rendszert kétféle modellel tudtuk leírni, ahol vagy a $[VA_3]$ összetételű

triszkomplex, vagy a $[VA_2H_{-1}]$ összetételű vegyes hidroxokomplex képződik, egymást helyettesítve. A komplexképződés során kivált csapadékot ESI-MS spektroszkópiával vizsgálva azt kaptuk, hogy a komplex egyértelműen $[VA_2H_{-1}]$ összetétellel írható le. Az ESI-MS spektrum a 20. ábrán, az eredménynek megfelelően számolható koncentráció-eloszlási görbék a 21. ábrán láthatók.



20. ábra A V(III) – 6-metil-pikolinsav rendszerben pH = 5,5-nél képződő szilárd komplex ESI-MS spektruma.

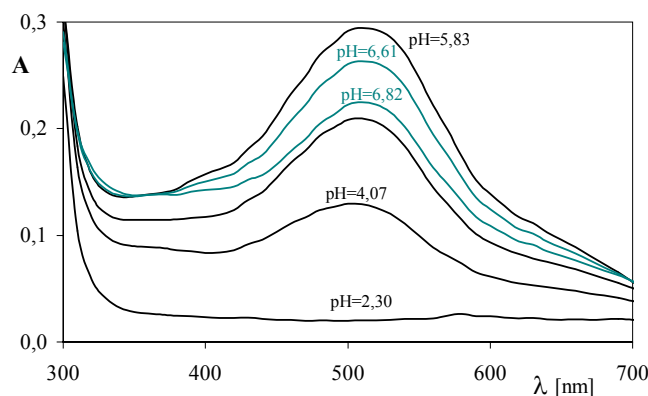


21. ábra A V(III) – 6-metil-pikolinsav rendszerben képződő komplexek koncentrációelozslási görbéi ($c_{V(III)} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, V(III):MePic = 1:4).

Amint azt a koncentráció-eloszlási görbék mutatják, a komplexképződés a fémion hidrolízisével párhuzamosan játszódik le. Ha a komplexek képződésére számolható származtatott egyensúlyi állandók értékeit összehasonlítjuk a pikolinsavéval, azt kapjuk, hogy a 6-metil-pikolinsav esetén képződő komplexek stabilitása kisebb. Ezt egyértelműen alátámasztják a $V^{3+} + HA \rightarrow [VA]^{2+} + H^+$ folyamatra számolható értékek ($\log K = 1,12$ (Pic); $\log K = 0,19$ (MePic)). A második ligandum fémionhoz való koordinálódása szintén kevésbé kedvezményezett a pikolinsavhoz képest,

melyet a $[\text{VAH}_1]^+ + \text{HA} \rightarrow [\text{VA}_2\text{H}_1] + \text{H}^+$ folyamatra számolt értékek mutatnak ($\log K = 0,03$ (Pic); $\log K = -1,56$ (MePic)). Mindebből arra következtethetünk, hogy a ligandumok fémionhoz való koordinálódásával kialakuló (N,O) kelát stabilitása a 6-metil-pikolinsav esetén kisebb, melyet feltehetően a piridin-gyűrűn lévő metilcsoport sztérikus gátlása okozhat.

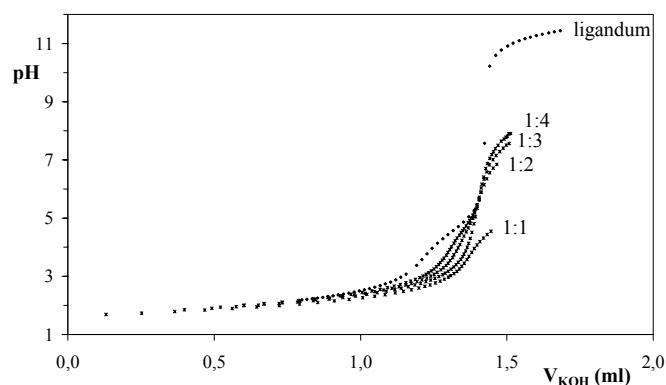
Az UV-látható spektrofotometriás mérések során a különböző pH értékeken felvett spektrumokat a 22. ábrán mutatjuk be. 515 nm-nél a pH függvényében pH ~ 5,8-ig növekvő, majd e fölött csökkenő intenzitású abszorpciós görbét kaptunk, amelyet a pikolinsav esetén kapott spektrummal összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a 6-metil-pikolinsavval képződő részecskék kissé torzult oktaédes geometriával jellemezhetők. A fő komplexekre a spektrofotometriából meghatározott stabilitási szorzat értékek (7. táblázat) jó egyezésben vannak a pH-potenciometriás értékekkel.



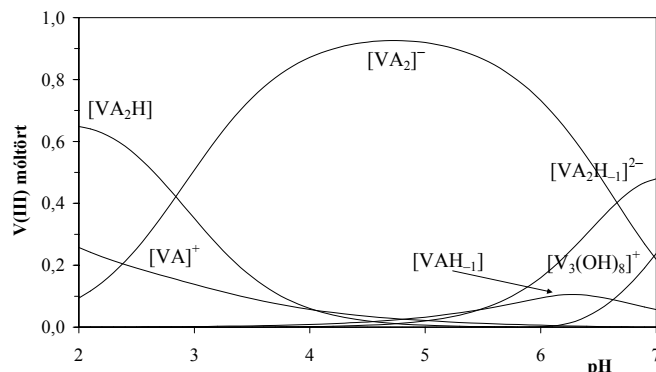
22. ábra A V(III) – 6-metil-pikolinsav rendszerben felvett UV-látható spektrumok ($c_{\text{V(III)}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, V(III):MePic = 1:4).

A *dipikolinsav* háromfogú ligandumként is viselkedhet, (O,N,O) kötőmódú csatolt kelátot kialakítva (17. ábra). A titrálások során különböző fémion – ligandum arány mellett felvett pH-potenciometriás titrálási görbék a 23. ábrán láthatók. A titrálási görbék mutatják, hogy ligandumfelesleg esetén pH ~ 5-ig extra lúgfogyasztó folyamat nincs, és a fémion hidrolízise ezen pH értékig nem következik be. Ez arra utal, hogy már 1:2 fémion – ligandum arány elegendő egy nagy stabilitású komplex kialakításához. A komplexképződés nagyon savas pH-n indul, és pH = 2-nél már nincs szabad fémion a rendszerben, ezért a pH-potenciometria önmagában nem volt alkalmas a komplexképződés leírására. Így a kiértékelést úgy végeztük, hogy kombinált pH – spektrofotometriás titrálásból

meghatároztuk a mintákban erősen savas pH-n, 1:1 aránynál kizárólagosan képződő $[VA]^+$ összetételű részecske stabilitási szorzat értékét, majd azt lerögzítve értékeltük ki a pH-potenciometriás görbéket. A modell alapján a képződő komplexekre számolható koncentráció-eloszlás görbék a pH függvényében a 24. ábrán láthatók.



23. ábra A dipikolinsav és a V(III) – dipikolinsav különböző arányú mintáinak titrálási görbéi ($t = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

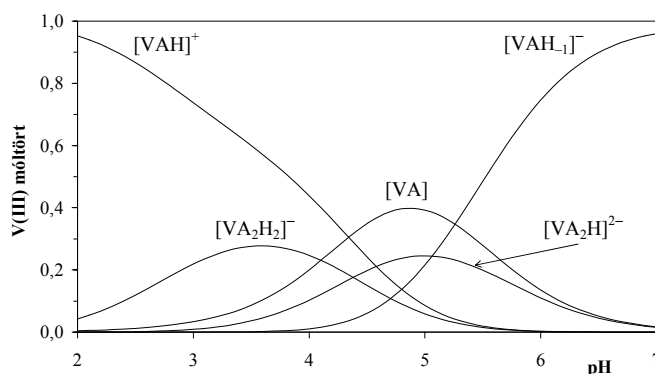


24. ábra A V(III) – dipikolinsav rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{V(III)} = 0,001\text{ mol/dm}^3$, $V(III):DiPic = 1:2$).

A vizsgált pH-tartományban különböző protonáltsági fokú biszkomplexek a fő részecskék, a mono-komplexek csak alárendelten képződnek. A $[VA]^+$ összetételű komplexben a ligandum feltehetően tridentát módon koordinálódik a fémionhoz. A $[VA_2H]$ részecskében valószínűleg az egyik karboxilátcsoport protonált, mivel az UV-látható spektrofotometriás mérések során ezen részecske deprotonálódási lépése nem járt spektrális változással. A $[VA_2]^-$ összetételű komplex széles pH-tartományban van jelen a rendszerben. Összehasonlítva a $VA + A \rightarrow VA_2$

folyamatra számolható származtatott állandó értékét a pikolinsav esetén számolt értékkel ($\log K_{\text{Pic}} = 5,88$; $\log K_{\text{DiPic}} = 5,73$), azt valószínűsíthetjük, hogy a dipikolinsavval a második ligandum a pikolinsavhoz hasonlóan bidentát módon, (N,O) kelátot képezve koordinálódik a fémionhoz. A $\text{pH} = 5$ felett jelentkező további lúgfogyasztó folyamat a $[\text{VAH}_1]$ és a $[\text{VA}_2\text{H}_1]^{2-}$ összetétellel megadható, feltehetően vegyes hidroxokomplexek képződésére utal. Ezekben a részecskékben a fémion koordinációs szférájában lévő vízmolekula deprotonálódik. A pH további növelésével ($\text{pH} > 7$) a komplexek elbomlanak és a V(III)-ion hidrolízise következik be.

A 4-hidroxi-dipikolinsav a dipikolinsavhoz hasonlóan tridentát (O,N,O) koordinációt alakíthat ki. A ligandum 4-es helyzetben egy fenolos hidroxilcsoportot tartalmaz, mely közvetlenül nem vehet részt a kelátképzésben (17. ábra). A komplexképződés a dipikolinsavhoz hasonlóan nagyon savas pH -n indul, így ezen rendszer esetén is kombinált pH – spektrofotometriás titrálással határoztuk meg a $[\text{VAH}]^+$ komplex stabilitási szorzatát, majd azt lerögzítve számoltuk a pH -potenciometriás adatokat. A komplexekre számolt koncentráció-eloszlási görbéket a 25. ábra mutatja be.



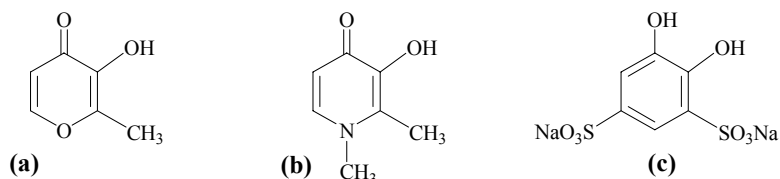
25. ábra A V(III) – 4-hidroxi-dipikolinsav rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{\text{V(III)}} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$, V(III):DiPicOH = 1:2).

Itt, a dipikolinsavval ellentétben, a mono-komplexek a meghatározó részecskék, míg a biszkomplexek párhuzamosan, de kisebb koncentrációban képződnek. A $[\text{VAH}]^+$ és a $[\text{VA}_2\text{H}_2]^-$ összetételű részecskékben a ligandum feltehetően tridentát módon koordinálódik a fémionhoz. A pH növelésével a koordinált ligandum fenolos hidroxilcsoportjának deprotonálódása következik be. Ezt egyértelműen alátámasztja a monokomplex esetén számolható $\text{p}K_{[\text{VAH}]^+} = 4,34$ érték, mely jó egyezésben van az irodalomban más fémionokkal (VO^{2+} : 4,09; VO_2^+ : 3,70; Cu^{2+} :

4,86)^{187,188} leírt eredménnyel. A fenolos hidroxilcsoport bázicitásának több nagyságrenddel való csökkenését feltehetően az okozza, hogy a ligandum fémionhoz való koordinációjával az aromás gyűrű elektronsűrűsége jelentősen csökken, ami megnöveli az OH-csoport savasságát. Az így képződő [VA] komplexben a fémion körüli elektronsűrűség megnő, ami megmagyarázza, hogy a pH további növelésével miért a [VAH₁]⁻ összetételű mono-komplex képződése a kedvezményezett a bisz-komplexével szemben. A [VAH₁]⁻ részecskében a fémionhoz koordinálódó egyik vízmolekula deprotonálódik.

4.2.5. Komplexképződés (O,O) donor ligandumokkal

A kelátképző helyzetben oxigén donoratomokat tartalmazó vizsgált ligandumok a maltol, 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon és tiron voltak, melyek szerkezeti képleteit a 26. ábrán mutatjuk be. A ligandumok savi disszociációs állandóinak értékeit, valamint a V(III)-ionnal képezett komplexeik összetételét és stabilitási szorzat értékeit a 8. táblázatban foglaltuk össze. A teljesen deprotonált ligandumok eltérő töltése miatt az egyes komplexek töltéseit a táblázatban nem tüntettük fel.



26. ábra A maltol (a), 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon (b) és tiron (c) szerkezeti képlete.

A maltol a mérhető pH-tartományban egy disszociálható protont tartalmaz, a gyűrűn 3-as helyzetben található hidroxilcsoporton. A másik két ligandum esetén két deprotonálódási lépés adható meg. Az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinonnal a hidroxilcsoport mellett a piridin-gyűrűben lévő protonált nitrogén deprotonálódása számolható pK = 3,67 értékkel, míg a tiron a benzol-gyűrűn 1-es és 2-es helyzetben két fenolos hidroxilcsoportot tartalmaz. Mindhárom ligandum esetén az általunk meghatározott pK értékek jó egyezést mutatnak az irodalomban előzetesen meghatározott adatokkal.⁶⁷

A ligandumok valamennyi esetben a gyűrűn kelátképző helyzetben lévő oxigéneken keresztül koordinálódhatnak a V(III)-ionhoz, ahogyan azt az irodalomban a maltol és az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon esetén meghatározott röntgenszerkezet is alátámasztja.⁵⁸ A komplexképződés mindhárom

ligandummal pH = 2 alatt elkezdődik, és a fémion hidrolízise még 1:1 fémion – ligandum arány esetén is széles pH-tartományban visszaszorult. A pH-potenciometriás adatok kiértékelése során kapott modellek alapján a ligandumokkal a V(III)-ion nagy stabilitású mono-, bisz- és triszkomplexeket képez, emellett kis koncentrációban megjelennek a $[VAH_{-1}]$ és $[VA_2H_{-1}]$ összetételű vegyes hidroxokomplexek is (8. táblázat). Az egyes rendszerekben a részecskék stabilitása a ligandumokban a donoratomok bázicitásának megfelelően változik. A maltol és az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon esetén a monokomplex képződését a pH = 0,8 – 2,0 tartományban spektrofotometriás mérésrel is tanulmányoztuk. A maltolnál a pH-potenciometriás adatok kiértékelését a kapott állandó értéket lerögzítve végeztük, mivel pH = 2-nél a rendszerben már nem volt jelen szabad fémion. A tiron esetén kombinált pH – spektrofotometriás titrálással a mono-, bisz- és triszkomplex képződése egyaránt nyomon követhető volt. Az így meghatározott stabilitási szorzat értékek jó egyezésben vannak a pH-potenciometriával meghatározott adatokkal (8. táblázat).

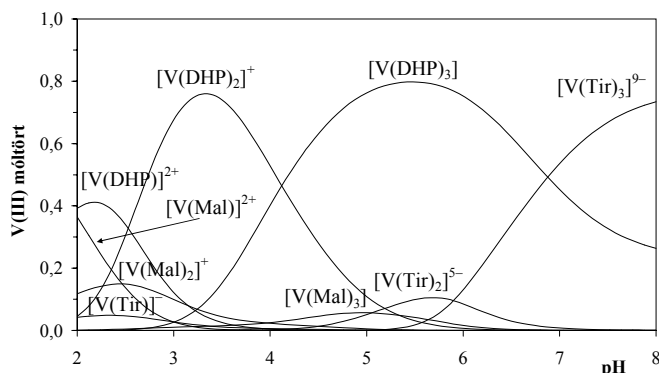
8. táblázat A maltol (Mal), 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon (DHP) és tiron (Tir) savi disszociációs állandói, a V(III) – komplexek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	Mal	DHP	Tir
pK ₁	8,46(1)	3,67(1)	7,47(3)
pK ₂	—	9,75(1)	12,3(1)
[VA]	10,38(R) 10,38(1)*	13,36(3) 13,44(1)*	18,65(2) 18,73(1)*
[VAH ₋₁]	6,39(9)	9,10(6)	13,69(9)
[VA ₂]	18,97(2)	24,45(4)	32,53(2) 32,06(2)*
[VA ₂ H ₋₁]	13,1(1)	18,39(6)	24,80(9)
[VA ₃]	26,01(3)	33,39(5)	43,10(3) 42,27(4)*

* spektrofotometriából meghatározott adatok
(R) spektrofotometriából számolt és rögzített érték

Mivel a koordinálódó donoratomok kémiai minősége nagyon eltérő, ezáltal azok bázicitása nagymértékben különbözik egymástól, így V(III)-ion megkötő képességük összehasonlítására az egyes rendszerekben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi helyett egy olyan elméleti koncentráció-eloszlási

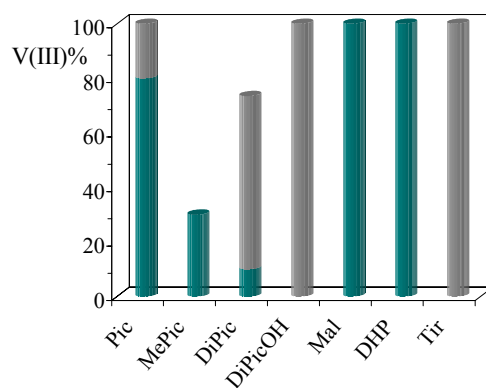
görbét készítettünk, ahol a V(III)-ion mellett egyszerre van jelen a három ligandum (27. ábra). Az összesített koncentráció-eloszlási görbék mutatják, hogy a legkisebb bázicitású maltollal képződő komplexek csak a savas pH-tartományban vannak jelen, míg a nagyobb bázicitású 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon komplexei a pH = 3 – 7 tartományban dominánsak. A legnagyobb bázicitású donoratomokat tartalmazó tironnal képződő komplexek nagy mennyiségben csak lúgos pH-tartományban jelennek meg. Ha az egyes rendszerekben számolható $\log(K_1/K_2)$ értékeket összehasonlítjuk (Mal: 1,79; DHP: 2,29; Tir: 4,77), azt kapjuk, hogy a biszkomplex képződése a maltollal a legkedvezőbb, míg a tironnal a legkedvezőtlenebb. Ez magyarázható egyrészt a tiron molekulán található szubsztituensek sztérikus gátlásával, illetve azzal, hogy míg a maltol és az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon esetén a biszkomplex képződése töltés-kompenzációval jár ($VA^{2+} + A^- \rightarrow VA_2^+$), addig a tironnál a már eleve negatív töltésű monokomplexhez kapcsolódik a szintén negatív töltésű ligandum ($VA^- + A^{4-} \rightarrow VA_2^{5-}$).



27. ábra A V(III) – maltol (Mal) / 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon (DHP) / tiron (Tir) hipotetikus rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{V(III)} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$, V(III):Mal:DHP:Tir = 1:3:3:3).

A 28. ábrán látható oszlopdiagramot annak összehasonlítására készítettük, hogy az általunk vizsgált, a V(III)-iont erősen kötni tudó (N,O) – pikolinsav és származékai –, illetve (O,O) ligandumok közül melyik az, amelyiknek ténylegesen szerepe lehet közel fiziológias pH-n a fémion kötésében és szállításában. Az ábra pH = 7,0-nél a komplexben kötött fémion mennyiségét (szürke oszlop), illetve ezen belül a semleges komplexek mennyiségét (zöld oszlop) mutatja. Mivel a semleges molekulák a membránon passzív transzporttal könnyebben átjutnak, mint a töltéssel rendelkezők, az eredményeink azt mutatják, hogy a pikolinsav, a maltol és

az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon lehetnek a legjobb hordozómolekulái a V(III)-ionnak ebben az egyszerű modellben.

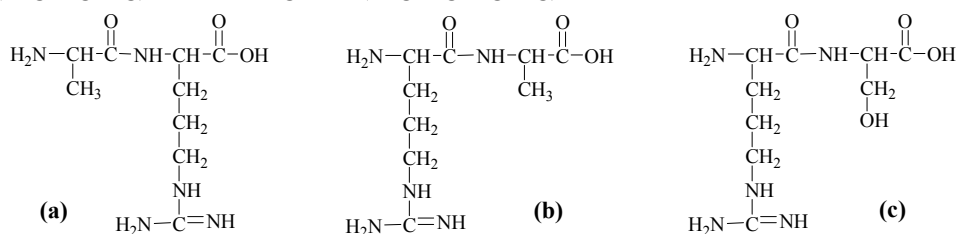


28. ábra A ligandumok által komplexben kötött V(III) mennyisége (■), illetve a semleges komplexben lévő V(III) mennyisége (■) pH = 7,0-nél.

4.3. Az arginin oldallánc hatásának tanulmányozása

4.3.1. A vizsgált peptidok disszociációs állandói

Az arginin az élő szervezetben megtalálható α -aminosav, mely oldalláncában a guanidino-csoportot tartalmazza (29. ábra). Az általunk vizsgált arginin tartalmú dipeptidok az alanil-arginin (AlaArg), arginil-alanin (ArgAla), arginil-szerin (ArgSer) és arginil-arginin (ArgArg) voltak. Továbbá vizsgáltuk a triarginint (ArgArgArg) és a tetraarginint (ArgArgArgArg) is.



29. ábra Az AlaArg (a), ArgAla (b) és ArgSer (c) szerkezeti képlete.

A protonált guanidino-csoport deprotonálódása a mérhető pH-tartományban nem következik be ($pK_{\text{guan.}} \sim 15$). A vizsgált dipeptidekben található alanin és szerin az oldalláncában nem tartalmaz disszociálós protont. Így valamennyi ligandum esetén két disszociációs állandó határozható meg a mérhető pH-tartományban, amely a karboxilcsoport és protonált aminocsoport deprotonálódásához rendelhető. A dipeptidekre kapott disszociációs állandók értékeit a 9. táblázatban, míg a triargininre és a tetraargininre vonatkozó értékeket a 10. táblázatban tüntettük fel. Összehasonlításként megadtuk a di-, tri-, ill. tetraglicinre vonatkozó irodalmi adatokat is.^{189,190}

Az eredmények azt mutatják, hogy valamennyi arginin tartalmú származék esetén az aminocsoporthoz rendelhető savi disszociációs állandó értéke kisebb a megfelelő glicin-származékhoz képest. Ez a különbség nagyobb mértékben jelentkezik az N-terminális helyzetben arginint tartalmazó dipeptidek, illetve a tri- és tetraarginin esetén. A karboxilcsoporthoz rendelhető disszociációs állandó értékének változására ilyen szabályszerű következtetés nem vonható le. Ez annak is tulajdonítható, hogy a ligandumokat acetát só formájában tudtuk megvásárolni, így a minták nagy mennyiségű acetát tartalma növelte az első deprotonálódási lépés meghatározásának a hibáját.

4.3.2. Komplexképződés Cu(II)-ionnal

Az egyes rendszerekben a Cu(II)-ionnal képződő komplexekre a pH-potenciometriás mérésekkel meghatározott stabilitási állandó értékek a 9. és 10. táblázatban találhatóak. A teljesen protonált ligandumok eltérő töltése miatt az egyes komplexek töltéseit a táblázatban nem tüntettük fel.

9. táblázat A vizsgált arginin tartalmú dipeptidek és a diglicin¹⁸⁹ savi disszociációs állandói, a Cu(II) – komplexek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$), illetve néhány származtatott állandó értéke ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

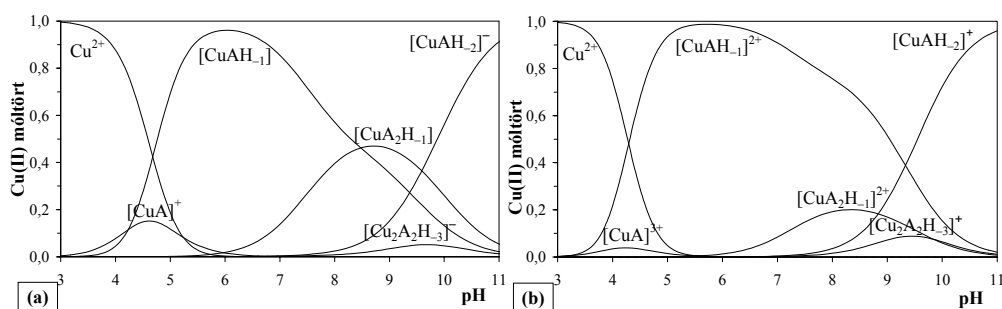
	AlaArg	ArgAla	ArgSer	ArgArg	GlyGly¹⁸⁹
pK_{karboxil}	3,05(1)	3,21(1)	2,93(2)	3,09(2)	3,17
pK_{amino}	8,00(1)	7,55(1)	7,57(1)	7,48(1)	8,13
[CuA]	5,11(3)	4,94(4)	5,22(5)	4,65(10)	5,56
[CuAH ₁]	1,63(1)	1,40(1)	1,57(1)	1,45(1)	1,33
[CuA ₂ H ₁]	4,41(2)	3,55(8)	3,84(9)	3,76(10)	4,46
[Cu ₂ A ₂ H ₃]	-4,07(2)	-4,44(8)	-3,94(10)	-4,27(13)	-4,51
[CuAH ₂]	-7,75(1)	-8,03(1)	-7,70(1)	-7,88(2)	-8,04
$pK_2 - \lg\beta_{[\text{CuA}]}$	2,89	2,61	2,35	2,83	2,57
$\text{CuAH}_{-1} + \text{A} = \text{CuA}_2\text{H}_{-1}$	2,78	2,15	2,27	2,31	3,13

10. táblázat A tri- és tetraarginin, illetve a tri- és tetraglicin¹⁹⁰ savi disszociációs állandói, a Cu(II)–komplexek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$), illetve az amid-nitrogének deprotonálódására számolható állandók értékei ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	ArgArgArg	GlyGlyGly¹⁹⁰	ArgArgArgArg	GlyGlyGlyGly¹⁹⁰
pK_{karboxil}	3,35(7)	3,32	3,00(2)	3,24
pK_{amino}	7,23(1)	7,93	7,13(1)	7,94
[CuA]	3,69(51)	5,25	3,25(54)	5,06
[CuAH ₁]	-0,46(2)	-0,16	-1,11(2)	-0,50
[CuAH ₂]	-6,65(2)	-7,02	-8,32(4)	-7,41
[CuAH ₃]	—	—	-17,22(5)	-16,59
$pK_{\text{amid,2}}$	6,19	6,86	7,21	6,91
$pK_{\text{amid,3}}$	—	—	8,90	9,18
$pK_2 - \lg\beta_{[\text{CuA}]}$	3,54	2,68	3,88	2,88

Az eredményeink azt mutatták, hogy az egyes rendszerek a megfelelő glicin-származéknál az irodalomban előzetesen meghatározott modellel jól leírhatók.^{189,190}

A $pK_2 - \lg\beta_{[CuA]}$ érték (9. és 10. táblázat) a komplexképződés során az első részecske, a $[CuA]$ képződésére számolható származtatott állandó, melynél a komplex stabilitási szorzatának az értékét az aminocsoport bázicitásával korrigáltuk. Az így kapott értékek már közvetlenül is összehasonlíthatók. Minél kisebb az állandó, annál stabilabb a képződő komplex. A dipeptideknél a GlyGly-nel összehasonlítva az adatokat, azt láthatjuk, hogy egyedül az ArgSer esetén nagyobb a $[CuA]$ komplex stabilitása, míg a többi arginin tartalmú ligandummal stabilitáscsökkenés következik be. Ezt a stabilitáscsökkenést okozhatja az, hogy a protonált guanidino-csoport miatt a pozitívan töltött ligandum Cu(II)-ionhoz való koordinációja nem jár töltéskompenzációval. Különösen érvényesül ez a hatás a több guanidino-csoportot tartalmazó ligandumok (tri- és tetraarginin) esetén, ahol a megfelelő glicin-származékkal összehasonlítva a származtatott állandó értékét, mintegy egy nagyságrendnyi különbség jelentkezik. A 30. ábrán látható két koncentráció-eloszlás görbén jól látható, hogy az ArgArg esetén a $[CuA]$ részecske kisebb mennyiségben képződik a GlyGly-hez képest. Az ArgSer-nél, összevetve az ArgAla-val, a kismértékű stabilitásnövekedés a szerin oldalláncához rendelhető.



30. ábra A Cu(II) – GlyGly (a) és a Cu(II) – ArgArg (b) rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{Cu(II)} = 0,002 \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):A = 1:2).

A $CuAH_{-1} + A \rightarrow CuA_2H_{-1}$ folyamatra számolható származtatott állandók értékei azt mutatják meg, mennyire kedvezményezett a biszkomplex képződése során a második ligandum koordinációja a fémionhoz. Valamennyi dipeptidre a számolható értékek kisebbek a GlyGly-re kapott értékhez képest (9. táblázat) – nagyobb mértékben igaz ez az N-terminális végen arginint tartalmazó dipeptidekre –, ami azt jelenti, hogy az arginin tartalmú származékoknál a biszkomplex képződése nem kedvezményezett (30. ábra). Ezt minden bizonnyal a nagy térkitöltésű oldallánc sztérikus gátlása okozza.

A képződő komplexek szerkezetének meghatározására különböző spektroszkópiás méréseket végeztünk (UV-látható spektrofotometria, ESR és CD

spektroszkópia). A kapott spektrális paramétereket a 11. táblázatban foglaltuk össze. Az adatok alapján arra következtethetünk, hogy az arginint tartalmazó ligandumok Cu(II)-ionnal való komplexképződése során a kialakuló kötési módok megegyeznek a nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó, megfelelő glicin-származék esetén leírt eredményekkel.¹⁹⁰

11. táblázat Az arginin tartalmú peptidok Cu(II)-komplexeire meghatározott ESR és UV-látható spektrofotometriás paraméterek.

		g_{\parallel}	$A_{\parallel} (\cdot 10^{-4} \text{cm}^{-1})$	$\lambda_{\text{max}} (\text{nm})$	$\epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$
AlaArg	[CuA]	2,309	171,2	—	—
	[CuAH ₁]	2,245	179,2	630	86
	[CuA ₂ H ₁]	2,230	161,2	622	86
	[CuAH ₂]	2,242	155,5	629	76
ArgAla	[CuA]	2,309	171,1	—	—
	[CuAH ₁]	2,244	179,1	631	84
	[CuA ₂ H ₁]	2,226	166,0	626	89
	[CuAH ₂]	2,243	153,5	632	76
ArgSer	[CuA]	2,304	173,9	—	—
	[CuAH ₁]	2,242	182,6	631	86
	[CuA ₂ H ₁]	2,225	167,5	623	87
	[CuAH ₂]	2,243	160,6	634	82
ArgArg	[CuA]	2,311	168,1	—	—
	[CuAH ₁]	2,247	176,3	631	88
	[CuA ₂ H ₁]	2,229	161,7	628	87
	[CuAH ₂]	2,246	155,2	632	76
ArgArgArg	[CuA]	2,311	166,6	—	—
	[CuAH ₁]	2,253	169,0	—	—
	[CuAH ₂]	2,201	196,2	544	145
ArgArgArgArg	[CuAH ₁]	2,252	174,6	—	—
	[CuAH ₂]	2,216	178,9	—	—
	[CuAH ₃]	2,173	206,1	517	187

A vizsgált dipeptideknél a komplexképződés a terminális aminos csoport koordinációjával indul, a [CuA] részecskében (NH₂,CO) kötési módú öttagú kelát alakul ki. A pH növelésével a [CuAH₁] komplexben az amid-nitrogén deprotonálódik és koordinálódik a fémionhoz, (NH₂,N⁻,COO⁻) kötési módú csatolt kelátot hozva létre. Lúgos pH-n a Cu(II)-ion negyedik ekvatoriális koordinációs helyét elfoglaló vízmolekula deprotonálódásával a [CuAH₂] összetételű vegyes hidroxokomplex képződik. Ligandumfelesleg mellett a [CuA₂H₁] összetételű biszkomplex is megjelenik, melyben az egyik ligandum (NH₂,N⁻,COO⁻), míg a

másik ligandum axiális-ekvatoriális helyzetben (NH_2, CO) kötésmóddal koordinálódik a fémionhoz. A második ligandumban az amid-nitrogén deprotonálódása nem következik be, így ez gyengébb kötést eredményez.

A $[\text{Cu}_2\text{A}_2\text{H}_3]$ összetétellel megadott részecske egy ESR inaktív dimer, melyben a két fémionhoz egy-egy ligandum ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-$) kötésmóddal koordinálódik, és a fémionokat egy hidroxid-híd kapcsolja össze.¹⁹⁰ A dimer a rendszerben csak igen kis mennyiségben jelenik meg (30. ábra), így erre a részecskére vonatkozó spektrális adat nem határozható meg.

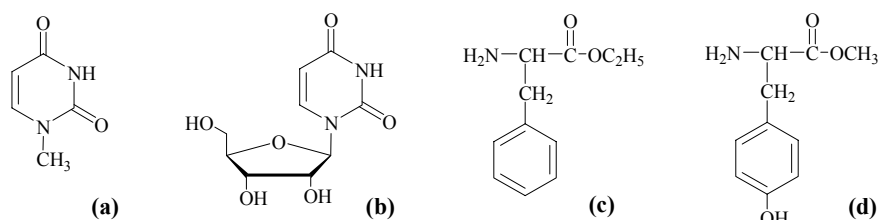
A tri- és tetraarginin esetén a komplexképződés a dipeptideknél leírt $[\text{CuA}]$ és $[\text{CuAH}_1]$ összetételű részecskékkel indul, (NH_2, CO) majd ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{CO}$) kialakuló kötésmóddal. A pH növelésével a peptidláncban található következő amid-nitrogén(ek) deprotonálódása és koordinációja következik be. A $[\text{CuAH}_2]$ részecskében a ligandum a fémionhoz az amino-nitrogén mellett két deprotonált amid-nitrogéneken, míg a tetraarginin esetén a $[\text{CuAH}_3]$ összetételű részecskében az amino-nitrogén mellett három deprotonált amid-nitrogéneken keresztül koordinálódik. Az amid-nitrogének deprotonálódására számolható állandók értékeit a 10. táblázatban tüntettük fel. Mivel a $[\text{CuA}]$ részecske csak kis mennyiségben képződik, így az arra meghatározott stabilitási szorzat értékének hibája, ezáltal az első amid-nitrogén deprotonálódására meghatározható érték hibája is meglehetősen nagy, ezért csak a második ill. a harmadik amid-nitrogénre vonatkozó pK értéket adtuk meg. A triargininnál a második, míg a tetraargininnál a harmadik amid-nitrogén deprotonálódása kedvezményezettebb, mint a glicin-származékokkal. Tehát ebben az esetben az arginin oldalláncának a kialakuló csatolt kelátgyűrűkre kismértékű stabilizáló hatása van.

Az általunk elvégzett szisztematikus vizsgálatok eredménye valamennyi tanulmányozott ligandum esetén azt mutatta, hogy az arginin oldalláncában található guanidino-csoport Cu(II) -ionhoz való koordinációja a $\text{pH} = 2 - 12$ tartományban nem következik be. Az oldalláncnak a képződő komplexek stabilitására gyakorolt kismértékű hatása mutatható csak ki, az irodalomban a koordinálódó donoratomot nem tartalmazó oldalláncú peptidekkel megegyezően.

4.3.3. Vegyes ligandumú rendszerek

Az arginin oldalláncának a komplexekben megvalósulható, másodlagos kölcsönhatásokon keresztüli stabilizáló szerepét tanulmányoztuk olyan vegyes ligandumú rendszerekben, ahol az AlaArg, ArgAla vagy ArgArg dipeptidek mellett B ligandumként nagy térkitöltésű, negatívan polározott csoportot tartalmazó

molekulát választottunk. A ligandumok kiválasztásánál további szempont volt, hogy a koordinációjuk a fémionhoz abban a pH-tartományban következzen be, ahol a dipeptidekkel a $[CuAH_{-1}]$ összetételű komplex már kialakult, így a Cu(II)-ion ekvatoriális koordinációs szférájában már csak egy szabad koordinációs hely maradt. Ennek a feltételnek olyan vegyületek felelnek meg, amelyekben a donortom deprotonálódása a fenti pH-tartományban játszódik le. A vizsgált ligandumok az 1-metil-uracil, uridin, fenilalanin-etil-észter és tirozin-metil-észter voltak (31. ábra). Az utóbbi két észterszármazék esetleges hatásának értelmezéséhez tanulmányoztuk az alanil-metil-észterrel kialakuló vegyes ligandumú rendszereket is.



31. ábra Az 1-metil-uracil (a), uridin (b), fenilalanin-etil-észter (c) és tirozin-metil-észter (d) szerkezeti képlete.

Mind az öt tanulmányozott vegyület egyfogú ligandumként viselkedik: az 1-metil-uracil és az uridin a gyűrűben 3-as helyzetben lévő nitrogénen, míg az észterszármazékok az N-terminálison lévő aminocsoporton keresztül tudnak a fémionhoz koordinálódni. Az egyes rendszerekben a Cu(II)-ionnal képezett vegyes ligandumú komplexre meghatározott stabilitási szorzat értékét a 12. táblázatban tüntettük fel. A táblázat tartalmazza továbbá a $[CuAH_{-1}] + B \rightarrow [CuABH_{-1}]$ folyamatra számolható származtatott állandó ($\log K$) értékét, valamint összehasonlításként a GlyGly esetén az 1-metil-uracilra és az uridinre az irodalomban előzetesen meghatározott értékeket is.¹⁹¹

Az 1-metil-uracil és az uridin esetén is azt kaptuk, hogy mindhárom vizsgált dipeptiddel a képződő vegyes ligandumú komplex stabilitása a GlyGly-hez képest valamivel nagyobb. Ez a stabilizáló hatás nagyobb mértékben jelentkezik, ha a dipeptid a C-terminális végén tartalmazza az arginint. A fenilalanin-etil-észter és tirozin-metil-észter esetén kapott adatokat az alanil-metil-észterrel tudjuk összehasonlítani. Itt az alanil-metil-észterhez képest mind a fenilalanin-, mind a tirozin-származék esetén csökken a kialakuló vegyes ligandumú komplex stabilitása. Minden bizonnyal ebben az esetben az általunk várt, a két ligandum oldallánca között kialakuló elektrosztatikus kölcsönhatás mellett a nagy térkitöltésű

csoportok szterikus gátlása is fellép. A nagyobb negatív polározottságú Tyr-OMe esetén a Phe-OEt-hez képest nagyobb stabilizáló hatást mindkét vizsgált dipeptiddel ki tudunk mutatni.

12. táblázat Az AlaArg, ArgAla, ArgArg és a GlyGly¹⁹¹ vegyes ligandumú rendszereiben képződő [CuABH₁] komplex stabilitási szorzata (logβ), és a származtatott állandó (logK) értéke (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

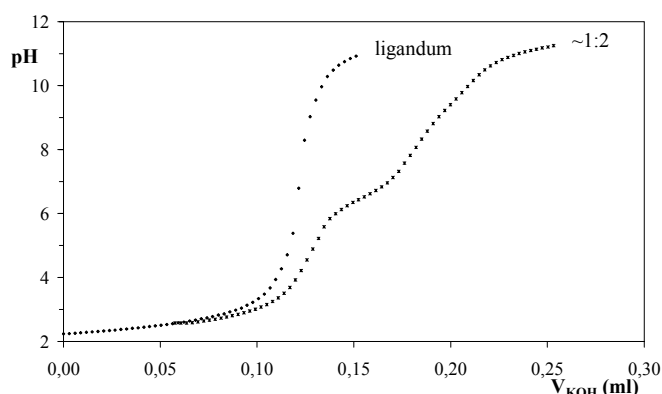
	AlaArg		ArgAla		ArgArg		GlyGly ¹⁹¹	
	logβ	logK	logβ	logK	logβ	logK	logβ	logK
1-Me-uracil	5,55(1)	3,92	5,19(1)	3,79	5,43(2)	3,98	4,90	3,57
uridin	5,36(1)	3,73	5,03(1)	3,63	5,24(2)	3,79	4,76	3,43
Ala-OMe	4,67(2)	3,04	4,39(3)	2,99	—	—	—	—
Phe-OEt	4,02(2)	2,39	3,86(2)	2,46	—	—	—	—
Tyr-OMe	13,81(3)	2,64	13,71(2)	2,77	—	—	—	—

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a kialakuló vegyes ligandumú komplexekben az arginin pozitív töltésű oldallánca a komplexben található, negatívan polározott, a fémionhoz nem koordinálódó csoporttal másodrendű, gyenge kölcsönhatást alakíthat ki, ami bár kis mértékben, de képes növelni a komplex stabilitását.

4.3.4. Az amilin 17–29 fragmens kölcsönhatása Cu(II)-ionnal

A vizsgált amilin fragmens a patkányokból izolált fehérje 17 – 29. tartománya. A 13 aminosavat tartalmazó, N- és C-terminális végen védett peptid szekvencia sorrendje a következő: Ac-ValArgSerSerAsnAsnLeuGlyProValLeuProPro-NH₂. A vegyület érdekessége, hogy a benne található aminosavak külön-külön az oldalláncaikban a fémionhoz koordinálódni képes donoratomot nem tartalmaznak. Az előzetes irodalmi eredmények alapján a peptidláncban csak az ArgSerSerAsnAsn szakasznál van lehetőség az oldalláncok közötti másodrendű kölcsönhatás kialakulására. Tehát ha az amid-nitrogének deprotonálódása és koordinációja bekövetkezik, az csak úgy lehetséges, ha a peptid ezen szakasza tölti be a horgonydonor szerepet, vagy legalább is elősegíti, hogy a fémion megfelelően közel kerüljön a peptidlánchoz. A komplexképződés tanulmányozását nagyban nehezítette, hogy a ligandum hatóanyag-tartalmának a meghatározására a pH-potenciometria nem alkalmas, mivel a mérhető pH-tartományban a vegyület nem

tartalmaz disszociálható protont. A csak ligandumot tartalmazó minta titrálási görbéje azt mutatta, hogy a vegyület csak, a komplexképződés szempontjából indifferens szennyeződést tartalmazhat, melynek a mérhető pH-tartományban nincs disszociálható protonja (pl. oldószermaradék). Mivel a ligandum hatóanyag-tartalmát nem tudtuk pontosan meghatározni, ezért a komplexképződés vizsgálata során a fémion – ligandum arány beállításánál közel 100 %-os tisztaságot feltételeztünk. A ligandum és a közelítőleg 1:2 Cu(II) – ligandum arányú minta titrálási görbéje a 32. ábrán látható.

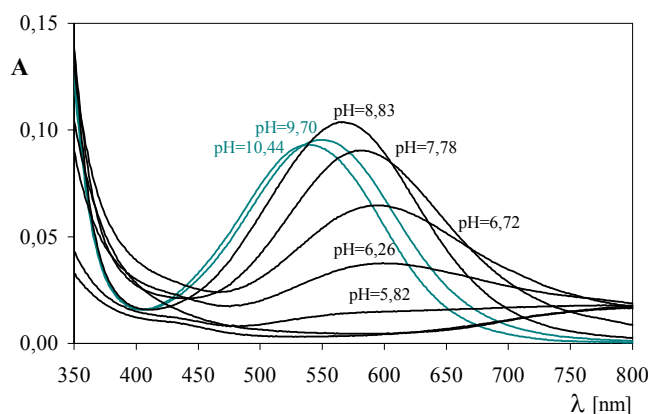


32. ábra Az amilin 17–29 és a Cu(II) – amilin 1:2 arányú mintájának titrálási görbéje ($t = 25,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

Amint azt a titrálási görbék egyértelműen mutatják, a fémiont tartalmazó minta esetén lejátszódik a komplexképződés. A kialakuló komplexek jelenlétét a titrálás során a minta színének változása is mutatta. A különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumokat a 33. ábra mutatja be. A spektrumokon az látható, hogy a komplexképződés pH ~ 5 -nél indul, és a λ_{max} értékének fokozatos eltolódása a kisebb hullámhosszak felé a Cu(II)-ionhoz koordinálódó nitrogénatomoknak tulajdonítható. A pH = 10,44-nél felvett spektrum esetén a $\lambda_{\text{max}} = 530\text{ nm}$, amely eltolódás megfelel a Sigel–Martin egyenletből számolható,⁹³ a Cu(II)-ionhoz ekvatoriálisan koordinálódó négy nitrogén-donor hatásának. Ez azt bizonyítja, hogy a peptidlánc amid-nitrogénjeinek a deprotonálódása és a fémionhoz való koordinációja bekövetkezik.

A Cu(II) – ligandum 1:1,1 arányú minta titrálása során csapadékképződést tapasztaltunk, mely csapadék a fémion hidrolíziséhez rendelhető. Ebből arra következtettünk, hogy a rendszerben fémion felesleg volt, azaz a ligandum hatóanyag-tartalma kisebb, mint 100 %. A tisztaságot, illetve a hatóanyag-tartalmat

próbáltuk ^1H -NMR mérésekkel meghatározni, ahol a peptidhez ismert mennyiségű nátrium-acetátot adtunk, pontosan ismerve az acetátcsoport kémiai eltolódását. A kiértékelést azonban nehezítette, hogy a peptid NMR spektruma igen összetett, és az egyes csoportokhoz tartozó kémiai eltolódások nem azonosíthatók be egyértelműen, ezért a komplexegyensúlyi vizsgálatokhoz szükséges pontosságot nem tudtuk elérni. További vizsgálatok elvégzésére nem volt lehetőségünk, mivel a vegyület csak igen kis mennyiségben állt rendelkezésünkre.



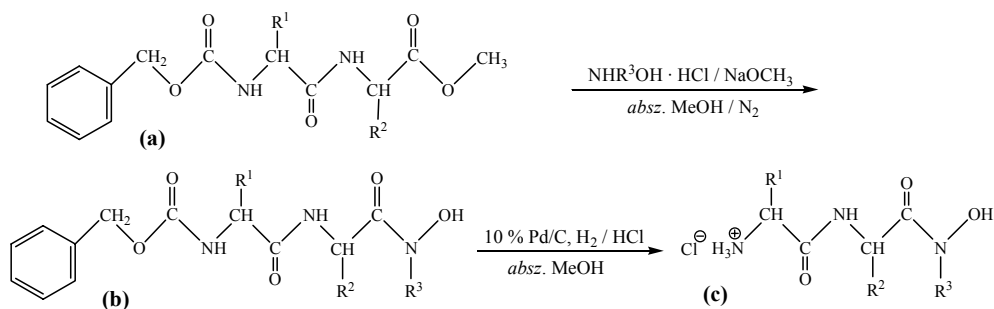
33. ábra A Cu(II) – amilin 17–29 rendszerben felvett UV–látható spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$).

A peptid hatóanyagtartalmának a pontos ismerete hiányában a pH-potenciometriás adatok kiértékelése nem lehetséges, így a képződő komplexek összetétele és stabilitása nem számolható. A fenti eredmények azt azonban egyértelműen bizonyítják, hogy ebben a peptidfragmensben az amid-nitrogének deprotonálódása és a Cu(II)-ionhoz való koordinációja bekövetkezik. Ami azt vonja maga után, hogy az ArgSerSerAsnAsn tartományban lévő aminosavak oldalláncai közül valamelyik, vagy azok együttesen képesek a horgony donorcsoport szerepének betöltésére. Ennek további igazolására érdemes volna olyan szisztematikus vizsgálatok elvégzése, ahol az ArgSerSerAsnAsn aminosavakat különböző számban és helyzetben tartalmazó fragmensek kölcsönhatását tanulmányozzuk Cu(II)-ionnal.

4.4. A peptidhidroxámsavak vizsgálata

4.4.1. A peptidhidroxámsavak szintézise

A hidroxámsavak előállítása a legtöbb esetben úgy történik, hogy az alapp molekula karboxilcsoportját aktiválják, majd azt, mint acilezőszert reagáltatják hidroxil-ammal.¹⁴² Az acilezőszer előállítható *in situ*, majd ezt reagáltatják hidroxil-ammal, vagy a karboxilcsoport aktiválása történhet a hidroxil-amin jelenlétében, kapcsolóreagens alkalmazásával. A peptidhidroxámsavak szintézisének izolálható acilezőszert (dipeptid-metil-észtert vagy tripeptid-N-hidroxi-szukcinimidil-észtert) reagáltattunk hidroxil-ammal (3.1 fejezet). A 34. ábra a dipeptid-hidroxámsavak előállításának reakciólépéseit mutatja be.



34. ábra A dipeptid-hidroxámsavak előállítása.

- (a) Z-védett dipeptid-metil-észter
 (b) Z-védett dipeptid-hidroxámsav
 (c) dipeptid-hidroxámsav hidroklorid sója

	R ¹	R ²	R ³
AlaAla	- CH ₃	- CH ₃	- H / CH ₃
AlaSer	- CH ₃	- CH ₂ OH	- H / CH ₃

Valamennyi esetben a megfelelő, N-terminálison védett peptid-származékból indultunk ki, ahol a védőcsoport a benzil-oxikarbonil-csoport (Z-) volt. Ez azért volt szükséges, mert az N-terminálison lévő aminocsoport a hidroxil-aminhoz hasonlóan nukleofilként támadhatja az aktivált karbonil-szenet, amely lépés számos melléktermék képződéséhez vezethet. A tripeptid- és a primer dipeptid-hidroxámsavak előállítása esetén a Z-védett származékok izolálása átkristályosítással egyszerűen megvalósítható volt. A Z-védett szekunder dipeptid-hidroxámsavaknál az elválasztást csak többszöri extrakcióval tudtuk megvalósítani úgy, hogy a molekulát először semleges formában a szerves fázisba juttattuk, majd deprotonálva a vizes fázisba, és újra protonálva a szerves fázisba. A védőcsoport hidrogénezéssel történő eltávolításával egyidőben a termék hidroklorid-sóját állítottuk elő, mivel azt tapasztaltuk, hogy a szabad aminocsoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak bomlékonyak.

4.4.2. A ligandumok disszociációs állandói

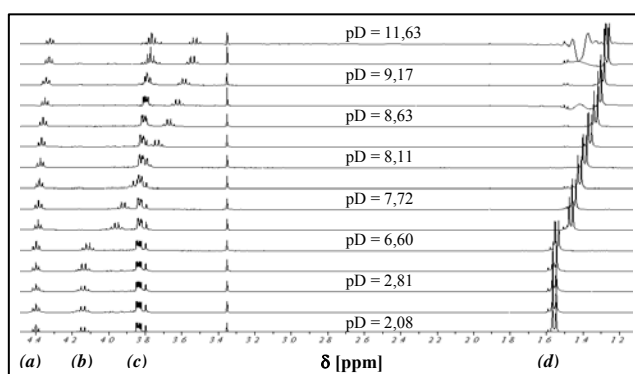
A vizsgált peptidhidroxámsavakra meghatározott savi disszociációs állandók értékeit a 13. táblázatban foglaltuk össze.

13. táblázat A vizsgált di- és tripeptid-hidroxámsavak savi disszociációs állandói ($t = 25,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	pK_1	pK_2
Z-AlaAlaNHOH	8,91(1)	—
Z-AlaSerNHOH	8,69(1)	—
Z-AlaAlaN(Me)OH	8,64(1)	—
Z-AlaSerN(Me)OH	8,58(1)	—
Z-AlaGlyGlyNHOH	8,76(1)	—
Z-AlaGlyGlyN(Me)OH	8,46(1)	—
H-AlaAlaNHOH	7,66(1)	8,88(1)
H-AlaSerNHOH	7,63(1)	8,73(1)
H-AlaAlaN(Me)OH	7,74(1)	8,74(1)
H-AlaSerN(Me)OH	7,60(1)	8,64(1)
H-AlaGlyGlyNHOH	7,71(1)	8,82(1)
H-AlaGlyGlyN(Me)OH	7,66(1)	8,63(1)

A Z-védett peptidhidroxámsavakra egy savi disszociációs állandó határozható meg, mely a molekula hidroxámsavcsoportjának a deprotonálódásához rendelhető. A szekunder származékoknál a pK értéke kisebb a megfelelő primer származékokéhoz képest. Ez összhangban van a hidroxamát-nitrogénen lévő metilcsoport irodalomban leírt hatásával, miszerint a nitrogénen lévő elektronküldő csoport a C–N kötésen át a C–O kötésrendet és delokalizációt növeli, ami végül is az OH-csoport bázicitását csökkenti.¹⁴¹ A szabad aminocsoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak esetén két disszociációs folyamat játszódik le a mérhető pH-tartományban, melyek az ammóniumcsoport és a hidroxámsavcsoport deprotonálódásához rendelhetők. Az értékek megfelelő egyezést mutatnak mind a H-AlaGlyNHOH ($pK_1 = 7,52$; $pK_2 = 8,40$),¹³ mind a H-ProLeuNHOH ($pK_1 = 8,17$; $pK_2 = 9,11$)¹⁴ és a H-ProLeuGlyNHOH ($pK_1 = 8,22$; $pK_2 = 9,06$)¹⁴ megfelelő értékeivel. Mivel a két disszociációs folyamat egymással jelentősen átfed, így a pH-potenciometriából meghatározott disszociációs makroállandók egyik

csoporthoz sem rendelhetők egyértelműen. A molekulában található amino- és hidroxamátcsoport bázicitásának egymáshoz való viszonyát a H-AlaAlaNH₂ és a H-AlaSerNH₂ esetén ¹H-NMR spektroszkópia segítségével tanulmányoztuk, és a funkciós csoportok szomszédságában lévő protonok kémiai eltolódás értékeinek pD függéseiből meghatároztuk a két donorcsoporthoz rendelhető disszociációs mikroállandókat. A 35. ábrán a H-AlaSerNH₂ ligandumra különböző pD értékeken felvett ¹H-NMR spektrumokat mutatjuk be.

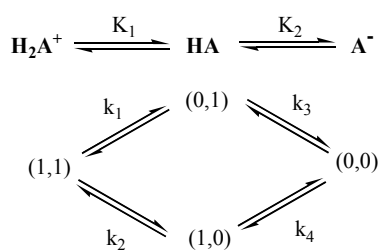


35. ábra A CH(Ser) (a), CH(Ala) (b), CH₂(Ser) (c) és CH₃(Ala) (d) protonok kémiai eltolódásának pD függése a H-AlaSerNH₂ ligandum esetén.

A 14. táblázat a protonálódási mikroállandók értékeit tartalmazza, a 36. ábra pedig a ligandum deprotonálódási lépéseit mutatja be makro- és mikroszinten.

14. táblázat A meghatározott savi disszociációs mikroállandók ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

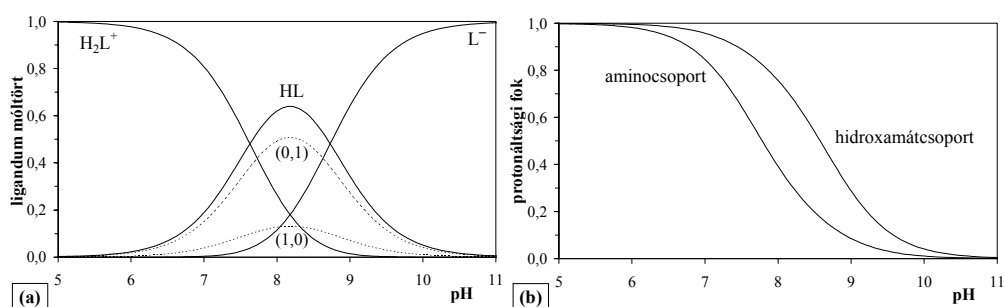
	H-AlaAlaNH ₂	H-AlaSerNH ₂
pK₁	7,71(1)	7,73(1)
pK₂	8,63(1)	8,32(1)
pK₃	8,83(1)	8,63(1)
pK₄	7,91(1)	8,04(1)



36. ábra A deprotonálódási makro- és mikrofolyamatok jelölése.

A 36. ábrán K_i jelöli az egyensúlyi makro-, k_i a mikroállandókat, (1,1) a teljesen protonált, (0,0) a teljesen deprotonált ligandumot, (0,1) az aminocsoporton deprotonált, (1,0) a hidroxamátcsoporthoz deprotonált ligandumot. Az ábrán jelölt mikrofolyamatokból kitűnik, hogy az ammóniumcsoport deprotonálódásához a k_1 és k_4 , míg a hidroxámsavcsoporthoz a k_2 és k_3 egyensúlyi mikroállandók rendelhetők. A meghatározott értékek azt mutatják, hogy mindkét peptidhidroxámsav esetén az

aminocsoport bázicitása kisebb a hidroxamátcsoportéhoz képest. Ez az eredmény összhangban van az α -AlaNH₂OH deprotonálódási mikroállandóival.¹⁴⁶ A 37. ábra a H-AlaSerNH₂OH deprotonálódási mikrofolyamatainak koncentráció-eloszlási görbéit, ill. az egyes csoportok protonáltságának mértékét mutatja be a pH függvényében. Az ábrán látható, hogy a HL makrorészecskéhez 78 %-ban (a H-AlaAlaNH₂OH esetén 87 %) járul hozzá a hidroxamátcsoporton protonált, és 22 %-ban (a H-AlaAlaNH₂OH esetén 13 %) az aminocsoporton protonált mikrorészecske.

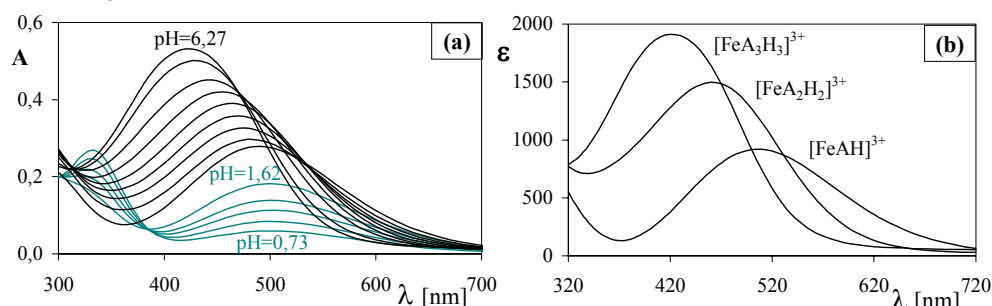


37. ábra A H-AlaSerNH₂OH savi disszociációs mikrofolyamatainak koncentráció-eloszlási görbéi (a) ($c_{\text{lig}} = 0,001 \text{ mol/dm}^3$), ill. a különböző csoportok protonáltsági foka (b) a pH függvényében.

4.4.3. Komplexképződés Fe(III)-ionnal

Valamennyi vizsgált peptidhidroxámsav esetén a komplexképződés Fe(III)-ionnal már jóval pH \sim 2 alatt indult, ami azt mutatja, hogy a képződő monokomplex igen nagy stabilitású. Mivel a mintákban pH = 2-nél már gyakorlatilag nem volt szabad fémion, ezért az első képződő részecske stabilitási állandóját kombinált pH – spektrofotometriás titrálással határoztuk meg, majd annak értékét lerögzítve értékeltük a pH-potenciometriás adatokat. A Z-védett származékoknál az 1:3 és 1:5 fémion – ligandum arányoknál, pH \sim 5,5–6 körül (Z-AlaGlyGlyN(Me)OH esetén pH \sim 3,8-nál), már $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ ligandum-koncentrációnál is csapadékkiválást tapasztaltunk. A szabad aminocsoportot tartalmazó peptidhidroxámsavaknál bár az egyes mintákban csapadékképződés nem történt, 1:3 és 1:5 fémion – ligandum arányoknál, pH \sim 6 körül valamennyi esetben a fémion hidrolízise került előtérbe, amely lassú pH-beállást eredményezett. A 38. ábrán szemléltetésként a H-AlaAlaN(Me)OH ligandummal az 1:5 fémion – ligandum aránynál a pH függvényében felvett, ill. a kiértékeléssel nyert stabilitási szorzat értékekből az egyes komplexekre számolható UV-látható spektrumokat mutatjuk be. Amint az a 38/a. ábrán lévő spektrumokon látható, a pH = 0,7–1,6 tartományban a $\lambda_{\text{max}} = 510$

nm-nél jelentkező sáv abszorbanációjának fokozatos növekedése jellemző, mely egyetlen színes komplex jelenlétére utal. (A $\lambda_{\max} = 330$ nm-nél jelentkező abszorpciós sáv a Fe(III)-ion valamely klorokomplexéhez rendelhető töltésátviteli sáv.) A $\lambda_{\max} = 510$ nm és az $\varepsilon = 915 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ értéke megegyezik a monohidroxamát-kelát képződésére az irodalomban megadott értékkel.¹⁴⁰ A Z-védett származékoknál ez a részecske $[\text{FeA}]^{2+}$, a szabad aminosoprotot tartalmazó ligandumok esetén $[\text{FeAH}]^{3+}$ összetétellel adható meg. A pH további növelésével ennek a sávnak a folyamatos eltolódása a kisebb hullámhosszak felé, és az ε értékének fokozatos növekedése a jellemző, amely a két hidroxamát-kelátot ($\lambda_{\max} = 460$ nm, $[\text{FeA}_2]^+$ és $[\text{FeA}_2\text{H}_2]^{3+}$), majd a három hidroxamát-kelátot ($\lambda_{\max} = 420$ nm, $[\text{FeA}_3]$ és $[\text{FeA}_3\text{H}_3]^{3+}$) tartalmazó komplex képződésének felel meg (38/b. ábra).¹⁴⁰ Ez azt jelenti, hogy mind az N-terminálison védett, mind a szabad aminosoprotot tartalmazó peptidhidroxámsavak esetén a ligandum csak a hidroxamátcsoporton keresztül koordinálódik a fémionhoz. Ez összhangban van az irodalomban az amino-hidroxámsavak és a peptidhidroxámsavak Fe(III)-komplexeire kapott eredményekkel.^{14,148}



38. ábra A Fe(III) – H-AlaAlaN(Me)OH rendszerben felvett (a) ($c_{\text{Fe(III)}} = 3 \cdot 10^{-4} \text{ mol}/\text{dm}^3$, Fe(III):lig. = 1:5), ill. az egyes komplexekre számolt (b) UV-látható spektrumok.

A kombinált pH – spektrofotometriás adatokat kiértékelve meg tudtuk határozni a mono-, bisz- és triszkomplexek stabilitási szorzatait, majd a monokomplekre kapott értéket lerögzítve tudtuk számolni a pH-potenciometriás adatokat. Az egyes rendszerekben képződő részecskék összetételét és stabilitási szorzat értékeit a 15. és a 16. táblázatban foglaltuk össze. A megfelelő bisz- és triszkomplexeire a két független módszerrel meghatározott stabilitási szorzatok jó egyezésben vannak.

A pH-potenciometriás titrálási görbék kiértékelésénél, ahol az 1:1, 1:2, 1:3 és 1:5 fémion – ligandum arányú rendszereket is figyelembe vettük, azt találtuk, hogy a primer és szekunder dipeptid-hidroxámsavak esetén a legjobb illesztést adó modell

tartalmazza a Z-védett származékoknál az $[\text{FeAH}_{-1}]^+$, a nem védett származékoknál az $[\text{FeA}]^+$ összetételű vegyes hidroxokomplexet, amelyben a fémionhoz koordinálódó egyik vízmolekula deprotonálódik. A primer tripeptid-hidroxámsavak esetén vegyes hidroxokomplex képződését nem tudtuk kimutatni. A Z-AlaGlyGlyN(Me)OH esetén pH ~ 3,8-nál kivált csapadék a spektrofotometriás mérések alapján nem a triszkomplex, hanem feltehetően az $[\text{FeA}_2\text{H}_{-1}]$ összetételű vegyes hidroxokomplex. A H-AlaGlyGlyN(Me)OH a fémionnal mono-, bisz- és triszkomplexeket képez, a H-AlaGlyGlyNHOH-hoz hasonlóan vegyes hidroxokomplex nem képződik.

15. táblázat A Z-védett peptidhidroxámsavak Fe(III)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$), ill. néhány származtatott állandó értéke ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	Z-AA-NHOH	Z-AS-NHOH	Z-AGG-NHOH	Z-AA-N(Me)OH	Z-AS-N(Me)OH	Z-AGG-N(Me)OH
$[\text{FeA}]^{2+}$	10,18(R) 10,18(1)*	9,95(R) 9,95(1)*	10,08(R) 10,08(1)*	10,31(R) 10,31(1)*	10,17(R) 10,17(1)*	9,94(R) 9,94(1)*
$[\text{FeAH}_{-1}]^+$	7,18(2)	7,18(3)	—	6,80(7)	6,26(6)	6,47(8)
$[\text{FeA}_2]^+$	18,53(9) 18,85(2)*	19,23(7) 18,47(1)*	17,98(11) 18,66(1)*	18,6(1) 19,29(1)*	18,98(2) 19,07(3)*	17,9(2) 18,45(2)*
$[\text{FeA}_2\text{H}_{-1}]$	—	—	—	—	—	14,56(7)
$[\text{FeA}_3]$	25,8(1) 25,68(3)*	26,6(1) 25,26(3)*	24,5(3) 25,52(3)*	26,65(9) 26,23(4)*	26,19(5) 26,24(4)*	— —

* spektrofotometriából meghatározott adatok
(R) spektrofotometriából számolt és rögzített érték

16. táblázat A szabad aminosoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak Fe(III)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$), ill. néhány származtatott állandó értéke ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	H-AA-NHOH	H-AS-NHOH	H-AGG-NHOH	H-AA-N(Me)OH	H-AS-N(Me)OH	H-AGG-N(Me)OH
$[\text{FeAH}]^{3+}$	17,62(R) 17,62(1)*	17,39(R) 17,39(1)*	17,74(R) 17,74(1)*	18,08(R) 18,08(1)*	17,71(R) 17,71(1)*	17,64(R) 17,64(1)*
$[\text{FeA}]^{2+}$	15,09(2)	14,64(3)	—	14,67(8)	14,25(6)	—
$[\text{FeA}_2\text{H}_2]^{3+}$	34,57(6) 34,00(2)*	33,91(7) 33,58(3)*	34,02(5) 34,00(2)*	33,8(2) 34,71(2)*	33,2(2) 33,92(2)*	33,70(7) 33,76(1)*
$[\text{FeA}_3\text{H}_3]^{3+}$	49,40(8) 48,61(3)*	49,40(8) 48,75(11)*	48,7(2) 48,55(3)*	50,01(8) 49,51(3)*	49,43(5) 48,50(2)*	48,97(11) 48,16(2)*

* spektrofotometriából meghatározott adatok
(R) spektrofotometriából számolt és rögzített érték

4.4.4. Komplexképződés Al(III)-ionnal

Az Al(III)-ionnal a kölcsönhatást a primer és szekunder dipeptid-hidroxámsavak esetén tanulmányoztuk. A komplexképződés a fémionnal pH ~ 2,5-nél indult. A Z-védett ligandumokkal valamennyi fémion – ligandum aránynál, pH ~ 5 körül csapadék kiválást tapasztaltunk. A szabad aminosoportot tartalmazó ligandumokkal 1:3 és 1:5 fémion – ligandum aránynál is, pH ~ 9-nél az Al(III)-ion hidrolízise vált meghatározóvá. A pH-potenciometriás adatok kiértékelésével a komplexek összetételére és stabilitási szorzat értékeire kapott eredményeket, ill. a származtatott állandók értékeit a 17. és a 18. táblázatban foglaltuk össze.

17. táblázat A Z-védett dipeptid-hidroxámsavak Al(III)-komplexeinek stabilitási szorzatai (lgβ), illetve a származtatott állandók értékei (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

	Z-AA-NHOH	Z-AS-NHOH	Z-AA-N(Me)OH	Z-AS-N(Me)OH
[AlA] ²⁺	7,59(4)	7,07(1)	7,09(5)	7,14(5)
[AlAH ₋₁] ⁺	2,4(2)	2,41(2)	3,24(8)	3,2(1)
[AlAH ₋₂]	-2,3(1)	-2,95(6)	—	—
pK _[AlA]	5,2	4,66	3,85	3,9
pK _[AlAH₋₁]	4,7	5,36	—	—

18. táblázat A szabad aminosoportot tartalmazó dipeptid-hidroxámsavak Al(III)-komplexeinek stabilitási szorzatai (lgβ), illetve a származtatott állandók értékei (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

	H-AA-NHOH	H-AS-NHOH	H-AA-N(Me)OH	H-AS-N(Me)OH
[AlAH] ³⁺	14,68(4)	14,38(3)	14,83(3)	14,77(2)
[AlA] ²⁺	9,53(9)	9,63(4)	10,29(2)	10,05(3)
[AlA ₂ H] ²⁺	24,20(5)	23,24(6)	23,96(4)	24,06(4)
[AlA ₂] ⁺	17,60(6)	16,48(4)	16,86(4)	17,42(3)
pK _[AlAH]	5,15	4,75	4,54	4,72
pK _[AlA₂H]	6,60	6,76	7,10	6,64

A Z-védett ligandumokra számolt modellek különböző protonáltsági fokú monokomplexeiket tartalmaznak. Az [AlA]²⁺ részecskében a ligandum a hidroxamát csoporton keresztül koordinálódik a fémionhoz. Az [AlAH₋₁]⁺ és az [AlAH₋₂] komplexekben a fémion koordinációs szférájában lévő vízmolekula

deprotonálódásával vegyes hidroxokomplexek képződnek. Az oldatokból feltehetően a semleges $[AlAH_2]$ részecske vált ki csapadék formájában.

A szabad aminosoprotot tartalmazó ligandumokkal, ellentétben a Z-védett ligandumokkal, a monokomplexek mellett biszkomplexek képződése is kimutatható. Ez a nagyméretű védőcsoport hiánya, ill. az ammóniumcsoport jelenléte miatti jobb oldhatósággal, és így szélesebb vizsgálható pH-tartománnyal értelmezhető. Az $[AlAH]^{3+}$ és $[AlA_2H]^{2+}$ összetételű részecskében a ligandum valószínűleg a hidroxamát-oxigéneken keresztül koordinálódik a hard sajátságú Al(III)-ionhoz, az amino-hidroxámsavak esetén kapott irodalmi eredményekkel megegyezően.¹⁴⁸ A komplexek deprotonálódási lépéseire számolható származtatott állandók értékei azt mutatják, hogy az, a fémionhoz koordinálódó vízmolekula, és nem az aminosoprot deprotonálódásához rendelhető (18. táblázat utolsó két sora). Az így kialakuló vegyes hidroxokomplexek tényleges szerkezetét csak a pH-potenciometria alapján nem tudunk egyértelműen megadni, azok feltehetően bonyolult, $[AlH_nL]_n$ összetétellel megadható oligomereket, vagy polimereket is alkothatnak, mely polimerek képzése jellemző az Al(III)-ion hidrolitikus folyamataira. A ligandumokkal triszkomplex képződését nem tudtuk kimutatni, ami szintén alátámasztja, hogy a peptidhidroxámsavak nem túlzottan jó komplexképzői az Al(III)-ionnak, a fémion hidrolízisét nem tudják hatékonyan visszaszorítani.

4.4.5. Komplexképződés Zn(II)-ionnal

A Zn(II) – peptidhidroxámsav rendszerekben képződő komplexek összetételét és stabilitási szorzat értékeit a 19. és 20. táblázatban mutatjuk be. A komplexképződés pH ~ 4,8-nál indult, és míg a szabad aminosoprotot tartalmazó ligandumokkal az egyes rendszerek ligandumfelesleg esetén pH = 11,0-ig mérhetőek voltak, addig a Z-védett származékokkal valamennyi fémion – ligandum aránynál, pH ~ 7,5-nél csapadék vált ki, így a komplexképződést csak szűk pH-tartományban tudtuk vizsgálni.

19. táblázat A Z-védett peptidhidroxámsavak Zn(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

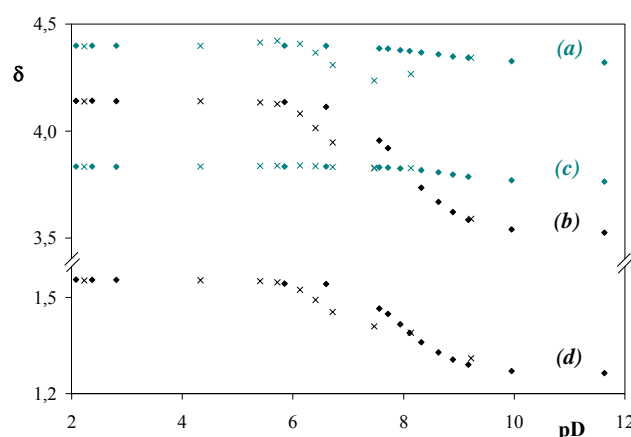
	Z-AA-NHOH	Z-AS-NHOH	Z-AGG-NHOH	Z-AA-N(Me)OH	Z-AS-N(Me)OH	Z-AGG-N(Me)OH
$[ZnA]^+$	4,69(2)	4,67(1)	4,64(2)	4,54(2)	4,33(1)	4,29(5)
$[ZnAH_1]$	-3,19(3)	-3,09(3)	-3,10(5)	-3,7(3)	-3,26(2)	-4,0(1)

20. táblázat A szabad aminosoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak Zn(II)–komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0\text{ °C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	H-AA-NHOH	H-AS-NHOH	H-AGG-NHOH	H-AA-N(Me)OH	H-AS-N(Me)OH	H-AGG-N(Me)OH
$[\text{ZnAH}]^{2+}$	12,35(7)	12,50(6)	12,47(2)	12,00(8)	12,23(4)	11,91(2)
$[\text{ZnA}]^+$	5,64(4)	5,40(6)	5,07(1)	5,11(4)	4,87(6)	4,55(2)
$[\text{ZnAH}_{-1}]$	-2,58(4)	-2,48(4)	-3,18(2)	-3,23(3)	-2,84(3)	-3,46(3)
$[\text{ZnA}_2\text{H}]^+$	17,52(9)	17,49(8)	—	17,12(7)	16,75(8)	—

A Z-védett származékokkal a képződő $[\text{ZnA}]^+$ részecskében a ligandum a hidroxamát-oxigéneken koordinálódik a fémionhoz, majd a pH-t növelve a koordinációs szférában lévő egyik vízmolekula disszociációjával képződik a $[\text{ZnAH}_{-1}]$ összetételű vegyes hidroxokomplex, melynek oldhatósága feltehetően a semleges töltése miatt kicsi.

A szabad aminosoportot tartalmazó dipeptid-hidroxámsavaknál a rendszereket legjobban leíró modell alapján különböző protonáltsági fokú monokomplexek vannak jelen, illetve ligandumfeleslegnél megjelenik a $[\text{ZnA}_2\text{H}]^+$ összetételű biszkomplex is. A képződő részecskék oldatbeli szerkezetének a felderítése céljából $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópiával tanulmányoztuk a H-AlaAlaNHOH és H-AlaSerNHOH protonjainak kémiai eltolódásában jelentkező különbséget a fémion jelenlétében, valamint távollétében. A H-AlaSerNHOH esetén a különböző pD értékeknél az egyes csoportok kémiai eltolódás-változását a szabad ligandum jeleihez képest a 39. ábrán láthatjuk.



39. ábra A $\text{CH}(\text{Ser})$ (a), $\text{CH}(\text{Ala})$ (b), $\text{CH}_2(\text{Ser})$ (c) és $\text{CH}_3(\text{Ala})$ (d) protonok kémiai eltolódásának pD függése a H-AlaSerNHOH (♦) és a Zn(II) – H-AlaSerNHOH (x) rendszerben ($c_{\text{Zn(II)}} = 0,02\text{ mol/dm}^3$, Zn(II):lig. = 1:1).

A fémion jelenlétében végzett NMR titrálás azt mutatta, hogy a pH = 6–8 tartományban nem csak a ligandum hidroxámsavcsoportjának deprotonálódását érző szerin protonjainak kémiai eltolódás értékei különböznek a szabad ligandumban ezen a pH értékeken tapasztalható kémiai eltolódástól, hanem kismértékben az ammóniumcsoport deprotonálódására érzékeny alanin protonjaié is. Ez azt jelenti, hogy a ligandumok mind a hidroxamát-, mind az aminocsoporton keresztül képesek a fémionhoz koordinálódni, ami azt vonja maga után, hogy egy ligandum akár két Zn(II)-ionhoz is koordinálódhat egyszerre. Ezért felvettük a pH-potenciometriás titrálási görbéket fémion feleslege mellett is. A mérési eredmények azonban azt mutatták, hogy a ligandumok nem képesek fémfelesleget megkötni, azaz az NMR mérések szerinti, két különböző csoporton történő koordináció csak kötési izomerekben jelentkezhet.

A pH-potenciometriás adatokat kiértékelve meghatároztuk a rendszerben képződő komplexek összetételét, és az NMR titrálás eredményét figyelembe véve adtuk meg a legvalószínűbb kötésmódokat. A $[\text{ZnAH}]^{2+}$ részecskében a ligandum $[\text{O},\text{O}]$, vagy $[\text{NH}_2,\text{CO}]$ kötésmóddal koordinálódhat a fémionhoz. A pH növelésével megjelenő $[\text{ZnA}]^+$ összetételű részecske képződése több úton is megvalósulhat. Bekövetkezhet a fémion koordinációs szférájában lévő vízmolekula deprotonálódása, vegyes hidroxokomplex képződése közben. Deprotonálódhat maga a ligandum, attól függően, hogy a $[\text{ZnAH}]^{2+}$ komplexben az aminocsoportján vagy a hidroxamátcsoportján volt-e protonálva. A $[\text{ZnAH}_1]$ komplex feltehetően vegyes hidroxokomplex, ahol az egyik koordinált vízmolekula deprotonálódik. A lúgos pH-tartományban megjelenő $[\text{ZnA}_2\text{H}]^+$ összetételű biszkomplexben a második koordinálódó ligandum valamelyik csoportja protonált. A NMR titrálás alapján pH ~ 9 felett a ligandum kiszorul a Zn(II)-ion koordinációs szférájából, és a fémion hidrolízise játszódik le.

A tripeptid-hidroxámsavak esetén biszkomplexek képződését nem tudtuk kimutatni, melyet feltehetően a ligandum hosszú láncának sztérikus gátlása okoz. Ezen ligandumoknál a hosszabb peptidlánc miatt jobban előtérbe kerülhetnek a kötési izomerek. Fémion felesleget ezek a ligandumok sem képesek megkötni, de természetesen a dipeptid-származékoknál leírt kétmagvú részecskék itt is megjelenhetnek.

Az eredmények a szabad aminocsoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak esetén azt mutatják, az aminocsoport fémionhoz történő koordinációja bár csak kötési izomerekben, de bekövetkezhet, azonban az amid-nitrogén deprotonálódását és a Zn(II)-ionhoz való koordinálódását egyik származék esetén sem tudtuk kimutatni.

4.4.6. Komplexképződés Cu(II)-ionnal

A Cu(II)-ion peptidhidroxámsavakkal való komplexképződését tanulmányozva – előzetes, az amino- és peptidhidroxámsavakra kapott irodalmi eredményekből kiindulva^{14,143,149} – azt vártuk, hogy a nitrogén donoratomokat kedvelő Cu(II)-ion esetén bekövetkezhet az amid-nitrogén deprotonálódása, ezáltal a peptidváz fémionhoz való koordinációja. Mivel a Z-védett, ill. a szabad aminocsoportot tartalmazó primer és szekunder, di- és tripeptid-hidroxámsavak esetén a kapott eredmények teljesen eltérnek egymástól, ezért azokat külön-külön tárgyaljuk.

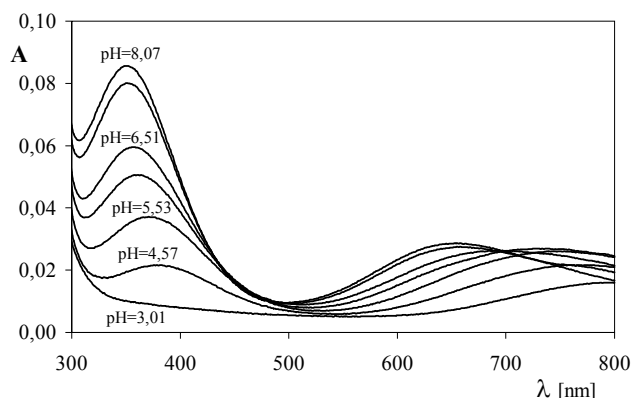
Valamennyi Z-védett primer peptidhidroxámsav esetén a komplexképződés pH ~ 3,5-nél indult, amivel szinte egyidőben zöld színű, nagy mennyiségű csapadék kiválását tapasztaltuk, amely a pH növelésével sem oldódott vissza. Így ezen ligandumoknál a képződő komplexek stabilitási szorzatát pH-potenciometriásan nem tudtuk meghatározni. ESR méréseink azonban azt mutatták, hogy a csapadékos oldatban mono- és biszkomplexek képződnek, hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordinációval.

A Z-védett szekunder peptidhidroxámsavak Cu(II)-ionnal szintén csapadékot adtak, de csak pH ~ 6,5–8,0 felett, a fémion koncentrációjától függően. Így lehetőség volt a komplexképződés oldategyensúlyi vizsgálatára. A komplexek összetételét és a pH-potenciometriából, ill. a kombinált pH – spektrofotometriából meghatározott stabilitási szorzat értékeit a 21. táblázatban foglaltuk össze. A táblázat tartalmazza továbbá az egyes komplexekre meghatározott ESR és UV-látható spektroszkópiái paraméterek értékeit is. A 40. ábra a Cu(II) – Z-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszerben különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumokat mutatja be.

21. táblázat A Z-védett szekunder peptidhidroxámsavak Cu(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0$ °C, $I = 0,2$ mol/dm³ (KCl)), valamint a komplexekre meghatározott ESR és UV-látható spektroszkópiái paraméterek.

		$\lg\beta$	$\lg\beta^*$	g_{\parallel}	$A_{\parallel} (\cdot 10^{-4} \text{cm}^{-1})$	$\lambda_{\text{max}} (\text{nm})$	$\epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$
Z-AA-N(Me)OH	[CuA] ⁺	7,15(1)	—	2,337	161,1		
	[CuA ₂]	12,96(2)		2,280	180,4		
Z-AS-N(Me)OH	[CuA] ⁺	7,17(1)	7,19(2)*	2,335	164,0	380,750	40, 31
	[CuA ₂]	12,84(1)	12,72(4)*	2,279	179,3	350,640	127, 40
Z-AGG-N(Me)OH	[CuA] ⁺	6,68(2)	6,70(1)*	2,341	158,4	390,750	41, 34
	[CuA ₂]	11,82(6)	11,95(2)*	2,279	179,3	350,650	103, 33

* spektrofotometriából meghatározott adatok



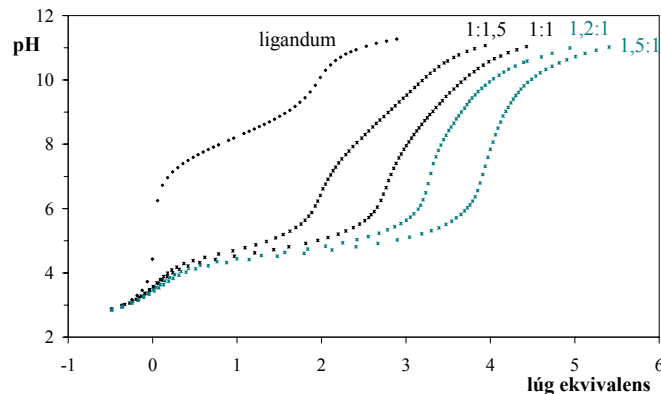
40. ábra A Cu(II) – Z-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszerben különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:2).

Mindhárom szekunder peptidhidroxámsav a Cu(II)-ionnal mono- és biszkomplexet képez, ahol a ligandum a hidroxamát-oxigéneken keresztül koordinálódik a fémionhoz. A mintákban a nagyobb pH-n megjelenő csapadék feltehetően a semleges $[\text{CuA}_2]$ komplex. A kapott ESR paraméterek jó egyezésben vannak az irodalomban az aceto-hidroxámsavra korábban meghatározott paraméterekkel ($[\text{CuA}]^+$ komplexre: $g_{\parallel} = 2,336$, $A_{\parallel} = 168 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $[\text{CuA}_2]$ komplexre: $g_{\parallel} = 2,282$, $A_{\parallel} = 181 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$).¹⁹² A $\lambda_{\text{max}} = 390\text{--}350 \text{ nm}$ -nél jelentkező abszorpciós sáv a Cu(II) – hidroxamát koordinációra jellemző töltésátviteli sáv, a $\lambda_{\text{max}} = 750\text{--}640 \text{ nm}$ hullámhossznál jelentkező sáv pedig a Cu(II)-ion d–d átmeneteihez rendelhető (40. ábra).

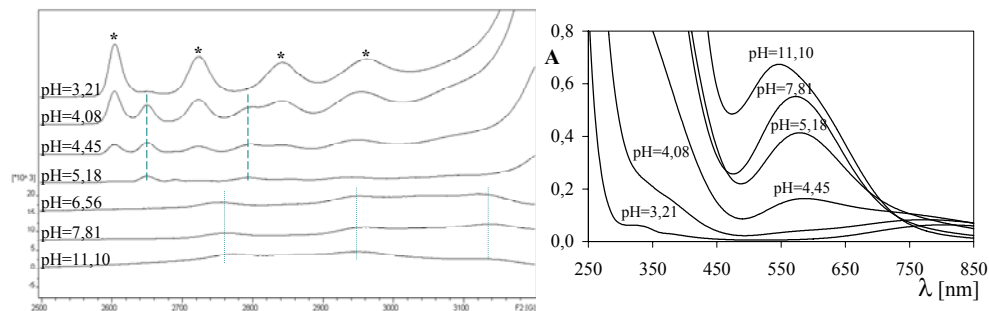
A szabad aminocsoportot tartalmazó primer dipeptid-hidroxámsavak (H-AlaAlaNH₂OH és H-AlaSerNH₂OH) Cu(II)-ionnal a pH = 2–11 tartományban intenzív kölcsönhatásra voltak képesek, és a ligandumok 1,5-szörös fémion felesleget is oldatban tartottak. A 41. ábrán a H-AlaSerNH₂OH titrálási görbéi láthatók különböző fémion – ligandum arányok mellett. A 42. ábrán a Cu(II) – H-AlaSerNH₂OH minták különböző pH értékeken felvett ESR és UV-látható spektrumait mutatjuk be.

Az ESR spektrumok alapján pH = 3,2-nél túlnyomórészt a $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ (*) van jelen (42. ábra). A pH növelésével (pH = 4,1–5,2) megjelenő új részecske (†) ESR paraméterei ($g_{\parallel} = 2,338$, $A_{\parallel} = 160,0 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ a H-AlaSerNH₂OH-ra, $g_{\parallel} = 2,346$, $A_{\parallel} = 157,3 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ a H-AlaAlaNH₂OH-ra), illetve az UV-látható spektrumokban a $\lambda = 360 \text{ nm}$ körül jelentkező abszorpciós sáv jó egyezésben van a Z-védett

szekunder peptidhidroxámsavaknál a monohidroxiát koordinációra meghatározott értékekkel (21. táblázat).



41. ábra A H-AlaSerNHOH és a Cu(II) – H-AlaSerNHOH különböző arányú titrálási görbéi ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

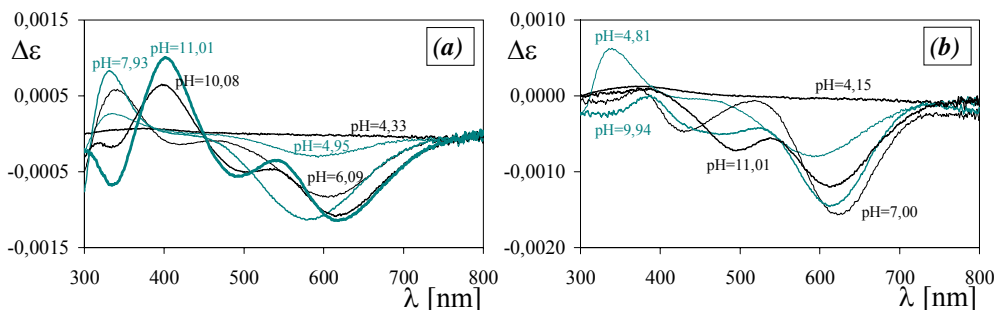


42. ábra A Cu(II) – H-AlaSerNHOH rendszerben különböző pH értékeken felvett ESR és UV-látható spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 5 \cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:1).

A pH = 4,45–11,10 tartományban, ligandumfelesleg mellett is az ESR jelek intenzitásának jelentős csökkenését tapasztaltuk, ami többmagvú, ESR inaktív részecskék jelenlétére utal. Az intenzitás csökkenésével párhuzamosan a pH = 6,6–11,1 tartományban új ESR csúcsok megjelenését és azok határozott kiszélesedését láthatjuk (:). A jelek szélesedése a Cu(II)-ion koordinációs szférájában lévő donoratomok megváltozására utal, amikor is az oxigén donoratomokat fokozatosan nitrogén donorok váltják fel. Ezt alátámasztják az UV-látható spektrumok is, ahol a pH = 4,5–7,8 tartományban a $\lambda \sim 580\text{ nm}$ -nél jelentkező abszorpciós sáv a Cu(II)-ionhoz koordinálódó három nitrogén donoratomnak felel meg, az irodalomban a Cu(II) – H-ProLeuNHOH rendszerre kapott eredményekkel megegyezően.¹⁴ Az ESR jelek fokozatos tolódásából több, hasonló ESR

paraméterekkel rendelkező részecskék egyidejű jelenlétére következtethetünk. Az erre a pH-tartományra számolható ESR paraméterek ($g_{II} = 2,200\text{--}2,216$, $A_{II} = 191\text{--}198 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) szintén jó egyezésben vannak a Cu(II) – H-ProLeuNHOH rendszer ESR paramétereivel ($g_{II} = 2,217$, $A_{II} = 191,3 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$),¹⁴ melyet három nitrogén donoratom fémionhoz történő koordinációjához rendeltek.

A komplexképződést CD spektroszkópia segítségével is tanulmányoztuk. A 43. ábrán a Cu(II) – H-AlaAlaNHOH rendszerben a ligandum- és fémion felesleg esetén, különböző pH értékeken felvett CD spektrumokat mutatjuk be. A $\lambda = 300\text{--}450 \text{ nm}$ tartományban két abszorpciós sáv található. Az irodalmi előzmények alapján a $\lambda_{\text{max}} \sim 330 \text{ nm}$ -nél jelentkező sáv feltehetően a Cu(II) – hidroxamát-oxigén közötti töltésátviteli sávnak felel meg, míg a $\lambda_{\text{max}} \sim 400 \text{ nm}$ -nél lévő sáv a Cu(II) – hidroxamát-nitrogén karakterisztikus töltésátviteli sávja.¹⁴⁹ A $\lambda = 450\text{--}700 \text{ nm}$ tartományban a Cu(II)-ion d–d átmeneteihez rendelhető abszorpciós sávok jelennek meg. A ligandumfelesleg esetén felvett CD spektrumokon jól látható (43. ábra), hogy míg pH ~ 8 -ig a hidroxamát-oxigének koordinációja a meghatározó, addig a pH = 10,0–11,0 tartományban már a hidroxamát-nitrogének koordinációja is kimutatható.



43. ábra A Cu(II) – H-AlaAlaNHOH rendszerben különböző pH értékeken felvett UV–látható spektrumok ($c_{\text{lig.}} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:2 (a) / 1,5:1 (b)).

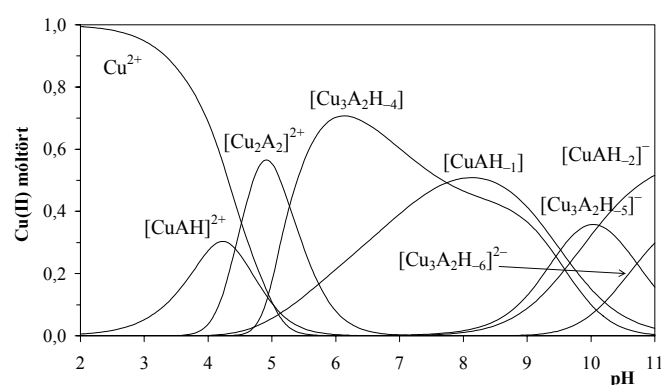
Valamennyi spektrális módszer eredményét figyelembe véve értékeltük ki a pH-potenciometriás adatokat. Ennek megfelelően a legjobb illesztést adó modell alapján a képződő komplexekre számolt összetételt és stabilitási szorzat értékeket a 22. táblázatban foglaltuk össze. A modell alapján szemléltetésül a H-AlaAlaNHOH ligandummal a komplexekre kapott koncentráció-eloszlási görbéket a pH függvényében a 44. ábrán mutatjuk be.

A $[\text{CuAH}]^{2+}$ összetételű komplexben az ESR paraméterek alapján a ligandum [O,O] kötésmóddal, a hidroxamát-oxigének keresztül koordinálódik a

fémionhoz. A pH emelésével, új lúgfogyasztó folyamatban a koordinációs mód fokozatosan áttevéődik az oxigénekről a nitrogén donoratomokra, miközben a rendszerben $[\text{Cu}_2\text{A}_2]^{2+}$ összetétellel megadható, feltehetően több oldatszerkezettel is rendelkező, az aminocsoport részvételével kialakuló, döntően kétmagvú, ESR inaktív komplex képződik. A $[\text{CuAH}_{-1}]$ komplexben a ligandum $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-]$ kötőmóddal koordinálódhat (45. ábra), ahol a második nitrogén a deprotonált amid-nitrogén, a harmadik pedig a hidroxamátcsoport deprotonált nitrogénje, miközben a hidroxamát-oxigénje protonált. A $[\text{CuAH}_{-2}]^-$ összetételű részecske valószínűleg egy vegyes hidroxokomplex, melyben a fémion negyedik koordinációs helyét elfoglaló vízmolekula disszociál, amit a részecske képződésére számolható származtatott állandó értéke is alátámaszt ($\text{pK}_{[\text{CuAH}_{-1}]} = 9,67$ és $9,41$).

22. táblázat A H-AlaAlaNH₂OH és H-AlaSerNH₂OH Cu(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai (lgβ) (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

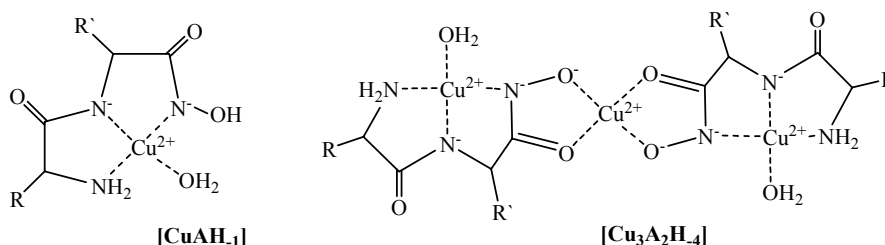
	H-AANHOH	H-ASNHOH
$[\text{CuAH}]^{2+}$	14,70(5)	14,46(6)
$[\text{Cu}_2\text{A}_2]^{2+}$	23,20(5)	23,28(4)
$[\text{CuAH}_{-1}]$	4,43(6)	4,68(5)
$[\text{CuAH}_{-2}]^-$	-5,24(8)	-4,73(5)
$[\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_{-4}]$	5,89(6)	6,48(5)
$[\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_{-5}]^-$	-3,56(10)	-2,87(9)
$[\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_{-6}]^{2-}$	-14,28(11)	-13,51(10)



44. ábra A Cu(II) – H-AlaAlaNH₂OH rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi ($c_{\text{Cu(II)}} = 0,004 \text{ mol/dm}^3$, $\text{Cu(II):lig.} = 1:1$).

A $[\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_{-4}]$ összetétellel leírt hárommagvú részecskében feltehetően két CuAH_{-1} egység szabad hidroxamát-oxigénjeiken keresztül kapcsolódik össze, egy harmadik

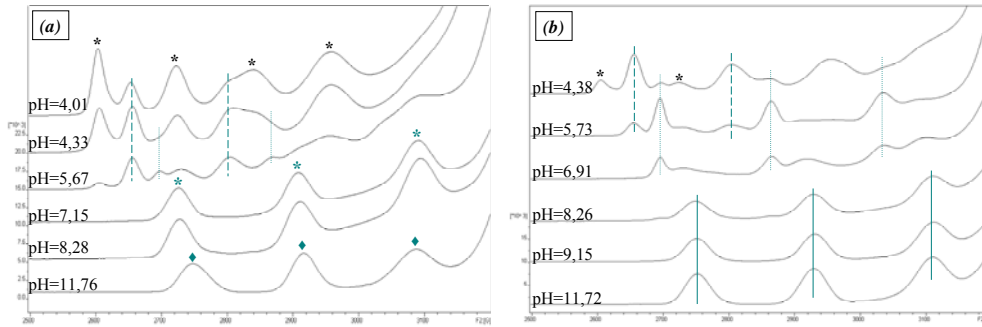
Cu(II)-ion szegítségével, hidroximáto-típusú koordinációt alakítva ki (45. ábra), összhangban azzal a kísérleti tapasztalattal, hogy a ligandum 1,5-szörös fémion felesleget tudott oldatban tartani (41. ábra). A hidroxamát-oxigének koordinációját a teljes vizsgált pH-tartományban az UV-látható spektrumok is alátámasztják, ugyanis a $\lambda \sim 360$ nm-nél található nagy intenzitású töltésátviteli sáv pH = 11-ig jelen van. A pH-t növelve, a szélső fémionokhoz (45. ábra) koordinálódó vízmolekulák disszociációjával $[\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_5]^-$ és $[\text{Cu}_3\text{A}_2\text{H}_6]^{2-}$ összetételű vegyes hidroxokomplexek képződnek.



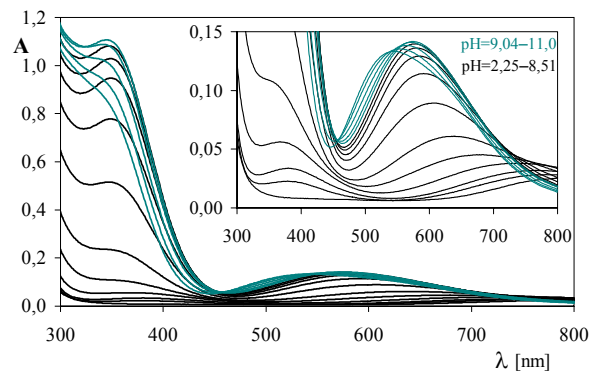
45. ábra A szabad aminos csoportot tartalmazó primer dipeptid-hidroxámsavak Cu(II)-ionnal képezett néhány komplexének javasolt szerkezetei.

A szabad aminos csoportot tartalmazó szekunder dipeptid-hidroxámsavak (H-AlaAlaN(Me)OH és H-AlaSerN(Me)OH) Cu(II)-ionnal a primer származékhoz hasonlóan intenzív kölcsönhatást alakítottak ki a pH = 2–11 tartományban, azzal a különbséggel, hogy ezek a ligandumok fémfelesleget nem voltak képesek megkötni. A ligandumok Cu(II)-ionnal képezett komplexek ESR spektrumai szintén különböztek a primer származékokhoz képest. Egyrészt a spektrumokban jel-intenzitás csökkenést nem tapasztaltunk, ami azt mutatja, hogy itt nem képződnek ESR inaktív többmagvú részecskék. Másrészt az 1:1 fémion – ligandum arányú minták ESR spektruma eltért a ligandumfelesleget tartalmazó mintákétól, azaz a komplexképződés során ligandumfelesleg esetén biszkomplexek is megjelennek. A 46. ábrán a H-AlaSerN(Me)OH-val a fémion jelenlétében, a különböző pH értékeken felvett ESR, a 47. ábrán pedig a H-AlaAlaN(Me)OH esetén az UV-látható spektrumokat mutatjuk be.

A komplexképződést ezen ligandumok esetén is tanulmányoztuk CD spektroszkópiával. A spektrumokban a 300–450 nm tartományban megjelenő egy abszorpciós sáv a Cu(II) – hidroxamát-oxigén közötti töltésátviteli sávnak felel meg. A sávok intenzitása a pH növelésével fokozatosan nő, és pH ~ 10 felett kissé tolódik a kisebb hullámhosszak felé. A 450–800 nm tartományban a nitrogén-koordinációhoz rendelhető, a d–d átmenetektől származó sáv jelenik meg.



46. ábra A Cu(II) – H-AlaSerN(Me)OH rendszerben különböző pH értékeken felvett ESR spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:1 (a) / 1:2 (b)).



47. ábra A Cu(II) – H-AlaAlaN(Me)OH rendszerben különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:2).

A spektroszkópiai mérések eredményeit figyelembe véve értékeltük ki a pH-potenciometriás titrálási görbéket. A komplexekre meghatározott összetételt és stabilitási szorzat értékeket a 23. táblázatban foglaltuk össze.

23. táblázat A H-AlaAlaN(Me)OH és H-AlaSerN(Me)OH Cu(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

	H-AAN(Me)OH	H-ASN(Me)OH
$[\text{CuAH}]^{2+}$	15,02(6)	14,73(5)
$[\text{CuAH}_1]$	3,04(4)	3,14(3)
$[\text{CuAH}_2]^-$	-6,63(5)	-6,46(4)
$[\text{CuA}_2\text{H}_2]^{2+}$	29,17(8)	28,86(6)
$[\text{CuA}_2\text{H}]^+$	22,3(2)	22,84(7)
$[\text{CuA}_2]$	14,8(2)	15,44(8)
$[\text{CuA}_2\text{H}_1]^-$	6,3(1)	7,16(8)

Az ESR spektrumokból a komplexekre számolható paramétereket, valamint a kialakuló legvalószínűbb kötémódokat a 24. táblázat tartalmazza.

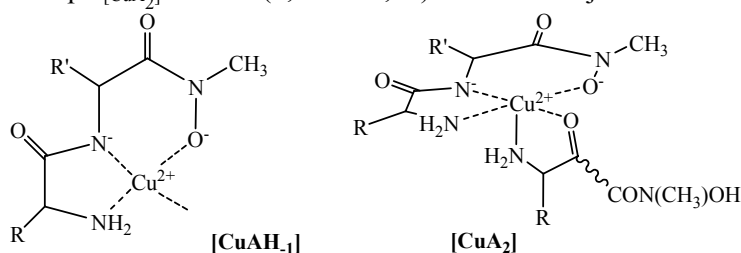
24. táblázat A H-AlaAlaN(Me)OH és H-AlaSerN(Me)OH Cu(II)–komplexeinek ESR paraméterei, és a legvalószínűbb kötémódjaik.

	H-AAN(Me)OH		H-ASN(Me)OH		kötémód
	g_{II}	$A_{II} (\cdot 10^{-4} \text{cm}^{-1})$	g_{II}	$A_{II} (\cdot 10^{-4} \text{cm}^{-1})$	
$[\text{CuAH}]^{2+}$	2,329	160,7	2,331	162,1	[O,O]
$[\text{CuA}_2\text{H}_2]^{2+}$	2,271	180,8	2,275	179,5	[O,O][O,O]
$[\text{CuAH}_{-1}]$	2,236	191,8	2,238	188,3	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{O}^-]$
$[\text{CuAH}_{-2}]^-$	2,234	179,3	2,236	179,0	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{O}^-, \text{OH}^-]$
$[\text{CuA}_2]$	2,216	189,5	2,218	186,7	$[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{O}^-][\text{NH}_2, \text{CO}]$

Amint azt a 23. táblázat adatai mutatják, a ligandumok Cu(II)-ionnal különböző protonáltsági fokú mono- és biszkomplexekeket képeznek. Az ESR mérések alapján öt különböző, ESR aktív részecske van a rendszerben (24. táblázat). A $[\text{CuAH}]^{2+}$ mono- (i) és a $[\text{CuA}_2\text{H}_2]^{2+}$ biszkomplexben (j) (46. ábra) a ligandum hidroxamát-oxigéneken keresztül koordinálódik a fémionhoz. Ezt a koordinációs módot mind az ESR paraméterek, mind az UV-látható spektrumok alátámasztják, melyek jó egyezésben vannak a Z-védett származékokra kapott eredményekkel (21. táblázat). A $[\text{CuA}_2\text{H}]^+$ részecske képződése nem jár az ESR paraméterek megváltozásával, amiből arra következtethetünk, hogy a ligandum nem koordinálódó ammóniumcsoportja deprotonálódik. A $[\text{CuAH}_{-1}]$ összetételű komplex (*) esetén a g_{II} csökkenése, és az A_{II} értékének növekedése azt mutatja, hogy a Cu(II)-ion koordinációs szférájában az oxigén donoratomok részben nitrogénekre cserélődnek, a ligandum az amino-nitrogéneken, a deprotonált amid-nitrogéneken és a hidroxamátcsoport oxigénjén koordinálódva, egy öttagú és egy hattagú csatolt kelátot alakít ki (48. ábra). A nitrogén donoratomok koordinációját az UV-látható spektrumokban jelentkező (47. ábra kinagyítás), a fémion d–d átmeneteire jellemző sáv fokozatos eltolódása a kisebb hullámhosszak felé is igazolja.

A $[\text{CuAH}_{-2}]^-$ (k) (46. ábra) minden bizonnyal egy vegyes hidroxokomplex, ahol a negyedik koordinációs helyet elfoglaló vízmolekula disszociációja következik be. Ezt az A_{II} értékének csökkenése mutatja, miközben a g_{II} értéke alig változik. A $[\text{CuA}_2]$ (l) (46. ábra) úgy képződhet, hogy a $[\text{CuAH}_{-1}]$ -hez egy HA^+ ligandum koordinálódik ekvatoriális–axiális pozícióban. A második ligandum koordinációja történhet a hidroxamát-oxigéneken, vagy az amino- és karbonil-csoporton

keresztül. A koordinációs mód eldöntésére ESR méréseket végeztünk a H-AlaSerN(Me)OH – Z-AlaSerN(Me)OH – Cu(II) és a H-AlaSerN(Me)OH – H-GlySar-OH – Cu(II) 1:1:1 arányú rendszerekben, ahol a Z-AlaSerN(Me)OH csak [O,O], a H-GlySar-OH csak [NH₂,CO] koordinációt tud kialakítani. Azt találtuk, hogy a [CuA₂]-ben a koordinációs mód a H-AlaSerN(Me)OH – H-GlySar-OH – Cu(II) rendszerben képződő vegyes ligandumú komplexével mutat igen hasonló ESR spektrális viselkedést, azaz az ekvatoriális–axiális koordinációs helyet a ligandum [NH₂,CO] csoportja foglalja el (48. ábra). A másik lehetséges, az [O,O] koordinációnak az is ellent mond, hogy az UV-látható spektrumokban nem tapasztaltunk eltolódást a nagyobb hullámhosszak felé, ami az ekvatoriális–axiális hidroxamát-típusú koordináció velejárája.¹⁶⁸ A [CuA₂H_{L-1}]⁻ komplex a koordinálódó második ligandum hidroxámsavcsoportjának a deprotonálódásával alakul ki. Ezt a pK_[CuA₂] értékek (8,25 ill. 8,26) is alátámasztják.

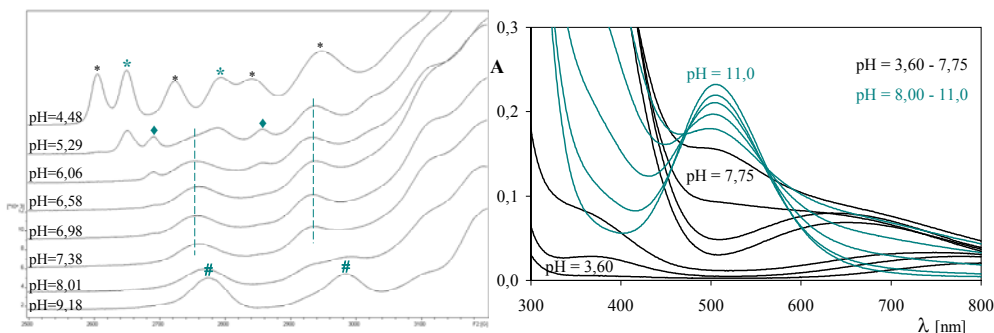


48. ábra A szabad aminosoprotot tartalmazó szekunder dipeptid-hidroxámsavak Cu(II)-ionnal képezett néhány komplexének legvalószínűbb szerkezetei.

A *szabad aminosoprotot tartalmazó primer tripeptid-hidroxámsav* (H-AlaGlyGlyNHOH) Cu(II)-ionnal történő pH-potenciometriás titrálásakor azt tapasztaltuk, hogy a ligandum fémion felesleget is képes oldatban tartani, azonban a pH ~ 5 feletti tartományban valamennyi fémion – ligandum arány esetén nagyon lassú komplexképződés játszódik le, amely az oldategyensúlyi vizsgálatokat nehezítette, a pH-potenciometriás titrálási adatok kiértékelését pedig részben megghiúsította. A 49. ábrán az 1:1 fémion – ligandum aránynál különböző pH értékeken felvett ESR és UV-látható spektrumokat mutatjuk be.

Az ESR spektrumban a pH = 4,5-nél a [Cu(H₂O)₆]²⁺ (*) mellett megjelenő részecske (*) paraméterei (g_{||} = 2,345, A_{||} = 160,5 · 10⁻⁴ cm⁻¹) megegyeznek az [O,O] típusú hidroxamát-koordinációra számolható ESR paraméterekkel (21. táblázat). A pH = 5,3–8,0 tartományban a jelek intenzitása csökken, ami ESR inaktív többmagvú részecskék jelenlétére utal. Ezen oligomer részecskék mellett, azokkal egyensúlyban, egymagvú komplexek is jelen vannak a rendszerben. Az

ESR jelek kiszélesedése ebben a pH-tartományban azt mutatja, hogy a fémion koordinációs szférájában kezdetben jelen lévő oxigének folyamatosan nitrogénekre cserélődnek ki.



49. ábra A Cu(II) – H-AlaGlyGlyNHOH rendszerben különböző pH értékeken felvett ESR spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:1) és UV-látható spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:1).

A pH = 9,2-nél jelen lévő részecskére (#) (49. ábra) számolható ESR paramétereiből ($g_{\parallel} = 2,176$, $A_{\parallel} = 213,4 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) arra következtethetünk, hogy a Cu(II)-ionhoz négy nitrogén donoratomb koordinálódik az ekvatoriális síkban. Az ESR értékek jó egyezést mutatnak a Cu(II) – H-ProLeuGlyNHOH rendszerben a 4N koordinációra vonatkozó értékkel ($g_{\parallel} = 2,181$, $A_{\parallel} = 208,5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$).¹⁴ A nitrogének folyamatos belépését a különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok is bizonyítják (49. ábra). Az ábrán a pH = 11,0-nél látható $\lambda_{\text{max}} = 500 \text{ nm}$ érték szintén jó egyezésben van a Cu(II) – H-ProLeuGlyNHOH rendszerben a 4N koordinációhoz rendelhető értékkel ($\lambda_{\text{max}} = 490 \text{ nm}$).¹⁴ A 300–450 nm tartományban a Cu(II) – hidroxamát koordinációra jellemző töltésátviteli sáv jelenik meg, amely pH ~ 8-ig fokozatosan növekvő, majd a fölött csökkenő intenzitású. Ez azt mutatja, hogy a hidroxamát-oxigének az e feletti pH-tartományban fokozatosan kiszorulnak a fémion koordinációs szférájából. Az eredményeket tekintve feltételezhetjük, hogy köztes pH-tartományban olyan kétmagvú részecskék is jelen vannak, amelyekben a ligandum ambidentát módon, az egyik fémionhoz a nitrogén(ek)en, míg egy másik fémionhoz a hidroxamát-oxigének keresztül koordinálódik. Ezzel magyarázható az a jelenség, hogy 1:1 fémion – ligandum aránynál a pH = 5,3–7,0 tartományban jelentős mennyiségben van jelen a bisz [O,O] koordinációt valószínűsítő ESR paraméterekkel rendelkező részecske (◆) ($g_{\parallel} = 2,283$, $A_{\parallel} = 181,7 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$). Ez feltehetően egy olyan dimer részecskéhez rendelhető, ahol az egyik fémionhoz csak hidroxamátcsoport

koordinálódik, a másik fémionhoz pedig nitrogén(ek). Az, hogy az ESR spektrumokban a többmagvú részecskék jelenléte ellenére az intenzitás csökkenés csak kismértékű, értelmezhető azzal, hogy a három aminosavat tartalmazó ligandum két végén kötött fémion elég távol helyezkedik el egymástól ahhoz, hogy a köztük fellépő spinkicserélődési effektus csak gyenge kölcsönhatásban érvényesüljön.

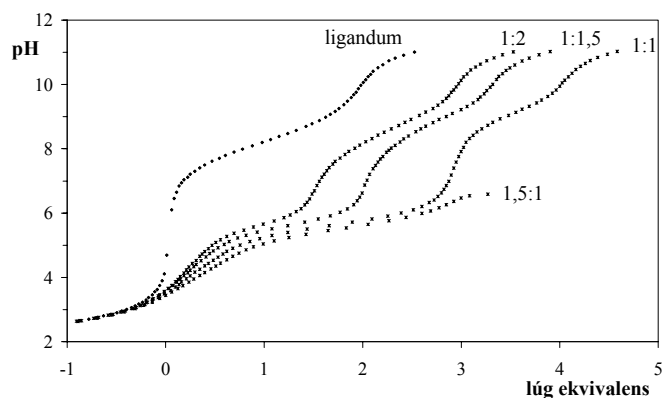
A pH-potenciometriás titrálások során valamennyi fémion – ligandum arány esetén a pH = 5–8 tartományban nagyon lassú folyamatok játszódtak le, az egyensúly feltétele nem valósult meg, így a görbék ezen szakaszait nem tudtuk kiértékelni. Az 1:1 arányú titrálási görbe alapján a rendszerben a komplexképződés során összességében a ligandumról négy ekvivalens proton szorult ki. Az ESR és UV-látható spektroszkópia eredményeit is figyelembe véve értékeltük ki a pH-potenciometriás mérések adatait abban a pH-tartományban, ahol adott volt az egyensúlyi feltétele (pH = 2–5 és pH > 8). A komplexekre meghatározott stabilitási szorzat értékeket, ill. az ESR paramétereket a 25. táblázatban foglaltuk össze.

25. táblázat A H-AlaGlyGlyNHOH Cu(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)), illetve a komplexekre meghatározott ESR paraméterek.

	$\lg\beta$	g_{II}	$A_{II} (\cdot 10^{-4}\text{cm}^{-1})$
$[\text{CuAH}]^{2+}$	14,45(7)	2,345	160,5
$[\text{CuAH}_2]^-$	-5,38(5)	2,176	213,4

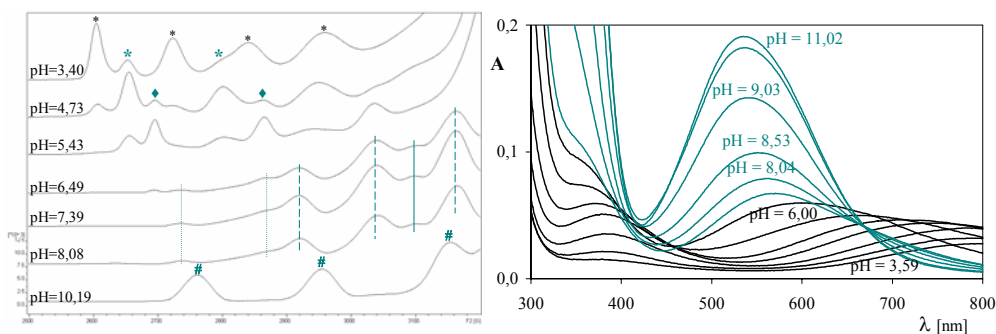
A $[\text{CuAH}]^{2+}$ komplexben a ligandum a hidroxamát-oxigéneken keresztül koordinálódik a fémionhoz. A $[\text{CuAH}_2]^-$ részecskében a megvalósuló koordinációs mód $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}^-]$, ahol a második és harmadik koordinációs helyet a deprotonált amid-nitrogén, míg a negyediket a hidroxamátcsoport deprotonált nitrogénje foglalja el, miközben a hidroxamát-oxigén protonált.

A szabad aminosoprotot tartalmazó szekunder tripeptid-hidroxámsav (H-AlaGlyGlyN(Me)OH) Cu(II)-ionnal való komplexképződése során a különböző fémion – ligandum arányoknál mért pH-potenciometriás titrálási görbéket az 50. ábrán tüntettük fel. A pH = 2–11 tartományban intenzív komplexképződés volt jellemző. A ligandum fémion felesleget nem volt képes oldatban tartani. Az 1:1 aránynál felvett titrálási görbe jól szemlélteti, hogy fémion jelenlétében a ligandumról három ekvivalens proton kooperatív folyamatban szorult ki, míg a negyedik ekvivalens proton kiszorítása elkülönülő lépésben történt.



50. ábra A H-AlaGlyGlyN(Me)OH és a Cu(II) – H-AlaGlyGlyN(Me)OH különböző arányú titrálási görbéi ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)).

A különböző pH értékeken felvett ESR és UV-látható spektrumokat az 51. ábrán mutatjuk be. Az ESR spektrumok mutatják, hogy polimer komplexek ezen ligandum esetén nem képződnek. A pH-potenciometriás adatok kiértékelésével a komplexek összetételére és stabilitási szorzat értékeire kapott eredményeket, valamint az ESR paramétereiket a 26. táblázatban foglaltuk össze.



51. ábra A Cu(II) – H-AlaGlyGlyN(Me)OH rendszerben különböző pH értékeken felvett ESR spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 5 \cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:2) és UV-látható spektrumok ($c_{\text{Cu(II)}} = 1,5 \cdot 10^{-3}\text{ mol/dm}^3$, Cu(II):lig. = 1:2).

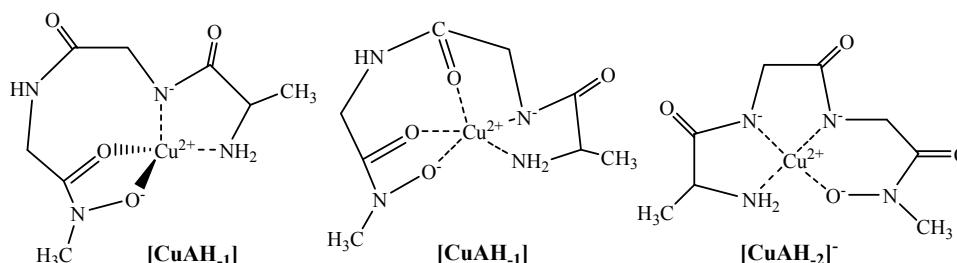
Az ESR spektrumban $\text{pH} = 3,40$ -nél a Cu(II)-ion akvakomplexe (*) (51. ábra) mellett megjelenő részecske (*) $[\text{CuAH}]^{2+}$ összetétellel adható meg, melyben a paraméterek alapján a ligandum [O,O] keláton keresztül koordinálódik a fémionhoz (26. táblázat). Ezt alátámasztja az UV-látható spektrumokban, a töltésátviteli tartományban $\lambda = 380\text{ nm}$ -nél jelentkező abszorpciós sáv is. A $\text{pH} = 4,7\text{--}6,5$ tartományban jelenlévő komplexben (♦) az ESR paraméterek alapján két

hidroxamátcsoport koordinálódik a Cu(II)-ionhoz, a részecske a $[\text{CuA}_2\text{H}_2]^{2+}$ összetételű biszkomplex.

26. táblázat A H-AlaGlyGlyN(Me)OH Cu(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai ($\lg\beta$) ($t = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ mol/dm}^3$ (KCl)), illetve a komplexekre meghatározott ESR paraméterek.

	$\lg\beta$	g_{\parallel}	$A_{\parallel} (\cdot 10^{-4}\text{ cm}^{-1})$
$[\text{CuAH}]^{2+}$	14,66(2)	2,335	159,8
$[\text{CuAH}_1]$	3,52(2)	2,169	123,9
$[\text{CuAH}_2]^-$	-5,28(2)	2,204	203,0
$[\text{CuA}_2\text{H}_2]^{2+}$	27,6(2)	2,283	181,7
$[\text{CuA}_2\text{H}]^+$	22,23(9)		
$[\text{CuA}_2]$	14,8(1)		

A $\text{pH} = 6,5\text{--}8,1$ tartományban felvett ESR spektrumok alapján (51. ábra) elkezdődik a ligandum nitrogén donoratomjainak fémionhoz való koordinálódása, melyet az UV-látható spektrumokban a Cu(II)-ion d-d átmeneteihez tartozó abszorpciós sávok jelentős eltolódása a kisebb hullámhosszak felé ($\lambda \sim 560\text{ nm}$) is mutat (51. ábra). A pH-potenciometriás adatok kiértékelésével azt kaptuk, hogy ebben a tartományban, feltehetően kooperatív deprotonálódási lépések eredményeként a $[\text{CuAH}_1]$, illetve ligandumfelesleg esetén a $[\text{CuA}_2\text{H}]^+$ és $[\text{CuA}_2]$ is detektálható. Az ESR spektrumok (51. ábra) alapján ezek a részecskék valószínűleg kötési izomerek keverékei lehetnek. Közülük a domináns(!) $[\text{CuAH}_1]$ ESR paraméterei (26. táblázat) szerint a komplexben a Cu(II)-ion körüli geometria igen nagymértékben torzul (a g_{\parallel} és az A_{\parallel} értékének jelentős csökkenése). Erre a részecskére a legvalószínűbb szerkezetek az 52. ábrán láthatók. A komplex szerkezetének megadásakor figyelembe vettük azt, hogy az UV-látható spektrumokban a hidroxamát-oxigének koordinációjára jellemző töltésátviteli sáv a $\lambda \sim 350\text{--}380\text{ nm}$ -nél az egész vizsgált pH-tartományban megmarad (51. ábra). A $[\text{CuA}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplex deprotonálódására számolható érték ($\text{pK}_{[\text{CuA}_2\text{H}_2]} = 5,3$) kisebb, mint a szabad aminocsoport deprotonálódásához tartozó pK érték, ami arra utal, hogy a $[\text{CuA}_2\text{H}]^+$ komplexben az egyik ligandum aminocsoportja a fémion hatására deprotonálódik, illetve koordinálódik. További lúgfogyasztó folyamatban, a $\text{pH} = 10$ feletti tartományban a $[\text{CuAH}_2]^-$ részecske képződik, amely $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{O}^-]$ kötésmódú, ahol az amino-nitrogén, a két deprotonált amid-nitrogén, és a hidroxamát-oxigén koordinálódik a fémionhoz az ekvatoriális síkban (52. ábra).



52. ábra A H-AlaGlyGlyN(Me)OH Cu(II)-ionnal képezett néhány komplexének legvalószínűbb szerkezetei.

4.4.7. Komplexképződés Ni(II)-ionnal

A Z-védett peptidhidroxámsavak Ni(II)-ionnal történő kölcsönhatása során az egyes ligandumokra számolható legjobb modelleket a 27. táblázatban tüntettük fel. A komplexképződés pH ~ 4,5-nél indult, és valamennyi fémion – ligandum arányánál, pH ~ 6,5–7,5 körül csapadék vált ki.

27. táblázat A Z-védett peptidhidroxámsavak Ni(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai (lgβ) (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

	Z-AA-NHOH	Z-AS-NHOH	Z-AGG-NHOH	Z-AA-N(Me)OH	Z-AS-N(Me)OH	Z-AGG-N(Me)OH
[NiA] ⁺	4,74(4)	4,94(4)	4,83(3)	4,51(2)	4,51(1)	4,39(3)
[NiAH ₁]	-3,4(1)	-2,8(1)	-3,16(6)	-3,8(3)	-3,55(2)	-4,0(1)

Valamennyi Z-védett ligandummal a vizsgálható szűk pH-tartományban kis stabilitású [NiA]⁺ és [NiAH₁] összetételű komplexek képződnek, melyeknél kizárólag a ligandum hidroxamát-oxigéneken keresztüli koordinációja valósulhat meg. A [NiAH₁] feltehetően egy vegyes hidroxokomplex, ahol a Ni(II)-ionhoz koordinálódó egyik vízmolekula deprotonálódik. Ezt a pK_[NiA] származtatott értékek is alátámasztják (7,7 – 8,4). Valószínűleg ez a semleges töltésű komplex válik ki az oldatból csapadék formájában.

A szabad aminos csoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak Ni(II)-komplexeinek a pH-potenciometriás adatok kiértékelésével meghatározott összetételét és stabilitási szorzat értékeit a 28. táblázatban foglaltuk össze. Mivel az egyes ligandum típusok esetén a kapott eredmények eltérőek, ezért azokat külön értékeljük.

A primer dipeptid-hidroxámsavak (H-AlaAlaNHOH és H-AlaSerNHOH) a Ni(II)-ionnal a pH = 4–11 tartományban különböző protonáltsági fokú monokomplexeiket

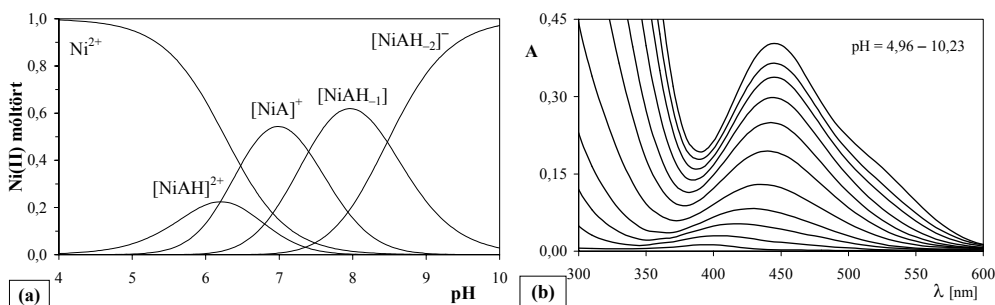
képeznek. A H-AlaAlaNH₂OH ligandum Ni(II)-komplexeinek koncentráció-eloszlási görbéit a pH függvényében az 53/a. ábrán mutatjuk be. A titrálások során a minták pH > 7-nél intenzív sárga színűek voltak, amely a Ni(II)-ionra jellemző síknegyzetes és diamágneses komplexek jelenlétére utal. A H-AlaAlaNH₂OH rendszerben különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok az 53/b. ábrán láthatók.

28. táblázat A szabad aminos csoportot tartalmazó peptidhidroxámsavak Ni(II)-komplexeinek stabilitási szorzatai (lgβ) (t = 25,0 °C, I = 0,2 mol/dm³ (KCl)).

	H-AA-NHOH	H-AS-NHOH	H-AGG-NHOH	H-AA-N(Me)OH	H-AS-N(Me)OH	H-AGG-N(Me)OH
[NiAH] ²⁺	12,50(9)	12,56(8)	12,79(3)	—	11,95(5)	11,6(2)
[NiA] ⁺	6,30(3)	5,52(9)	—	6,01(9)	5,69(2)	5,04(7)
[NiAH ₋₁]	-1,10(4)	-1,00(5)	—	—	—	-3,3(1)
[NiAH ₋₂] ⁻	-9,57(4)	-10,20(6)	-7,44(2)	—	—	-10,78(3)
[NiA ₂ H] ⁺	—	—	—	16,8(2)	16,96(9)	17,10(9)
[NiA ₂]	—	—	—	9,13(4)	9,08(4)	—

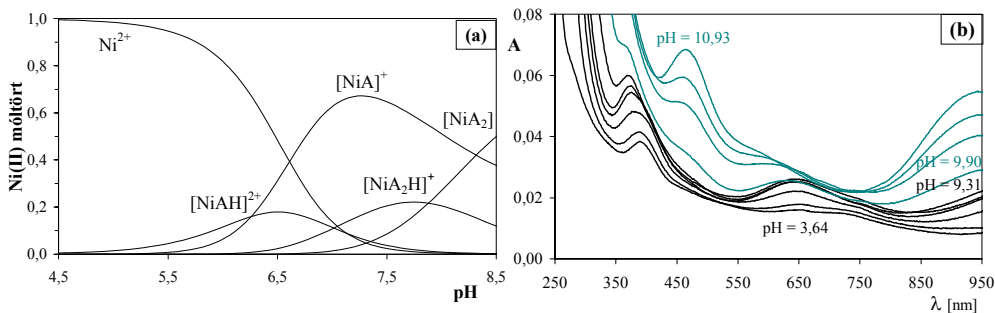
A [NiAH]²⁺ részecskében a ligandum [O,O] vagy [NH₂,CO] kötésmóddal koordinálódhat a fémionhoz, miközben a koordinációban részt nem vevő másik funkciós csoport protonált. A kétféle kötési izomer egyidejű jelenlétének a lehetőségét alátámasztják az Ni²⁺ + HA → NiA⁺ + H⁺ folyamatra számolható irodalmi származtatott állandók értékei a glicil-glicin (-4,17 [NH₂,CO] koordinációra),¹⁹³ és az aceto-hidroxámsav (-3,90 [O,O] koordinációra)¹⁴⁵ esetén. Mivel a két érték igen közel esik egymáshoz, ez azt jelenti, hogy a két eltérő típusú kelát kötési erőssége közel azonos. Noha a pH növelésekor az egyes deprotonálódási lépések a geometriaváltás miatt általában kooperatív módon mennek végbe, ezekben a rendszerekben a [NiA]⁺ stabilitási állandója is meghatározható volt. A pK_[NiAH] kis értéke (6,20 ill. 7,04) azt mutatja, hogy az [NiAH]²⁺ komplexben nem koordinálódó funkciós csoport deprotonálódását a fémion indukálja, ami azt jelenti, hogy a [NiA]⁺ komplexben a ligandum tridentát módon koordinálódhat [NH₂,CO,O⁻] vagy [O,O⁻,NH₂] kötésmóddal. A [NiAH₋₁] részecskében az amid-nitrogén deprotonálódásával [NH₂,N⁻,N⁻] kötésmód valósulhat meg, a Ni(II) – H-ProLeuNH₂OH rendszerben tapasztaltakhoz hasonlóan.¹⁴ A három nitrogén koordinációját alátámasztja az UV-látható spektrumokban a λ_{max} = 450 nm-nél jelentkező nagy intenzitású abszorpciós sáv is (53/b. ábra). A [NiAH₋₂]⁻ részecske valószínűleg egy vegyes hidroxokomplex,

amelyben a síknégyszetes geometriájú komplex negyedik koordinációs helyén lévő vízmolekula deprotonálódik.



53. ábra A Ni(II) – H-AlaAlaNH₂OH rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi **(a)** ($c_{\text{Ni(II)}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Ni(II):lig. = 1:1), illetve a különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok **(b)** ($c_{\text{Ni(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Ni(II):lig. = 1:1).

A szekunder dipeptid-hidroxámsavak (H-AlaAlaN(Me)OH és H-AlaSerN(Me)OH) a primer származékoktól eltérően viselkedtek. A komplexképződést pH ~ 9-ig tudtuk pH-potenciometriásan tanulmányozni, efelett lassú egyensúlyi folyamatok játszódtak le. Az egyes rendszerekben képződő különböző protonáltsági fokú mono- és biszkomplexek összetételét és stabilitási szorzat értékeit a 28. táblázatban foglaltuk össze. A H-AlaSerN(Me)OH ligandummal a pH függvényében felvett koncentráció-eloszlási görbéket az 54/a. ábrán, míg az UV-látható spektrumokat az 54/b. ábrán mutatjuk be.

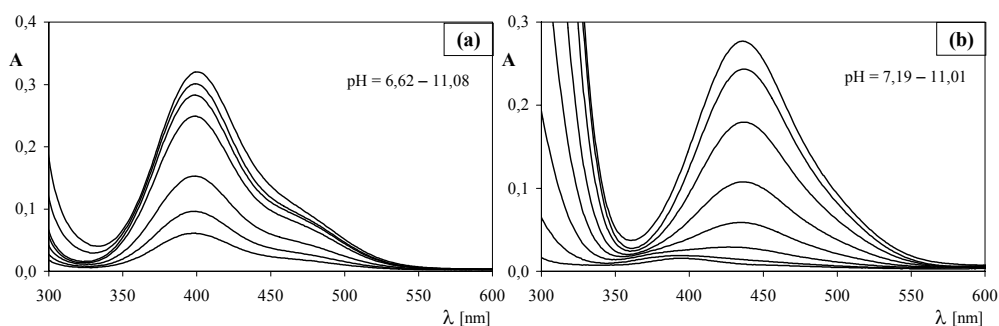


54. ábra A Ni(II) – H-AlaSerN(Me)OH rendszerben képződő komplexek koncentráció-eloszlási görbéi **(a)** ($c_{\text{Ni(II)}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Ni(II):lig. = 1:3), illetve a különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok **(b)** ($c_{\text{Ni(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, Ni(II):lig. = 1:3).

Amint az a spektrumokból látható (54/b. ábra), pH = 9-ig a képződő komplexek az oktaédes geometriára jellemző három, kis intenzitású abszorpciós sávval rendelkeznek ($\lambda_{\text{max}} \sim 360, 650 \text{ és } >950 \text{ nm}$). A H-AlaSerN(Me)OH esetén

kimutatható $[\text{NiAH}]^{2+}$ részecskében a ligandum – a primer származékokhoz hasonlóan – $[\text{O},\text{O}]$ és $[\text{NH}_2,\text{CO}]$ kötémóddal is koordinálódhat, miközben a koordinációban részt nem vevő másik funkciós csoport protonált. A $[\text{NiA}]^+$ komplex úgy képződik, hogy a $[\text{NiAH}]^{2+}$ komplexben lévő, nem koordinálódó másik funkciós csoport deprotonálódik és koordinálódik a Ni(II)-ionhoz. Ezt a fémion által indukált deprotonálódást mutatja a $\text{pK}_{\text{NiAH}} = 6,26$ kis értéke is. Az így kialakuló koordinációs mód lehet $[\text{O},\text{O}^-, \text{NH}_2]$ vagy $[\text{NH}_2, \text{CO}, \text{O}^-]$. A második ligandum hasonló koordinációval történő belépése eredményezi a $[\text{Ni}_2\text{H}]^+$ és az $[\text{Ni}_2]$ összetételű biszkomplexeit. Az UV-látható spektrumok (54/b. ábra) azt mutatták, hogy a $\text{pH} > 9,5$ tartományban elkezdődik az oktaédes geometria átrendeződése síknégyszetessé, amit a $\lambda_{\text{max}} = 450\text{--}460$ nm értékkel jellemezhető új abszorpciós sáv egyértelműen mutat. A pH igen lassú beállása miatt azonban a deprotonált amid-nitrogént is tartalmazó, feltehetően $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{O}^-]$ koordinációjú új komplexre nem tudunk összetételt és stabilitási szorzatot meghatározni.

A primer tripeptid-hidroxámsav (H-AlaGlyGlyNHOH) Ni(II)-ionnal való kölcsönhatásakor a minták színe $\text{pH} \sim 6$ felett intenzív sárga volt, ami a képződő komplexek síknégyszetes geometriájára utalt. A titrálás során a ligandum a fémion jelenlétében összességében négy ekvivalens H^+ -iont adott le. A különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumokat az 55/a. ábrán mutatjuk be. Az UV-látható spektrumokban a $\lambda_{\text{max}} = 400$ nm-nél jelentkező nagy intenzitású abszorpciós sáv négy nitrogén donoratom koordinációját igazolja, amely egyezésben van a Ni(II) – H-ProLeuGlyNHOH rendszerre vonatkozó értékkel ($\lambda_{\text{max}} = 410$ nm), ahol a képződő komplexben szintén a fenti koordinációs módot valószínűsítették.¹⁴



55. ábra A különböző pH értékeken felvett UV-látható spektrumok a Ni(II) – H-AlaGlyGlyNHOH **(a)**, és a Ni(II) – H-AlaGlyGlyN(Me)OH **(b)** rendszerben ($c_{\text{Ni(II)}} = 1,5 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³, Ni(II):lig. = 1:1).

Az egyes deprotonálódási lépések – a primer dipeptid-származékokkal megegyezően – a geometriaváltás következtében kooperatív módon mentek végbe, de az egyensúlyi folyamatok sokkal lassabban játszódtak le. Ennek következtében a pH-potenciometriás adatokból csak a $[\text{NiAH}]^{2+}$ és a $[\text{NiAH}_2]^-$ részecskékre tudunk stabilitási állandót meghatározni (28. táblázat). A $[\text{NiAH}]^{2+}$ részecskében – hasonlóan a már tárgyalt rendszerekhez – a ligandum valószínűleg $[\text{O},\text{O}]$ és $[\text{NH}_2,\text{CO}]$ kötésmóddal koordinálódik, kötési izomereket hozva létre. A pH növelésével bekövetkezik az amid-nitrogének kooperatív deprotonálódása, illetve a hidroxamát-nitrogén koordinációja, kialakítva a diamágneses, síknégyszetes $[\text{NiAH}_2]^-$ komplexet, amelyben négy nitrogén donoratom koordinálódik a fémionhoz, $[\text{NH}_2,\text{N}^-,\text{N}^-,\text{N}^-]$ kötésmóddal, miközben a ligandum hidroxamát-oxigénje protonált.

A *szekunder tripeptid-hidroxámsav* (H-AlaGlyGlyN(Me)OH) Ni(II)-ionnal való komplexképződése a pH = 4–11 tartományban pH-potenciometria módszerével tanulmányozható volt. Az egyes deprotonálódási lépések itt is kooperatív módon játszódtak le, de a viszonylag gyors egyensúlyi folyamatok eredményeként a kiértékelés a teljes titrálási görbe-tartományban lehetséges volt. A képződő komplexek összetételét és stabilitási szorzat értékeit a 28. táblázat tartalmazza. A kialakuló komplexek a H-AlaGlyGlyNHOH-hoz hasonlóan síknégyszetes szerkezetűek. A pH függvényében felvett UV-látható spektrumok az 55/b. ábrán láthatók. A titrálás során 1:1 aránynál a ligandum a primer tripeptid-hidroxámsavval megegyezően négy ekvivalens H^+ -iont adott le a fémion jelenlétében. A rendszerben monokomplexek képződtek különböző protonáltsági fokkal, és a titrálási görbék illesztését jelentősen javította a $[\text{NiA}_2\text{H}]^{2+}$ biszkomplex feltételezése a modellben. A $[\text{NiAH}]^{2+}$ komplexben a megvalósuló koordinációs mód feltehetően megegyezik a H-AlaGlyGlyNHOH esetén képződő azonos összetételű részecskéjével. A $[\text{NiAH}_2]^-$ összetételű részecskében a ligandum minden bizonnyal $[\text{NH}_2,\text{N}^-,\text{N}^-,\text{O}^-]$ kötésmóddal koordinálódik a fémionhoz, ahol az amino- és a deprotonált amid-nitrogének mellett a hidroxamát-oxigén koordinációja valósul meg.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkám első részében az állatkísérletekben igazoltan inzulinutánzó hatást mutató VO(IV)–, és V(III)–vegyületek oldategyensúlyi vizsgálatát végeztük el. Meghatároztuk a VO(IV) – 5-metoxi-karbonil-pikolinsav (MKP) rendszerben képződő komplexek összetételét és stabilitási szorzat értékeit, ill. ESR spektroszkópia segítségével megadtuk a komplexek legvalószínűbb szerkezetét. Megállapítottuk, hogy a ligandum a pikolinsavhoz képest erősebben köti a fémiont. Vizsgáltuk a vérérszékben található kis molekulatömegű, a VO(IV)-ion megkötésére alkalmas biomolekulákkal (oxálsav, tejsav, citromsav és foszforsav) kialakuló vegyes ligandumú rendszereket. Mind a négy kismolekulával széles pH-tartományban képződtek vegyes ligandumú komplexek, melyekben a kialakuló kötőmódokat ESR spektroszkópiával határoztuk meg. Hipotetikus modellszámítást végeztük annak megértésére, hogy az általunk vizsgált MKP ligandum, mint hordozó a szervezetbe bekerülve képes-e megtartani a fémiont [VO(MKP)₂] biszkomplex formájában, a vérérszék kis biomolekuláival szemben. Eredményeink azt mutatták, hogy fiziológiás pH-n az eredeti biszkomplex elbomlik, és a VO(IV)-ion a citrát és a laktát törzskomplexeiben, illetve a citrát és a foszfát vegyes ligandumú komplexeiben kötődik.

Módszert dolgoztunk ki V(III) törzsoldat előállítására, tárolására, fémion- és savtartalmának a meghatározására, valamint a pH-potenciometriás és UV-látható spektrofotometriás mérések oxigénmentes körülmények közötti kivitelezésére. Részletesen tanulmányoztuk a V(III)-ion hidrolízisét saját mérési körülményeink között, és meghatároztuk a képződő hidroxokomplexek stabilitási szorzatát. Vizsgáltuk a fémion komplexképződését a pikolinsavval és három szubsztituált származékával, továbbá három [O,O] donoratomot tartalmazó ligandummal. Ezen ligandumok V(III)–vegyületeit szintén inzulinutánzó hatásúnak találták. Mind a hét ligandum esetén megállapítottuk, hogy erős komplexképzői a fémionnak, a hidrolízis széles pH-tartományban visszaszorult. Egy egyszerű hipotetikus modellszámításban összevetettük, hogy az egyes ligandumok közel fiziológiás pH-n milyen szerepet vállalhatnak a fémion kötésében és szállításában. Eredményeink alapján a pikolinsav, a maltol és az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-(1H)-piridinon a legjobb hordozómolekulák a V(III)-ion számára. Tanulmányoztuk továbbá az egyszerű, oldalláncban különböző típusú donoratomot (O, N és S) tartalmazó aminosavak komplexképződését a V(III)-ionnal. Valamennyi vizsgált aminosav esetén azt találtuk, hogy a fémionnal kialakuló kölcsönhatás igen gyenge, a

komplekxképződést minden esetben megelőzi, vagy azzal párhuzamos a fémion hidrolízise, ami bonyolult, nehezen értékelhető egyensúlyi rendszerek kialakulását eredményezi.

PH-potenciometriás, UV-látható, CD és ESR spektroszkópiás mérésekkel megvizsgáltuk az arginin oldalláncának a Cu(II)-ionnal való komplexképződésére kifejtett hatását, szisztematikus oldategyensúlyi vizsgálatokkal. Vizsgáltunk négy dipeptidet, a tri-Arg-ot és a tetra-Arg-ot. Valamennyi ligandummal azt találtuk, hogy a képződő komplexek összetétele és kötésmódja megegyezik a megfelelő glicin-származék – Cu(II) rendszerre leírt modellel, az oldalláncban lévő guanidino-csoport fémionhoz történő koordinációját pedig egyik esetben sem tudtuk kimutatni. Tanulmányoztuk az oldallánc komplexekben megvalósuló, másodlagos kölcsönhatásokon keresztül esetleges stabilizáló szerepét is. Ehhez olyan vegyes ligandumú rendszereket vizsgáltunk, ahol az arginin tartalmú dipeptid mellett második ligandumnak egyfogú, nagy térkitöltésű, negatívan polározott nemkoordinálódó csoportot tartalmazó molekulát választottunk. A vegyes rendszerekben bár csak kismértékben, de ki tudunk mutatni némi stabilizáló hatást, ami a két ligandum között (a pozitívan töltött guanidino-csoport és a negatívan polározott csoport) kialakuló másodrendű kölcsönhatás eredménye. Emellett vizsgáltuk az arginint tartalmazó amilin peptid egy fragmentjét, ahol a ligandum a guanidino-csoporton kívül a fémionhoz koordinálódni képes egyéb donorcsoportot nem tartalmazott. Azt találtuk, hogy Cu(II)-ion jelenlétében bekövetkezik a peptidvázban lévő amid-nitrogének koordinációja, ami bizonyítja a guanidino-csoport horgony donorként betöltött részleges vagy teljes szerepét.

Megvalósítottuk tizenkét új ligandum – N-terminálison védett és nemvédett, primer és szekunder, di- és tripeptid-hidroxámsavak – szintézisét. Meghatároztuk az egyes ligandumok savi disszociációs folyamatait. A szabad aminocsoportot tartalmazó származékok esetén a mérhető pH-tartományban két disszociációs folyamat játszódik le, melyek egymással nagymértékben átfednek. Ezért meghatároztuk a primer dipeptid-hidroxámsavak esetén az egyes csoportokhoz tartozó disszociációs mikrofolyamatokat, kombinált pH – ¹H-NMR mérésekkel. Az eredményeink azt mutatták, hogy az aminocsoport bázicitása valamennyivel kisebb a hidroxamátcsoportéhoz képest. Tanulmányoztuk a ligandumok komplexképződését a két, eltérő tulajdonságú funkcionális csoport szempontjából érdekes fémionokkal, pH-potenciometria és UV – látható, ¹H-NMR, CD és ESR spektroszkópia segítségével. Legfontosabb megállapításaink a következők:

➤ Fe(III): valamennyi ligandummal a komplexképződés nagyon savas pH-n indult, nagy stabilitású monokomplex képződésével. Az eredményeink alapján a ligandumok csak a hidroxamátcsoponton keresztül koordinálódnak a fémionhoz, mono-, bisz- és triszkomplexeket képezve. A Z-védett származékoknál pH ~ 6-nál a képződő komplexek kis oldhatósága miatt csapadékkiválást tapasztaltunk, míg a szabad aminocsoportot tartalmazó ligandumokkal pH ~ 6 felett a fémion hidrolízise került előtérbe. Megállapítottuk, hogy a vizsgált peptidhidroxámsavak a Fe(III)-ionnak kevésbé jó komplexképző ligandumai, mint az egyszerű hidroxámsav-származékok (pl. aceto-hidroxámsav), amit feltehetően a Z-csoport nagy térkitöltése, illetve a protonált aminocsoport pozitív töltése okoz.

➤ Al(III): valamennyi dipeptid-hidroxámsavval különböző protonáltsági fokú mono-, illetve biszkomplexek képződtek. A ligandumok csak a hidroxamátcsoponton keresztül koordinálódtak a fémionhoz. Az eredmények alapján a peptidhidroxámsavak szintén kevésbé jó komplexképző ligandumai az Al(III)-ionnak, a fémion hidrolízisét nem tudták hatékonyan visszaszorítani.

➤ Zn(II): míg a Z-védett származékoknál kizárólag [O,O] koordináció valósult meg, csapadék képződésével, addig a szabad aminocsoportot tartalmazó ligandumok esetén azt találtuk, hogy [NH₂,CO] koordináció is megjelenik, de csak kötési izomerekben, az peptidvázban lévő amid-nitrogének deprotonálódása és koordinációja nem következett be. A ligandumok a lúgos pH-tartományban a fémion hidrolízisét hatékonyan nem tudták visszaszorítani.

➤ Cu(II): A Z-védett származékokkal kis oldékonyságú mono- és biszkomplexek képződtek, kizárólag [O,O] koordinációval. A szabad aminocsoportot tartalmazó ligandumok esetén a „borderline” Cu(II)-ionnal a komplexképződés [O,O] koordinációval indult. A primer peptidhidroxámsavak képesek voltak 1,5-szörös fémion felesleget is pH = 11-ig oldatban tartani, és polimer részecskék képződése mellett, bekövetkezett az amid-nitrogén(ek) és a hidroxamát-nitrogén fémionhoz történő koordinációja, öttagú csatolt kelátokat kialakítva. A primer dipeptid-származékokkal hárommagvú részecskék is képződtek, vegyes típusú koordinációval. A szekunder peptidhidroxámsavak fémion felesleget nem tudtak megkötni, és a rendszerekben többmagvú részecskék sem képződtek. Ezen származékokkal is bekövetkezett az amid-nitrogén fémion által indukált deprotonálódása és koordinációja, de mivel a hidroxamát-nitrogéneken lévő metilcsoport megakadályozta annak koordinálódását, így a komplexekben a hidroxamát-oxigén koordinációja valósult meg, hattagú kelát kialakulásával.

➤ Ni(II): a Z-védett származékokkal szintén csak [O,O] koordinációjú, kis oldékonyságú monokomplexek képződtek. A nemvédett primer dipeptid- és mindkét tripeptid-származékkal az amid-nitrogén(ek), illetve a primereknél a hidroxamát-nitrogén fémionhoz történő koordinációja bekövetkezett, diamágneses, síknégyszetes geometriájú komplexek képződésével. A szekunder dipeptid-származéknál az amid-nitrogén koordinációja csak pH ~ 9 felett, részben történt meg.

Az eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az N-terminálison blokkolt származékoknál valamennyi vizsgált fémionnal a ligandumok csak a hidroxamátsoporton keresztül koordinálódnak a fémionhoz, a peptidvázban lévő amid-nitrogén(ek) koordinációját egyik esetben sem tudtunk kimutatni. Tehát az aminos csoport, mint horgonycsoport, hiánya esetén a hidroxamátsoport nem elégséges a horgony donor szerepének betöltésére.

A hard tulajdonságú fémionokkal (Fe(III)- és Al(III)-ion) a szabad aminos csoportot tartalmazó ligandum csak a hidroxamátsoporton keresztül koordinálódik a fémionhoz. Az egyszerű hidroxámsavakkal ellentétben a peptidhidroxámsavak nem képesek lúgos pH-tartományban visszaszorítani a fémionok hidrolízisét. Azonban ezen ligandumok esetén mindenképpen előnyt jelent az egyszerű hidroxámsavakkal szemben az, hogy a komplexekben található peptidláncnak fontos szerepe lehet a fémion szerkezetbeli szállítása során a molekuláris felismerésben, a makromolekulákkal megvalósuló specifikus, másodrendű kölcsönhatások révén. A Zn(II)-ion esetén ugyan csak kötési izomerekben, de kimutatható az aminos csoport koordinációja is. A Cu(II)- és Ni(II)-ionnál a ligandum aminos csoportja ténylegesen képes betölteni a horgony donorcsoport szerepét, és részben vagy egészen bekövetkezik a koordinációs mód átrendeződése a hidroxamát-oxigénekről a peptidlánc nitrogénjeire. Azaz a ligandumok a peptidlánc révén ezen két fémionra nézve szelektív komplexképzőknek tekinthetők.

6. SUMMARY

Numerous compounds of vanadium in the oxidation states +4 and +5 (and more recently also +3) have already tested *in vitro* and *in vivo* and found to show insulin-mimetic activities. Vanadium compounds are active in type I diabetes (insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM) and also type II diabetes (non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM). The main advantage of these compounds, as compared to insulin, is in the possibility of oral administration. Complexes with VO(IV) and picolinic acid (pyridine-2-carboxylic acid) are proved to have insulin-like activity and demonstrated the ability of these compounds to normalise the serum glucose level.

We have carried out speciation studies on the VO(IV) complexes of **5-methyl-carboxy-picolinic acid** – a derivative of picolinic acid with the modification of the ligand in position 5, which allows a fine tuning of the transport properties – by pH potentiometry. In order to assess the stability of the complexes in the presence of competitive low molecular mass ligands present in the blood serum (**oxalate**, **citrate**, **lactate** and **phosphate**), mixed ligand complexes have also been studied. Binding modes of the complexes in solution were determined by EPR spectroscopy. The presence of the electron-withdrawing ester group in 5-methyl-carboxy-picolinic acid decreased significantly the basicity of both protonation sites, the pyridine-nitrogen and the carboxylate. The ligand, similar to picolinic acid, forms mono and bis complexes with different protonation degree with VO(IV) coordinating via the pyridine-nitrogen and the carboxylate and forming five-membered chelate(s). All the four serum bio-ligands are competitive binders for VO(IV). In the ternary systems stable mixed ligand complexes dominate in a wide pH range. In order to understand the fate of the VO(IV) picolinate complex after absorption and transport into the blood, the distribution of the metal ion among picolinate and the four serum ligands was calculated. The modelling calculations were performed at serum concentrations of the bioligands and at the concentration level of VO(IV) which still shows a marked insulin-mimetic effect. The results show that the picolinate ligands are partly or completely displaced from the coordination sphere of VO(IV) by citrate and phosphate in ternary complexes and by phosphate and lactate in binary complexes.

Stable, neutral, air-resistant, lipophilic but water-soluble V(III) complexes with low toxicity may also serve as insulin-enhanced *pro-drugs*, which would rapidly

oxidise *in vivo* to VO(IV) or V(V) at physiological pH. The difference in the coordination chemistry of V(III) and VO(IV) or V(V) may lead to fine-tuning of hydrophilic/hydrophobic balance of the potentially active complexes to be taken up in the body enhancing their transport via biological membranes. The number of solution equilibrium studies is very limited in the literature, because of the strong tendency of V(III) to get oxidized and its intensive hydrolysis even below pH = 2.0 in aqueous solution. First of all the technical details of the preparation and storage of V(III) stock solution have been worked out and then the hydrolysis of the metal ion under our experimental conditions has been studied. The V(III) binding capabilities of some [O,O] and [N,O] bio-molecules have been characterized in solution using combined pH potentiometric and UV–vis spectroscopic techniques. The results have shown a very weak interaction between V(III) and amino acids (**glycine, aspartic acid, penicillamine, histidine**), which was parallel with the hydrolysis of the metal ion. Although, the presence of the common coordinating side chains (e.g. imidazole-N of His) may improve the coordination capability of the ligand, we could not obtain reliable models and stability constants with these ligands because of the very complicated equilibrium systems. Picolinates (**picolinic acid (Pic), 6-methylpicolinic acid (MePic), pyridine-2,6-dicarboxylic acid (DiPic) and 4-hydroxypyridine-2,6-dicarboxylic acid (DiPic-OH)**) can form stable complexes with V(III) and hinder its hydrolysis strongly in the acidic pH range. In the Pic system the complexation started below pH = 2.0 and mono, bis and tris complexes with different protonation degree were determined. The complex formation was monitored by UV–vis spectroscopy and the spectra exhibit three bands at 375, 515 and 628 nm, which are characteristic of V(III) in an octahedral environment. With MePic the complex formation starts at higher pH, compared to Pic, and the hydrolysis of the metal ion also takes place due to the weaker metal binding capabilities of the ligand. The lack of tris complex might be due to the sterical hindrance of the methyl group. In the DiPic and DiPic-OH systems the complexation occurred below pH = 2.0, so the complex formation was also monitored and the stability constant for the first complex was determined by UV–vis spectroscopy. With DiPic the major complexes have 1:2 stoichiometry and one of the ligands binds in a tridentate manner, whereas the other binds in a bidentate manner. With DiPic-OH even at high ligand excess mono complexes remain the major species. The non-coordinating OH group of the ligand after deprotonation yields a very stable mono complex. The tridentate coordination to the metal ion decreased the electron density of the aromatic ring, making the OH

group significantly more acidic than that in the free ligand. The [O,O] donor ligands (**maltol**, **1,2-dimethyl-3-hydroxy-4-(1H)-pyridinone** and **tiron**) were found to form stable complexes with V(III). In all cases mono, bis and tris complexes were determined with high stability, and the stability order of the corresponding species followed the basicity of the donor atoms of the ligands. Comparing the V(III) binding strengths of the picolates and [O,O] donor ligands at close to physiological pH, the amount of the complexed metal ion was calculated in each system. The results have shown that the amount of the neutral complexes, which might cross membranes easier with passive transport, was considerable with Pic, maltol and pyridinone indicating them as the best carrier molecules.

Arginine (Arg) is an essential amino acid with a side chain guanidinium group, which is strongly basic and protonated in wide pH range. Although, a number of important roles of Arg-containing peptides in biological processes were published, the real function of the guanidinium group is still unknown. It is thought that the positively charged side chain of Arg has an effect on the stabilization of the peptide with weak non-covalent interaction. Because of the lack of data for understanding the properties of the guanidinium group on the complexation with a given metal ion, different peptide residues (**AlaArg**, **ArgAla**, **ArgSer**, **ArgArg**, **ArgArgArg**, **ArgArgArgArg**) with **Cu(II)** have been studied by pH potentiometry, UV-vis, EPR and CD spectroscopy. The results have shown that the deprotonation and coordination of the guanidinium group to the metal ion did not take place. The metal ion speciation of all the systems was similar to the corresponding glycine derivatives. In order to improve the weak ligand – ligand interaction in ternary systems, monodentate ligands (**1-methyluracil**, **uridine**, **phenylalanine-ethylester**, **tyrozine-methylester**) with a polar, negatively charged side chain have been used as B ligand. The formation of mixed ligand complexes was favoured and a little stability increase was observed. The complexation on the fragment (17–29) of rat amylin with Cu(II) has also been studied. The fragment, protected at N and C termini, is an Arg-containing oligopeptide, which has only the guanidinium group in the side chain for coordinating to the metal ion. The amide-nitrogens were found to take part in metal binding, the coordination sites of Cu(II) were occupied by the peptide backbone. The important role of guanidinium group as an anchor donor has been confirmed in the case of the lack of other anchor group.

Peptide hydroxamic acids can be considered to be derivatives of hydroxylamine and carboxylic acid of the corresponding peptide. It is known that peptide

hydroxamic acids are effective inhibitors of metalloenzymes, such as thermolysin, enkephalinase B, angiotensin converting enzyme, collagenases, and their anti-cancer properties were also found. In the active centre of these enzymes, transition metal ions can usually be found, and the basis of the inhibition is the direct interaction between the metal ions and the peptide hydroxamic acids. Consequently, systematic equilibrium studies on complexation between the ligand and the metal ion may give an insight into understanding of the inhibition. In the literature only a few results deal with metal ion – peptide hydroxamic acid systems. First of all, **twelve di- and tripeptide hydroxamic acids** with different non-coordinating side chains (AlaAla, AlaSer and AlaGlyGly) – primary and secondary derivatives containing protected and free N terminus – have been synthesized. Proton dissociation constants of the ligands and the stability constants of the complexes with Fe(III), Al(III), Zn(II), Cu(II) and Ni(II) were determined by pH potentiometry and spectrophotometry. For characterisation of the binding modes in the complexes UV–vis, EPR, CD and ¹H-NMR spectroscopic techniques have been applied. The protected ligands can release one proton from the hydroxamic acid group, while the non-protected derivatives have two deprotonation processes in the measurable pH range. In accordance with earlier results in the literature, the dissociation constants for the secondary peptide hydroxamic acids are smaller than those of the corresponding primary derivatives – because of the electron donating methyl group at the hydroxamate-nitrogen. With non-protected ligands the two deprotonation steps overlap considerably each other. Therefore the microscopic protonation processes were also explored from combined pH – ¹H-NMR titrations of the primary dipeptides. The data have shown that the ammonium group is more acidic than the hydroxamic acid group.

In the case of **Fe(III)** with the protected and non-protected ligands studied the complex formation started below pH = 2.0 yielding a mono complex with very high stability. The UV–vis spectra with typical λ_{max} values showed the formation of mono, bis and tris chelated hydroxamate complexes. Above pH = 6.0 the hydrolysis of the metal ion became significant with non-protected ligands yielding very slow processes, while precipitation was detected with protected ligands.

With **Al(III)** a narrow pH range could only be studied due to the precipitation above pH = 4.5–5.0. Mono complexes with the protected ligands, mono and bis complexes with the non-protected ligands with different protonation degree were found, most probably containing only hydroxamate chelate(s). The hydrolysis was

parallel with the complex formation and polymeric species cannot be ruled out either.

For the **Zn(II)** systems the complexation started above pH = 4.0 with all the ligands studied. With protected ligands the formation of mono complexes with precipitation was detected. With non-protected ligands mono and bis complexes with different protonation degree were found and above pH = 9.0 the hydrolysis of the metal ion occurred. In order to gain information about the structure of the complexes in solution combined pH – ¹H-NMR titrations of the Zn(II) – non-protected primary dipeptide systems were carried out. The chemical shifts of the signals for the protons have suggested that the ligands are capable to coordinate to Zn(II) either via the hydroxamate group or via the [NH₂,CO] chelating set. Although, linkage isomers can be formed the ligands were not able to bind more than one metal ion.

In the presence of **Cu(II)** the protected and non-protected ligands behaved differently. Mono and bis complexes with hydroxamate chelate(s) were formed with protected ligands. In the systems containing primary derivatives precipitation was occurred at pH as low as 3.6, therefore stability constants could not be determined. With non-protected ligands beside the amino-nitrogen, amide-nitrogen(s) have also been deprotonated and coordinated to the metal ion. In the case of primary derivatives the hydroxamate-nitrogen, while with secondary derivatives the hydroxamate-oxygen has also found in the coordination side of the metal ion. With primary ligands oligomeric species were detected in the systems too, when both of hydroxamate-nitrogen and hydroxamate-oxygen could be coordinated to different metal ions at the same time.

With **Ni(II)** the complex formation started above pH = 4.5 in the all systems. Only mono complexes parallel with precipitation were detected with the protected ligands, similarly to Zn(II). In the case of secondary dipeptide hydroxamic acids mono and bis, paramagnetic, octahedral complexes were found in a wide pH range. The partial coordination of the amide-nitrogen forming square planar complex was observed by UV–vis spectroscopy only at above pH ~ 9.5. With primary di- and tripeptide and secondary tripeptide hydroxamic acids the complex formation became slow and the almost colourless samples turned to yellow during the titration. This strongly suggested the formation of diamagnetic, square planar complexes. Similarly to Cu(II), the amino-nitrogen, amide-nitrogen(s) and hydroxamate-nitrogen – in the case of primary derivatives – or hydroxamate-oxygen – in the case of secondary derivative – have taken part in metal binding.

7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. E.L. Tolman, E. Barris, M. Burns, A. Pansini, R. Partridge, *Life Sci.*, **25** (1979) 1159.
2. C. Slobodnik, B.J. Hamstra, V.L. Pecoraro, in *Metal Sites in Proteins and Models Phosphatases, Lewis Acids and Vanadium*, ed. P.J. Sadler, Springer, Heidelberg, **89** (1997) 51.
3. B.R. Nechay, L.B. Nanninga, P.S.E. Nechay, R.L. Post, J.J. Grantham, I.G. Macara, L.F. Kubena, T.D. Phillips, F.H. Nielsen, *Fed. Proc.*, **45** (1986) 123.
4. C. Orvig, K.H. Thompson, M. Battel, J.H. McNeill, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 575.
5. H. Sakurai, A. Tsuji, in *Vanadium in the Environment*, ed. J.O. Nriagu, Wiley Interscience, New York, Part 2, **31** (1998) 297.
6. K.H. Thompson, C. Orvig, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (2000) 2885.
7. D.A. Brown, H. Bögge, R. Coogan, D. Doocey, T.J. Kemp, A. Müller, B. Neumann, *Inorg. Chem.*, **35** (1996) 1674.
8. N. Nishino, J.C. Powers, *Peptides*, **5** (1977) 236.
9. N. Nishino, J.C. Powers, *Biochem.*, **17** (1978) 2846.
10. Y. Inaoka, S. Takahashi, S. Sato, *J. Antibiot.*, **39** (1986) 1382.
11. S. Parvathy, I. Hussain, E.H. Karran, A.J. Turner, N.M. Hooper, *Biochem.*, **37** (1998) 1680.
12. C.A. Chang, V.C. Sekhar, B.S. Garg, F.S. Guziec, T.C. Russo, *Inorg. Chim. Acta*, **135** (1987) 11.
13. D.A. Brown, R. Mageswaran, *Inorg. Chim. Acta*, **161** (1989) 267.
14. E. Farkas, I. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1990) 749.
15. N.N. Greenwood, A. Earnshaw: *Az elemek kémiája*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, (1999) 1335.
16. D. Rehder, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 1.
17. S.G. Brand, C.J. Hawkins, A.T. Marshall, G.W. Nette, D.L. Parry, *Comp. Biochem. Physiol. B.*, **93** (1989) 425.
18. T. Ishii, I. Nakai, K. Okoshi, in *Metal ions in Biological systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 491.
19. K. Kustin, W.E. Robinson, R.B. Frankel, K. Spartialier, *J. Inorg. Biochem.*, **63** (1996) 223.
20. D. Rehder, S. Jantzen, in *Vanadium in the Environment*, ed. J.O. Nriagu, Wiley Interscience, New York, Part 1, **30** (1998) 251.
21. E. Bayer, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 407.
22. C.D. Garner, E.M. Armstrong, R.E. Berry, R.L. Beddoes, D. Collison, J.J.A. Cooney, S.N. Ertok, M. Helliwell, *J. Inorg. Biochem.*, **80** (2000) 17.
23. H. Vilter, D. Rehder, *Inorg. Chim. Acta*, **136** (1987) L7.
24. R. Wever, K. Kustin, *Adv. Inorg. Chem.*, **35** (1990) 81.
25. A. Messerschmidt, L. Prade, R. Wever, *Biol. Chem.*, **378** (1997) 309.
26. R. Renirie, W. Hemrika, R. Wever, *J. Biol. Chem.*, **275** (2000) 11650.

27. R.R. Eady, *Polyhedron*, **8** (1989) 1695.
28. F.H. Nielsen, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 543.
29. F.H. Nielsen, in *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, ed. W. Mertz, Academic Press, San Diego, **1** (1987) 275.
30. N.D. Chasteen, E.M. Lord, H.J. Thompson, in *Frontiers in Bioinorganic Chemistry*, ed. A.V. Xavier, VCH, Winheim (1986) 133.
31. I.G. Macara, K. Kustin, L.C. Cantley, *Biochem. Biophys. Acta*, **629** (1980) 95.
32. K. Kustin, D.L. Toppen, *Inorg. Chem.*, **12** (1973) 1404.
33. L.C. Cantley, J.H. Ferguson, K. Kustin, *J. Am. Chem. Soc.*, **100** (1978) 5210.
34. H. Sakurai, S. Shimomura, K. Ishizu, *Inorg. Chim. Acta*, **55** (1981) L67.
35. N.D. Chasteen, J.K. Grady, C.E. Holloway, *Inorg. Chem.*, **25** (1986) 2754.
36. W.R. Harris, S.B. Friedman, D. Silberman, *J. Inorg. Biochem.*, **20** (1984) 157.
37. K.H. Thompson, M. Battel, J.H. McNeill, in *Vanadium in the Environment*, ed. J.O. Nriagu, Wiley Interscience, New York, Part 2, **31** (1998) 21.
38. S.A. Dikanov, B.D. Liborion, K.H. Thompson, E. Vera, V.G. Yuen, J.H. McNeill, C. Orvig, *J. Am. Chem. Soc.*, **121** (1999) 11004.
39. J.H. McNeill, V.G. Yuen, H.R. Hoveyda, C. Orvig, *J. Med. Chem.*, **35** (1992) 1489.
40. Y. Sun, B.R. James, S.J. Rettig, C. Orvig, *Inorg. Chem.*, **35** (1996) 1667.
41. G.R. Hanson, Y. Sun, C. Orvig, *Inorg. Chem.*, **35** (1996) 6507.
42. M. Melchior, K.H. Thompson, J.M. Jong, S.J. Rettig, E. Shutter, V.G. Yuen, Y. Zhou, J.H. McNeill, C. Orvig, *Inorg. Chem.*, **38** (1999) 2288.
43. K.H. Thompson, J.H. McNeill, C. Orvig, *Chem. Rev.*, **99** (1999) 2561.
44. H. Sakurai, K. Fujii, H. Watanabe, H. Tamura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214** (1995) 1095.
45. D. Rehder, J. Costa Pessoa, C.F.G.C. Geraldes, M.C.A. Castro, T. Kabanos, T. Kiss, B. Meier, G. Micera, L. Pettersson, M. Rangel, A. Salifoglou, I. Turel, D. Wang, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **7** (2002) 384.
46. C. Djordjevic, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 595.
47. L.C. Cantley, L. Josephson, R. Warner, M. Yanagisawa, C. Lechene, G. Guidotti, *J. Biol. Chem.*, **252** (1977) 7421.
48. D. Rehder, H. Holst, R. Quaas, W. Hinrichs, U. Hahn, W. Saenger, *J. Inorg. Biochem.*, **37** (1989) 141.
49. Elődi Pál, *Biokémia*, Akadémia Kiadó, Budapest (1980)
50. L.S. Hermann, A. Melander, in *International Textbook of Diabetes Mellitus*, eds. M.M. Albertini, R.A. Defroso, H. Keen, P. Zimmet, John Wiley and Sons, Chichester (1993) 733.
51. R. Perfetti, K. Chamie, *J. Endocrin. Inv.*, **24** (2001) 274.
52. D.J. Clevette, W.O. Nelson, A. Nordin, C. Orvig, S. Sjöberg, *Inorg. Chem.*, **28** (1989) 2079.
53. H. Sakurai, K. Tsuchiya, M. Nukatsuka, J. Kawada, S. Ishikawa, H. Yoshida, M. Komatsu, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **8** (1990) 193.
54. H. Watanabe, M. Nakai, K. Komazawa, H. Sakurai, *J. Med. Chem.*, **37** (1994) 876.

55. H. Sakurai, H. Watanabe, H. Tamura, H. Yasui, R. Matsushita, J. Takada, *Inorg. Chim. Acta*, **283** (1998) 175.
56. S. Fujimoto, K. Fujii, H. Yasui, R. Matsushita, J. Takada, H. Sakurai, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **23** (1997) 113.
57. V.G. Yuen, P. Caravan, L. Gelmini, N. Glover, J.H. McNeill, I.A. Setyawati, Y. Zhou, C. Orvig, *J. Inorg. Biochem.*, **68** (1997) 109.
58. M. Melchior, S.J. Rettig, B.D. Liboiron, K.H. Thompson, V.G. Yuen, J.H. McNeill, C. Orvig, *Inorg. Chem.*, **40** (2001) 4686.
59. Y. Shechter, I. Goldwasser, M. Mironchik, M. Fridkin, D. Gefel, *Coord. Chem. Rev.*, **237** (2003) 3.
60. M.C. Cam, R.W. Brownsey, J.H. McNeill, *Can. J. Phys. Pharm.*, **78** (2000) 829.
61. R.P. Henry, P.C.H. Mitchell, J.E. Prue, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1973) 1156.
62. A. Komura, M. Hayasi, H. Imanaga, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50** (1977) 2927.
63. G. Micera, D. Sanna, in *Vanadium in the Environment*, ed. J.O. Nriagu, Wiley Interscience, New York, Part 1, **30** (1998) 131.
64. G.R. Hanson, Yan Sun, C. Orvig, *Inorg. Chem.*, **35** (1996) 6507.
65. P.M. Ehde, I. Andersson, L. Petterson, *Acta Chem. Scand.*, **43** (1989) 136.
66. M. Jezowska-Bojczuk, H. Kozłowski, A. Zubor, T. Kiss, M. Branca, G. Micera, A. Dessi, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1990) 2903.
67. P. Buglyó, T. Kiss, *J. Coord. Chem.*, **22** (1991) 259.
68. P. Buglyó, A. Dessi, T. Kiss, G. Micera, D. Sanna, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1993) 2057.
69. E. Alberico, P. Buglyó, T. Kiss, G. Micera, D. Sanna, *J. Chem. Res.*, (1994) 42.
70. T. Kiss, P. Buglyó, D. Sanna, G. Micera, P. Decock, D. Dewaele, *Inorg. Chim. Acta*, **239** (1995) 145.
71. P. Buglyó, T. Kiss, E. Alberico, G. Micera, D. Dewaele, *J. Coord. Chem.*, **36** (1995) 105.
72. P. Buglyó, N. Culeddu, T. Kiss, G. Micera, D. Sanna, *J. Inorg. Biochem.*, **60** (1995) 45.
73. E. Alberico, D. Dewaele, T. Kiss, G. Micera, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1995) 425.
74. D. Sanna, G. Micera, P. Buglyó, T. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1996) 87.
75. J. Costa Pessoa, L.F. Vilas Boas, R.D. Gillard, *Polyhedron*, **8** (1989) 1173.
76. J. Costa Pessoa, S.M. Luz, R.D. Gillard, *Polyhedron*, **14** (1995) 1495.
77. J. Costa Pessoa, L.F. Vilas Boas, R.D. Gillard, *Polyhedron*, **9** (1990) 2101.
78. T. Kiss, P. Buglyó, G. Micera, A. Dessi, D. Sanna, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1993) 1849.
79. L. Pajdowski, *Roczniki Chemii*, **37** (1963) 1351.
80. L. Pajdowski, B. Jezowska-Trzebiatowska, *J. Nucl. Inorg. Chem.*, **28** (1966) 433.
81. R. Meier, M. Boddin, S. Mitzenheim, K. Kanamori, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel, A. Sigel, Dekker, New York, **31** (1995) 45.
82. H. Maeda, K. Kanamori, H. Michibata, T. Konno, K. Okamoto, J. Hidaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66** (1993) 790.
83. K. Kanamori, M. Teraoka, H. Maeda, K. Okamoto, *Chem. Lett.*, (1993) 1731.
84. R.S. Czernuszewicz, Q. Yan, M.R. Bond, C.J. Carrano, *Inorg. Chem.*, **33** (1994) 6116.

85. M. Chatterjee, S. Ghosh, A.K. Nandi, *Polyhedron*, **16** (1997) 2917.
86. K. Bukietynska, Z. Karwecka, H. Podsiadly, *Polyhedron*, **16** (1997) 2613.
87. D. Kovala-Demertzi, M. Demertzis, J.M. Tsangaris, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **5** (1988) 793.
88. M.K. Kim, A.E. Martell, *Biochemistry*, **3** (1964) 1169.
89. M.K. Kim, A.E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, **88** (1966) 914.
90. T. Kiss, I. Sóvágó, A. Gergely, *J. Pure Appl. Chem.*, **63** (1991) 597.
91. R.B. Martin, W.C. Hutton, *J. Am. Chem. Soc.*, **95** (1973) 4752.
92. R.B. Martin, *Federation Proceedings*, **20** (1961) 54.
93. H. Sigel, R.B. Martin, *Chem. Rev.*, **82** (1982) 385.
94. S.H. Laurie, in *Comprehensive Coordination Chemistry*, ed. G. Wilkinson, Pergamon Press, Oxford, **2** (1987) 739.
95. I. Sóvágó, in *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, Chichester, (1990) 135.
96. L.D. Pettit, J.E. Gregor, H. Kozlowski, in *Perspectives on Bioinorganic Chemistry*, eds. R.W. Hay, J.R. Dilworth, K.B. Nolan, Jani Press, London, **1** (1991) 1.
97. L.D. Pettit, R.A. Robbins, in *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids*, ed. G. Berthon, Dekker, New York, **1** (1995) 636.
98. E. Farkas, I. Sóvágó, in *Amino Acids, Peptides and Proteins*, ed. J.S. Davies, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **29** (1998) 324.
99. E. Farkas, I. Sóvágó, in *Amino Acids, Peptides and Proteins*, ed. J.S. Davies, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **31** (2000) 336.
100. E. Farkas, I. Sóvágó, in *Amino Acids, Peptides and Proteins*, eds. G.C. Barrett, J.S. Davies, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **33** (2002) 295.
101. M.R. Udupa, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta*, **31** (1978) 251.
102. I. Sóvágó, B. Harman, A. Gergely, B. Radomska, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1986) 235.
103. J. Costa Pessoa, S.M. Luz, R. Duarte, J.J.G. Moura, R.D. Gillard, *Polyhedron*, **12** (1993) 2857.
104. J. Costa Pessoa, T. Gajda, R.D. Gillard, T. Kiss, S.M. Luz, J.J.G. Moura, I. Tomaz, J.P. Telo, I. Török, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1998) 3587.
105. T. Kiss, K. Petrohán, P. Buglyó, D. Sanna, G. Micera, J. Costa Pessoa, C. Madeira, *Inorg. Chem.*, **37** (1998) 6389.
106. T. Jakusch, P. Buglyó, A.I. Tomaz, J. Costa Pessoa, T. Kiss, *Inorg. Chim. Acta*, **339** (2002) 119.
107. G. Liang, R. Tribolet, H. Sigel, *Inorg. Chim. Acta*, **115** (1989) 273.
108. B. Radomska, T. Kiss, *J. Coord. Chem.*, **21** (1990) 81.
109. L.D. Pettit, S. Pyburn, B. Decock-Le Reverend, A. Lebkiri, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1989) 235.
110. H. Kozlowski, *Inorg. Chim. Acta*, **31** (1978) 135.
111. T. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1987) 1263.
112. H. Kozlowski, W. Bal, M. Dyba, T. Kowalik-Jankowska, *Coord. Chem. Rev.*, **184** (1999) 319.
113. T. Kiss, in *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, Chichester, (1990) 56.

114. S.H. Laurie, in *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids*, ed. G. Berthon, Dekker, New York, **1** (1995) 603.
115. A. Gergely, E. Farkas, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1982) 381.
116. J.-F. Galey, B. Decock-le Reverend, A. Lebkiri, L.D. Pettit, S.I. Pyburn, H. Kozlowski, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1991) 2281.
117. I. Sóvágó, E. Farkas, A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1982) 2159.
118. I. Sóvágó, T. Kiss, K. Várnagy, B. Decock-Le Reverend, *Polyhedron*, **7** (1988) 1089.
119. K. Cherifi, B. Decock-Le Reverend, C. Loucheux, K. Várnagy, T. Kiss, I. Sóvágó, *J. Inorg. Biochem.*, **38** (1990) 69.
120. M.A. Zoroddu, T. Kowalik-Jankowska, H. Kozlowski, K. Salnikow, M. Costa, *J. Inorg. Biochem.*, **85** (2001) 47.
121. W.J. Puspita, A. Odani, O. Yamauchi, *J. Inorg. Biochem.*, **73** (1999) 203.
122. H. Kozlowski, B. Radomska, G. Kupryszewski, B. Lammek, C. Livera, L.D. Pettit, S. Pyburn, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1989) 173.
123. W. Bal, H. Kozlowski, B. Lammek, L.D. Pettit, K. Rolka, *J. Inorg. Biochem.*, **45** (1992) 193.
124. W. Bal, H. Kozlowski, G. Kupryszewski, Z. Mackiewicz, L.D. Pettit, R. Robbins, *J. Inorg. Biochem.*, **52** (1993) 79.
125. W. Bal, M. Dyba, F. Kasprzykowski, H. Kozlowski, R. Latajka, L. Lankiewicz, Z. Mackiewicz, L.D. Pettit, *Inorg. Chim. Acta*, **283** (1998) 1.
126. E. Frieden, *J. Chem. Educ.*, **52** (1975) 754.
127. J.B.O. Mitchell, J.M. Thornton, J. Singh, S.L. Price, *J. Mol. Biol.*, **226** (1992) 251.
128. N.P. Pavletich, C.O. Pabo, *Science*, **261** (1993) 1701.
129. P.D. Kwong, R. Wyatt, J. Robinson, R.W. Sweet, J. Sodroski, W.A. Hendrickson, *Nature*, **393** (1998) 648.
130. J.A. Tainer, E.D. Getzoff, J.S. Richardson, D.C. Richardson, *Nature*, **306** (1983) 284.
131. A. Lorenzo, B. Razzaboni, G.C. Weir, B.A. Yankner, *Nature*, **368** (1994) 756.
132. K.N. Raymond, G. Müller, B.F. Matzanke, in *Topics in Current Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin **123** (1984)
133. A.-M. Albrecht-Gary, A.L. Crumbliss, in *Metal Ions in Biological Systems*, eds. H. Sigel and A. Sigel, Dekker, New York, **35** (1998)
134. P.M. May, D.R. Williams, P.W. Linder, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. H. Sigel, Dekker, New York, **7** (1978)
135. D.A. Brown, M.V. Chidabaram, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. H. Sigel, Dekker, New York, **14** (1982)
136. T.W. Failes, T.W. Hambley, *J. Inorg. Biochem.*, **74** (1999) 125.
137. 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.
138. 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.
139. T. Yatabe, Y. Kawai, T. Oku, H. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **46** (1998) 966.
140. A.L. Crumbliss, in *Handbook of Microbial Ion Chelates*, ed. G. Winkelmann, CRC Press, Boca Raton FL. (1991)

141. S. Desroches, F. Biron, G. Berthon, *J. Inorg. Biochem.*, **75** (1999) 27.
142. A.H. Blatt, in *Organic Synthesis Collection*, Wiley, New York, **2** (1943) 67.
143. B. Kurzak, H. Kozłowski, E. Farkas, *Coord. Chem. Rev.*, **114** (1992) 169.
144. E. Farkas, E. Kozma, M. Pethő, K.M. Herlihy, G. Micera, *Polyhedron*, **17** (1998) 3331.
145. E. Farkas, É.A. Enyedy, H. Csóka, *J. Inorg. Biochem.*, **79** (2000) 205.
146. E. Farkas, T. Kiss, B. Kurzak, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1990) 1255.
147. B. Kurzak, H. Kozłowski, P. Decock, *J. Inorg. Biochem.*, **41** (1991) 71.
148. E. Farkas, E. Kozma, T. Kiss, I. Tóth, B. Kurzak, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1995) 477.
149. E. Farkas, J. Szőke, T. Kiss, H. Kozłowski, W. Bal, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1989) 2247.
150. J.J. Bodwin, A.D. Cutland, R.G. Malkani, V.L. Pecoraro, *Coord. Chem. Rev.*, **216** (2001) 489.
151. W.L. Smith, K.N. Raymond, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **41** (1979) 1431.
152. P. Buglyó, N. Pótári, *Polyhedron*, **24** (2005) 837.
153. G. Gran, *Acta. Chem. Scand.*, **4** (1950) 559.
154. D.D. Perrin, W.L.F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, Pergamon, Oxford (1988)
155. Erdei L., *A kémiai analízis súlyszerinti módszerei*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1960)
156. I. Fábán, I. Nagypál, *Inorg. Chim. Acta*, **61** (1982) 109.
157. H.M. Irving, M.G. Miles, L.D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **38** (1967) 479.
158. S.C. Furman, C.S. Garner, *J. Am. Chem. Soc.*, **72** (1950) 1785.
159. D.T. Richens, *The Chemistry of Aqua Ions*, John Wiley & Sons, Chichester, England (1997)
160. G.H. Khoe, P.L. Brown, R.N. Sylva, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1986) 1901.
161. L.O. Öhman, W. Forschling, *Acta Chem. Scand. Ser. A*, **35** (1981) 795.
162. L. Zékány, I. Nagypál, in *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, ed. D. Leggett, Plenum Press, New York, (1985) 291.
163. H.M. Irving, M.G. Miles, L.D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **38** (1967) 475.
164. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1985) 1195.
165. G. Eriksson, *Anal. Chim. Acta*, **112** (1979) 375.
166. Császár J., Bán M., *Optikai színeképek, ligandumtér-elmélet, komplexszerkezet*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1972)
167. E. Prenesti, P.G. Daniele, M. Prencipe, G. Ostacoli, *Polyhedron*, **18** (1999) 3233.
168. H. Gampp, H. Sigel, A.D. Zuberbüchler, *Inorg. Chem.*, **21** (1982) 1190.
169. E. Farkas, É.A. Enyedy, H. Csóka, *Polyhedron*, **18** (2000) 2391.
170. N.N. Greenwood, A. Earnshaw: *Az elemek kémiája*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, (1999) 1360.
171. Burger K., *Modern koordinációs kémiai vizsgáló módszerek*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1967) 249.
172. R.B. Martin, in *Metal Ions in Biological Systems*, ed. H. Sigel, Dekker, New York, **1** (1974) 129.

173. H. Kozłowski, G. Micera, in *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids*, ed. G. Berthon, Dekker, New York, **1** (1995) 566.
174. D. Kivelson, *J. Chem. Phys.*, **27** (1957) 1087.
175. B.A. Goodman, J.B. Raynor, *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.*, **13** (1970) 135.
176. T. Szabó-Plánka, N. Nagy, A. Rockenbauer, L. Korecz, *Polyhedron*, **19** (2000) 2049.
177. S. Brunci, F. Cariati, P.G. Daniele, E. Prenesti, *Spectrochim. Acta*, **56A** (2000) 815.
178. N.D. Chasteen, *Biological Magnetic Resonance*, eds. L.J. Berliner, J. Reuben, Plenum Press, New York, **3** (1981) 53.
179. K. Ősz, G. Lente, C. Kállay, *J. Phys. Chem.*, **109** (2005) 1039.
180. D.J. Harvey, *Mass Spectrometry Reviews*, **18** (1999) 349.
181. D. Masselon, B. Salih, R. Zenobi, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **10** (1999) 19.
182. J.M. Miller, G.L. Wilson, in *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, eds. H.J. Emeléns, A.G. Sharpe, Academic Press Inc., London, **18** (1976)
183. E. Kiss, E. Garribba, G. Micera, T. Kiss, H. Sakurai, *J. Inorg. Biochem.*, **78** (2000) 97.
184. P. Buglyó, E. Kiss, I. Fábián, T. Kiss, D. Sanna, E. Garribba, G. Micera, *Inorg. Chim. Acta*, **306** (2000) 174.
185. W. R. Harris, *Clin. Chem.*, **38** (1992) 9.
186. A.S. Tracey, J.S. Jaswal, S.J. Angus-Dunne, *Inorg. Chem.*, **34** (1995) 5680.
187. T. Jakusch, W. Jin, L. Yang, T. Kiss, D.C. Crans, *J. Inorg. Biochem.*, **95** (2003) 1.
188. G. Anderegg, *Helv. Chim. Acta*, **46** (1963) 1011.
189. A. Gergely, I. Nagypál, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1977) 1104.
190. I. Sóvágó, D. Sanna, A. Dessi, K. Várnagy, G. Micera *J. Inorg. Biochem.*, **63** (1996) 99.
191. I. Sóvágó, A. Kiss, E. Farkas, D. Sanna, P. Marras, G. Micera, *J. Inorg. Biochem.*, **65** (1997) 103.
192. E. Farkas, É.A. Enyedy, G. Micera, E. Garribba, *Polyhedron*, **19** (2000) 1727.
193. Cs.G. Ágoston, Zs. Miskolczy, Z. Nagy, I. Sóvágó, *Polyhedron*, **22** (2003) 2607.

8. FÜGGELÉK**I. Az értekezés anyagához kapcsolódó közlemények:**

1. J. Gätjens, B. Meier, T. Kiss, E.M. Nagy, P. Buglyó, H. Sakurai, K. Kawabe and D. Rehder
A New Family of Insulin-Mimetic Vanadium Complexes Derived from 5-Carboalkoxy-picolinates
Chem. Eur. J., **9/20** (2003) 4924–4935.
2. P. Buglyó, E.M. Nagy and I. Sóvágó
V(III) Binding Strengths of Small Biomolecules
Pure and Appl. Chem., **77** (2005) 1583–1594.
3. P. Buglyó, D.C. Crans, E.M. Nagy, R.L. Lindo, L. Yang, J.J. Smee, L.-H. Chi, M.E. Godzala III and G.R. Willsky
Aqueous Chemistry of the Vanadium^{III} (V^{III}) and the V^{III} – Dipicolinate Systems and a Comparison of the Effect of Three Oxidation States of Vanadium Compounds on Diabetic Hyperglycemia in Rats
Inorg. Chem., **44** (2005) 5416–5427.
4. P. Buglyó, E.M. Nagy, E. Farkas, I. Sóvágó, D. Sanna and G. Micera
Metal Complexes of Primary Hydroxamic Acid Derivatives of Common Dipeptides in Aqueous Solution
J. Inorg. Biochem., (közlésre beküldve)
5. P. Buglyó, E.M. Nagy, Á. Seprényi, E. Farkas, D. Sanna and G. Micera
Metal Ion Binding Capabilities of Secondary Hydroxamic Acid Derivatives of Simple Dipeptides in Aqueous Solution: the Effect of the Methyl Substituent at the Hydroxamate Nitrogen
(közlésre előkészítve)
6. E.M. Nagy, D. Sanna and I. Sóvágó
Co(II) Complexes of Oligopeptides Containing Arginyl Residues
(előkészületben)
7. P. Buglyó, E.M. Nagy, Á. Seprényi, E. Farkas, D. Sanna and G. Micera
Metal Ion Binding Capabilities of Simple Tripeptide Hydroxamic Acids
(előkészületben)

II. Az értekezés anyagához kapcsolódó előadások, poszterek:

12. E.M. Nagy, P. Buglyó, E. Farkas, I. Sóvágó and D. Sanna (poszter)
Fe³⁺, Al³⁺, Ni²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ complexation by dipeptide hydroxamic acids
10th International Symposium on Inorganic Biochemistry
2005. szeptember 20 – 25., Szklarska Poreba, Lengyelország
11. E.M. Nagy, P. Buglyó, E. Farkas, I. Sóvágó and D. Sanna (poszter)
Metal binding strengths of peptide hydroxamic acids
29th International Conference on Solution Chemistry
2005. augusztus 21 – 25., Portorož, Szlovénia
10. P. Buglyó, E.M. Nagy, E. Farkas and I. Sóvágó (előadás)
Metal ion binding capability of peptide hydroxamic acids
20th International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry
2005. június 5 – 10., Smolenice, Szlovákia
9. Buglyó P., Nagy E.M., Seprényi Á., Farkas E., Sóvágó I. és D. Sanna (előadás)
Egyszerű dipeptidek hidroxámsav származékainak fémionmegkötő tulajdonságai
XL. Komplexkémiái Kollokvium
2005. május 18 – 20., Dobogókő
8. Nagy E.M., Buglyó P. és Sóvágó I. (előadás)
Kompleképződési egyensúlyok a vanádium(III) és [O,O] illetve [N,O] donorcsoportot tartalmazó biomolekulák között
X. Nemzetközi Vegyészkonferencia
2004. november 12 – 14., Kolozsvár, Románia
7. P. Buglyó and E.M. Nagy (előadás)
Interaction of vanadium(III) with small molecules of potential biological importance
4th International Symposium on Chemistry and Biological Chemistry of Vanadium
2004. szeptember 3 – 5., Szeged
6. Nagy E.M., Buglyó P. és Sóvágó I. (előadás)
A vanádium(III) komplexképző sajátosságai biológiailag fontos kismolekulákkal
XXVI. Kémiai Előadói Napok
2003. október 27 – 29., Szeged

5. P. Buglyó, E.M. Nagy and I. Sóvágó (előadás)
Interaction between vanadium(III) and small biomolecules
9th International Symposium on Inorganic Biochemistry
2003. szeptember 4 – 7., Szklarska Poreba, Lengyelország
4. E.M. Nagy, P. Buglyó and I. Sóvágó (poszter)
Vanadium(III) complexes of (O,O) or (N,O) donor bioligands
9th International Symposium on Inorganic Biochemistry
2003. szeptember 4 – 7., Szklarska Poreba, Lengyelország
3. E. M. Nagy, P. Buglyó and I. Sóvágó (poszter)
Speciation studies on vanadium(III) – (O,O) or (N,O) donor ligand systems
28th International Conference on Solution Chemistry
2003. augusztus 23 – 28., Debrecen
2. P. Buglyó and E.M. Nagy (poszter)
Interaction between vanadium(III) and pyridinecarboxilates
EUROBIC-6
2002. július 29 – augusztus 3., Lund, Svédország
1. Buglyó P. és Nagy E.M. (előadás)
Piridin-karbonsavak kölcsönhatása V(III)-ionnal
XXXVII. Komplexkémiai Kollokvium
2002. május 29 – 31., Mátraháza