



**OLDALLÁNCBAN KARBOXIL- ÉS IMIDAZOLIL-
CSOPORTOT TARTALMAZÓ AMINOSAV- ÉS
PEPTIDSZÁRMAZÉKOK ÁTMENETIFÉM-KOMPLEXEI**

Doktori (PhD) értekezés

Kállay Csilla

Debreceni Egyetem
Debrecen, 2005

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TTK Kémia Doktori Iskola Koordinációs kémia programja keretében készítettem 2002-2005 között és ezúton benyújtom a Debreceni Egyetem TTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2005. november 22.

Kállay Csilla

Tanúsítom, hogy Kállay Csilla doktorjelölt 2002-2005 között a fent megnevezett doktori iskola Koordinációs kémia programja keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglaltak a jelölt önálló munkáján alapulnak, az eredményekhez önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2005. november 22.

Dr. Várnagy Katalin
egyetemi docens

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1. A vizsgált fémionok biológiai jelentősége.....	4
2.2. A vizsgált fémionok koordinációs kémiája.....	6
2.3. A peptidek sav-bázis tulajdonságai és komplexkémiái viselkedésük	9
2.3.1. Nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó peptidek	10
Réz(II)komplexek.....	11
Nikkel(II)komplexek	12
Cink(II)komplexek	13
2.3.2. Oldalláncban karboxilátsoportot tartalmazó peptidek.....	14
2.3.3. A peptidváz koordinációjának megváltozása.....	17
2.3.4. A bisz(imidazol-2-il)-származékok komplexkémiái viselkedése	19
2.4. Szuperoxid-diszmutáz (SOD) enzimek és lehetséges modelljeik.....	23
3. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK	28
3.1. Felhasznált vegyszerek, vizsgált ligandumok	28
3.2. Peptidszintézis.....	30
3.3. pH-potenciometria	33
3.4. UV-látható spektrofotometria	35
Réz(II)komplexek	36
Nikkel(II)komplexek	37
3.5. Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia	38
3.6. ESR spektroszkópia	40
3.7. ¹ H-NMR spektroszkópia	41
4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	42
4.1. Aszparaginsav- és glutaminsav-tartalmú peptidek	42
4.1.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai	42
4.1.2. A ligandumok réz(II)komplexei	42
4.1.2.1. pH-potenciometria	42
4.1.2.2. UV-látható spektrofotometria	49
4.1.2.3. CD spektroszkópia.....	50
4.1.2.4. ESR spektroszkópia	53
4.1.3. A ligandumok nikkell(II)komplexei	57
4.2. ε-lizinkötést tartalmazó vegyületek	61
4.2.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai	61
4.2.2. Az Asp-ε-Lys átmenetifém-komplexei.....	62
4.2.2.1. Az Asp-ε-Lys réz(II)komplexei.....	63
4.2.2.2. Az Asp-ε-Lys nikkell(II)- és cink(II)komplexei.....	67
4.2.3. A Gly-Lys(Gly) átmenetifém-komplexei	69

4.2.3.1. A Gly-Lys(Gly) réz(II)komplexei	70
4.2.3.2. A Gly-Lys(Gly) nikkel(II)- és cink(II)komplexei.....	74
4.3. Bisz(imidazol-2-il)-metil-csoportot tartalmazó aminosavszármazékok	77
4.3.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai	77
4.3.1.1. A ligandumok deprotonálódási makrofolyamatai.....	77
4.3.1.2. Az α - és γ -Glu-BIMA deprotonálódási mikrofolyamatainak összehasonlítása	79
4.3.2. Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA átmenetifém-komplexei	83
4.3.2.1. Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA réz(II)komplexei	83
4.3.2.2. Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA nikkel(II)komplexei	90
4.3.2.3. Az α -Glu-BIMA cink(II)komplexei	93
4.3.3. A γ -Glu-BIMA átmenetifém-komplexei.....	93
4.3.3.1. A γ -Glu-BIMA réz(II)komplexei.....	94
4.3.3.2. A γ -Glu-BIMA nikkel(II)komplexei.....	96
4.3.4. A β -Ala-BIMA átmenetifém-komplexei	97
4.3.4.1. A β -Ala-BIMA réz(II)komplexei	98
4.3.4.2. A β -Ala-BIMA nikkel(II)komplexei	100
4.3.4.3. A β -Ala-BIMA cink(II)komplexei	100
4.4. A Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumát modellező peptidek	101
4.4.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai	101
4.4.2. A három hisztidint tartalmazó peptidek réz(II)komplexei	103
4.4.3. Az Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH ₂ réz(II)komplexei	107
4.4.4. Az Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH ₂ réz(II)komplexei	108
5. ÖSSZEFOGLALÁS	110
6. SUMMARY	112
7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK	117
8. FÜGGELÉK	123

1. BEVEZETÉS

Régóta ismert, hogy bizonyos fémek létfontosságúak az élő szervezet számára. Szerepet játszanak a szerves molekulák szintézisében, szállításában, illetve biológiai rendszerek sav-bázis- és redoxifolyamatainak katalizálásában. Más elemek már rendkívül kis koncentrációban is komoly veszélyt jelentenek valamennyi szervezet számára. Napjainkra az is egyértelművé vált, hogy a szerves anyagok közül a fehérjék azok, amelyek a fémionok megkötésében meghatározó szerepet játszanak. A létfontosságú elemek közül a réz és a cink szinte kizárólag fehérjékhez kötve található metalloenzimek vagy egyéb funkciókat betöltő metalloproteinek formájában. Ugyanakkor a palládium és más platinafémek vagy a kadmium és a higany toxicitása is ezen fémionok és a fehérjék között megvalósuló kölcsönhatásokkal értelmezhető.

Ezeknek a folyamatoknak a vizsgálatok a bioszervetlen kémikusok fő kérdése, hogy hogyan kötődik a fémion az egyes enzimhez, proteinhez, és hogyan befolyásolja annak működését. Ennek megértéséhez egyszerűbb modellvegyületek tanulmányozása szükséges. A különböző fémtartalmú enzimek, proteinek és egyéb peptidláncot tartalmazó vegyületek legegyszerűbb modelljei azok a rendszerek, amelyek központi ionként valamilyen átmenetifém-iont, ligandumként aminosavat, peptidet vagy azok származékát tartalmazzák. Ezért a biológiai kutatásokkal párhuzamosan több évtizede fokozott érdeklődés kíséri ezen rendszerek tanulmányozását. A Debreceni Egyetem Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában az ilyen jellegű kutatások több évtizedes múltra tekintenek vissza. A kezdeti időszakban ez mindenekelőtt a fémionok aminosavakkal alkotott komplexeinek leírását jelentette, majd a kisebb tagszámú peptidek és más biológiailag fontos ligandumok kerültek az érdeklődés középpontjába.

A metalloproteinekben a fémionok megkötésére leggyakrabban a peptidlánc oldalláncbéli donorcsoportjai szolgálnak. Ezek közül a leggyakoribb kötőhelyeket a hisztidin imidazolgyűrűi, a cisztein tiolkénatomja, az aszparaginsav és a glutaminsav karboxiláttoxigénje valamint a metionin tioéterkén-donoratomja jelentik. Ezért kutatócsoportunkban az érdeklődés ezen aminosavakat tartalmazó peptidek, peptidszármazékok felé fordult. Ezen donorcsoportok közül doktori munkám során a hisztidin imidazolnitrogénjének és az aszparaginsav, valamint a glutaminsav karboxilátcsoportjának komplexképződésre gyakorolt hatását tanulmányoztuk.

Az irodalomban már nagyrészt ismert, hogy ezen aminosavak helyzete hogyan befolyásolja a komplexképződést. Ugyanakkor a több oldalláncbéli karboxilátcsoport jelenléte jelentősen megváltoztatja a ligandum, és így a képződő komplexek töltését is. Munkánk során több aszparaginsavat és glutaminsavat tartalmazó peptidek réz(II)- és nikkell(II)ionokkal való komplexképzését vizsgálva

arra kerestük a választ, hogy az aszparaginsav, illetve glutaminsav láncbéli helyzete mellett *hogyan hat a komplexképződésre a negatív töltés növekedése*.

Az aszparaginsav és a glutaminsav oldalláncbéli karboxilátcsoportja nem csak fémmegkötőhelyként szerepelhet, hanem a peptidkötés kialakításában is részt vehet. Ez a peptidváz módosulását eredményezi. Hasonló tulajdonsággal rendelkezik a lizin, amely oldalláncbéli aminocsoportjával is létesíthet peptidkötést. Ez valósul meg az általunk vizsgált aszpartil- ϵ -lizin (Asp- ϵ -Lys) dipeptidben. Arra is lehetőség van, hogy a lizin mindkét aminocsoportja részt vegyen a peptidkötés kialakításában. A legegyszerűbb ilyen tripeptid a glicil-lizin-glicin (Gly-Lys(Gly)). E két szokatlan szerkezetű peptid réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)ionokkal való komplexképzését tanulmányoztuk. Azt vizsgáltuk, hogy az egyszerű di- és tripeptidek komplexképző sajátságaihoz képest *milyen különbségeket okoz a peptidváz módosulása*.

A metalloenzimek másik fontos kötődési helye a hisztidin imidazol-oldalláncbéli nitrogénje. Ilyen kötődés van például a szénsavanhidrázban, ahol három imidazolgyűrűhöz,¹ vagy a karboxipeptidázban, ahol két imidazolgyűrűhöz és egy karboxilátcsoporthoz kapcsolódik cink(II)ion.² A kék-rézproteinekben két imidazolnitrogénhez és egy cisztein-, valamint egy metionin-kénatomhoz kötődik réz(II)ion.³ Ezen enzimek aktív centrumában a peptidláncok háromdimenziós szerkezete az imidazolgyűrűket olyan közeli helyzetbe hozza, hogy ugyanahhoz a fémionhoz tudnak koordinálódni. Így ezeknek az enzimeknek jó modelljei lehetnek azok az egyszerű bisz(imidazol-2-il)-származékok, amelyekben a két imidazolgyűrűt alifás szénlánc köti össze.^{4,5} A korábbi vizsgálatok⁶ azt mutatták, hogy ezen enzimek aktív centrumának modellvegyületeiben a két imidazolilcsoport között az összekötő alifás rész lehet egy hosszú, legalább öt szénatomból álló szénlánc (mint ahogy az enzim proteinjében is lineárisan távol esnek egymástól a koordinálódó hisztidil-oldalláncok) vagy csak egyetlen CH₂-egység. Ez utóbbi esetben lehetőség van arra, hogy a fémionnal stabilis, hattagú kelátgyűrű alakuljon ki.

Ugyanakkor, ha valamely metalloenzim szelektív gátlását szeretnénk elérni, akkor a fémiont jól koordináló bisz(imidazol-2-il)-metil-csoportoz olyan vegyületrészt kapcsolunk, amely modellezi az enzim által hasítható szubsztrátot, vagy annak hasadó kötése körüli környezetét. Ezen elképzelés alapján próbálták kifejleszteni az emlős kollagenáz enzim egy, a Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly kollagén szekvenciát hasító, aktív centrumában cink(II)ionot tartalmazó metalloenzim szelektív inhibitorát.^{4,5,7}

A bisz(imidazol-2-il)-metil-csoportot tartalmazó vegyületek vizsgálata kb. 15 éve kezdődött el. Először a legegyszerűbb vegyületek, majd a védett aminos csoportot tartalmazó tripeptidszármazékok komplexképzését tanulmányozták. Ezt követően szisztematikusan vizsgálták, hogyan befolyásolja a kelátképző csoport

jelenléte az aminosavak, illetve a peptidváz komplexképző tulajdonságait. A szabad aminosavszármazék, a glicil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (Gly-BIMA), majd az oldalláncban aromás gyűrűt tartalmazó fenil-alanil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (Phe-BIMA) és az erősen koordinálódó donorcsoportot tartalmazó hisztidil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (His-BIMA) komplexképzését tanulmányozták.

Az oldalláncban gyengén koordinálódó csoportot tartalmazó bisz(imidazol-2-il)-származékok komplexképzési tulajdonságai azonban még nem voltak ismertek. Ezek a vegyületek lehetőséget adtak annak vizsgálatára, hogy hogyan változik a komplexképző sajátság olyan vegyületekben, amelyek C-terminálisan egy kelátképző csoportot, ugyanakkor oldalláncban koordinálódó csoportot tartalmaznak, ha azokat egyszerű dipeptidekhez, illetve a legegyszerűbb aminosav-bisz(imidazol-2-il)-származékokhoz hasonlítjuk. Ugyanakkor ezek a vegyületek a metalloenzimek aktív centrumát is modellezhetik. A His-BIMA esetén lúgos tartományban képződő komplex a Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz enzim szerkezeti modellje lehet.

A vizsgálatok így két irányban folytatódtak. Egyrészt aszparaginsavat, illetve glutaminsavat tartalmazó bisz(imidazol-2-il)-származékok komplexképző tulajdonságait vizsgáltuk. Ennél a ligandumcsaládnál célunk az volt, hogy *az oldalláncban gyengén koordinálódó karboxilcsoportot tartalmazó α -aszpartil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (α -Asp-BIMA), α -glutamil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (α -Glu-BIMA) és γ -glutamil-bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (γ -Glu-BIMA) különböző átmenetifém-ionokkal való komplexképzését tisztázzuk.* Másrészt a Cu,Zn-SOD modellezését egyéb peptidok vizsgálatával folytattuk.

A Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz enzim aktív centrumában mindkét fent említett kötődési hely megtalálható: az aszparaginsav karboxilátcsoportja és a hisztidin imidazolnitrogénje is részt vesz a fémionok koordinálásában. Az enzim fémmegekötésben részt vevő fehérjerésze különböző oligopeptidekkel modellezhető. *A rézkötőhely modellezésére az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ pentapeptideket, a cinkkötőhely modellezésére az Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH₂ és az Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH₂ pentapeptideket állítottuk elő, és ezek réz(II)ionokkal való komplexképzését tanulmányoztuk.*

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A vizsgált fémionok biológiai jelentősége

A **réz** a növény- és az állatvilágban egyaránt igen elterjedt, és redoxireakciói számos biológiai oxidációs folyamatban játszanak szerepet. A felnőtt emberi szervezet kb. 100 mg rezet tartalmaz, többnyire fehérjékhez kötött formában (rézproteinek). Rézkarperacet és réztartalmú kenőcsöket régóta alkalmaznak a népi gyógyászatban, a réz biokémiai fontosságát azonban csak az 1930-as években ismerték fel; nyomnyi mennyiségben valamennyi élő szervezet számára nélkülözhetetlen.⁸⁻¹⁰

Részt vesz redoxi folyamatok katalizálásában, és oxigénszállító, -tároló enzimeknek is alkotórésze. Elektrontranszfer funkciója van a citokró-m-c oxidázban (ami a legtöbb sejtben a légzési lánc utolsó lépését katalizálja), a plasztocianinban (ami a növényekben és a zöldségekben a II. fotokémiai rendszer része), az azurinban és a sztellocianinban. Számos rézproteinek oxidáz funkciója van: lakkáz, aszkorbinsav-oxidáz, citokró-m-c-oxidáz, amin-oxidáz, galaktóz-oxidáz, tirozináz, dopamin- β -hidroxiláz. Emellett réztartalmú reduktázokat is ismerünk: nitrát-reduktáz, dinitrogén-monoxid-reduktáz (denitrifikáló baktériumokban), szuperoxid-diszmutáz (reze és cinket is tartalmaz). Az ízelláblúak és a puhatestűek oxigénszállító festékanyaga nem a hemoglobin, hanem a réztartalmú hemocianin.

Bár a rézproteinek szerkezeti viszonyai sok tekintetben még nem ismertek, de – főként a szintetikus modellvegyületek révén – jelentős előrelépés történt a réztartalmú fehérjék hatásmechanizmusának megértése terén.¹¹ A biológiai szempontból aktív rézcentrumok három fő szerkezeti típusba sorolhatóak:

I. típus: kék-rézproteinek, amelyek egyetlen rézatomot tartalmaznak egy erősen torzult, 2N- és 2S-donoratom által meghatározott koordinációs környezetben. Ez a Cu(II)-re jellemző tetragonálisan torzult oktaédes (4N-donoratom) és a Cu(I)-re jellemző tetraédes (4S-donoratom) koordináció közötti átmenetet jelenti, és ebből adódóan rendkívül hajlamos redoxi átalakulásokra. Ezt a típust az intenzív kék szín jellemzi, ami a 600 nm körüli S–Cu töltésátviteli sávtól származik. A kék-rézproteinek főleg növényekben fordulnak elő, és a fotoszintézisben vesznek részt, mint elektrontranszfer proteinek (pl. plasztocianin).

II. típus: nemkék-rézproteinek, amelyeknél a szabályos monomer réz(II)komplexekre jellemző, közel síknégyszetes koordináció alakul ki, igen gyenge axiális kölcsönhatásokkal, és jellemző ESR paraméterekkel. Ilyen típusú rézcentrumokat tartalmaz a Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz enzim.

III. típus: ESR-inaktív rézproteinek. Ezeknek két altípusa van. Egyik típusuk egy pár Cu(I)-atomot tartalmaz egymástól 360 pm távolságra, amelyek a fehérjékhez hisztidin oldalláncokon keresztül kapcsolódnak. Ez az összetétel

alkalmas az oxigénmolekula transzportjára és aktiválására (pl. hemocianin). A másik lehetőség, hogy két Cu(II)-ion található egymáshoz közel. (A lakkáz és ceruloplazmin az I. és II. típus mellett a III. típus ezen altípusát is tartalmazza.)

A rézkomplexek hatékonyságát számos betegség kapcsán vizsgálták. Bizonyos rézkomplexek esetében a rákellenes hatás azzal értelmezhető, hogy gátolják a DNS szintézisét. Más komplexek részt vesznek a sejtek öregedéséért felelős szuperoxid-anion eltávolításában.^{12,13}

A **nikkel** biológiai szerepe egészen 1975-ig ismeretlen volt, amíg az ureáz enzim nikkeltartalmát egyértelműen nem azonosították. Magát a „jack bean urease” enzimet már korábban is ismerték, és ez volt az első enzim, amit kristályos formában előállítottak,¹⁴ de fémmentesnek gondolták. Az ureázok számos baktériumban és növényben megtalálhatók, és a karbamid hidrolízisét katalizálják. A röntgendiffrakciós, EXAFS, ESR és mágneses cirkuláris mérésekből megállapították, hogy minden ureáz enzim aktív centrumában két Ni(II)-ion található,¹⁵ amelyek egy karboxilátcsoporton keresztül kapcsolódnak egymáshoz. Az egyik nikkelt ezenkívül két nitrogén-donoratom koordinálja, míg a negyedik kötési hely valószínűleg a karbamid kapcsolódására van fenntartva. A másik Ni(II)-ion trigonális bipiramisos szerkezetű.¹⁶⁻²²

Egyre többet tudunk a nikkelt biológiai szerepéről.²³⁻²⁵ A baktériumokban újabb három másik nikkeltartalmú enzimet is azonosítottak: a hidrogenázok a hidrogén vízzé történő oxidációját, a CO-dehidrogenáz a szén-monoxid széndioxidá váló oxidációját, míg a metil-koenzim-M-reduktáz a széndioxid metáná történő átalakulását katalizálja.^{24,25}

A **cink** biológiai szempontból az egyik legfontosabb fémion, az élet szinte minden formájához nélkülözhetetlen.^{10,26,27} A felnőtt emberi szervezet mintegy 2 g cinket tartalmaz, ami enzimek formájában csaknem valamennyi sejtben megtalálható, így a cink koncentrációja nagyon kicsi, és jelentőségének felismerése viszonylag sokáig váratott magára.

A cink a biológiai rendszerekben kétféle szerepet is betölthet; katalitikus és szerkezetalkító funkciója is van. A szénsav-anhidráz, karboxi-peptidáz, máj-alkohol-dehidrogenáz és a termolizin enzimekben a cinknek katalitikus aktivitása van, míg az alkohol-dehidrogenáz és az aszpartát-transzkarbamoiláz a cinkion szerkezetalkító szerepére példa.

A biológiai szerepüktől függetlenül a hisztidin, glutaminsav, aszparaginsav és a cisztein oldalláncbeli donorcsoportjai a cinktartalmú enzimek legfontosabb kötőhelyei. Azonban a röntgendiffrakciós vizsgálatok azt mutatják, hogy a katalitikus aktivitású és a szerkezetstabilizáló cink(II)ion koordinációs szférája eltér egymástól.²⁸

Azokban az enzimekben, ahol a cinknek katalitikus aktivitása van, három koordinációs helyet a fent említett donatoratomok foglalnak el (leggyakoribb a hisztidinnitrogén), míg a negyedikhez egy vízmolekula kötődik. Ennek nagy jelentősége van az enzim működése szempontjából. Háromféle mechanizmus lehetséges a katalitikus reakció során: (a) a szubsztrát kiszorítja a vízmolekulát a koordinációból, és közvetlenül a cinkionhoz kötődik, (b) a koordinált vízmolekula ionizálódik, majd a nukleofil OH^- -csoport lép kölcsönhatásba a szubsztráttal (nukleofil támadás), (c) a szubsztrát a cinkion ötödik koordinációs helyét foglalja el, anélkül, hogy a vízmolekulát kiszorítaná a koordinációs szférából.

Azokban az enzimekben, amelyekben a cinknek szerkezetalkító szerepe van, a cink mind a négy koordinációs helyét a fent említett donatoratomok foglalják el (leggyakrabban ciszteinkén), ily módon megakadályozva azt, hogy víz- vagy szubsztrátmolekula koordinálódjon hozzá. A cinkion körül viszonylag merev elrendeződés alakul ki, ez biztosítja az enzim működéséhez szükséges peptidkonformációt.

A cink egy újabban felismert funkciója azokhoz a fehérjékhez kapcsolódik, amelyek a DNS bázisszekvenciájának a felismerésében játszanak szerepet, azaz a DNS replikációja során a genetikai információ átadását szabályozzák. Ezek az ún. „cink-ujjak” (zinc fingers) olyan cinktartalmú fehérjék, amelyek 9-10 cink(II)iont tartalmaznak. Mindegyik cinkiont tetraédesen koordinálja 4-4 aminosav, és ez a koordináció a fehérje kiálló hajlatokkal tarkított (ujjszerű) konformációját stabilizálja. A fehérje körbefogja a DNS kettős láncát, miközben valamennyi „ujj” a DNS-hez kötődik, mivel térkitöltésük megfelel a DNS bázisszekvenciájának, és így biztosítja a pontos felismerést.²⁹

2.2. A vizsgált fémionok koordinációs kémiája^{30,31}

A réz 0 és +4-es oxidációs tartományban képez komplexeket. Ezek közül a leggyakoribb a +2, de a +1-re is sok példa van. Nagyon kevés +3-as oxidációs állapotú komplex ismert, és a 0, valamint a +4 oxidációs állapot is rendkívül ritka. A rézkomplexek koordinációs száma és geometriája az oxidációs állapottal együtt változik.

Vizes oldatban a Cu(I)-ion nagyon kevésbé stabilis, mert könnyen diszproporcionálódik, aminek oka a Cu(II)-ion nagy hidratációs energiája. Azonban a réz +1-es oxidációs állapota stabilizálható, egyrészt nagyon kis oldékonyságú vegyületek formájában, másrészt π -akceptor sajátságú ligandumok segítségével.

A d^{10} -elektronkonfigurációjú Cu(I)-ion jellemző geometriája kettős koordinációs számnál lineáris, hármas koordinációs számnál trigonális planáris,

négyes koordinációs számnál tetraédes. Néhány esetben a szabályos geometria torzulása figyelhető meg, különösen kelátképző ligandumokkal. Néhány ötös koordinációs számú Cu(I)-komplexet is előállítottak és jellemeztek. A Cu(I)-komplexek diamágnesesek és színtelenek – kivéve, ha töltésátvitel vagy ellenion okoz színt, – valamint gyakran igen könnyen Cu(II)-komplexszé oxidálódnak.

A d^9 -elektronkonfigurációjú réz(II)ion komplexvegyületeiben a leggyakoribb koordinációs szám a 4, 5 és 6, de szabályos geometriák csak ritkán fordulnak elő, és a síknégyzetes és tetragonálisan torzult oktaédes szerkezetek között gyakran nem könnyű különbséget tenni, ami a Jahn-Teller hatással értelmezhető. A komplexek általában kék vagy zöld színűek, egyetlen széles elnyelési sávval. A monomer komplexeknek 1,75-2,20 BM mágneses momentumuk van.

A +3 oxidációs állapotú réz tartalmazó vegyületek ritkák, nagyon könnyen redukálódnak, de egyes biológiai elektrontranszfer folyamatokban feltételezett szerepük miatt igen sok Cu(III)-komplexet vizsgáltak. Ezek általában síknégyzetes, kis spinszámú, diamágneses komplexek. Margerum és munkatársai számos Cu(III)-peptidkomplexet állítottak elő, amelyek a deprotonálódott amid csoportok koordinációjával stabilizálódnak.^{32,33}

A **nikkel** is 0-+4 oxidációs számmal képez komplexeket, bár fémorganikus vegyületeiben –1-es, és –2-es oxidációs állapot is megvalósulhat. A leggyakoribb oxidációs állapot a +2, de jól ismertek a 0-ás oxidációs állapotú nikkelt tartalmazó komplexek is. A +1-es és +3-as oxidációs számot tartalmazó komplexei viszonylag ritkák, míg a +4-es oxidációs állapotot csak bizonyos ligandumtípusok képesek stabilizálni.

A d^{10} -elektronkonfigurációjú Ni(0) komplexeket π -akceptor ligandumok stabilizálják, így a kötés erősen kovalens jellegű, π -viszontkoordináció figyelhető meg az elektronban gazdag fémcentrum és a π -akceptor ligandumpálya között. Sok Ni(0) komplex 4-es koordinációs számú, tetraédes geometriával, pl. Ni(CO)₄. A Ni(0)-komplexek diamágnesesek, és oxidatív addíciós reakciókban általában könnyen oktaédes Ni(II)-komplexekké alakulnak.

A Ni(I)-komplexek viszonylag ritkák, N-donor makrokelátokkal és P-donorokkal stabilizálódnak. A Ni(I)-ion d^9 -elektronkonfigurációjú, ezért komplexei paramágnesesek. A sztereokémiája igen változatos, ezt a kapcsolódó ligandum határozza meg, és a négyes és ötös koordinációs szám a leggyakoribb. A leggyakoribb reakciói a Ni(0)-vá és Ni(II)-vé történő diszproporció, az elektrontranszfer reakciók és a diamágneses fém-fém kötést eredményező dimerizáció.

A nikkel leggyakoribb oxidációs állapota a +2, amelyben d^8 -elektronkonfigurációjú. A négyes, ötös és hatos koordinációs szám jellemző a Ni(II)-re. A négyes koordinációjú nikkel(II)komplexek között a síknégyzetes

geometria a leggyakoribb. Ezek a komplexek jellemzően sárgák, vörösek vagy barnák. Mágneses tulajdonságaikat tekintve diamágnesesek, de egy esetben paramágneses síknégyzetes geometriájú komplexről is beszámoltak.³⁴

Bár jóval kisebb számban, mint a síknégyzetes komplexek, de tetraéderes nikkell(II)vegyületek is ismertek. Ezek a komplexek általában kék vagy zöld színűek és paramágnesesek.

Ötös koordinációs számmal négyzetes piramisos és trigonális bipiramis geometriájú nikkell(II)komplexek képződnek. Ezek para- és diamágnesesek egyaránt lehetnek.

A Ni(II)-ion hatos koordinációs számmal oktaéderes geometriájú komplexeket képez. Ezek a komplexek könnyen előállíthatók (igen gyakran a koordinált vízmolekulák helyettesítése révén) semleges nitrogéndonor-ligandumokkal (pl. ammóniával, etilén-diaminnal, biperidillel, fenantrolinnal), de tiocianáttal, nitrittel és oxigén-donoratomot tartalmazó ligandumokkal is.

A Ni(II)-komplexek oldatában különböző egyensúlyok valósulhatnak meg.

(a) *Síknégyzetes* \rightleftharpoons *tetraéderes egyensúly*:³⁵⁻³⁷ bizonyos nagy térkitöltésű foszfinszármazékokkal hőmérsékletfüggő egyensúly alakul ki a tetraéderes paramágneses és a síknégyzetes, diamágneses komplexek között.

(b) *Síknégyzetes* \rightleftharpoons *oktaéderes egyensúly*³⁸ a síknégyzetes nikkell(II)-vegyületek koordinálódó oldószer jelenlétében vagy ligandumfelesleg esetén oktaéderes komplexszé alakulhatnak. Esetenként ez olyan oldatokat eredményez, amelyek mágneses momentuma közbenső értéket mutat, jelezvén, hogy a síknégyzetes és oktaéderes formák összemérhető koncentrációban vannak jelen, és a mágneses momentum értéke ilyenkor függ a hőmérséklettől és a koncentrációtól. A gyakoribb eset azonban az, hogy az átalakulás teljes. Ennek a jelenségnek az ismert példáit a $[\text{NiL}_2\text{X}_2]$ összetételű komplexek jelentik (L = szubsztituált etiléndiamin, X = különféle anionok), amelyek nevüket a felfedezőjükről (Lifschitz) kapták.

(c) *Monomer* \rightleftharpoons *oligomer egyensúly*: a síknégyzetes komplexek agglomerációjával oldatban és szilárd fázisban is kialakulhatnak paramágneses polimerek. A síknégyzetes geometriájú $[\text{Ni}(\text{Me-sal})_2]$ (Me-sal: metil-szalicilaldehid) összetételű vegyület piridinben oktaéderes biszpiridin adduktummá alakul át.³⁹ A $[\text{Ni}(\text{acac})_2]$ (acac: acetyl-aceton) trimerizációja szintén oktaéderes szerkezetet eredményez.^{40,41}

A Ni(III)-komplexek d^7 -elektronkonfigurációjúak, általában ötös koordinációs szám jellemzi őket vagy torzult oktaéderes szerkezet (Jahn-Teller hatás) alakul ki. A Ni(III)-iont halogenidek és erős σ -donor N- vagy P-ligandumok stabilizálják, ezeket általában a megfelelő Ni(II)-vegyületek kémiai vagy elektrokémiai oxidációjával állítják elő. A Ni(III) meglehetősen ritka oxidációs állapot, bár egyre több példáról számolnak be a szakirodalomban. Hasonlóan a Cu(III)-ionhoz

Ni(III)-peptidkomplexek is ismertek, melyekben a deprotonálódott amidnitrogének és a peptidváz más funkcióscsoportjai koordinálódnak.⁴²

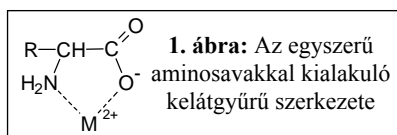
A **cink** gyakorlatilag csak +2-es oxidációs állapotban képez komplexeket, amelyekben a koordinációs száma 2-8 között változhat. A tetraédes és oktaédes komplexek a leggyakoribbak, de különösen kelátképző ligandumok esetén torzulhat a komplexek geometriája. 2-es koordinációs számú komplexeket amid-, szilil-, és alkil-donor csoportokkal képez. Trigonális planáris geometriájú komplexek megfelelően merev ligandumokkal jöhetnek létre.⁴³ Síknégyszetes geometria leggyakrabban a cink(II)-porfirin és -ftalocianin komplexekben alakul ki, ahol a ligandum kényszeríti ki ezt a geometriát.

Valószínűleg a $[Zn(H_2O)_6]^{2+}$ -ion a leggyakoribb akvakomplex a cink(II)-sók vizes oldataiban. A vizes oldatokra számottevő hidrolízis jellemző, amikor is $[Zn(OH)(H_2O)_5]^+$ és $[Zn_2(OH)(H_2O)_x]^{3+}$ hidroxokomplexek képződnek.

2.3. A peptidok sav-bázis tulajdonságai és komplexkémiai viselkedésük⁴⁴

A koordinációs kémia utóbbi félszázados fejlődésének eredményeként ma már jelentős mennyiségű információ áll rendelkezésünkre a fémion-peptid kölcsönhatásokról.⁴⁵⁻⁵¹ Ezek az eredmények lehetővé teszik számunkra, hogy az oligopeptidek komplexképző sajátosságaira vonatkozóan bizonyos általános következtetéseket vonjunk le.

Jól ismert, hogy az aminosavak különböző átmenetifémionokkal stabilis bisz- és triszkomplexeket képeznek. Ezekben a komplexekben az α -amino- és -karboxilát csoporttal ötagú kelátgyűrű alakul ki (*1. ábra*). Ezt a koordinációt nagymértékben befolyásolják az aminosav oldalláncában jelenlevő donor csoportok. Ezek hatására a peptidok esetén térek ki részletesen.



A peptidokban a két funkcióscsoport távolsága megnő, az amino- és a karboxilcsoport terminális helyzetben van, így a sztérikus viszonyok kizárják ezen csoportok részvételével a stabilis kelátgyűrű kialakulását. Ugyanakkor a peptidok amidkötése két újabb fémmegkötésre képes donortomot (nitrogén- és oxigénatom) tartalmaz, ami további jellegzetes koordinációs módok kialakulását teszi lehetővé. Az oldalláncban donor csoportok lehetnek jelen, aminek eredményeként igen változatos fémion-peptid-kölcsönhatás alakulhat ki. A különböző donor csoportok bázicitása az oligopeptidek koordinációs kémiáját befolyásoló egyik legfontosabb tényező.

Valamennyi dipeptid legalább három funkcióscsoportot tartalmaz: egy terminális amino- és karboxilát csoportot, valamint egy amidcsoportot. A hosszabb

oligopeptidekben is ugyanezek a funkciócsoportok vannak jelen, csak annyi a változás, hogy a két terminális csoport távolsága és az amidcsoportok száma növekszik. A különböző di- és tripeptidek sav-bázis tulajdonságait széleskörűen tanulmányozták, és megállapították, hogy azoknál az oligopeptideknél, ahol az oldallánc nem tartalmaz további funkciócsoportot, csak két deprotonálódási állandó – a terminális amino- és a karboxilcsoporté – esik a mérhető pH-tartományba ($0 < \text{pH} < 14$). Az amino- és a karboxil csoport deprotonálódása az aminosavak és a peptidek esetén is jól elkülönül egymástól, a $\text{p}K_1$ a karboxil-, a $\text{p}K_2$ a protonált aminocsoport deprotonálódására vonatkozik. Az 1. táblázat adataiból látható, hogy az elkülönülés az aminosavak esetén a legnagyobb, a peptidlánc csökkenti az aminocsoport bázicitását és a karboxilcsoport savasságát. Ugyanakkor a triglicin és a tetraglicin $\text{p}K$ -értékeinek hasonlósága arra enged következtetni, hogy a peptidlánc hosszának nincs jelentős hatása a peptidek bázicitására.

1. táblázat: A glicin és oligopeptidjeinek deprotonálódási állandói ($T = 298 \text{ K}$; $I = 0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$)

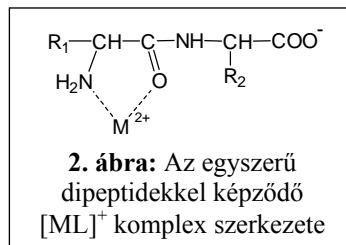
ligandum	$\text{p}K_1$	$\text{p}K_2$
glicin ⁵²	2,37	9,60
diglicin ^{53,54}	3,21	8,13
triglicin ^{53,55}	3,27	7,96
tetraglicin ^{53,55}	3,24	7,97

Az amidcsoportban két olyan donoratomb is található, amelyek proton vagy fémion megkötésére képesek – a karboniloxigén és az amidnitrogén. Azonban az aminosav nemkötő elektronpárral rendelkező aminonitrogénje a peptidcsoportba épülve elveszíti bázicitását, mivel a nemkötő elektronpár delokalizálódik, a szén-nitrogén-kötés kettőskötés karakterűvé válik. Ennek eredményeként a peptidkötés a teljes pH-tartományban semleges, bár nagyon lúgos vagy nagyon savas közegben nagyon gyenge savként, illetve bázisként viselkedhet.

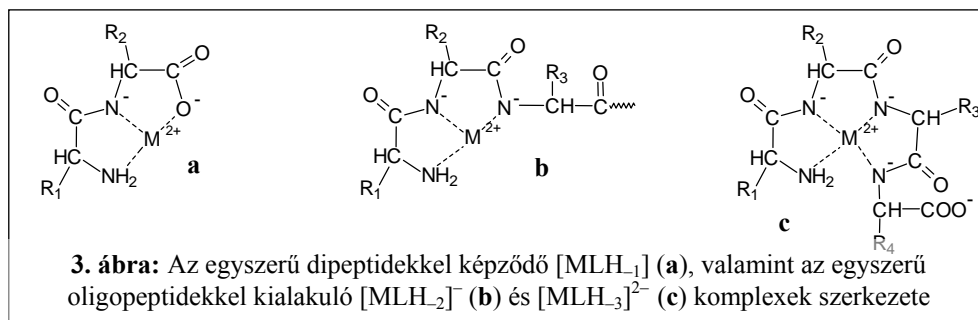
2.3.1. Nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó peptidek

Az amidkötés “semlegessége” miatt a peptidekben a terminális amino- és a karboxilátcsoport a leghatékonyabb kötőhely a fémionok számára. Azonban a két terminális csoport ugyanazon fémionhoz való koordinációjával kisebb peptidek esetén nem alakulhat ki stabilis (öt-, vagy hattagú) kelátgyűrű. Ennek következtében a fémionok koordinálódása egymástól függetlenül az amino- vagy a

karboxilátsoporton kezdődik, ezt a fémion természete határozza meg. A Cu(II)- a Ni(II)-, és a Zn(II)-ion nagyobb affinitást mutat a nitrogénhez, így a koordináció ezen fémionok esetén az aminocsoporton indul meg, és az amidcsoport oxigénjével alakul ki ötös kelátgyűrű. Az így kialakuló $[ML]^+$ összetételű komplex (2. ábra) stabilitási állandója kisebb, mint az aminosavakkal alkotott komplexeké.



Az aminocsoporttal a peptidkötés nitrogénje is kelátképző helyzetben van. A koordináció létrejöttéhez azonban az szükséges, hogy az amidcsoport deprotonálódjon. Ez a szabad ligandum esetén $\text{pH} = 14$ fölött játszódik le, ugyanakkor a Cu(II)- és a Ni(II)-ion is elősegítheti a deprotonálódást és az amidnitrogén koordinációját. Dipeptidek esetén az amidnitrogén koordinálódása együtt jár a karboxilátsoport koordinálódásával, aminek eredményeként egy stabilis, kettős kelátgyűrűből álló, $[MLH_{-1}]$ összetételű komplex képződik. A tri- és tetrapeptidekben további peptidkötések találhatók, amelyek szintén deprotonálódhatnak, és $[MLH_{-2}]^-$, $[MLH_{-3}]^{2-}$ komplexek alakulhatnak ki (3. ábra). A Zn(II)-ion nem képes elősegíteni az egyszerű peptidek amidnitrogénjeinek deprotonálódását, az ebben az esetben képződő $[MLH_{-1}]$ komplexek vegyes-hidroxokomplexek.

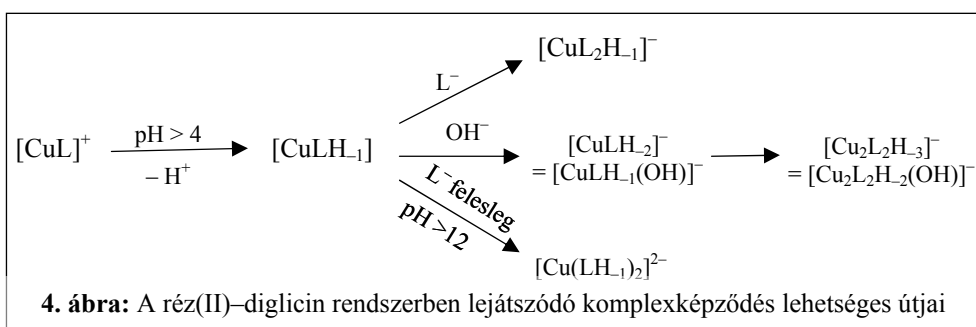


Réz(II)komplexek

Az egyszerű oligopeptidek réz(II)ionokkal általában tetragonális komplexeket képeznek. A 4. ábra a legegyszerűbb dipeptidet, a diglicint a réz(II)iont tartalmazó rendszerben lejátszódó komplexképződés lehetséges útjait mutatja be.

Látható, hogy savas közegben $[CuL]^+$ és $[CuLH_{-1}]$ összetételű komplexek képződnek, amelyekben (NH_2, CO) , illetve $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \alpha\text{-COO}^-)$ koordináció valósul meg. A $[CuLH_{-1}]$ komplexben a Cu(II)-ionnak az egyik koordinációs helye szabad, így lúgos oldatban a fémion/ligandum aránytól függően különböző részecskék képződnek.⁵⁶⁻⁵⁸ A $[CuL_2H_{-1}]^-$ biszligandumú komplexben a második

ligandum az amino- és a karbonilcsoporton keresztül axiális-ekvatoriális irányban koordinálódik. Ez a komplex nem képes megakadályozni a $[\text{CuLH}_1]$ komplex hidrolízisét, aminek eredményeként pH ~ 9 körül vegyes-hidroxokomplexek képződnek ($[\text{CuLH}_2]^-$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$). A hidroxokomplexek képződését általában az abszorpciós spektrum vörös irányú eltolódása kíséri. Erősen lúgos közegben, nagy ligandumfelesleg (100-1000-szeres) esetén 4N-es koordinációjú $[\text{Cu}(\text{LH}_1)_2]^{2-}$ összetételű komplex képződik, ahol mindkét ligandum amino- és amidnitrogénje koordinálódik.^{59,60} Ez a komplex valamennyi dipeptidnél megjelenik.⁵⁸



A réz(II)ion tri- és tetraglicinnel való kölcsönhatását is átfogóan tanulmányozták.^{55,61,62} Az általános részben leírtaknak megfelelően, az amidnitrogének egymást követő deprotonálódásával és koordinációjával $[\text{CuLH}_1]$, $[\text{CuLH}_2]^-$ és $[\text{CuLH}_3]^{2-}$ összetételű komplexek alakulnak ki. A triglicin esetén a $[\text{CuLH}_2]^-$ komplexben kialakuló $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \alpha\text{-COO}^-)$ koordináció telíti a réz(II)ion koordinációs helyeit, így meggátolja a biszligandumú komplexek képződését és akadályozza a komplex hidrolízisét, amely így csak erősen lúgos oldatban (pH ~ 11,9) következik be. Tetraglicin esetén a $[\text{CuLH}_3]^{2-}$ komplexben a réz(II)ion mind a négy koordinációs helyét nitrogén foglalja el. Mivel már egy egyszerű tetrapeptid telíti a réz(II)ion koordinációs helyeit, így a peptidlánc növelésével nem alakul ki újabb Cu(II)-N⁻-kötés. A pentaglicin réz(II)komplexének röntgendiffrakciós vizsgálata alátámasztja ezt.⁶³ Ennél a ligandumnál, hasonlóan a tetraglicinhez, $[\text{CuLH}_3]^{2-}$ összetételű komplex képződik a terminális aminos csoport és az azt követő három deprotonálódott amidnitrogén kötődésével. A negyedik amidnitrogén és a terminális karboxiláts csoport nem vesz részt a koordinációban. Ez a megállapítás azonban nem általánosítható valamennyi hosszabb láncú peptidekre és fehérjékre. Ezeknél a ligandumoknál a makromolekula konformációja és az oldalláncbeli donoratombok jelentősen megváltoztathatják a komplexképződési folyamatokat.

Nikkel(II)komplexek

Az egyszerű peptidekkel a koordináció savas pH-tartományban a nikkell(II)ionok esetén is az aminos csoporton indul, és gyengén lúgos közegben a

nikkel(II)ion is képes elősegíteni az amidnitrogén deprotonálódását és koordinációját.⁶⁴⁻⁶⁷ A nikkel(II)komplexek összetétele és szerkezete azonban jelentősen eltér a réz(II)komplexekétől. Amíg a réz(II) 1:1 összetételű tetragonális komplexeket képez oligopeptidekkel, addig a nikkel(II)komplexekre két különböző sztereokémia jellemző – paramágneses oktaédes és diamágneses síknégyszetes komplexek képződnek – és jóval gyakoribbak a biszligandumú komplexek.

A potenciometriás és a spektroszkópiai vizsgálatok is azt mutatják, hogy a nikkel(II)–diglicin rendszerben biszkomplexek képződnek, pH 10 körül mindkét ligandum peptidnitrogénje deprotonálódik és így tridentát módon koordinálódik. A $[\text{NiL}_2\text{H}_{-1}]$ és $[\text{NiL}_2\text{H}_{-2}]$ komplexek paramágnesesek és oktaédesek.^{64,68,69} Szilárd fázisban röntgendiffrakciós mérésekkel igazolták a hatos koordinációjú nikkel(II)ionok jelenlétét.⁷⁰

Egyszerű tri- és tetrapeptidekkel az N-terminális aminosoprot részvételével először 1N-es komplex képződik (az első aminosav karbonilcsoportja is koordinálódik), és a pH emelésével a deprotonálódott peptidnitrogének egymást követően koordinálódnak, 3, illetve 4N-es komplexet eredményezve. A $[\text{NiL}]^+$ összetételű 1N-es komplexek általában oktaédesek, míg a két és három deprotonálódott amidnitrogént tartalmazók jellemzően síknégyszetesek. Ez kooperatív koordinációt eredményez, pH 8,5 körül az 1N-es koordinációt 3, illetve 4N-es váltja fel.^{44,50,64,71} Ennek következtében a tetraglicin esetén a $[\text{NiLH}_2]$ komplexek nem mutathatók ki az oldatban. Ez alapján a Ni(II) oligoglicin komplexeiben ugyanolyan koordinációs mód alakul ki, mint a Cu(II) esetén, azzal a különbséggel, hogy a Ni(II) esetében axiálisan nem koordinálódik ligandum a fémionhoz. A komplexek kristályszerkezetének vizsgálata⁷² és az oldatok abszorpciós spektruma, valamint az NMR mérések^{62,65,67} alátámasztják a síknégyszetes, diamágneses komplexek jelenlétét.

A nikkel(II)–oligoglicin komplexek másik fontos jellemzője a különböző deprotonált komplexek lassú képződése. A komplexek inertsége növekszik a deprotonált amidnitrogének számának növekedésével,⁷³ ami igen nehézkessé teszi a tri- és tetrapeptidek oldategyensúlyi vizsgálatát.

Cink(II)komplexek

Cink(II)ionokkal egyszerű peptidek esetén pH 5 felett a terminális aminosoprot és a szomszédos karbonilcsoport részvételével $[\text{ZnL}]^+$ komplex alakul ki, a másik két fémion megfelelő komplexéhez hasonlóan.⁷⁴ Ugyanakkor a cink(II)ion nem képes elősegíteni az amidnitrogén deprotonálódását, ami a kristálytér-stabilizációs energia hiányával és a hidroxokomplex-képzési hajlamával értelmezhető. Polimer szerkezetű komplexek képződése feltételezhető (pl. $[\text{Zn}_2\text{L}_2\text{H}_2]$, $[\text{Zn}_3\text{L}_2\text{H}_4]$ stb.), amelyekben valószínűleg hidroxohidak kapcsolják

össze a cinkionokat, majd további polimerizációjuk $Zn(OH)_2$ csapadékot eredményez.

Azt mondhatjuk, hogy a cink(II)ion is képes peptidmolekulákhoz koordinálódni, de nem képes az egyszerű peptidok amidhidrogénjét helyettesíteni. Az oldalláncban jelenlevő donorcsoportok azonban elősegíthetik ezt a folyamatot.

2.3.2. Oldalláncban karboxilátcsoportot tartalmazó peptidok

Az aszparaginsav és a glutaminsav karboxilátcsoportja a metalloenzimek igen fontos fémmegkötőhelye. Az oldalláncbéli karboxilátcsoport hatását a peptidok és peptidszármazékok fémmegkötésére széles körben tanulmányozták.⁴⁴ Az irodalmi adatok azt mutatják, hogy a karboxilátcsoport komplexképződési folyamatokra gyakorolt hatása nagymértékben függ ezen aminosavak számától és peptidláncbéli helyzetétől.

Az N-terminális aszparaginsavat tartalmazó peptidekben az oldalláncbéli karboxilátcsoport részvételével β -aminosavszerű koordináció alakulhat ki, láncközi aszparaginsav esetén pedig ($N^-, \beta\text{-COO}^-$) koordinációval 6-os kelát jöhet létre. A glutaminsav az aszparaginsavhoz hasonlóan oldalláncában karboxilcsoportot tartalmaz, azonban ennek hatása kisebb mértékű, a héttagú kelát kialakulása ugyanis nem kedvező.

Az N-terminális aszparaginsav jelenléte számottevő stabilitásnövekedést eredményez az átmenetifémek peptidkomplexeinél. Az α -Asp-X típusú peptidok β -alanin- és dipeptidszerű koordináció kialakítására is képesek. Kis pH-n ML és ML_2 összetételű részecskék képződnek β -alaninszerű koordinációval, hattagú kelátgyűrű kialakulása közben. (Abban az esetben, ha adott sztöchiometriájú komplexek töltése különböző lehet, akkor a komplex jelölésénél nem használok szögletes zárójelet, és ezek töltését sem tüntetem fel.) Ez a típusú koordináció stabilisabb komplexet eredményez, mint a dipeptidszerű kötődés az aminonitrogéne és a karboniloxigéne keresztül. A pH emelésével azonban lehetőség van az amidnitrogén deprotonálódására és a dipeptidszerű koordináció kialakulására. Ez a folyamat kicsit gátolt az α -Asp-X típusú peptidekben a Gly-Gly-hez képest.⁷⁵

Az α -Glu-X típusú peptidekben dipeptidszerű koordináció jön létre. Lehetőség lenne aminosavszerű koordináció kialakulására is, amely egy héttagú kelátgyűrű kialakulásával jár, ezt a koordinációt azonban a vizsgálatok nem mutatták ki. A γ -karboxilátcsoport nem befolyásolja számottevően a peptid komplexképző tulajdonságait, mivel olyan messze van a nitrogéndonoroktól, hogy részvételével nem alakulhat ki stabilis kelátgyűrű.⁷⁶

Az aszparaginsavat/glutaminsavat C-terminális helyzetben tartalmazó dipeptidek esetén is stabilitásnövekedést figyeltek meg az ML összetételű részecskéknél.⁷⁵⁻⁷⁹ Gergely és munkatársai a Cu(II)-, Ni(II)- és Zn(II)-ionok Gly-Ala, Gly- α -Asp és Gly- α -Glu ligandumokkal képződő komplexeit tanulmányozták. Semleges és gyengén lúgos oldatban a Gly-Gly ligandumnál is képződő részecskék kialakulását észlelték, de az egyensúlyi adatok a komplexek növekvő stabilitását mutatták. A CuL részecskék stabilitása a Gly-Ala < Gly- α -Glu < Gly- α -Asp sorrendben növekszik. Ez a sorrend mutatja, hogy az oldallánc karboxilátcsoportjának koordinációja növeli a képződő részecske stabilitását, s az aszparaginsav β -karboxilátcsoportjával erősebb kölcsönhatás valósul meg, mint a glutaminsav γ -karboxilátcsoportjával. Ugyanakkor ez a kölcsönhatás gátolja az amidnitrogén kötődését, ami az amid-deprotonálódás nagyobb pK-értékében nyilvánul meg.^{77,79}

Biológiai szempontból jelentős vegyületek aktív centrumának modellezésére szolgáló tri-, tetra- és pentapeptidek, mint például az Arg-Lys-Asp-Val-Tyr⁸⁰⁻⁸² (thimopietin), Ala-Asp-Ser-Gly^{83,84} (fibrinopeptid A), Asp-Arg-Val-Tyr^{75,85} (angiotension II), Ac-His-Val-Gly-Asp-NH₂⁸⁶ (Cu,Zn-szuperoxid-diszmutáz) és a transzketoláz enzim (Asp-Asp-Asn-Lys-Ile)⁸⁷ vizsgálata azt mutatja, hogy a közbenső helyen levő aszparaginsav is jelentősen befolyásolja a peptid koordinációját. Az aszparaginsav jelenléte valamennyi esetben megnöveli a ligandum fémmegkötő képességét, és emellett új koordinációs lehetőségeket is teremt. A második helyen levő aszparaginsav elősegíti a fémion első amidnitrogénhez történő koordinációját, de jelentősen akadályozza az azt követő amidnitrogének kötődését. A harmadik helyen levő aszparaginsav szerepe még nyilvánvalóbb. Az amidnitrogének kooperatív módon deprotonálódnak, a 2N-es (NH₂,N⁻) koordinációjú komplexek nem mutathatók ki az oldatban, és az egyszerű oligopeptidek esetén képződő 4N-es komplexek sem jelennek meg; az erősen lúgos pH-tartományban valamennyi ligandum esetén három nitrogén-donoratom (egy amino- és két amidnitrogén), valamint a β -karboxilátcsoport koordinálódik a réz(II)ionhoz, a tetra- és a pentapeptidek is tripeptidszerűen viselkednek.^{80-82,88}

Megállapíthatjuk, hogy a réz(II)ionok esetén a második helyen levő aminosav β -karboxilátcsoportjának koordinációja a CuLH₁ összetételű komplexeket, a harmadik helyen levő aszparaginsav β -karboxilátcsoportjának koordinációja a CuLH₂ összetételű komplexeket stabilizálja. Ez a hatás olyan nagy mértékű, hogy az aszparaginsavat követő amidnitrogén deprotonálódása nem is játszódik le a mérhető pH-tartományban.

Az első helyen aszparaginsavat tartalmazó peptidekkel képződő NiL komplexek stabilitása 2 nagyságrenddel nagyobb, mint az egyszerű peptideknél és egészen 7-es pH-ig ez az uralkodó részecske. Ellentétben az oligoglicin peptidekkel, ezekkel a ligandumokkal NiL₂ összetételű biszkomplexek is

képződnek, ami az amidnitrogén deprotonálódását és koordinációját pH 9 fölé tolja el. Az abszorpciós spektrumokból megállapítható, hogy a NiL és a NiL₂ összetételű komplexek is oktaéderes geometriájúak. Így érthető, hogy miért nem képződik ez a komplex az ekvatoriális koordinációt kedvelő Cu(II)-ionok esetén.⁷⁸ A NiL és NiL₂ komplexek nagy stabilitásának eredményeként NiLH₁ komplexek nem, vagy csak nagyon kis mennyiségben képződnek, míg a NiLH₂ komplexek egyáltalán nem jelennek meg.⁷⁹

A második helyen aszparaginsavat tartalmazó tetrapeptidek esetén – ellentétben a réz(II)ionoknál tapasztaltnal – a β-karboxilátcsoport stabilizációt növelő hatása a nikkell(II)ionokkal nem jelentkezik. Míg az ekvatoriálisan koordinálódó donorcsoportokat tartalmazó CuLH₁ komplexek a 4,5-9,5 pH-tartományban uralkodóak voltak, NiLH₁ komplexek nem mutathatók ki az oldatban. Ugyanakkor a NiLH₂ komplexek jelenléte a NiLH₃ komplex képződését a nagyobb pH-tartományok felé tolja el.^{79,83}

A harmadik helyen aszparaginsavat tartalmazó tetrapeptidek esetén a 2N-es NiLH₁ komplexek nem jelennek meg az oldatban, a 3N-es NiLH₂ és a 4N-es NiLH₃ azonban igen. Ez utóbbi képződése azt mutatja, hogy a Cu(II)-től eltérően itt az aszparaginsavat követő amidnitrogén deprotonálódása is végbemegy, bár a tetraalaninhoz képest nagyobb pH-n játszódik le ez a folyamat. A spektroszkópiás paraméterek alapján mindkét komplex síknégyszetes geometriájú.

Az első helyen aszparaginsavat tartalmazó tetrapeptidekkel a Zn(II)-ionok ZnL, ZnLH₁ és ZnLH₂ összetételű monomer komplexeket képeznek (a két utolsó komplex vegyes-hidroxokomplex), eltérően az egyszerű peptidektől, polimer szerkezetű komplexek 10-es pH-ig nem képződnek. Ennek alapján feltételezték, hogy a ligandum tridentát módon, (NH₂,CO,β-COO⁻) csoportokkal kötődik a cink(II)ionokhoz, de az amidnitrogén deprotonálódása ezeknél a ligandumoknál sem következik be.

Az aszparaginsavat második, harmadik vagy negyedik helyen tartalmazó tetrapeptidek esetén kisebb a β-karboxilátcsoport stabilizáló hatása, és már pH 7 körül megkezdődik a hidrolízis az oldatban.⁷⁹

A glutaminsavat tartalmazó peptidek vizsgálata nem ilyen széleskörű, de az irodalomban található adatok alapján megállapítható, hogy bár a γ-karboxilátcsoport növeli a képződő komplexek stabilitását, hatása nem olyan jelentős a ligandumok komplexképző sajátságaira, mint az aszparaginsav β-karboxilátcsoportjának.

2.3.3. A peptidváz koordinációjának megváltozása

A peptidváz koordinációjának megváltoztatására két lehetőség van.

(i) Az egyik lehetőség, hogy a peptidvázban egy vagy több α -aminosavat β -alaninra cserélünk. Ennek eredményeként a képződő komplexek kelátgyűrűinek/csatolt kelátrendszerének tagszáma változik.

A β -alanin peptidláncbéli jelenléte a komplexek stabilitására, a réz(II)komplexeknél azok geometriájára, a nikkel(II)komplexeknél a sztöchiometriára is hatással van. Az N-terminális β -alanin jelenléte minden esetben stabilitáscsökkenést eredményez, ugyanakkor a tripeptidek esetén az (5,6,5)- és (5,5,6)-tagú csatolt kelátgyűrűk képződése mindkét fémion esetén kedvezőbb, mint az (5,5,5)-tagúaké.^{89,90}

(ii) Azoknál az aminosavaknál, amelyek oldalláncukban további karboxil- (aszparaginsav és glutaminsav) vagy aminocsoportot (lizin) tartalmaznak, lehetőség van arra, hogy a peptidkötés az oldalláncbéli funkciócsoport részvételével alakuljon ki, ami szintén a peptidváz módosulását eredményezi.

Abban az esetben, amikor a fent említett két aminosav oldalláncbéli karboxilátcsoportjával alakul ki a peptidkötés, az α -aminosavakhoz hasonlóan ($\text{NH}_2, \alpha\text{-COO}^-$) koordinációval öttagú kelátgyűrű alakulhat ki.

A β -Asp-Gly-nél α -aminosavszerű és β -Ala-Gly-típusú koordináció valósulhat meg. Előbbi esetben az amino- és a karboxilátcsoport koordinációjával öttagú kelátgyűrű, az utóbbiban az aminonitrogén, a deprotonálódott amidnitrogén és a láncvégi karboxilátogén részvételével egy öt- és egy hattagú csatolt kelát kialakulására van lehetőség. A Cu(II)- β -Asp-Gly rendszerben az α -aminosavszerű koordináció a kedvezményezett, a CuL_2 részecske képződik a legnagyobb mennyiségben. Az amidnitrogén deprotonálódása a β -Ala-Gly-hez képest nagyobb pH-n megy végbe.⁷⁶

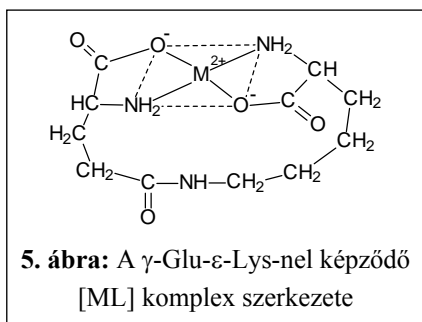
Amíg a β -Asp-X-típusú ligandumoknál az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása csak gátolt, addig azoknál a ligandumoknál, ahol a glutaminsav γ -karboxilátcsoportja vesz részt az amidkötés kialakításában (γ -Glu-Val), ott ennek deprotonálódása egyáltalán nem következik be, aminosavszerű koordinációt tartalmazó CuL és CuL_2 összetételű komplexek képződnek.⁷⁶ Ez nem meglepő, hiszen a terminális aminocsoport és az amidnitrogén kötődésével csak héttagú kelátgyűrű jöhet létre.

A lizin az egyszerű, alifás oldalláncot tartalmazó aminosavakhoz képest egy további aminocsoportot (ϵ -aminocsoport) is tartalmaz. Ez a csoport igen nagy biológiai jelentőségű.⁹¹ A γ -Glu- ϵ -Lys amidkötése a polipeptidláncok közötti keresztkötést biztosítja, így a fehérjék harmadlagos szerkezetének kialakításában van szerepe.⁹² Ezen kívül a vérárvadás folyamatában is alapvető fontosságú ez a

kötéstípus. A Gly- ϵ -Lys és az Ala- ϵ -Lys oligopeptidhidak szerepe az, hogy a baktériumok sejtfalában összekapcsolják a poliszacharidláncokat, s ezáltal peptidoglikán hálózatot alakítsanak ki.^{92,93}

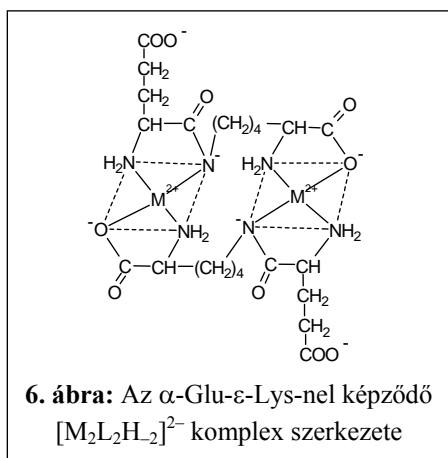
A lizintartalmú dipeptidekben a peptidkötés kialakulhat a lizin α -amino- és a másik aminosav α -karboxilcsoportjának részvételével (természetes peptid), de lehetőség van arra is, hogy a lizin ϵ -aminocsoportja vegyen részt a peptidkötés kialakításában. Ez utóbbi esetben a peptid komplexképző tulajdonságai jelentősen megváltoznak. Ha a lizin ϵ -aminocsoportja vesz részt a peptidcsoport kialakításában, nincs lehetőség a dipeptidszerű koordináció kialakulására, mert a karboxilcsoport nagyon messze kerül az amidcsoporttól. Azonban új koordinációs lehetőség áll elő: a lizin amino- és karboxilátcsoportjának részvételével, α -alaninszerű koordinációval öttagú kelátgyűrű alakulhat ki. Az ilyen típusú peptidok közül a lizin glutaminsavval alkotott dipeptideit vizsgálták.⁹⁴

A γ -Glu- ϵ -Lys-ben a donorcsoportok távol vannak az amidkötéstől, ezért az amidcsoport deprotonálódása, illetve koordinációja nem kedvezményezett. Cu(II)- és Ni(II)-ionokkal is [ML] komplex képződik a legnagyobb mennyiségben; mindkét láncvég α -aminosavszerű koordinációval ugyanahhoz a fémionhoz kötődik, s ezáltal hajlított molekulaalakot igénylő 13-tagú gyűrű alakul ki (5. ábra). Fémionfelesleg esetén a ligandum két vége aminosavszerű koordinációval két fém megkötésére is képes. Ni(II)-ionokkal [NiL₂H]⁻ valamint [NiL₂]²⁻ biszligandumú komplexek is képződnek, ahol mindkét ligandum csak az egyik aminosavrészrel koordinálódik a Ni(II)-ionhoz.



5. ábra: A γ -Glu- ϵ -Lys-nel képződő [ML] komplex szerkezete

Az α -Glu- ϵ -Lys a lizint ugyanolyan pozícióban tartalmazza, mint az előző dipeptid, de a glutaminsav nem a γ -, hanem az α -karboxilcsoportjával vesz részt a peptidkötés kialakításában. Ennek a változásnak két lényeges következménye van: nem áll rendelkezésre két aminosavrész, csak egy – a C-terminális részben – továbbá a peptidkötés olyan közel van a glutaminsav aminocsoportjához, hogy deprotonálódhat és a fémionhoz koordinálódhat. Az előző rendszerben legnagyobb mennyiségben



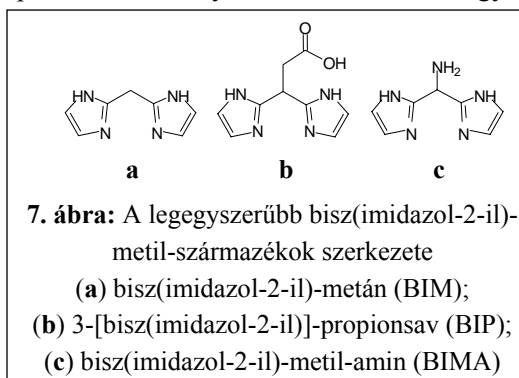
6. ábra: Az α -Glu- ϵ -Lys-nel képződő [M₂L₂H₂]²⁻ komplex szerkezete

jelenlevő [ML] részecske nem alakul ki, itt igen sokféle, többek között számos dimer szerkezetű komplex képződése jellemző. A $\text{pH} > 10$ tartományban a $[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplex van túlsúlyban, melyben mindkét fémionhoz 2-2 amino- és 1-1 amidnitrogén koordinálódik (6. ábra). A réz(II)- és nikkel(II)ionok viselkedése között ebben az esetben nem mutatkozik különbség.

2.3.4. A bisz(imidazol-2-il)-származékok komplexkémiai viselkedése

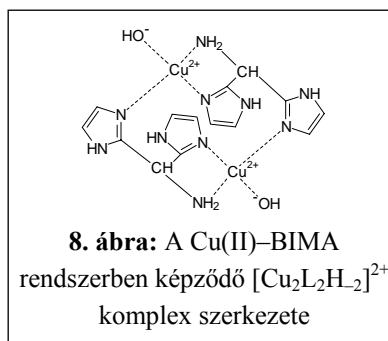
A legegyszerűbb bisz(imidazol-2-il)-vegyületek (7. ábra), a bisz(imidazol-2-il)-metán (BIM) és a 3-[bisz(imidazol-2-il)]-propionsav (BIP) réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)ionokkal történő komplexképzését tanulmányozva azt találták, hogy a

fémion körül a teljes pH-tartományban a bisz(imidazol-2-il)-csoportok koordinálódnak, stabilis mono-, illetve biszkomplexekeket képezve.^{4,5,95,96} A BIM esetén csak 2N koordinációjú $[\text{ML}]^{2+}$ és 4N koordinációjú $[\text{ML}_2]^{2+}$ komplexek alakulnak ki. A BIP karboxilcsoportja protonált komplexek ($[\text{MLH}]^{3+}$, $[\text{ML}_2\text{H}_2]^{4+}$ és $[\text{ML}_2\text{H}]^{3+}$) kialakulását is lehetővé teszi. A BIP



nikkel(II)- és cink(II)ionokkal való komplexképzése a nagyobb pH-tartományok felé tolódik el, a képződő komplexek termodinamikai stabilitása kisebb, így nikkel(II)ionok esetén a protonált komplexek koncentrációja kisebb, cink(II)ionoknál pedig egyáltalán nincsenek jelen. A karboxilcsoport deprotonálódását az oxigén-donoratomok gyenge axiális kölcsönhatása követi, azonban az ekvatoriális koordináció nem változik.

A vizsgálatok azt mutatták, hogy egy aminocsoport jelenléte alapvetően befolyásolja ezt a koordinációs módot. A bisz(imidazol-2-il)-metil-amin (BIMA) komplexképzési folyamatai⁹⁶ sokkal bonyolultabbak, mint a BIM vagy a BIP ligandumoké. pH 4-ig az imidazolnitrogén-donoratomok a kizárólagos fémegkötőhelyek, de az aminocsoport deprotonálódását követően a fémion ehhez a funkciócsoporthoz is kötődik. 7-es pH körül ekvimoláris oldatban $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ összetételű kétmagvú komplexek vannak jelen, melyben az

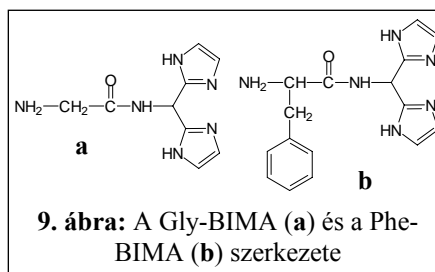


ekvatoriális kötőhelyeket az amino-, egy imidazolnitrogén, egy hidroxidion és a híd szerepét betöltő másik ligandum imidazolnitrogénje foglalja el (8. ábra).

A BIMA kiemelkedő fémmegkötő képessége a Ni(II)- és a Zn(II)-BIMA rendszerben is protonált komplexek jelenlétét eredményezi. Bár ezeknél a fémionoknál nem képződnek vízdoldható dimerkomplexek, a ligandum tridentát koordinációja feltételezhető.

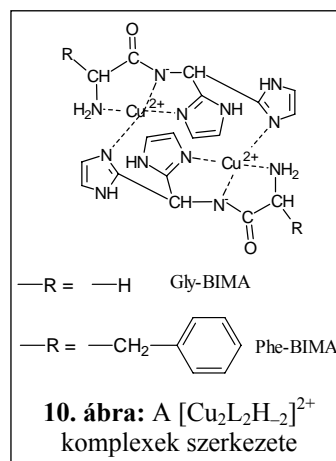
A BIM amino- (BIMA) és karboxilszármazéka (BIP) lehetővé teszi, hogy amidkötés kialakításával aminosavak vagy peptidek C- vagy N-terminális végéhez kapcsoljuk ezt a kelátképző csoportot.^{4,5,97} Ezzel a ligandum potenciális donorcsoportjainak száma növekszik, a bisz(imidazolil)-koordináció és a peptidszerű kötődés között kompetíció alakulhat ki.

Az aminosavszármazékok közül elsőként a legegyszerűbb ligandum, a Gly-BIMA^{7,14,98} és az aromás oldalláncot tartalmazó Phe-BIMA⁹⁹ (9. ábra) komplexképzését tanulmányozták. Mivel a két vegyület azonos funkciócsoportokat tartalmaz, komplexképzési tulajdonságaik nagyon hasonlítanak egymásra. A Phe-BIMA aromás oldallánc csak a biszkomplexe és a vegyes-hidroxokomplex képződését befolyásolja.



pH 5 alatt réz(II)ionokkal mindkét ligandum protonált mono- és biszligandumú komplexeket képez, amelyekben 2, illetve 4 imidazolnitrogén koordinálódik a réz(II)ionhoz, míg a terminális aminocsoport protonált. A Phe-BIMA $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{4+}$ komplexe nagyobb termodinamikai stabilitású, mint a Gly-BIMA-é, ami az aromás oldalláncok közötti stacking kölcsönhatással értelmezhető.

Nagyobb pH-n, ekvimoláris oldatban az aminocsoport deprotonálódásával párhuzamosan lejátszódik az amidnitrogén deprotonálódása is. Az $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im}))$ koordináció kialakulása után a réz(II)ion körül van egy negyedik, szabad koordinációs hely, és a ligandum egyik imidazolilcsoportja még szintén szabad, koordinációra képes. Mindkét ligandumnál $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplex képződik, a feniloldallánc nem befolyásolja a dimer komplex képződését (10. ábra).



A pH 8 felett jelentkező extra lúgfogyasztó folyamat mindkét rendszerben hidroxokomplex képződésével értelmezhető. A Gly-BIMA esetén ekvimoláris

oldatban polimer szerkezetű $[(CuLH_2)_n]$ komplex alakul ki, melyben ötös koordinációs számú, torzult geometriájú réz(II)ion van jelen. A Phe-BIMA-nál pedig egymagvú $[CuLH_2]$ komplex képződik, amelyben a központi fémion koordinációs szférája az imidazol-oldallánc és a fenilcsoport közötti stacking kölcsönhatás miatt tetraédesen torzul.

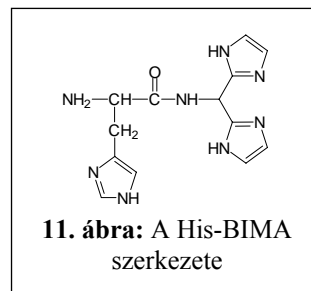
A ligandumok nikkel(II)- és cink(II)ionokkal történő komplexképzését is tanulmányozták.^{96,99} A Gly-BIMA amidnitrogénjének deprotonálódása és koordinációja ezekkel a fémionokkal is megvalósul. Hasonlóan a Cu(II)–Gly-BIMA rendszerhez, savas oldatban a bisz(imidazol-2-il)-csoport a fő fémmegkötőhely, azonban a komplexek kötőmódjában némi eltérés mutatkozik. A réz(II)ion protonált biszkomplexeiben a 4N donoratom ekvatoriálisan koordinálódik, míg a $[NiL_2H_2]^{4+}$ és a $[ZnL_2H_2]^{4+}$ szabályos oktaédes geometriája sokkal flexibilisebb koordinációs környezetet nyújt. Másrészt a viszonylag nagy stabilitású biszkomplexeiben a nikkel(II)- és cink(II)ionok esetén is kissé gátolt az amidnitrogén deprotonálódása a megfelelő réz(II)komplexhez képest. Az amidnitrogén deprotonálódásával kialakuló $[NiL_2]^{2+}$, $[NiL_2H_{-1}]^+$ és $[Ni_2L_2H_2]^{2+}$ komplexeknél a síknégyzetes komplexekre jellemző d-d sáv jelenik meg.

A Phe-BIMA nikkel(II)- és cink(II)ionokkal való komplexképzési reakciói nem ilyen bonyolultak. Ezeknél a fémionoknál is a bisz(imidazol-2-il)-rész nitrogénatomjain kezdődik a koordináció. A legnagyobb különbség a réz(II)- és e két fémion komplexképzési tulajdonságaiban, hogy az amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja az utóbbi két esetben nem következik be.

A His-BIMA oldalláncban erősen koordinálódó funkciócsoportot tartalmaz (11. ábra), ami a nem-koordinálódó oldalláncot tartalmazó aminosavszármazékokhoz képest jelentősen megváltoztatja a ligandum komplexképző tulajdonságait. A His-BIMA komplexképzési folyamatai igen összetettek.⁹⁹ A komplexképződés már erősen savas közegben, a két aromás nitrogéneken megkezdődik. 1:1 fém/ligandum aránynál 2N koordinációt tartalmazó $[CuLH_2]^{4+}$, ligandumfeleslegnél 4N koordinációt tartalmazó $[Cu_2L_2H_{4-i}]^{(6-i)+}$ (ahol $i = 0, 1, 2, 3, 4$) sztöchiometriájú komplexek képződnek.

pH 4 fölött mindkét aránynál $[Cu_2L_2]^{4+}$ összetételű komplex van jelen az oldatban. Ilyen sztöchiometriával számos izomer komplexszerkezet adható meg. A 12. ábrán látható szerkezetek mellett nem zárható ki a $[(CuLH_{-1}H_2)]^{4+}$ komplex jelenléte sem, amely a $[Cu_2L_2H_2]^{2+}$ protonált formájának tekinthető.

A legnagyobb különbség a His-BIMA és a fent említett másik két aminosavszármazék komplexképzési tulajdonságaiban ekvimoláris oldatban, 8-as pH felett figyelhető meg. A $[Cu_2L_2H_2]^{2+}$ komplex a Phe-BIMA-nál egymagvú, a Gly-BIMA-nál többmagvú hidroxokomplexszé alakul. Ezzel szemben a His-



BIMA-nál $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{4+}$ összetételű komplex képződik, melyben a bisz(imidazol-2-il)-rész két pirrol-típusú N(1)H-csoportja deprotonált.

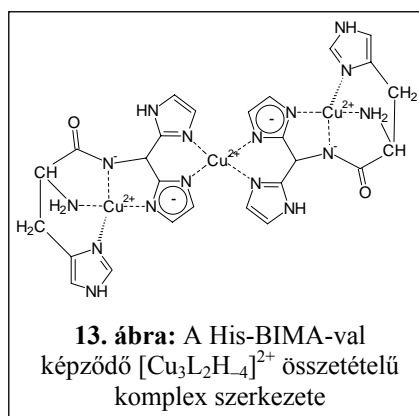
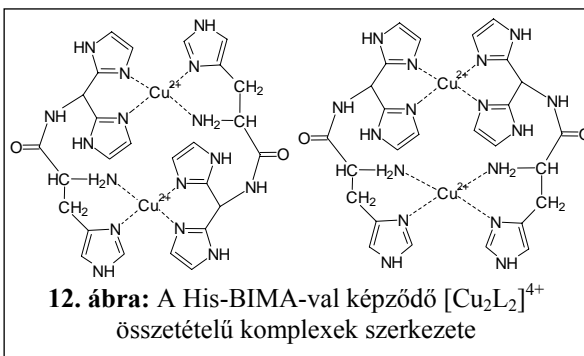
A deprotonált imidazol-N(1)H-csoport fémfelesleg esetén további fémmegkötőhely lehet, ami a hárommagvú $[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_4]^{2+}$ komplex képződéséhez vezet (13. ábra).

Ebben a komplexben a hasonlóan Cu,Zn-SOD aktív centrumához a fémionokat imidazoláto-híd kapcsolja össze.

A Ni(II)–His-BIMA rendszerben savas közegben protonált komplexek vannak jelen, és hasonlóan a megfelelő réz(II)komplexekhez, ezekben is a bisz(imidazol-2-il)-rész koordinálódik. A $[\text{NiL}_2\text{H}_4]^{6+}$ komplexből lépcsőzetes deprotonálódással alakul ki a $[\text{NiL}_2]^{2+}$ komplex, miközben a fémkötőhely nem változik. Azonban a $[\text{NiLH}_2]^{4+}$ komplexből az amino- és a hisztidinnitrogén kooperatív deprotonálódásával és koordinációjával képződik a $[\text{Ni}_2\text{L}_2]^{4+}$ komplex.

A pH növelésével a Ni(II)-ionok hatására is végbemegy az amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja, oktaéderez $[\text{NiLH}_{-1}]^+$, $[\text{NiLH}_{-2}]$ és $[\text{NiL}_2\text{H}_{-1}]^+$ komplexek jelennek meg az oldatban.

A Zn(II)–His-BIMA rendszerben is a bisz(imidazol-2-il)-részen kezdődik a koordináció savas tartományban, azonban a cink(II)komplexek kisebb termodinamikai stabilitása miatt a komplexképződés a nagyobb pH-értékek felé tolódik el, és a teljesen protonált $[\text{ZnL}_2\text{H}_4]^{6+}$ komplex nem mutatható ki az oldatban. Semleges közegben a $[\text{ZnL}]^{2+}$ a fő részecske. Zn(II)-ionoknál is jelentkezik extra lúgfogyasztó folyamat, azonban az amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja nem valósul meg. Az egymagvú $[\text{ZnL}]^{2+}$ komplexben szabad koordinációs hely van, így vegyes-hidroxokomplex képződésével értelmezhető a további lúgfogyasztó folyamat.

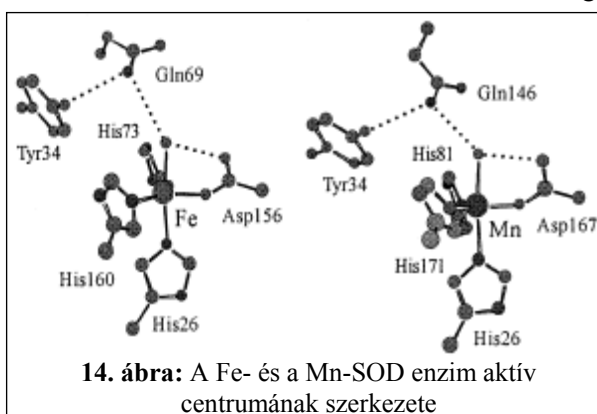


2.4. Szuperoxid-diszmutáz (SOD) enzimek és lehetséges modelljeik

Az életműködéséhez szükséges energiát minden aerob szervezet a táplálékként felvett szerves molekulák oxigén jelenlétében történő lebontásából nyeri. A lebontó folyamat során azonban melléktermékek, úgynevezett szabad gyökök, igen reakcióképes, rövid életű, oxigéntartalmú vegyületek keletkeznek, amelyek erősen oxidáló hatásúak. Ezek reagálhatnak bármely makromolekulával, lipidekkel, fehérjékkel, nukleinsavakkal. Természetesen a legsúlyosabb következménye annak lehet, ha a sejtek működése szempontjából fontos fehérjéket, vagy még inkább, ha a DNS-t károsítják.¹⁰⁰

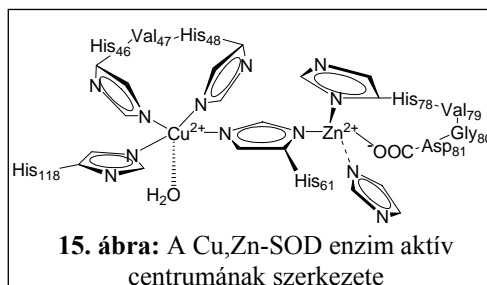
A szabad gyökök valószínű szerepét számos észrevétel bizonyítja, például hogy több szabad gyök termelődik az idősebb állatokban, mint a fiatalabbakban.¹⁰¹ A sejtekben azonban vannak olyan enzimek, – a szuperoxid-diszmutáz, a kataláz és a peroxidáz – amelyek ezeket a szabad gyököket megsemmisítik. Kimutatták, hogy a szuperoxid-diszmutáz szintje magasabb a hosszabb élettartamú állatokban, mint a rövidebb ideig élőkben. A legmagasabb szintet az emberben mérték. Azok az alacsonyabb rendű állatok (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*), amelyek extra mennyiségben tartalmazták bizonyos sejteikben a szuperoxid-diszmutázt, 40%-kal tovább éltek a kontrollállatoknál.¹⁰²

A szuperoxid-diszmutáz enzimeknek számos típusa ismert. Ezek közül a legismertebbek réz és cinket tartalmaznak. A Cu,Zn-SOD valamennyi eukarióta sejtben előfordul. Sok baktérium Mn- és/vagy Fe-SOD-ot tartalmaz. E két utóbbi enzim szerkezete hasonlóságot mutat (14. ábra).¹⁰³⁻¹⁰⁵ Mindkét fémion körül trigonális bipiramisos elrendeződés alakul ki, az ekvatoriális síkban két hisztidinnitrogén és egy aszpartilrész koordinálódik, a harmadik hisztidin és egy oldószermolekula axiálisan kötődik. Ez a molekula hidrogénkötéssel egy glutamilrészhez kapcsolódik, az pedig egy tirozinhoz kötődik.¹⁰⁷ A szuperoxid diszmutázok harmadik típusának aktív centrumában nikkelt találhatók. Ezt az enzimet a *Streptomyces* törzsben¹⁰⁸⁻¹¹⁰ és cianobaktériumokban¹¹¹ mutatták ki.

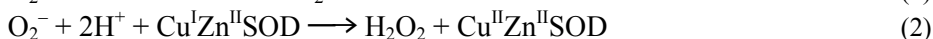


A Cu,Zn-SOD enzim röntgendiffrakciós vizsgálata¹¹² azt mutatta, hogy az enzim két azonos alegységből épül fel, és mindkettő egy imidazolátó-hidas kétmagvú centrumot tartalmaz egy-egy cink(II)- és réz(II)-ionnal, melyek 6,2 Å távolságra vannak egymástól. A Cu(II)-ion négy hisztidinnitrogénhez és egy

víz-molekulához koordinálódik, torzult tetragonális piramisos elrendeződés alakul ki. A Zn(II)-ion körül torzult tetraédes geometria valósul meg: egy aszparaginsav karboxilát-csoportjához és három hisztidinnitrogénhez koordinálódik, ezek közül az egyik a Cu(II)-ionhoz is kötődik negatív töltésű imidazoláto-hidas szerkezetet eredményezve (15. ábra).¹¹³⁻¹¹⁶



A Zn(II)-ionnak elsősorban szerkezetalkító szerepe van, csak a Cu(II)-ion oxidációs száma változik az alábbi reakciókban; amikor is a Cu(II)-ion az első reakcióban redukálódik, majd a képződő a Cu(I)-ion a következő lépésben visszaoxidálódik, miközben az imidazoláto-híd felbomlik, illetve a második lépésben újraképződik:¹¹⁷⁻¹¹⁹



A katalitikus reakció sebességi állandója és a spektroszkópiai tulajdonságok igen széles pH-tartományban (5,0-9,5) csaknem függetlenek a pH-tól.¹¹⁸

Az utóbbi években ezen enzim modellezésére nagyon sok vegyületet állítottak elő, melyek közül sok fémkomplex mutat viszonylag nagy SOD-aktivitást. Az előállított ligandumok több csoportba sorolhatóak. Polipeptidek Cu(II)-komplexeit,^{120,121} polidentát Schiff bázis ligandumokat¹²²⁻¹²⁵ és vegyesligandumú komplexeket^{126,127} is vizsgáltak.

Az enzim modellezésére számos Cu(II)-Cu(II) kétmagvú komplexet állítottak elő. Lippard és mtsai 1976-ban megjelent első közleménye¹²⁸ óta nagyon sokan foglalkoztak ezzel, így közülük csak a legújabbakat emelem ki.^{129,130} Számos Cu(II)-Zn(II) heterodinukleáris komplexekről is beszámoltak már.¹³¹⁻¹³⁴

Igen jó modellnek bizonyultak azok a komplexek, amelyek egy makrokelátot és egy további imidazol ligandumot tartalmaznak. Az így képződő komplexek széles tartományban stabilisak.¹³⁵⁻¹³⁷ Ismertek olyan modellvegyületek is, amelyeknél az imidazolhíd magának a ligandumnak része.¹³⁸⁻¹⁴⁰

Nyíltláncú, nitrogén-donoratomokat tartalmazó ligandummal és az imidazollal kialakuló komplexek aktivitását is vizsgálták.¹⁴¹⁻¹⁴³ Ebben az esetben a keláteffektus eredményeként jöttek létre stabilis komplexek, a SOD-aktivitásuk azonban kisebbnek adódott, mint amit a makrociklusos ligandumok esetén mértek.¹⁴⁴

A kutatások azt mutatják, hogy azoknál a komplexeknél, amelyekben van szabad koordinációs hely a szuperoxid-anion számára, nagyobb SOD-aktivitás mérhető és a kétmagvú komplexek nagyobb SOD-aktivitást mutatnak, mint az

egymagvúak. Úgy tűnik, hogy az aktivitás kapcsolatba hozható a fémcentrum körüli geometria torzulásával,^{145,146} valamint a sztérikus gátlás is szerepet játszik az axiálisan koordinálódó oldószer és a szuperoxid-anion kicserélődésének sebességében.^{147,148}

Az imidazoláto-hidas Cu(II)-Zn(II) heterodinukleáris komplexek vizsgálata a cink(II)ion SOD-beli szerepére is választ ad. A cink(II)ion Lewis-savként gyorsítja a külső szférás elektronátadást a SOD oxidált formája és a szuperoxid-anion, illetve a Cu(I)-Zn(II) forma és a szuperoxid-anion között. A cink(II)ion a réz(II)ion és a szuperoxid-anion redoxpotenciáljának szabályozása révén gyorsítja a szuperoxid-anion oxidációját és redukcióját is a katalitikus ciklusban.¹³⁹

A vizsgálatokból az is kiderül, hogy a bipiridil/fenantrolin ligandumokkal képzett kétmagvú komplexeknek – melyeknél a két fémcentrumot egy imidazolhíd köti össze – kisebb a SOD-aktivitása, mint amit a makrociklusos ligandumok esetén mértek. Ez azzal magyarázható, hogy ezek a ligandumok kevésbé flexibilisek és sztérikus gátlás lép fel. Ugyanakkor ezekben a komplexekben az imidazoláto-híd pH 8,5 és 10,5 között stabilis, ami alapján igen jó modelljei az enzimnek.¹³⁰

Az eddig említett enzimmodellekben a fémionok körüli geometriát igyekeztek megvalósítani, az enzim szerkezetét és működését próbálták modellezni. Egy másik lehetséges megközelítési mód az enzim aktív centrumában található fehérjelánc modellezése oligopeptidek segítségével.

Az enzim aktív centrumában a Cu-kötőhely a His-Val-His tripeptiddel, a Zn-kötőhely a His-Val-Gly-Asp tetrapeptiddel modellezhető. A His-Val-His ligandum a Cu(II)-ionokkal savas pH tartományban hisztaminszerű koordinációt tartalmazó $[\text{CuLH}]^{2+}$ és $[\text{CuL}]^+$ összetételű komplexeket képez. Ez utóbbi komplexben a két hisztidin- és az aminonitrogén kötődésével az enzim fémmegkötőhelyénél is megfigyelhető torzult szerkezetű makrokelát alakul ki. Ez a koordináció egyaránt gátolja a biszligandumú komplexek képződését és az amidnitrogén deprotonálódását, ami így az egyszerű oligopeptidekhez képest nagyobb pH-n játszódik le. A fiziológiás pH-tartományban már $[\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})]$ koordinációjú $[\text{CuLH}_2]^-$ komplex van jelen. A Zn(II)-His-Val-Gly-Asp rendszer $[\text{ZnLH}_2]^{2+}$ komplexében a terminális karboxilátcsoport koordinálódik, a $[\text{ZnLH}]^+$ komplexben az N-terminális imidazol egyfogú kötődését feltételezték, míg a $[\text{ZnL}]$, $[\text{ZnL}_2\text{H}]^-$ és a $[\text{ZnL}_2]^{2-}$ komplexekben szintén hisztaminszerű koordináció valósul meg. Az amidnitrogén deprotonálódása nem következik be, és az enzim fémmegkötőhelyén megfigyelhető $[\text{N}(\text{Im}), \text{COO}^-]$ koordinációjú makrokelát sem alakul ki.¹⁴⁹

Védett amino- és karboxilcsoportot tartalmazó peptidek esetén azt várhatjuk, hogy a képződő komplexek szerkezete jobban hasonlít az enzim aktív centrumához és nagyobb enzimaktivitást mutat, így a két peptid védett származékait (Ac-His-Val-His-NH₂ és Ac-His-Val-Gly-Asp-NH₂) is előállították és vizsgálták.⁸⁶ Ezeknél a peptideknél – hasonlóan az enzim aktív centrumát körülvevő peptidlánchoz –

nincs szabad terminális amino- és karboxilátcsoport, melyek a komplexképzés során horgonycsoportként szerepelhetnének. Így a hisztidinnitrogének a fő fémionkötőhelyek, amik szintén lehetnek horgonycsoportok.

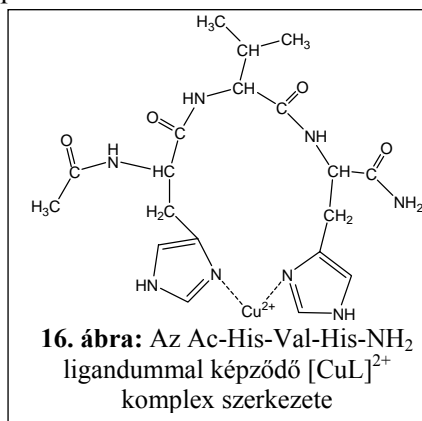
Az Ac-His-Val-His-NH₂ ligandummal is kialakul a torzult szerkezetű makrokelátot tartalmazó [CuL]²⁺ összetételű komplex (16. ábra), a koordinációs mód azonban eltér az előbbtől: csak két hisztidinnitrogén kötődik. A fiziológias pH-tartományban ennél a ligandumnál sincs már jelen ez a részecske, bekövetkezik az amidnitrogének deprotonálódása.

A Zn(II)–Ac-His-Val-Gly-Asp-NH₂ rendszerben kialakul az enzim Zn-kötőhelyére jellemző [N(Im),COO⁻] koordinációjú makrokelát, azonban ez csak savas pH-tartományban van jelen, semleges, lúgos pH-tartományban [ZnLH₁] összetételű vegyes-hidroxokomplex képződik, és az oldatból csapadék válik le.

A Ioanninai Egyetemen a Cu(II)–His-Val-His és a Cu(II)–Ac-His-Val-His-NH₂ rendszerekben SOD-aktivitás méréseket is végeztek. A mért értékek igen kicsik, mivel fiziológias tartományban, ahol az aktivitás mérhető, már koordinatívan telített, 4N-es komplexek vannak jelen. Nagyobb aktivitás olyan torzult szerkezetű komplexek esetén várható, ahol van szabad koordinációs hely. Ez makrokelát szerkezetű komplexek esetén valósulhat meg. Mivel a fent említett két ligandummal képződő makrokelát nem elég stabilis, a további kutatásaink célja az volt, hogy növeljük a CuL makrokelát stabilitását, és képződését eltoljuk a fiziológias pH-tartomány felé. Ehhez egyrészt a valint kisebb méretű aminosavra, a glicinre cseréltük a peptidláncban (Ac-His-Gly-His-NHMe), és ennek szabad karboxilcsoportot tartalmazó származékát is vizsgáltuk (Ac-His-Gly-His), majd ezen két ligandum további hisztidint tartalmazó származékának komplexképzését is tanulmányoztuk (Ac-His-His-Gly-His-NHMe és Ac-His-His-Gly-His).¹⁵⁰

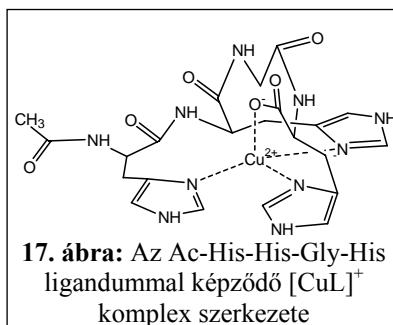
A mindkét végén védett tripeptid komplexképző tulajdonságai igen nagy hasonlóságot mutatnak az Ac-His-Val-His-NH₂ ligandumával. A két rendszerben ugyanolyan összetételű és szerkezetű komplexek jelennek meg, csak az előbbi esetben kis mennyiségben [CuLH₁]⁺ komplex is képződik. Az Ac-His-Gly-His ligandumnál a szabad terminális karboxilátcsoport koordinációja azt eredményezi, hogy ez a komplex nagyobb mennyiségben van jelen.

A tetrapeptideknél a további hisztidin jelenléte növeli a CuL komplexek stabilitását. Ezeknél a ligandumoknál mindhárom hisztidilcsoport koordinálódik, a szabad terminális karboxilátcsoportot tartalmazó peptidnél ez utóbbi csoport axiális irányú koordinációja is feltételezhető (17. ábra). Ennek eredményeként a CuL



komplexek – ellentétben a többi ligandummal – még pH 7 felett is jelen vannak az oldatban. Azonban ezeknél a ligandumoknál is lejátszódik az amidnitrogén deprotonálódása, és a pH további növelésével CuLH_1 , CuLH_2 és CuLH_3 összetételű komplexek képződnek.

Ezekből a vizsgálatokból kiderült, hogy a szabad terminális karboxilátcsoport és a további hisztidin oldallánc jelenléte és koordinációja egyaránt növeli a CuL komplex stabilitását. Ezen eredmények ismeretében folytattuk a SOD-modellként szolgáló ligandumok szintézisét és vizsgálatát.



3. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

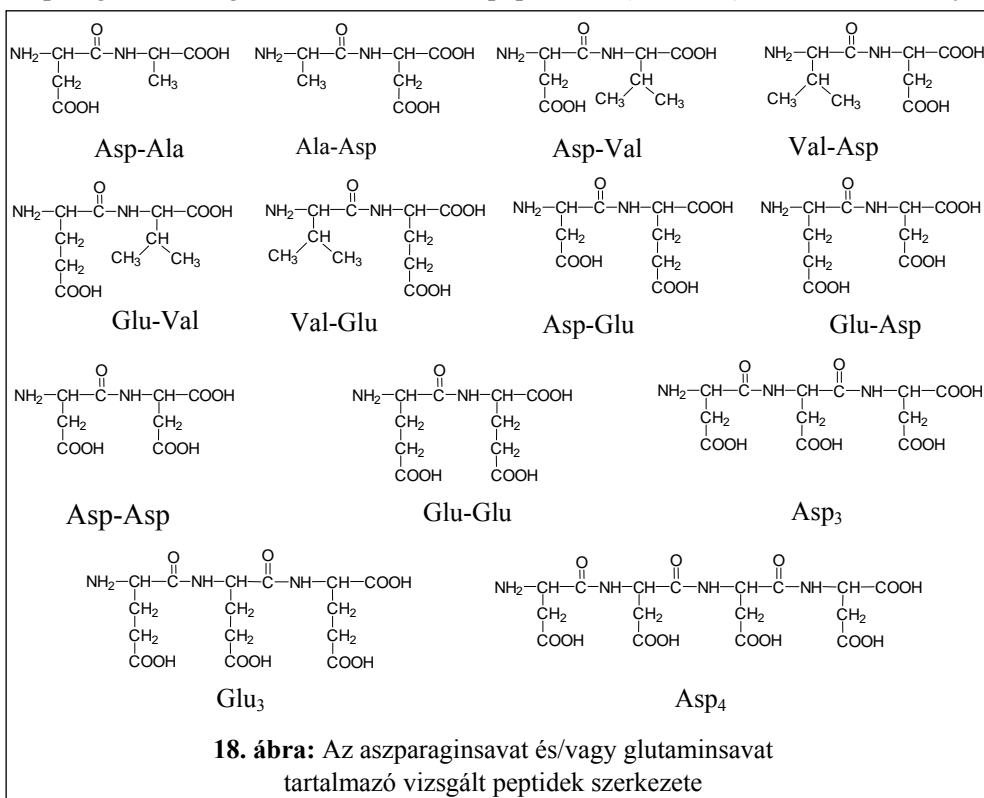
3.1. Felhasznált vegyszerek, vizsgált ligandumok

A CuCl_2 , NiCl_2 , ZnCl_2 és KOH oldatokat a.l.t. minőségű, a Reanal cég által gyártott vegyszerekből készítettük, a pontos fémion-koncentrációkat gravimetriásan oxinát formájában, a sav-, illetve a lúgkoncentrációkat pedig pH-potenciometriásan határoztuk meg.

Az ESR spektroszkópiás vizsgálatokhoz a fém rezet (99,3% ^{63}Cu és 0,7% ^{65}Cu) Oroszországból vásárolták (Moszkva, JV Izoflex), melyet szulfát vegyületté alakítottak.

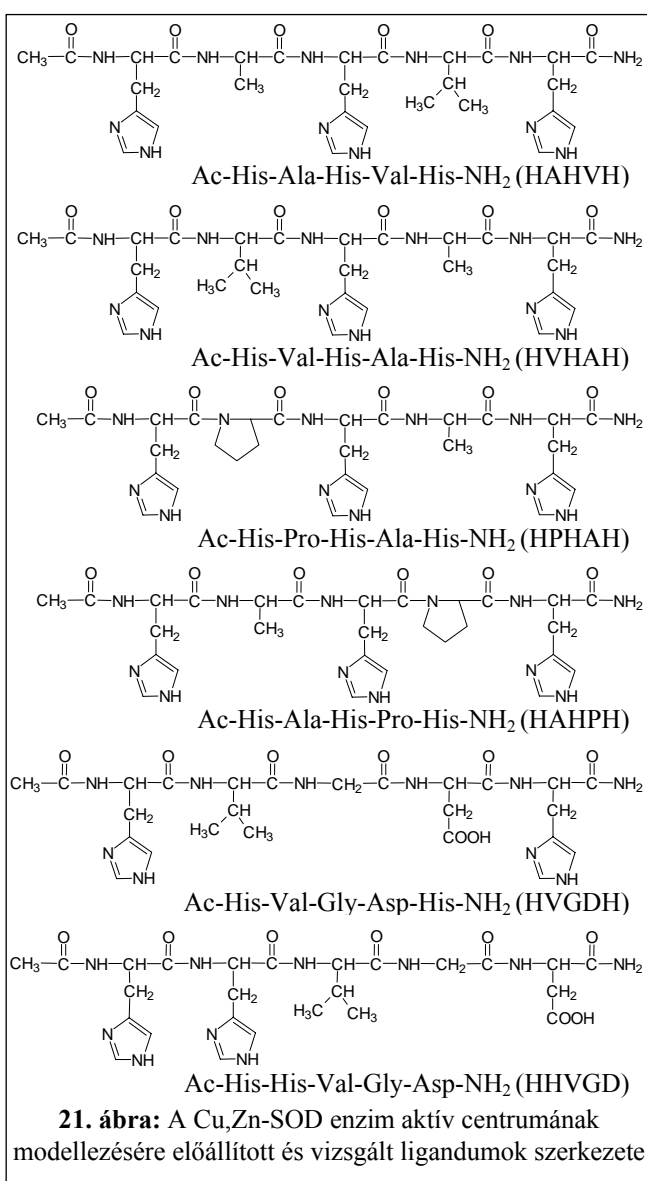
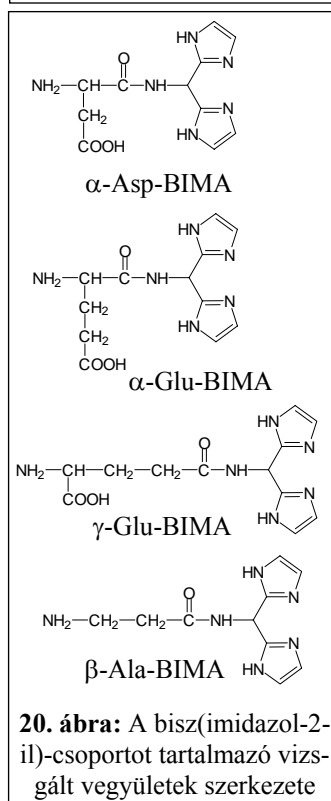
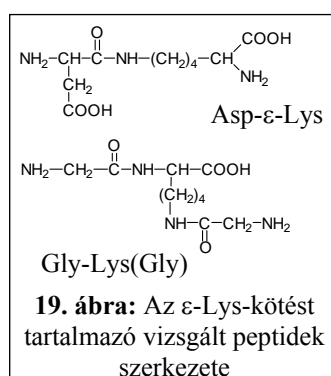
A $^1\text{H-NMR}$ vizsgálatokhoz 99,8%-os izotóptisztaságú, az ISOTEC Inc. cég által előállított D_2O -t, DCl - és NaOD -oldatot használtunk.

A vizsgált ligandumokat altémák szerint csoportosítva mutatom be. Az aszparaginsav- és glutaminsav-tartalmú peptideket (18. ábra), valamint az ϵ -Lys-



kötést tartalmazó peptideket (19. ábra) a svájci BACHEM Feinchemikalen AG cégtől vásároltuk. A bisz(imidazol-2-il)-származékokat (20. ábra) az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoportjában Süliné Dr. Vargha Helga és munkatársai

állították elő. A Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumát modellező ligandumokat (21. ábra) Görögországban, a Ioanninai Egyetemen (University of Ioannina), szilárdfázisú peptidszintézissel állítottam elő. A szintézishez szükséges vegyszereket – a gyantát (H-Linker-CLTR resin) és a védett aminosavakat ((Fmoc-His(N^{im}-Mtt)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH)) – a CBL Chemicals Ltd.-től (Patra, Görögország) vásároltuk.



A vizsgált ligandumok szerkezetét és tisztaságát vékonyréteg-kromatográfia (VRK), NMR-spektroszkópia, nagynyomású folyadékkromatográfia (HPLC), valamint pH-potenciometria segítségével ellenőriztük.

3.2. Peptidszintézis¹⁵¹

A peptideket az azokat felépítő aminosavakból állítottam elő szilárdfázisú peptidszintézissel. Az amidkötés kialakítása két aminosav között energiaigényes folyamat. A karbonsavak magas hőmérsékleten reagálnak az aminosavakkal, és így módon amidok állíthatók elő. Az a hőmérséklet azonban, amelyen az ilyen átalakulás megvalósul, jóval meghaladja az összetett fehérjék esetén biztonságosnak tartott határt. A peptidszintézist általában szobahőmérsékleten vagy az alatt végzik, és azokat a csatolási módszereket, amelyeknél a reakcióelegyet melegíteni kell, nem tekintik általánosan használhatónak. Így a peptidkötés létrehozása végett a kívánt amid kialakításában részt vevő egyik csoportot – vagy a karboxil- vagy az aminocsoportot – aktiválni kell. Az aminocsoport aktiválása olyan kihívás, amelyre mind a mai napig nem találtak célszerű megoldást. Az elektronküldő szubsztituensek növelnék a nitrogénatom nukleofililitását, de a megfelelő csoport, mint pl. a terc-butil-csoport a nagy térkitöltése miatt csökkenti az acetilezés sebességét. Egyelőre a karboxilcsoport aktiválása (C-aktiválás) marad a használatban levő csatolási módszerek alapelve.

1963-ban egy amerikai professzor, R. B. Merrifield egy új módszert publikált a peptidek szintézisére,¹⁵² amely a hagyományos, igen idő- és anyagigényes ún. oldatfázisú eljárásnál sokkal hatékonyabbnak bizonyult. Annak ellenére, hogy kezdetben a módszernek sok ellenzője volt, a szerző a szilárdfázisú szintézismódszer kidolgozásáért 1984-ben Nobel-díjat kapott. A Merrifield-féle szintézis szilárd hordozón (gyantán) történik. Ez olyan finomszemcsés műanyag, amelynek 1 grammjában körülbelül 10 millió szemcse van. A szemcsék felületén és azok belsejében olyan atomcsoportok (funkciócsoportok) vannak, amelyek lehetővé teszik, hogy a szemcsékhez aminosavakat vagy más vegyületeket kapcsolhassunk kémiai kötással. Oldószerként olyan szerves vegyület alkalmazható, amelyben a gyanta jól duzzad, így a reaktánsok könnyen bejuthatnak a szemcsékbe, illetve a melléktermékek elhagyhatják azt. Munkánk során dimetilformamidot (DMF) használtunk.

A szilárdfázisú módszer nagy előnye, hogy kapcsoláskor az aminosavakat és egyéb reagenseket nagy feleslegben lehet alkalmazni – és ezáltal teljesebb átalakulást lehet elérni – mert ezeket a reakció végén egyszerű szűréssel el lehet távolítani. Ezt úgy valósítottuk meg, hogy minden lépés után többször ismételve DMF-dal és izopropanollal (IPA) mostuk a gyantát, majd metanolos mosást követően vákuum alatt szárítottuk. A lehasított peptid oldatát szintén szűréssel

lehet megkapni, és a peptid az oldatból viszonylag tisztán különíthető el. A peptidszintézis lépéseit a 22. ábra mutatja.

A peptidlánc felépítése a C-terminális részről indul – a gyantán levő aminocsoportokhoz kapcsoljuk a csatolni kívánt aminosav karboxilcsoportját. A szintézis során H-Linker-CLTR gyantát – a 2-klorotritil-klorid gyanta egyik módosított változatát – alkalmaztunk.

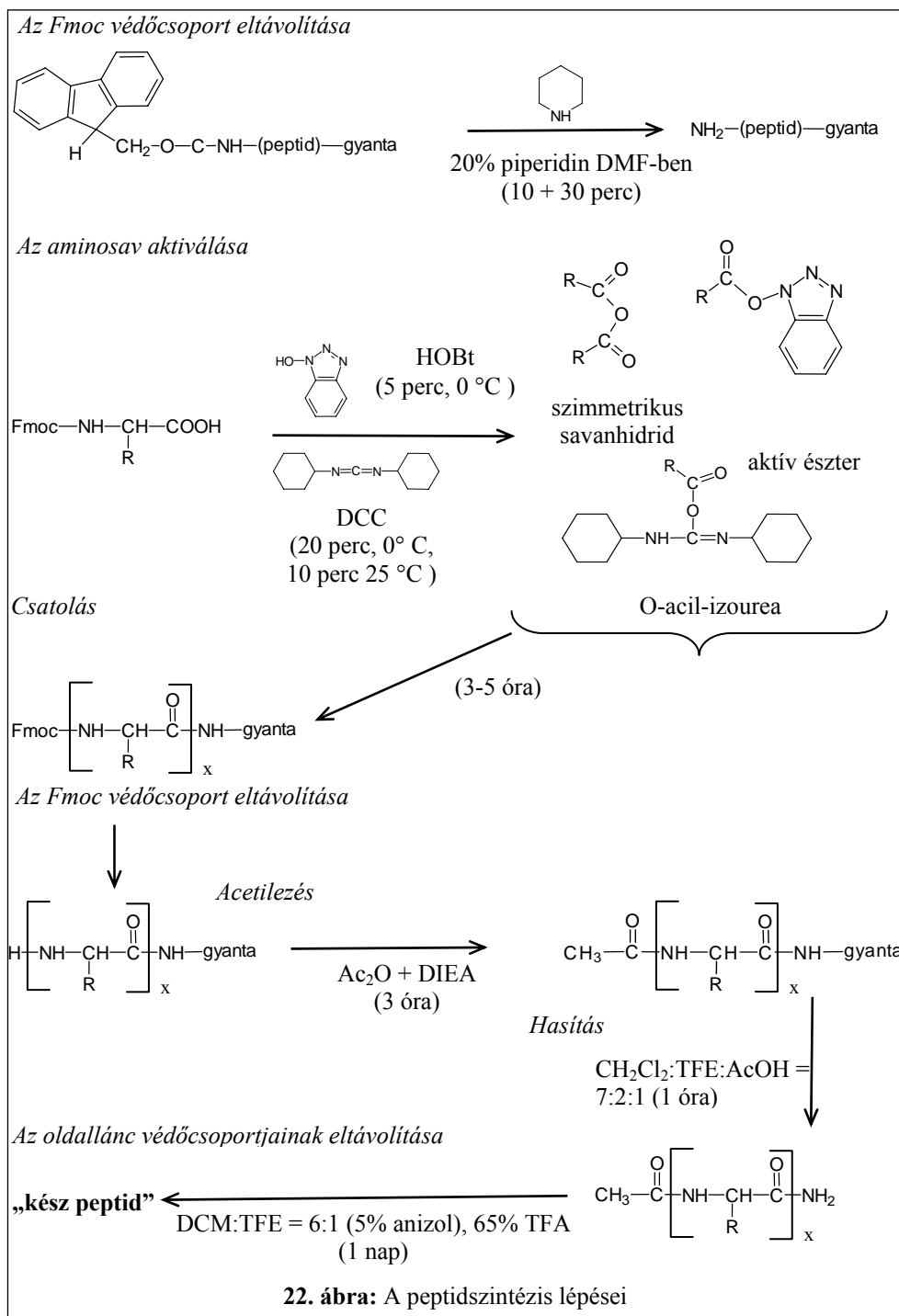
A mellékreakciók elkerülése érdekében az aminosavak azon funkciócsoportjait, amelyek a kapcsolásban nem vesznek részt, védeni kell. Az aminosavak aminocsoportjának átmeneti védésére a 9-fluorenil-metiloxi-karbonilcsoport (Fmoc), az aszparaginsav oldalláncbeli karboxilátcsoportjának védelmére t-tercbutil-csoport (OtBu) szolgált, a hisztidin imidazolnitrogénjéhez 4-metil-tritil-csoportot (Mtt) kapcsolunk.

Az aminosav kapcsolása előtt a gyanta, illetve a már kapcsolt aminosav Fmoc védőcsoportját 20% piperidint tartalmazó DMF-os oldattal eltávolítottuk. Először 10, majd 30 percig reagáltattuk vele a gyantát. Ehhez adtuk az aktivált aminosav oldatát. Az aktiválás során az aminosavat DMF-ban oldottuk, a hidroxibenzotriazol (HOBt) hozzáadása után 5 percig 0 °C-on kevertettük. Ezt követően az oldathoz kapcsoló ágensként diciklohexil-karbodiimidet (DCC) adtuk, 20 percig 0 °C-on, majd 10 percig szobahőmérsékleten kevertettük, és az elegyet a gyantára szűrtük. A peptidkötés kialakuláshoz 3-5 órás reakcióidőt biztosítottunk. Az egyes lépések között VRK-val és Kaiser-tesztel¹⁵³ ellenőriztük, hogy valóban eltávolítottuk-e az aminocsoport védőcsoportját, illetve, hogy teljes volt-e a kapcsolat. Mindkét módszernél ninhidrint alkalmaztunk reagensnek, amely a szabad aminocsoporttal reagál. Így a VRK-n lila színű folt jelent meg, míg a Kaiser-teszt piros vagy kék színnel jelezte a szabad aminocsoport jelenlétét. Amennyiben a tesztek nem a kívánt eredményt hozták, akkor az adott lépést megismételtük.

Ezeket a lépéseket – a védőcsoport eltávolítása, a következő aminosav kapcsolása és ellenőrzés – addig ismételtük, míg a kívánt peptidet elő nem állítottuk. Ezt követően az utolsó aminosav védőcsoportját is eltávolítottuk, majd ecetsavanhidrid (Ac₂O) és N,N-diizopropil-etilamin (DIEA) hozzáadásával acileztük. Ez 3 órát igényelt.

A következő lépés a peptid gyantáról történő lehasítása volt. Ezt diklór-metán (DCM), trifluor-etanol (TFE), és ecetsav 7:2:1 arányú elegyével kb. 1 óra alatt hajtottuk végre. A hasítás után ezen gyanta alkalmazásánál a peptid amidszarmazékát kaptuk. Ezután a peptidet tartalmazó oldatot 40 °C-on vákuum segítségével bepároltuk, majd a kapott olajos állagú anyaghoz hideg étert adtuk. Egy éjszakán át kevertettük, majd az így kapott szilárd anyagot centrifugálással elválasztottuk, és éteres mosás után vákuum-szárítópisztolyban szárítottuk.

A hasítás során a védőcsoportok egy részét is eltávolítottuk, azonban ennek teljességét a peptidhez DCM és TFE 5% anizoltartalmú, 6:1 arányú, 65% trifluor-ecetsavat (TFA) tartalmazó elegyét adtuk. Ezzel egy éjszakán át kevertettük,

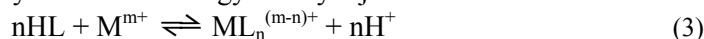


majd a kivált anyagot az előbb ismertetett módon elválasztottuk és szárítottuk.

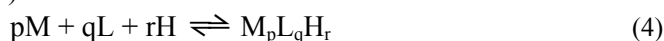
Az így előállított peptideket oszlopkromatográfiásan tisztítottuk. Ehhez 150-200 mg peptidet 1,5-2 ml 1 mM TFA-at tartalmazó vízben oldottunk, és az így kapott oldatot 1 × 48 cm, Sephadex G-10 oszlopra vittük fel. Az eluálószer szintén 1 mM TFA-at tartalmazó víz volt. 2 ml-es frakciókat gyűjtöttünk egy órán keresztül (az áramlási sebesség 1 ml/perc volt). Ezt követően azokkal a frakciókkal dolgoztunk, amelyre a Pauly-teszt¹⁵⁴ pozitív volt. A Pauly-tesztet szűrőpapíron hajtottuk végre. Ehhez néhány mg szulfanilsavat 10-es pH-jú borátpufferben oldottunk fel, és az egyes frakciók szűrőpapíron levő foltjára cseppentettük. Hisztidin jelenléte (így a peptid jelenléte) esetén sárga folt jelent meg. A peptidet tartalmazó frakciókat 40 °C-on vákuum segítségével bepároltuk, a maradékhoz hideg étert adtunk. Egy éjszakán át kevertettük, majd az így kapott szilárd anyagot centrifugálással elválasztottuk, és éteres mosás után vákuum-szárítópisztolyban szárítottuk.

3.3. pH-potenciometria

Az oldatfázisban lejátszódó komplexképződési folyamatok egyensúlyi vizsgálatának egyik legáltalánosabb módszere a pH-potenciometria. Alkalmazhatóságának feltétele, hogy a fémion koordinációja hatással legyen a ligandum protonálódási egyensúlyára, vagyis a komplexképződés az oldat pH-jának megváltozásával járjon. A kompetíciós folyamat az alábbi egyensúllyal jellemezhető:



A bruttó komplexképződési folyamat általános formája (az egyszerűség kedvéért a töltéseket nem tüntettem fel):



A képződő komplexek stabilitási szorzata:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pL_qH_r]}{[M]^p[L]^q[H]^r} \quad (5)$$

A titrálási adatokból a proton- és fémkomplexek stabilitási szorzatát a Tanszéken kifejlesztett PSEQUAD¹⁵⁵, valamint – ennek továbbfejlesztett változata – a SUPERQUAD¹⁵⁶ nevű számítógépes programokkal számítottuk ki. A program képes ugyanazon rendszer különböző fémion/ligandum aránynál vagy koncentrációknál kapott mérési adatait párhuzamosan kiértékelni. A térfogat-pH adatpárok mellett, bemenő adatként meg kell adnunk a komponensek (M, L, H), valamint az asszociátumok (a ligandum különböző protonáltsági fokú részecskéi, a $M_pL_qH_r$ összetételű fémkomplexek, illetve a hidroxokomplexek) számát, azok összetételét az M, L és H komponensekre nézve (p, q, r), és az egyes asszociátumok pontos vagy közelítő stabilitási szorzatait. További kiindulási

paraméter az egyes komponensek kiindulási analitikai koncentrációja, a titráló oldat koncentrációja, a víziószorzat és a mérőegységre jellemző Irving korrekciós tényező. A program a keresett stabilitási szorzatokat az M, L és H komponensekre felírt alábbi anyagmérlegek megoldásával adja, ahol n a rendszerben képződő asszociátumok számát, p, q és r pedig a sztöchiometriai együtthatókat jelöli:

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

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

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

Amennyiben vegyes ligandumú rendszereket vizsgálunk, a komponensek száma eggyel nő a második ligandum miatt, így négy komponensre írható fel az anyagmérleg. A program a kiindulási adatokat felhasználva Newton-Raphson iterációval végzi a közelítést mindaddig, míg a titráló oldatra nézve a $\Sigma(V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}})^2$ értéke minimumot nem ér el (V a titrálóoldat térfogata). A program minden megadott pH-értéknél kiszámolja az összes képződő részecske egyensúlyi koncentrációját és a hozzá tartozó standard deviáció értékét. Az iterációsorozat végén megkapjuk a finomított stabilitási szorzatokat és azok hibáját, valamint az ún. illesztési paramétert, ami a kísérleti és a számított titrálási görbék pontjaihoz tartozó $|V_{\text{mért}} - V_{\text{számolt}}|$ értékek átlaga. Ez az érték a közelítés jószágát jellemzi. A stabilitási állandók közlésekor az utolsó tizedesjegy hibáját zárójelben tüntetem fel. A program egy adott komponensre vonatkozóan megadja az asszociátumok koncentráció-eloszlási görbéit a pH függvényében. A dolgozatban szereplő koncentráció-eloszlásokat a SED program¹⁵⁷ Windows alatt futó változatával, a MEDUSA-val szerkesztettem meg a képződő komplexek összetétele és stabilitási állandója, valamint a komponensek teljes koncentrációjának ismeretében. A fémiont is tartalmazó – három- vagy négykomponensű – rendszerek esetében csak azoknak a részecskéknek a molszázalék [% (n/n)] szerinti eloszlását tüntetem fel, melyekben a fémion sztöchiometriai száma 0-tól különböző.

A méréseket pHM 84 (Radiometer) digitális pH-mérővel és 6.0234.100 (Metrohm) kombinált üvegelektóddal végeztük. A ~0,2 mol/dm³-es, pontosan ismert koncentrációjú KOH-mérőoldat adagolását Dosimat 715 (Metrohm) automata büretta segítségével valósítottuk meg. Azoknak a ligandumoknak a vizsgálatánál, amelyek kisebb mennyiségben álltak rendelkezésre, egy számítógép által vezérelt automata MOL-AcS bürettát és egy MOLSPIN pH-mérőt használtunk, amihez szintén egy Metrohm 6.0234.100 kombinált üvegelektród csatlakozott. A lúgoldatot 1 cm³ végtérfogatú Hamilton fecskendővel adagoltuk.

A lúgoldat koncentrációját valamennyi esetben ismert koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát-oldat titrálási görbéjének Gran-féle linearizálásával határoztuk meg.¹⁵⁸ A diffúziós potenciál kiküszöbölésére és a mért pH-értékből a hidrogénion-koncentráció ($[H^+]$; mol·dm⁻³) számolására az Irving és munkatársai által javasolt módszert¹⁵⁹ alkalmaztuk.

A pH-mérőt 0,050 mol/dm³ kálium-hidrogén-ftalát-oldattal kalibráltuk, melynek pH-ja 25 °C-on 4,008. Az állandó hőmérsékletet (25±0,1°C) ultratermosztáttal, az oxigén kizárását és a kevertetést pedig argongáz átbuborékolatásával biztosítottuk.

A mérésekhez készített minták térfogata 3-10 cm³ volt a rendelkezésünkre álló ligandumok mennyiségétől függően. A ligandumok kezdeti teljes koncentrációja 2,5-4,0·10⁻³ mol/dm³ volt. A ligandumok koncentrációját beméréssel vagy – ahol pontos tömegmérésre nem volt lehetőség a ligandum higroszkóposága miatt – a potenciometriás titrálási görbe ekvivalenciapontjai alapján, a SUPERQUAD program¹⁵⁶ segítségével határoztuk meg.

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

A minták állandó ionerősségét (0,20 mol/dm³) megfelelő mennyiségű 1,0 mol/dm³ koncentrációjú KCl-oldatnak a titrálendő oldathoz való hozzáadásával biztosítottuk. Ez az ionerősség jó pontossággal megegyezik a mérőoldat koncentrációjával, ugyanakkor jóval nagyobb, mint a titrálendő oldat fémion- és ligandumkoncentrációjának az összege. Ez biztosítja azt, hogy a titrálás során az oldat ionerőssége gyakorlatilag ne változzon.

A pH-potenciometria az egyik legfontosabb komplexkémiai vizsgálmódszer, de vannak hiányosságai: pl. ha két részecske képződése azonos pH-effektussal jár, akkor azok nem különböztethetőek meg ezzel a módszerrel. Egyes esetekben egy rendszer több, kémiaiailag reális modellel is jól leírható. Továbbá a meghatározott stabilitási állandók nem adnak felvilágosítást arról, hogy a képződő komplexekben milyen kötőmód valósul meg, milyen a komplex geometriája. Sok esetben megfelelő modellrendszerekkel való összehasonlítással közvetett információt kaphatunk, de legtöbbször különböző spektrális mérések (pl. spektrofotometria, CD, ESR) szükségesek a pH-potenciometriás mérések eredményeinek bizonyításához, kiegészítéséhez.

3.4. UV-látható spektrofotometria

Spektrális vizsgálatokat réz(II)- és nikkell(II)ionokkal végeztünk 300-800, illetve 300-1100 nm-es hullámhossz-tartományban. A spektrumokat Hewlett Packard HP 8453 típusú egysugaras, diódasoros, valamint Perkin Elmer Lambda 25

típusú kétsugaras fotométereken, 1,000 cm-es küvettában vettük fel különböző pH-értékeken, különböző fémion/ligandum arányoknál. A kapott spektrumok elemzését egyrészt a gyártó cég által biztosított kezelő- és kiértékelő programmal végeztük, másrészt a PSEQUAD program segítségével az egyes komplexek spektrumát is meghatároztuk. A spektrumok elemzésével a képződött komplexek szerkezetére, geometriájára, a koordinálódó donoratomok számára és kémiai jellegére lehet következtetni.

Réz(II)komplexek¹⁶⁰ (d⁹-elektronszerkezet)

A réz(II)komplexek spektroszkópiai sajátságait már sokan vizsgálták, így rengeteg irodalmi adat áll rendelkezésünkre. Ennek ellenére nehéz általános törvényszerűségeket levonni a koordinációs módok sokfélesége és a sok befolyásoló körülmény miatt.

A tetragonálisan torzult, oktaédes szerkezetű komplexekben gyenge és erős terű ligandumokkal különbözőképpen ugyan, de mindkét esetben négyfelé hasad az energiadiagram (a d⁹-elektronok energiaszintje oktaédes térben kétfelé hasad a ligandum kristálytér-erősségének megfelelő mértékben, majd a tetragonális torzulás mindkét energiaszintet újabb két-két szintre hasítja). Az így létrejött négy energiaszint között háromféle energiájú d-d átmenetnek kellene megjelennie d_{xz}(d_{yz}) → d_{x²-y²}; d_{xy} → d_{x²-y²}; d_{z²} → d_{x²-y²}. Ezek az átmenetek gyakran összeolvadnak egyetlen sávzá, és az energiájuk, illetve az intenzitásuk erősen függ attól, hogy a ligandumnak hány donoratomja koordinálódik a fémionhoz (2. táblázat).¹⁶¹}}}

2. táblázat: A réz(II)komplexek spektrális paramétereinek függése a koordinált nitrogénatomok számától

Koordinált nitrogénatomok száma	λ_{\max} (nm)	ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)
1	680-730	30-60
2	620-670	40-120
3	540-590	100-150
4	500-530	120-200

Ezen kívül a λ_{\max} értékeket befolyásolja a komplex pontos geometriája és a donoratomok kémiai minősége is. Ez utóbbinak a hatását Sigel és Martin,⁵⁰ valamint Pettit és munkatársai¹⁶² vizsgálták.

A vizes oldatokban jelenlevő [Cu(H₂O)₆]²⁺-ion négy ekvatoriális vízmolekulájának oxigén- vagy nitrogéndonorokkal történő helyettesítése az

abszorpciós maximumot a rövidebb hullámhosszak felé tolja el. Ez az effektus különösen nitrogéndonoroknál jelentős. Kvantitatív összefüggések megadását az nehezíti, hogy az effektus nagysága a donortom kémiai természetén kívül függ a kelátgyűrű méretétől, valamint a ligandumhoz kapcsolódó, de a koordinációban részt nem vevő szubsztituensektől is. Ezeket a hatásokat figyelmen kívül hagyva a közelítő egyenlet 2% pontossággal adja meg a várható λ_{\max} értékét. Gly-tartalmú peptidekre:¹⁶³

$$\lambda_{\max} [\text{nm}] = \frac{10^3}{0,301(\text{C} = \text{O} / \text{H}_2\text{O}) + 0,342(\text{COO}^-) + 0,453(\text{NH}_2) + 0,485(\text{N} =)} \quad (9)$$

Nem Gly-származékok esetében:⁵⁰

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

Sokkal kényelmesebben alkalmazható az egyenlet, ha csak azokat a koordinációs helyeket vesszük figyelembe, ahol a H_2O , OH^- vagy karboniloxigén más koordinálódó csoportokkal van helyettesítve:⁵⁰

$$\lambda_{\max} [\text{nm}] = \frac{10^3}{1,18 + 0,052(\text{COO}^-) + 0,166(\text{NH}_2) + 0,200(\text{N} =) + 0,140(\text{Im})} \quad (11)$$

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

Nikkel(II)komplexek¹⁶⁰ (d^8 -elektronszerkezet)

A nikkel(II)komplexek jellemző koordinációs száma a 4, 5 és 6, ezek közül a leggyakoribb a 4 és a 6.

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

$$\lambda_1 = 1430-770 \text{ nm } ({}^3\text{A}_2 \rightarrow {}^3\text{T}_2 \text{ közötti átmenet})$$

$$\lambda_2 = 910-500 \text{ nm } ({}^3\text{A}_2 \rightarrow {}^3\text{T}_1(\text{F}) \text{ átmenet})$$

$$\lambda_3 = 520-370 \text{ nm } ({}^3\text{A}_2 \rightarrow {}^3\text{T}_1(\text{P}) \text{ átmenet})$$

A komplex geometriájának torzulása a középső sáv felhasadását eredményezheti.

Ezek mellett létezik egy még kisebb intenzitású, spintiltott (${}^3\text{A}_2 \rightarrow {}^1\text{E}$) átmenet is, amely általában csak vállként jelenik meg valamelyik csúcson.

A 4-es koordinációs számú, tetraéderes geometriájú Ni(II)-komplexek elnyelése sokkal intenzívebb ($\epsilon = 10^2\text{-}10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). A látható sáv hullámhossz-tartománya 900-500 nm.

4-es koordinációs számmal gyakran képződnek diamágneses sajátságú, síknégyszetes geometriájú komplexek is, különösen erős terű ligandumok esetén (pl. peptidek amidnitrogénjének kötődése). Ezek könnyen alakulnak ki más geometriájú komplexekből. Az ilyen szerkezetű komplexek 550-400 nm körül adnak egy elég intenzív ($\epsilon = 50\text{-}500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) sávot. Egy második, még intenzívebb sáv található 430 nm alatt, amely gyakran töltésátviteli eredetű.

3.5. Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia¹⁶⁴

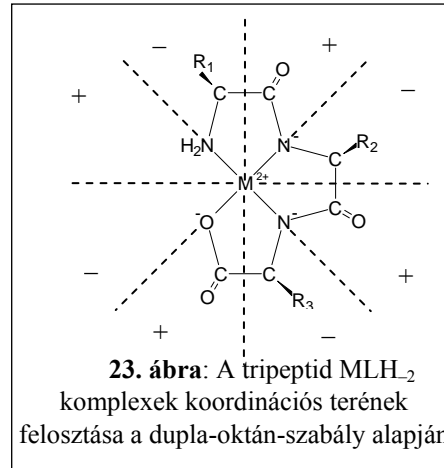
A CD spektroszkópia a polarizált fény és egy optikailag aktív anyag kölcsönhatásán alapuló spektroszkópai módszer. A síkban polarizált fény egy balra és egy jobbra cirkulárisan polarizált fénysugár összegének tekinthető. Az optikailag aktív anyagok a síkban polarizált fény ezen két összetevőjével különbözőképpen lépnek kölcsönhatásba (eltérő a törésmutatójuk), a kilépő fény elliptikusan polarizált lesz. A cirkuláris dikroizmus, vagy más néven Cotton-effektus a síkban polarizált fény két összetevőjének különböző abszorpciója. Az abszorpcióban mutatkozó különbség a teljes abszorpcióhoz viszonyítva igen kicsi, annak kb. 1%-a.

Az optikailag aktív anyagokban a jobbra és a balra cirkulárisan polarizált sugárzás nemcsak különböző törésmutatóval, hanem különböző abszorpciós koefficienssel is jellemezhető. Így a közegen való áthaladás után a két sugár különböző helyen és amplitúdóval találkozik. A kétféle fénysugár abszorpciójának különbségét (pontosabban a $\Delta\epsilon = \epsilon_{\text{bal}} - \epsilon_{\text{jobb}}$ értéket) a hullámhossz függvényében ábrázolva megkapjuk a cirkuláris dikroizmus görbét. A CD görbe maximuma, illetve minimuma az elektrongerjesztési abszorpciós spektrum maximuma helyén, illetve ahhoz igen közel jelentkezik. Optikailag aktív vegyületekben tehát az abszorpciós sávokhoz tartozik a cirkuláris dikroizmus görbe egy-egy sávja. Az utóbbi görbe sávjai viszonylag keskeny Gauss-görbék, ellentétben az elektrongerjesztési spektrum abszorpciós sávjaival, melyek jóval szélesebbek.

A fémkomplexek optikai aktivitása a komplexmolekula aszimmetriájától vagy a ligandum saját – a komplexképződés előtt is meglévő – aszimmetriájától származhat. A komplexmolekula optikai aktivitását okozhatja a központiatom aszimmetriája, vagy a komplexképződés hatására a ligandum donoratomján kialakuló aszimmetria (Meisenheimer-komplex). A koordináció hatására nem csak egy donoratom, hanem egy egész ligandum is aszimmetrikussá válhat, ami szintén a komplex optikai aktivitását eredményezi.

A CD spektroszkópiát számos komplex (elsősorban Cu(II), Ni(II) és Pd(II)) szerkezetének vizsgálatánál alkalmazták.^{49,160} Az egyszerű di- és tripeptidek CD spektroszkópiás vizsgálati eredményeit,¹⁶⁵⁻¹⁶⁸ és az ezekből levonható legfontosabb következtetéseket Sigel és Martin foglalta össze.⁵⁰

Tripeptidek esetén az MLH_2 összetételű komplexekben a deprotonálódott amidnitrogének koordinációja révén a 23. ábrán¹⁶⁵ látható viszonylag merev szerkezet alakul ki. Az oldalláncok és a hidrogénatomok kivételével valamennyi atom egy síkban helyezkedik el, az oldalláncok az alatt vagy felett találhatók. Abban az esetben, ha a ligandum nem tartalmaz egyéb koordinálódó donorcsoportot, akkor ezen komplexek CD spektruma jól értelmezhető az ún. dupla-oktán-, vagy más néven hexadekán-szabállyal. Ennek alapján a



komplex koordinációs síkja feletti és alatti teret 8–8 szektorra oszthatjuk az ábrán látható módon. Két sík a fémion koordinációs kötéseivel meghatározott egyeneseken megy át és merőleges a koordinációs síkra, míg a másik kettő ezekkel 45° -os szöveget zár be és szintén merőleges a koordinációs síkra. Az ábrán látható előjelek az adott szektorban található optikailag aktív csoport hatására bekövetkező Cotton effektus előjelét adják meg. Két szomszédos szektorban az előjel mindig ellentétes. Ennek segítségével magyarázható az a kísérleti tapasztalat, hogy valamennyi L-aminosavakból felépülő, csak nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó tripeptid MLH_2 összetételű komplexének d-d átmenetéhez negatív Cotton effektus tartozik, hiszen az oldalláncok minden esetben olyan térrészbe esnek, amelyhez negatív előjel rendelhető. A komplexek CD spektrumának másik jellegzetessége a jelek intenzitásának additivitása, azaz az egyes (nem koordinálódó) oldalláncok hatása összeadódik. Például a trialanin komplexének CD intenzitása egy adott hullámhosszonon egyenlő a háromféle, egy alaninból és két glicinből felépülő tripeptidek esetén tapasztalt intenzitások összegével. Ez az összefüggés nemcsak az alanin esetén igaz, hanem valamennyi nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó peptidre érvényes.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸ Általánosan megfogalmazva egy X-Y-Z tripeptid komplexének várható CD spektruma adott hullámhosszonon a következőképpen számítható:

$$\Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Y-Z} = \Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Gly-Gly} + \Delta\epsilon_{\lambda}^{Gly-Y-Gly} + \Delta\epsilon_{\lambda}^{Gly-Gly-Z} \quad (12)$$

ahol $\Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Y-Z}$ az adott X-Y-Z tripeptid MLH_2 összetételű komplexének λ hullámhosszonon mért Cotton-effektusa.

Ugyanakkor az azonos kémiai minőségű, de különböző helyzetben lévő (R_1 , R_2 vagy R_3) optikailag aktív csoportok különböző nagyságú Cotton-effektust eredményeznek a következő sorrend szerint:

$$\Delta\varepsilon_{\lambda}^{\text{Gly-X-Gly}} > \Delta\varepsilon_{\lambda}^{\text{Gly-Gly-X}} > \Delta\varepsilon_{\lambda}^{\text{X-Gly-Gly}} \quad (13)$$

A fémionhoz koordinálódó donorcsoportok különböző mértékben képesek továbbítani a királis információt. Hatásuk alapján a következő sorrend állítható fel: deprotonálódott amidnitrogén > karboxilátóxigén > aminonitrogén. Emellett minél távolabb van egy kiralitáscentrum a kromofor csoporttól, annál gyengébb effektust eredményez.

A CD méréseket a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén végeztem. A spektrumokat JASCO-810 spektrométeren, szobahőmérsékletű vizes oldatokban vettem fel különböző pH-értékeknél, illetve fémion/ligandum arányoknál. 0,100 és 1,000 cm-es úthosszúságú küvetákat használtam. Az oldatok koncentrációját úgy állítottam be, hogy az abszorbancia 0,6-1,0 között legyen.

A kapott CD görbék elemzését egyrészt a gyártó cég által biztosított kezelő- és kiértékelő programmal végeztük, másrészt a PSEQUAD program segítségével az egyes komplexek spektrumát is meghatároztuk. A spektrumok elemzésével a képződött komplexek szerkezetére, geometriájára, a koordinálódó donoratombok számára és kémiai jellegére lehet következtetni.

3.6. ESR spektroszkópia

Az elektronspin-rezonancia (ESR) spektroszkópia fontos vizsgálati módszer olyan molekulák és ionok tanulmányozására, melyek párosítatlan elektronokat tartalmaznak, azaz paramágneses sajátságúak. Ebbe a csoportba tartoznak az általunk vizsgált tetragonálisan torzult oktaédes Cu(II)-komplexek is.

A méréseket Olaszországban (Department of Chemistry, University of Sassari) végeztük. A spektrumokat Varian E-9 spektrométeren (9,15 GHz), etilén-glikol hozzáadása után 120 K hőmérsékletűre lehűtött oldatokban vettük fel különböző pH-értékeknél, illetve fémion/ligandum arányoknál. A szobahőmérsékleten készült spektrumokat Bruker EMX spektrométerrel vettük fel. A mérésekhez használt fémtörzsoldat ^{63}Cu izotópot tartalmazott, koncentrációja valamennyi mintában 5 mM volt. Külső standardként difenil-pikril-hidrazint használtunk, melyre $g_{\parallel}^0 = 2,0028$. A komplexek ESR paramétereit az alábbi összefüggések alapján számoltuk:

$$g_{\parallel} = g_{\parallel}^0 \frac{H_0}{H_{\parallel}} \quad (14)$$

$$A_{\parallel} [\text{cm}^{-1}] = \frac{g_{\parallel} \cdot \mu_B \cdot a_{\parallel}}{h \cdot c} \quad (15)$$

ahol H_{\parallel} a mintában mért mágneses térerő [Gauss], H_0 a standard esetén kapott mágneses térerő érték [Gauss], a_{\parallel} a csatolási állandó [Gauss], c a fénysebesség ($2,998 \cdot 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$).

Az ESR spektrumok paramétereiből (A_{\parallel} és g_{\parallel}), már ismert szerkezetű komplexek paramétereivel való összehasonlítás alapján a fémion körül kialakuló koordinációs módra és a koordinálódó atomok kémiai minőségére lehet következtetni. Az ESR spektroszkópia előnye az UV-látható spektrofotometriával szemben, hogy itt keskenyebb csúcsok vannak, így több komplex együttes jelenléte esetén is lehetséges az egyes komplexek ESR paramétereinek a számítása, emellett az ESR spektrumok egymáshoz viszonyított intenzitásából monomer szerkezetek esetén az egymáshoz viszonyított móltört is jól becsülhető. A jelek kiszélesedéséből, és a merőleges tartományban található 7 jel megjelenéséből pedig dimer vagy más oligomer szerkezetek jelenlétére lehet következtetni.

Dimer szerkezetek esetében az ESR spektrum alapján, a merőleges tartományból lehetőség van a Cu-Cu távolság ($R_{\text{Cu-Cu}}$) számolására is a Stevens egyenlet alapján:¹⁶⁹

$$R_{\text{Cu-Cu}} = \sqrt[3]{\frac{0,325 \cdot g_{\perp}^2}{D} \cdot |1 - (3 \cdot \cos^2 \Theta)|} \quad (16)$$

Az egyenletben szereplő Θ szög azt mutatja, hogy milyen szöget zár be egymással a réz(II)ionok koordinációs síkjára merőleges egyenes és a két fémiont összekötő egyenes. Mivel erre a szögre egyéb mérésekből információ nem áll rendelkezésünkre, így ezt a szöveget a számolásoknál 0-nak vettük.

3.7. $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópia

A ligandumok tisztaságát $^1\text{H-NMR}$ mérésekkel ellenőriztük. Emellett két bisz(imidazol-2-il)-származék esetén a protonálódási mikroállandók meghatározásához is ezt a módszert alkalmaztuk.¹⁷⁰

A ligandumokat 99,8 %-os izotóptisztaságú D_2O -ban oldottuk fel. A spektrumok felvételéhez $0,01 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú oldatokat készítettünk. Az oldatok pH-ját DCI- és NaOD-oldatok segítségével állítottuk be a kívánt értékre. A $^1\text{H-NMR}$ spektrumokat BRUKER AM360 MHz FT-NMR készüléken vettük fel, standardként nátrium-3-trimetil-szilil-propánszulfonátot (TSP, $\delta\text{TSP} = 0$) használtunk. A kapott spektrumokat az NMR spektrométer saját szoftverjével, illetve az 1D WinNMR programmal értékeltük ki.

4. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Aszparaginsav- és glutaminsav-tartalmú peptidek

4.1.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai

A vizsgált ligandumok szerkezete a 2. ábrán (28. old.) látható. A ligandumok egy aminocsoportot és 2-5 karboxilcsoportot tartalmaznak. Ennek megfelelően 3-6 deprotonálódási állandóval jellemezhetőek.

A legnagyobb deprotonálódási állandók a protonált aminocsoportokhoz rendelhetőek, a legkisebb deprotonálódási állandók a láncvégi, a középsők pedig javarészt az oldalláncbéli karboxilcsoportoknak tulajdoníthatóak. A karboxilcsoportok protonálódási egyensúlyai azonban jelentősen átfednek egymással, így a deprotonálódási állandók egyes csoportokhoz történő egyértelmű hozzárendelése nem lehetséges. A 3-5. táblázatokban szereplő pK -értékek összehasonlításal azt mutatja, hogy az N-terminális aszparaginsavat és glutaminsavat tartalmazó dipeptidek aminocsoportjának bázicitása valamivel kisebb, mint az első helyen más aminosavat tartalmazó dipeptideké. A tri- és tetrapeptidek esetén a nagy negatív töltés miatt ez a hatás nem jelentkezik.

4.1.2. A ligandumok réz(II)komplexei

4.1.2.1. pH-potenciometria

A 3-5. táblázatok adataiból látható, hogy a vizsgált ligandumoknál jellemzően 1:1 összetételű komplexek jelennek meg. Ugyanakkor az oligoglicin ligandumok réz(II)ionokkal már kis ligandumfeleslegnél is képeznek biszligandumú komplexeket.¹⁷¹ Ezt a folyamatot azonban gátolja a nagy térkitöltésű nemkoordinálódó oldallánc,^{44,50,172} illetve az aszparaginsavat, és glutaminsavat tartalmazó peptidek esetén a ligandum nagy negatív töltése. Így biszligandumú komplexek még azokban a rendszerekben is csak nagy ligandumfeleslegnél képződnek, amelyekben ez a leginkább várható lenne (N-terminális aszparaginsavat tartalmazó dipeptidek). A mi vizsgálati körülményeinknél ez nem állt fenn, ezért valamennyi rendszernél 1:1 komplexeket tartalmazó modellel illesztettük a pH-potenciometriás adatokat. Bár a képződő komplexek összetétele, koordinációs módja hasonló, attól függően, hogy hány aszparaginsavat, illetve glutaminsavat tartalmaznak a peptidek, a töltésük eltérő. A tárgyalás megkönnyítése végett a komplexek töltését nem tüntettem fel. A vizsgált ligandumokkal kialakuló koordinációs módokat a 24. ábra mutatja.

3. táblázat: Az egy aszparaginsavat vagy glutaminsavat tartalmazó dipeptidek deprotonálódási állandói és réz(II)komplexeik stabilitási állandói

	Asp-Ala	Ala-Asp	Asp-Val	Val-Asp	Glu-Val	Val-Glu
pK_1	2,84(1)	2,86(1)	2,83(2)	2,91(1)	3,22(1)	3,15 (1)
pK_2	3,62 (1)	4,23(1)	3,66(1)	4,24(1)	4,14 (1)	4,36(1)
pK_3	7,87 (1)	8,28(1)	7,85(1)	8,11(1)	7,84 (1)	8,05(1)
CuLH	9,97(2)	10,29(5)	10,09(2)	10,02(6)	9,77(3)	10,12(16)
CuL	6,56(1)	6,53(1)	6,50(1)	6,54(1)	5,80(1)	6,36(3)
CuLH ₁	1,80(1)	1,97(1)	1,38(1)	1,94(1)	1,31(1)	1,71(2)
CuLH ₂	-7,81(1)	-7,88(1)	-8,12(2)	-7,78(1)	-8,19 (1)	-7,66(4)
$pK(\text{CuLH}/\text{CuL})^a$	3,41	3,76	3,59	3,48	3,97	3,76
$pK(\text{amid})^b$	4,76	4,56	5,12	4,60	4,49	4,65
$pK(\text{OH})^c$	9,61	9,85	9,50	9,72	9,50	9,37
$\lg\beta(\text{CuL}) - pK_3^d$	-1,31	-1,75	-1,35	-1,57	-2,04	-1,69

^a $pK(\text{CuLH}_n/\text{CuLH}_{n-1}) = \lg\beta(\text{CuLH}_n) - \lg\beta(\text{CuLH}_{n-1})$

^b az amidnitrogén deprotonálódására vonatkozó állandó; $\lg\beta(\text{CuL}) - \lg\beta(\text{CuLH}_1)$

^c a koordinált vízmolekula pK -értéke; $pK(\text{OH}) = \log\beta(\text{CuLH}_1) - \log\beta(\text{CuLH}_2)$

^d Az $M + HL \rightleftharpoons ML + H$ reakcióra vonatkozó állandó

4. táblázat: A két aszparaginsavat és/vagy glutaminsavat tartalmazó dipeptidek és az összehasonlításként használt Ala₂ deprotonálódási állandói és réz(II)komplexeik stabilitási állandói

	Asp-Glu	Glu-Asp	Asp-Asp	Glu-Glu	Ala-Ala ¹⁷³
pK_1	2,64(4)	2,84(3)	2,58(1)	2,91(1)	3,08
pK_2	3,43(2)	3,83(1)	3,37(1)	3,88(1)	8,26
pK_3	4,46(2)	4,55(1)	4,39(1)	4,57(1)	—
pK_4	8,03(1)	8,10(1)	8,11(1)	8,05(1)	—
CuLH ₂	14,55(3)	—	14,45(13)	—	—
CuLH	11,14(1)	11,07(2)	11,27(4)	10,85(2)	—
CuL	7,15(1)	6,89(1)	7,24(3)	6,65(1)	5,33
CuLH ₁	1,75(1)	2,09(1)	2,19(3)	1,63(1)	1,43
CuLH ₂	-7,85(2)	-7,75(1)	-7,87(4)	-8,02(2)	-8,01
$pK(\text{CuLH}_2/\text{CuLH})$	3,41	—	3,18	—	—
$pK(\text{CuLH}/\text{CuL})$	3,99	4,18	4,03	4,20	—
$pK(\text{amid})$	5,40	4,80	5,05	5,02	3,90
$pK(\text{OH})$	9,60	9,84	10,06	9,65	9,44
$\lg\beta(\text{CuL}) - pK_{\text{amino}}^a$	-0,88	-1,21	-0,87	-1,40	-2,93

^a Az $M + HL \rightleftharpoons ML + H$ reakcióra vonatkozó állandó

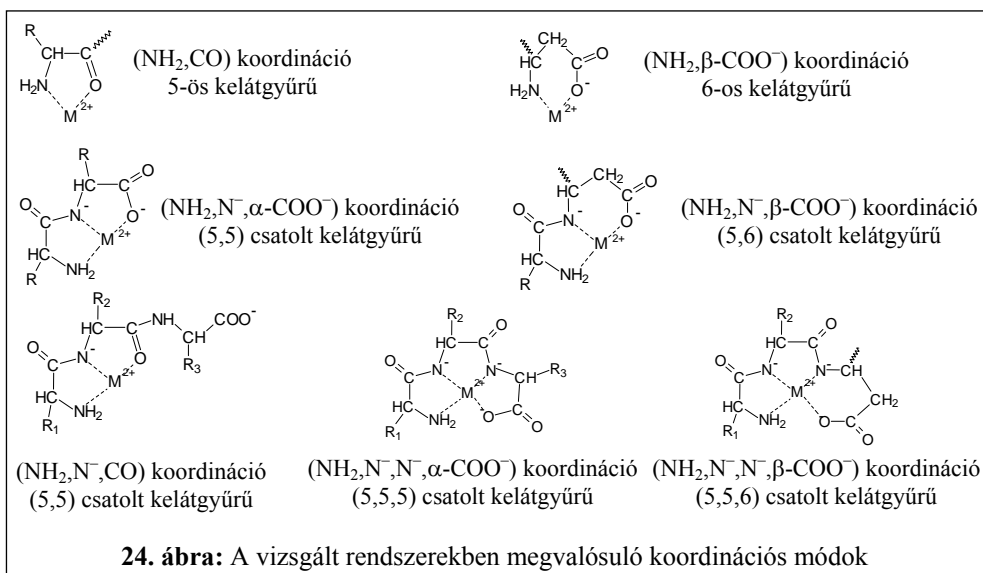
5. táblázat: Az Asp₃, Glu₃, Asp₄ és az összehasonlításként használt ligandumok deprotonálódási állandói és réz(II)komplexeik stabilitási állandói

	Asp ₃	Glu ₃	Asp ₄	Ala ₃ ¹⁷⁴	Ala ₄ ⁷⁸
pK ₁	2,53(1)	3,04(1)	2,69(1)	3,36	3,52
pK ₂	3,25(1)	3,85(1)	3,25(1)	8,08	8,13
pK ₃	3,92(1)	4,29(1)	3,86(1)	—	—
pK ₄	4,78(1)	4,98(1)	4,39(1)	—	—
pK ₅	8,06(1)	8,02(1)	5,01(1)	—	—
pK ₆	—	—	8,15(1)	—	—
CuLH ₃	18,67(5)	—	20,44(1)	—	—
CuLH ₂	15,62(2)	15,18(5)	16,71(1)	—	—
CuLH	11,94(1)	10,65(3)	12,76(1)	—	—
CuL	7,74(1)	5,69(2)	8,02(1)	4,81	4,77
CuLH ₋₁	2,78(1)	-0,01(1)	2,78(1)	-0,17	-0,45
CuLH ₋₂	-5,82(1)	-6,91(2)	-4,72(1)	-7,01	-8,09
CuLH ₋₃	—	—	—	-18,21	-17,33
pK(CuLH ₃ /CuLH ₂)	3,05	—	3,73	—	—
pK(CuLH ₂ /CuLH)	3,68	4,53	3,95	—	—
pK(CuLH/CuL)	4,20	4,96	4,74	—	—
pK ₁ (amid)	4,96	5,70	5,24	4,98	5,22
pK ₂ (amid) ^a	8,60	6,90	7,50	6,84	7,64
lgβ(CuL) – pK _{amino}	-0,32	-2,33	-0,13	-3,27	-3,36

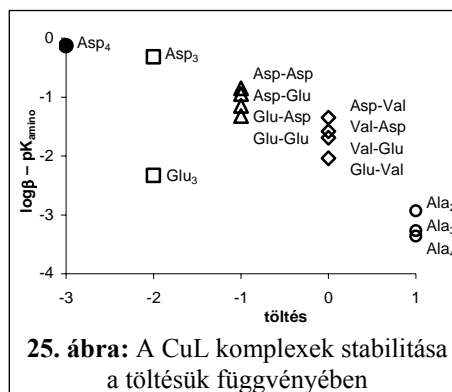
^a a második amidnitrogén deprotonálódására vonatkozó állandó; lgβ(CuLH₋₁) – lgβ(CuLH₋₂)

A titrálás kezdeti szakaszában protonált komplexek vannak jelen, amelyekben (NH₂,CO) koordinációval öttagú, vagy az N-terminális aszparaginsavat tartalmazó peptidek esetén, az oldalláncbéli β-karboxilátcsoport részvételével, (NH₂,β-COO⁻) koordinációval hattagú kelátgyűrű alakul ki. A CuL komplex képződését nem kíséri semmilyen spektrális változás, ami alapján ugyanaz a koordinációs mód valósul meg benne, mint az előbbieken, csak ennél a részecskénél valamennyi karboxilcsoport deprotonálódott.

Ha a CuL komplexek stabilitási állandóinak az aminocsoport bázicitásával korrigált értékeit (A 3-5. táblázat utolsó sora) összehasonlítjuk, akkor láthatjuk, hogy az első helyen aszparaginsavat tartalmazó peptidek CuL komplexének stabilitása nagyobb, mint a többi peptidé, ami az ezeknél a peptideknél kialakuló (NH₂,β-COO⁻) koordinációval magyarázható.



A 25. ábra ezen táblázatbeli adatok grafikus ábrázolását mutatja. A CuL komplexek termodinamikai stabilitását a töltésük függvényében ábrázoltam. Látható, hogy a komplex töltésének semlegesítésével, illetve a negatív töltés növekedésével az aszparaginsav-tartalmú peptid komplexének stabilitása növekszik. Amíg az egyszerű peptid esetében (csak alanint tartalmazó peptid) a komplexek stabilitása a dipeptidtől a tetrapeptid irányába csökken, addig az

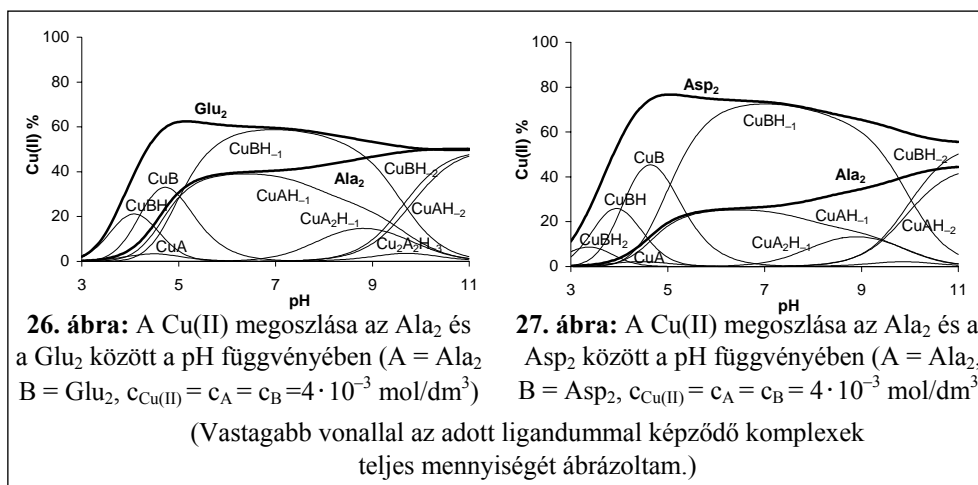


aszparaginsav-tartalmú peptideknél a sorrend épp fordított. Ugyanakkor a glutaminsav-tartalmú peptid esetén a stabilitási állandó maximumgörbe szerint változik, a legnagyobb stabilitás a -1 töltésű CuL komplexeknél jelentkezik. A komplex negatív töltésének további növekedése a stabilitási állandó csökkenését eredményezi, ami a glutaminsavrész nemkoordinálódó karboxilátcsoportjai közötti tasztítással értelmezhető. Az aszparaginsav- és glutaminsav-tartalmú peptid komplexei közötti különbség rámutat arra, hogy az előbbieket stabilitásnövekedése nem értelmezhető pusztán az elektrosztatikus kölcsönhatásokkal, hanem legalább két tényező játszik szerepet; az N-terminális aszparaginsavat tartalmazó dipeptid esetén az $(\text{NH}_2, \beta\text{-COO}^-)$ koordinációval kialakuló hattagú kelátgyűrű a fő stabilizáló tényező, míg a hosszabb peptid esetén az oldalláncbeli

karboxilátsoportok axiális irányú koordinációja szintén hozzájárul a komplex stabilitásának növekedéséhez. Ugyanis ez utóbbi esetben, minél nagyobb tagszámú a peptid, annál inkább lehetőség van arra, hogy további karboxilátsoportok is kötődjenek a fémionhoz, ami növeli a komplex stabilitását.

A dipeptidekben a C-terminális aszparaginsav szerepe az amidnitrogén deprotonálódásával és koordinációjával kialakuló CuLH_{-1} komplexekben jut kifejezésre: a C-terminális aszparaginsavat tartalmazó dipeptidek komplexének stabilitása nagyobb, mint a többi peptidé. Ebben az esetben a második helyen levő aszparaginsav oldalláncbeli karboxilátsoportjának koordinációja eredményezi a stabilitásnövekedést. Ugyanez a hatás a tri- és tetrapeptidek CuLH_{-1} komplexeinél is megfigyelhető.

A 26-28. ábrákon látható, hogy hogyan befolyásolja a peptid rézion-megkötőképességét az egyes aminosavak peptidláncbeli helyzete. Valamennyi ligandum esetén az egyes rendszerek stabilitási állandóit felhasználva, az Ala_2 :vizsgált ligandum: $\text{Cu(II)} = 1:1:1$ arányánál végeztünk modellszámítást, és az adott ligandummal képződő komplexek mennyiségét összegezve azt is feltüntettük, hogy a réz(II)-ion hogyan oszlik meg a két ligandum között. Ezzel az ábrázolással az adott ligandum fémion-megkötőképességét a dialaninhoz hasonlíthatjuk.

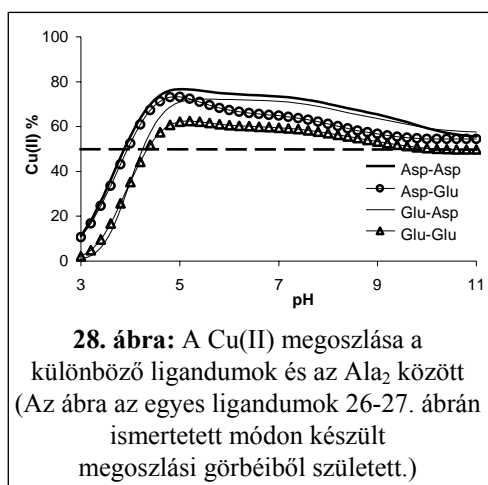


A 28. ábrán a 4. táblázatban szereplő négy vizsgált ligandumra kapott teljes megoszlásokat együttesen ábrázoltam. Ezek közül a Glu_2 rézion-megkötőképessége a legkisebb, de az összehasonlító dipeptidétől, az Ala_2 -tól nem kisebb. Abban a tartományban, ahol a CuL és a CuLH_{-1} összetételű komplexek képződnek, a Glu_2 nagyobb arányban képez komplexet, mint az Ala_2 , míg a CuLH_{-2} komplexek képződési tartományában e két ligandum rézion-megkötőképessége azonos. Ennek alapján a CuL és a CuLH_{-1} komplexeknél a γ -karboxilátsoportnak is lehet

stabilizáló hatása, egyrészt az axiális irányú koordinációja, másrészt a töltése révén.

Az Asp₂ a teljes pH-tartományban nagyobb arányban köti a réz(II)ionokat, mint az Ala₂. A komplexek stabilitásának növekedése – ahogy már korábban is elemeztük – az első, illetve a második helyen levő aszparaginsav karboxilátcsoportjának koordinációjával értelmezhető.

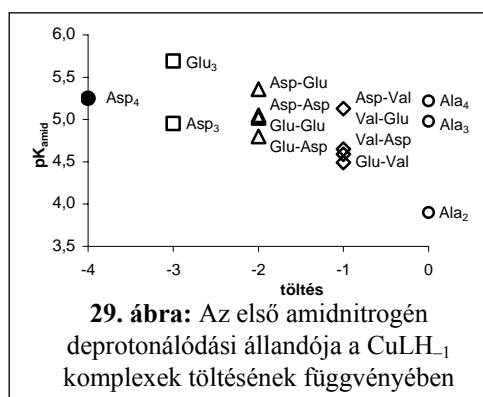
A 28. ábrán az Asp-Glu példája jól tükrözi az első, a Glu-Asp pedig a második helyen levő aszparaginsav szerepét: az Asp-Glu ligandum Ala₂-hoz viszonyított rézion-megkötőképessége a CuL komplex képződésének tartományában a legnagyobb, a pH növelésével egyre inkább közelít hozzá. A Glu-Asp esetén a CuLH₁ és a CuLH₂ komplexek képződési tartományában lényegesen meghaladja az Ala₂ fémion-megkötőképességét, gyakorlatilag megegyezik az Asp₂ fémion-megkötőképességével.



28. ábra: A Cu(II) megoszlása a különböző ligandumok és az Ala₂ között (Az ábra az egyes ligandumok 26-27. ábrán ismertetett módon készült megoszlási görbéiből született.)

Az N-terminális és C-terminális aszparaginsavrész eltérő hatásának megfelelően a CuL komplexek stabilitási sorrendje a Glu₂ < Glu-Asp < Asp-Glu ~ Asp₂ irányba, a CuLH₁ komplexeké a Glu₂ < Asp-Glu < Glu-Asp ~ Asp₂ irányba növekszik.

A CuLH₁ komplexek relatív stabilitása az első amidnitrogén deprotonálódási állandóinak segítségével is összehasonlítható (3-5. táblázat) Ha a réz(II)komplexek első amidnitrogénjének deprotonálódási állandóját ábrázoljuk a töltésük függvényében (29. ábra), akkor látható, hogy a dipeptidek esetén a komplex negatív töltésének növekedésével az amidnitrogén deprotonálódása nagyobb pH-n játszódik le, mint a dialaninnál. Ez csak részben a töltés hatása; ehhez hozzájárul az is, hogy ha az első helyen aszparaginsav van, akkor az (NH₂,β-COO⁻) koordináció gátolja a folyamatot. Ennek megfelelően az első helyen aszparaginsavat tartalmazó dipeptideknél legnagyobb ez az érték. Ugyanakkor az Asp₃ esetén kisebb pH-n



29. ábra: Az első amidnitrogén deprotonálódási állandója a CuLH₁ komplexek töltésének függvényében

játszódik le ez a folyamat, mint a Ala₃-nál; a második helyen levő aszparaginsav ebben az esetben elősegíti az első amidnitrogén deprotonálódását. Ezzel szemben a Glu₃ ligandumnál az amidnitrogén deprotonálódása kicsit gátolt az Ala₃-hoz képest, ami a képződő komplex nagyobb negatív töltésének tulajdonítható. (Az Ala₃ CuLH₁ komplexe semleges, míg a Glu₃ komplexének 3- töltése van.) Ezt a nagy negatív töltést semmi nem kompenzálja, ellentétben az Asp₃ ligandummal, ahol a második helyen levő β-karboxilátcsoport koordinációja csökkenti ezt a hatást. Így érthető, hogy a komplex képződése ebben az esetben nagyobb pH-n következik be.

A pH további növelésével valamennyi rendszerben megjelenik a CuLH₂ összetételű komplex, azonban ez a dipeptidek esetén vegyes-hidroxokomplex, míg a másik három ligandumnál a második amidnitrogén deprotonálódásával kialakuló (NH₂,N⁻,N⁻,COO⁻) koordinációjú részecske.

A dipeptideknél a CuLH₂ komplex képződésére vonatkozó p*K*-értékeket vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a komplex negatív töltésének növekedésével a hidroxokomplexek képződése kevésbé kedvezményezett.

A tri- és tetrapeptideknél a CuLH₂ komplex képződésekor a spektrális paraméterek jelentősen változnak, ami a koordinált nitrogén-donoratomok számának növekedésére utal. Az egyszerű tripeptideknél (NH₂,N⁻,N⁻,α-COO⁻), a tetrapeptideknél (NH₂,N⁻,N⁻,CO) koordinációval három csatolt ötös kelátgyűrű alakul ki. A 6. táblázatban szereplő adatokból arra következtethetünk, hogy a Glu₃ CuLH₂ komplexében az egyszerű tripeptidekre jellemző koordinációs mód valósul meg, míg az Asp₃ ligandumnál az oldalláncbeli karboxilátcsoport is szerepet játszik a Cu(II)-ion koordinációjában.

Amíg az Asp₃-nál az első amidnitrogén deprotonálódását elősegítette a második helyen levő aszparaginsav, addig a második amidnitrogén deprotonálódását már gátolja; a CuLH₁ komplexben kialakuló (NH₂,N⁻,β-COO⁻) koordináció jelentős stabilizáló tényező, így a CuLH₂ komplex képződése gátolt az Ala₃-hoz képest. Ezzel szemben a Glu₃ és az Ala₃ második amidnitrogénjének deprotonálódási állandója gyakorlatilag megegyezik, a második amidnitrogén deprotonálódása a Glu₃-nál nem gátolt, és a két deprotonálódási lépés jelentősen átfed egymással.

Az Asp₄-nél sem jelentkezik jelentős különbség a két amidnitrogén deprotonálódása között. Bár ugyanaz a koordinációs mód valósul meg ennél a ligandumnál is, mint az Asp₃-nál, de az Asp₄-nél a ligandum nem koordinálódó része nagyobb méretű és töltésű, így az, mint nemkoordinálódó oldallánc lazítja a komplexet, csökkenti a CuLH₁ komplex stabilitását. Ennél a ligandumnál az (NH₂,N⁻,β-COO⁻) koordináció kevésbé kedvező, ezért a második amidnitrogén deprotonálódása kisebb pH-n játszódik le.

A várakozásoknak megfelelően, a harmadik amidnitrogén nem deprotonálódik az Asp₄ esetén. A CuLH₂ komplexben kialakuló (NH₂,N⁻,N⁻,β-COO⁻) koordináció olyan mértékben stabilizálja a komplexet, hogy az egyszerű tetrapeptidektől eltérően, ennél a ligandumnál nem alakul ki 4N-es komplex. Az Ala₄ ligandumnál a harmadik amidnitrogén deprotonálódási p*K*-értéke 9,24, a képződő komplex töltése 2-. Az Asp₄ CuLH₃ komplexének képződését két tényező is akadályozza: igen kedvező az (5,5,6) csatolt kelát kialakulása a harmadik helyen levő aszparaginsav oldalláncbeli karboxilátcsoportjának koordinációjával, illetve az Asp₄ CuLH₃ komplexének töltése 6- lenne.

4.1.2.2. UV-látható spektroszkópia

6. táblázat: A vizsgált ligandumok réz(II)komplexeinek abszorpciós és ESR spektrális paraméterei

	CuLH ₁				CuLH ₂			
	λ _{max} (ε)	g	A	g /A	λ _{max} (ε)	g	A	g /A
Asp-Ala	633(93)	—	—	—	635(89)	—	—	—
Ala-Asp	626(85)	—	—	—	626(80)	—	—	—
Asp-Val	632(96)	—	—	—	629(88)	2,247	158	142
Val-Asp	627(88)	2,244	191	117	630(85)	2,241	164	137
Glu-Val	629(99)	2,242	187	120	629(89)	2,248	158	142
Val-Glu	633(92)	2,244	186	121	633(86)	2,249	153	147
Asp-Glu	636(91)	2,237	186	120	636(91)	2,247	153	147
Glu-Asp	629(90)	2,242	192	117	629(85)	2,249	161	140
Asp ₂	629(88)	2,243	192	117	629(84)	2,248	171	131
Glu ₂	634(101)	2,237	186	120	632(94)	2,245	154	146
Asp ₃	633(92)	2,243	180	125	547(164)	2,204	206	107
Glu ₃	—	2,242	182	123	550(175)	2,203	195	113
Asp ₄	630	2,245	190	118	549(149)	2,201	204	108

A táblázatban szereplő mennyiségek mértékegységei: λ_{max}: nm, ε: M⁻¹cm⁻¹, A_{||}: 10⁻⁴cm⁻¹.

Az igen hasonló koordinációs mód miatt a komplexek spektrális tulajdonságai hasonlóak. Spektrális paramétereket csak a CuLH₁ és a CuLH₂ komplexekre tudunk megadni (6. táblázat), mivel 1N-es komplexek (CuLH₂, CuLH, CuL) kis

koncentrációban vannak jelen, és a lényegesen kisebb spektrális effektusukat elnyomja a CuLH_{-1} komplexek spektrális effektusa. A dipeptidek CuLH_{-1} és CuLH_{-2} komplexeinek elnyelési maximuma 630 nm körüli érték. Mivel az azonos koordinációs módú, de különböző nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó peptidek komplexeinek elnyelési maximuma között is ± 5 nm eltérés lehet, csak az azonos aminosavakból felépülő dipeptideket hasonlíthatjuk össze. Látható, hogy a második helyen aszparaginsavat tartalmazó dipeptidek CuLH_{-1} komplexének elnyelési maximuma kisebb hullámhossznál van, mint a fordított aminosavsorrendű dipeptideké. Az előbbi esetben (5,6), az utóbbiban (5,5) csatolt kelátgyűrű alakul ki. Ugyanez a tendencia figyelhető meg a Gly- β -Ala és a Gly-Gly esetén is, ahol a CuLH_{-1} komplexek elnyelési maximuma 630, illetve 640 nm, tehát az (5,6) csatolt kelátgyűrűt tartalmazó komplexek abszorpciós maximuma a kisebb hullámhossz-tartományba esik.⁸⁹ A 6. táblázatban az is látható, hogy a dipeptideknél a CuLH_{-2} komplex képződése nem eredményez jelentős változást az abszorpciós spektrumban, ami hidroxokomplex jelenlétére utal. Ugyanakkor az Asp_3 , és Asp_4 CuLH_{-2} komplexének paraméterei jelentősen eltérnek a CuLH_{-1} komplexekétől. A CuLH_{-1} komplexben a dipeptidekkel azonos koordinációs mód valósul meg. Ezt a spektrális paraméterek megerősítik. Az Asp_3 , Glu_3 és Asp_4 CuLH_{-2} komplexek spektrális paramétereinek hasonlósága alátámasztja, hogy mindhárom ligandummal ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \text{COO}^-$) koordináció alakul ki. Az Asp_4 -nél ez úgy valósul meg, hogy a harmadik aminosavrész β -karboxilátcsoportja foglalja el a negyedik koordinációs helyet.

4.1.2.3. CD spektroszkópia

A protonált komplexek és a CuL komplex CD aktivitása igen kicsi; egyrészt a részecskék kis koncentrációja miatt, másrészt mert az ezekben megvalósuló (NH_2, CO) és ($\text{NH}_2, \beta\text{-COO}^-$) koordináció csak kevésbé képes a királis információt közvetíteni.^{50,175} Ugyanakkor a CuLH_{-1} és a CuLH_{-2} komplexeknek jól mérhető CD aktivitásuk van, ami alapján szerkezeti információk nyerhetőek.

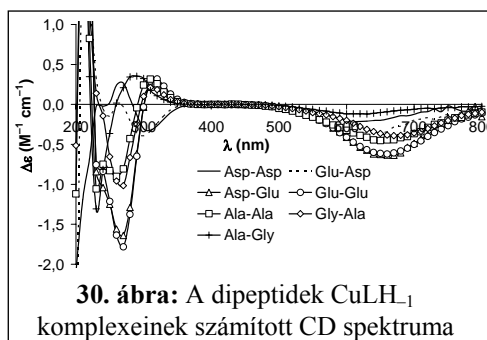
A 7. táblázat a csak aszparaginsavat és glutaminsavat tartalmazó peptidek, valamint az összehasonlításhoz használt alanin-peptidek réz(II)komplexeinek CD paramétereit tartalmazza.

A 30. ábrán a dipeptidek CuLH_{-1} komplexeinek CD spektruma látható. Ez azt mutatja, hogy a CD-aktivitás szempontjából a második, a C-terminális helyen levő aminosav a meghatározó. A Cu(II)-Ala-Gly rendszer spektruma, ahol ligandum második aminosavának nincs kiralitáscentruma, a többi ligandumétól jelentősen eltér. A második helyen azonos aminosavat tartalmazó peptidek (az Asp-Asp és a Glu-Asp, az Asp-Glu és a Glu-Glu, illetve az Ala-Ala és a Gly-Ala) spektruma

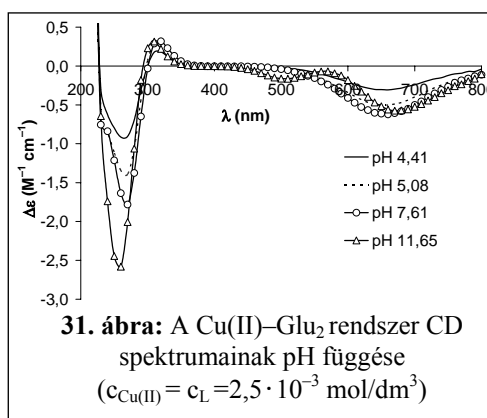
nagyon hasonlít egymásra. Emellett a második helyen alanint tartalmazó peptidek komplexeinek CD spektruma hasonló lefutású a második helyen glutaminsavat tartalmazókéhoz. A C-terminális aszparaginsavat tartalmazó peptideké ettől eltér: a Cu(II)-amid töltésátviteli sávoknál a spektrum előjele ellentétes a többi ligandum komplexével, és a d-d átmenet kisebb intenzitású. A különbségek a már fentebb bemutatott eltérő koordinációs módokkal magyarázhatók. Valamennyi ligandumnál lehetőség van arra, hogy $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$ koordinációval, a láncvégi karboxilátcsoport részvételével (5,5) csatolt kelátgyűrű alakuljon ki. A második helyen glutaminsavat vagy alanint tartalmazó peptidek esetén csak ez a szerkezet valósulhat meg. A C-terminális aszparaginsavat tartalmazó peptideknél azonban az oldalláncbeli karboxilátcsoport koordinációjával (5,6) csatolt kelátgyűrű is kialakulhat. Ez okozza a spektrum előjelváltását, míg a d-d átmenet kisebb intenzitása azzal magyarázható, hogy a β -karboxilátcsoport távolabb van a kiralitáscentrumtól, mint a láncvégi karboxilátcsoport, így kisebb mértékben továbbítja a királis információt.

A dipeptidek vegyes-hidroxo-komplexének képződését a CD spektrum felhasadása kíséri (31. ábra, pH = 11,65), ami a komplex geometriájának torzulásával értelmezhető.¹⁷⁶ Ez a torzulás nem befolyásolja az abszorpciós spektrumot, azonban a CD és ESR paraméterekben tükröződik a hatása.

A különböző ligandumok CuLH_2 komplexeinek CD spektrumainál kisebb mértékű különbség jelentkezik, mint amit a CuLH_1 komplexeknél említettem, de itt is elmondható, hogy a második helyen aszparaginsavat tartalmazó peptidek réz(II)komplexeinek CD spektruma némileg eltér a többi aminosav peptidjétől. Ez arra utal, hogy a hidroxokomplexekben, melyekben $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-, \text{OH}^-)$ koordináció valósul meg, a C-terminális aszparaginsavat tartalmazó dipeptidek esetén szintén részt vesz a koordinációban az oldalláncbeli karboxilátcsoport.



30. ábra: A dipeptidek CuLH_1 komplexeinek számított CD spektruma



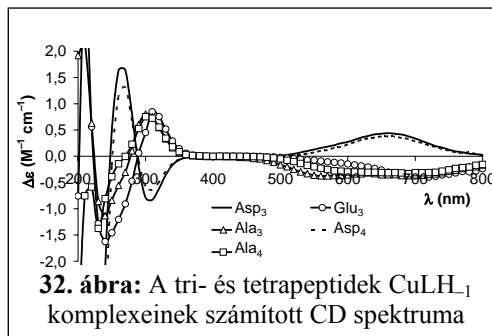
31. ábra: A Cu(II)–Glu₂ rendszer CD spektrumainak pH függése ($c_{\text{Cu(II)}} = c_{\text{L}} = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

7. táblázat: A vizsgált és az összehasonlításához használt ligandumok réz(II)komplexeinek CD spektrális paraméterei

	CuLH ₁ λ _{max} (Δε)			CuLH ₂ λ _{max} (Δε)		
	NH ₂ →Cu(II)	N ⁻ →Cu(II)	d-d	NH ₂ →Cu(II)	N ⁻ →Cu(II)	d-d
Asp-Asp	265(+0,26)	310(-0,33)	620(-0,21)	250(-0,51)	270(-0,38)	505(-0,16) 680(-0,35)
Glu-Asp	250(-0,15)	300(-0,39)	640(-0,36)	250(-0,66)	270(-0,63)	510(-0,11) 670(-0,42)
Asp-Glu	270(-1,64)	315(+0,32)	660(-0,63)	255(-2,47)	305(+0,29)	505(-0,16) 670(-0,59)
Glu-Glu	270(-1,78)	315(+0,32)	660(-0,62)	255(-1,77)	310(+0,31)	510(-0,16) 670(-0,58)
Asp ₃	265(+1,64)	310(-0,83)	660(+0,44)	270(-1,25)	310(+0,68)	570(-0,73)
Glu ₃	240(-1,62)	310(+0,85)	720(-0,44)	270(-0,64)	310(+0,56)	560(-1,02)
Asp ₄	270(+1,32)	310(-0,64)	660(+0,38)	270(-1,78)	305(+1,05)	490(+0,28) 580(-0,51)
Gly-Ala	265(-1,02)	310(+0,21)	670(-0,39)	250(-1,77)	310(-0,21)	515(-0,15) 690(-0,36)
Ala-Gly	230(-1,31)	290(+0,35)	620(-0,12)	—	280(+0,51)	570(-0,09)
Ala ₂	—	310(+0,32)	650(-0,45)	245(-1,75)	300(+0,37)	510(-0,18) 680(-0,37)
Ala ₃	240(-1,13)	300(+0,80)	570(-0,38)	275(-0,52)	305(+0,19)	550(-1,17)
Ala ₄	—	—	—	270(+1,38)	300(+1,36)	490(+0,18) 600(-1,30)

A táblázatban szereplő mennyiségek mértékegységei: λ_{max}: nm, Δε: M⁻¹cm⁻¹.

A tri- és tetrapeptidek CuLH₁ komplexeinek CD spektrumát (32. ábra) vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a Glu₃, Ala₃ és Ala₄ spektruma hasonlít egymáshoz, míg ezektől teljes mértékben eltér az Asp₃ és Asp₄ egymáshoz egyébként hasonló lefutású spektruma. A különbséget az okozza, hogy a Glu₃-nál – hasonlóan az Ala₃ és Ala₄ ligandumokhoz – (NH₂,N⁻,CO)



32. ábra: A tri- és tetrapeptidek CuLH₁ komplexeinek számított CD spektruma

koordinációval (5,5) csatolt kelátgyűrű alakul ki, a másik két ligandumnál viszont ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \beta\text{-COO}^-$) koordinációval (5,6) csatolt kelátgyűrű jön létre.

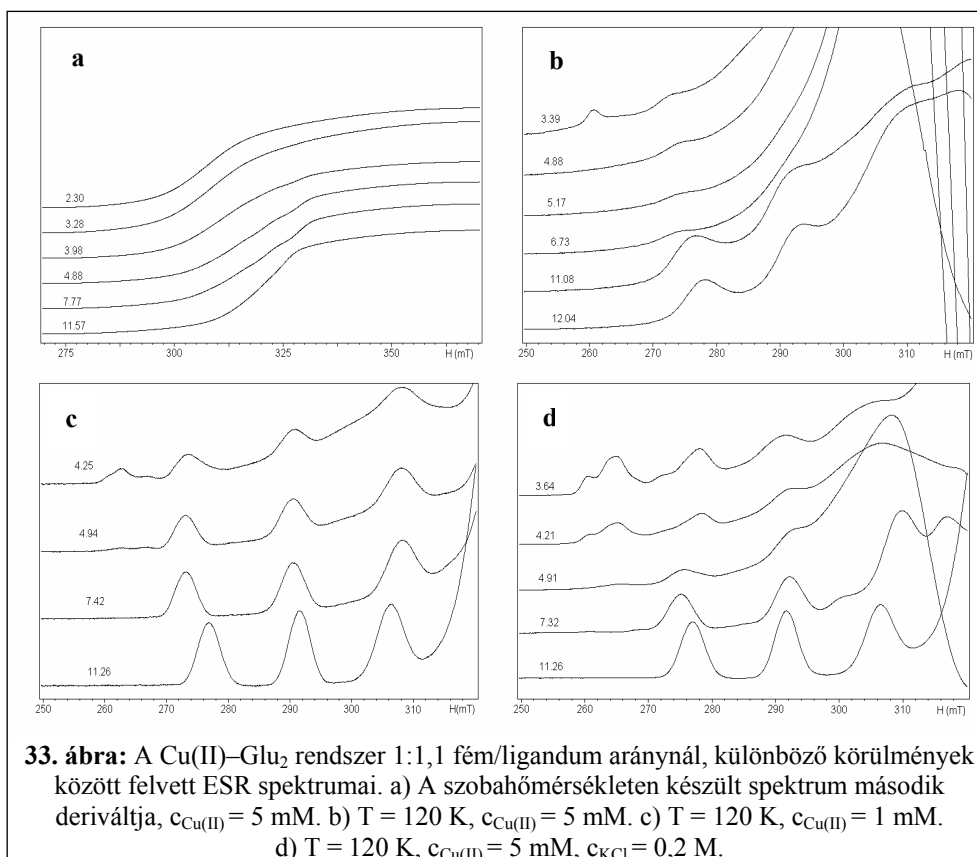
Ezek a különbségek eltűnnek a CuLH_2 komplexek CD spektrumában, valamennyi spektrum hasonló lefutású. Az első három donortom mind az öt ligandumnál azonos ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-$), emellett az Asp_3 , Asp_4 , Glu_3 és Ala_3 ligandumoknál egyaránt egy karboxilátcsoport foglalja el a réz(II)ion negyedik koordinációs helyét, bár a negyedik csatolt kelátgyűrű tagszáma ezekben a komplexekben eltérő. Mivel az első három donortom egy zárt szerkezetet hoz létre, a következő kelátgyűrű tagszáma már kevésbé meghatározó, így a különbségek a CD spektrumban kevésbé jelentkeznek. Az Ala_3 és Glu_3 ligandumoknál a negyedik koordinációs helyet egyaránt a láncvégi karboxilátcsoport foglalja el, így mindkét esetben (5,5,5) csatolt kelátrendszer alakul ki, ezen ligandumok spektrumai hasonlítanak a legjobban egymáshoz. Az Asp_4 -nél a negyedik koordinációs helyet a harmadik helyen levő aszparaginsav β -karboxilátcsoportja jelenti, ennek részvételével (5,5,6) csatolt kelátrendszer jön létre. Az Asp_3 spektruma intenzitását és abszorpciós maximumhelyeit tekintve is ezen spektrumok között fut. Ez azzal értelmezhető, hogy ebben a ligandumban a negyedik koordinációs helyen az Ala_3 -hoz és a Glu_3 -hoz hasonlóan a láncvégi, és az Asp_3 -hoz hasonlóan oldalláncbéli karboxilátcsoport is szerepelhet. Nagyobb különbség csak az Ala_4 -nél jelentkezik. Ennél a ligandumnál a negyedik koordinációs helyet nem karboxilát-, hanem karbonilcsoport foglalja el, ennek következtében a d-d átmenet abszorpciós maximuma a nagyobb hullámhosszak felé tolódik el. A karbonilcsoport nagyobb hatásfokkal továbbítja a királis információt, mint a karboxilátcsoport a többi ligandum komplexében, ezzel magyarázható a spektrum nagyobb intenzitása.⁵⁰

A pH további növelésével újabb jelentős eltolódás figyelhető meg az Ala_4 esetén, ami a 4N-es CuLH_3 komplex képződésének tulajdonítható. Ilyen változás az Asp_4 ligandumnál nem jelentkezik, ami alátámasztja, hogy ebben az esetben a harmadik amidnitrogén deprotonálódása nem következik be.

4.1.2.4. ESR spektroszkópia

A ligandumcsalád vizsgálata során számos paraméter ESR spektrumra gyakorolt hatását tanulmányoztuk. Ezeket a vizsgálatokat az tette szükségessé, hogy az alacsony hőmérsékleten, a pH-potenciometriás mérésekhez képest valamivel nagyobb koncentrációnál ($c_{\text{Cu(II)}} = 5 \text{ mM}$) végzett ESR méréseknél valamennyi általunk vizsgált rendszerben széles pH tartományban (4-9) dimer- vagy polimerképződés figyelhető meg. Az egyszerű dipeptideknél (pl.: Gly_2) gyengén savas és semleges oldatban ez nem jelentkezik,¹⁷¹ így a többmagvú komplexek feltehetően az oldalláncbéli karboxilátcsoportok részvételével

alakulnak ki. Felmerült bennünk a kérdés, hogy milyen tényezők befolyásolják ezt a folyamatot. Vizsgáltuk a hőmérséklet, a fémion-koncentráció és az ionerősség hatását. A vizsgálatok eredményeit a 33. ábrán, a Cu(II)–Glu₂ rendszer példáján mutatom be.



A szobahőmérsékleten készült ESR spektrumok második deriváltjának intenzitása (33.a. ábra) nem változik a pH növelésével, ami alapján szobahőmérsékleten kizárható a dimer/polimer komplexek kialakulása.

A 33.b. és c. ábrán látható, hogy az alacsony hőmérsékleten felvett ESR spektrum intenzitása jelentősen változik a fémion koncentrációjával. Az oldatok koncentrációját 5 mM-ról 1 mM-ra csökkentve a polimerképződés mértéke látványosan csökken, a monomerek aránya növekszik az oldatban, míg 50 mM-ra növelve a koncentrációt a polimer komplexek mennyisége növekszik. Ennek alapján azt feltételezzük, hogy az Asp/Glu nem koordinálódó oldalláncbeli karboxilátcsoportjai elfoglalják a CuL és/vagy a CuLH₁ komplex szabad koordinációs helyét, így polimer szerkezetet alakítva ki.

Mivel a pH-potenciometriás mérésekhez használt oldatok az állandó ionerősség biztosítása érdekében 0,2 M KCl-ot tartalmaztak, a KCl polimerizációra gyakorolt hatását is tanulmányoztuk (33.d. ábra). Megállapítható, hogy KCl hozzáadásával a többmagvú komplexek mennyisége csökken, a Cl^- -ion a koordinációja révén megtöri a karboxiláthidakat.

A pH-potenciometria nem alkalmas annak eldöntésére, hogy monomer vagy dimer/polimer szerkezetű komplexek képződnek-e az oldatban. A mérési adatok dimer szerkezetű komplexekkel is illeszthetők, monomer/dimer egyensúly számítása azonban nem lehetséges. Ugyanakkor a különböző körülmények között felvett ESR spektrumok alátámasztják modellünk helyességét: a pH-potenciometriás mérések körülményei között monomer komplexek képződnek. A dimer/polimer képződés alacsony hőmérsékleten jellemző, valamint a koncentráció növelése is kedvez ennek a folyamatnak. Emellett kisebb mértékben ugyan, de az ionerősség csökkentése is a többmagvú komplexek kialakulása irányába tolja el a komplexképződési egyensúlyt.

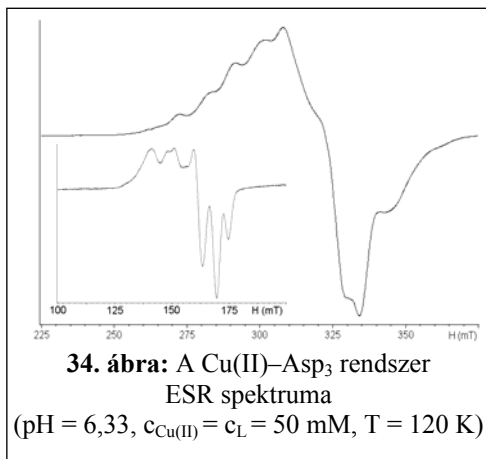
A kis hőmérsékleten kapott ESR spektrumok alapján a savas és semleges pH-tartományban monomer és dimer/polimer komplexek egyaránt jelen vannak. A többmagvú komplexek is vízoldhatóak, ami valószínűleg a negatív töltésüknek tulajdonítható.

Az ESR vizsgálatok segítségével sem tudjuk eldönteni, hogy a savas pH-tartományban megjelenő protonált komplexekben amino-karbonil vagy amino-karboxilát koordináció valósul-e meg, mivel több részecske is jelen van egyidejűleg, ezek koncentrációja igen kicsi, és a dimer/polimer komplexek jelenléte miatt a spektrum jelei kiszélesednek. ESR paraméterek csak a lúgos tartományban megjelenő monomer komplexekre, a CuLH_1 -re és a CuLH_2 -re határozhatók meg (6. táblázat).

A különböző ligandumok CuLH_1 komplexeinek ESR paraméterei hasonlóak egymáshoz, azonban a C-terminális aszparaginsavat tartalmazó dipeptidek esetén a hiperfinom csatolási állandó (A_{\parallel}) általában nagyobb érték. Ez a tendencia jobban látható, ha a $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ értékeket hasonlítjuk össze (ezeknél a peptideknél ez kisebb érték). A különbség azzal értelmezhető, hogy a C-terminális aszparaginsavat tartalmazó dipeptideknél kialakuló (5,6) csatolt kelátgyűrű kevésbé feszes síkszerkezetet eredményez, mint a többi ligandumnál megvalósuló (5,5) csatolt kelátgyűrű. Ugyanezt a hatást figyelték meg a β -alanint tartalmazó tri- és tetrapeptidek ESR paraméterei esetén is.⁸⁹ Ugyanakkor a C-terminális aszparaginsavat nem tartalmazó dipeptidek CuLH_1 komplexeinek csatolási állandója megegyezik a Gly_2 komplexére kapott értékkel, ami a hasonló koordinációs módot támasztja alá.

A Cu(II)-Asp_3 rendszer alacsony hőmérsékleten felvett ESR spektruma jelentősen eltér a többi rendszerétől. A dipeptidek és a Glu_3 esetén is intenzív

réz(II)-réz(II) kölcsönhatást észleltünk, ami oligomerek jelenlétének tulajdonítható, azonban az Asp₃ ligandumnál az ESR spektrum arra utal, hogy a pH 5-9 tartományban, a CuLH₁ komplex képződésével egyidejűleg dimer komplexek vannak jelen (34. ábra). A potenciometria nem alkalmas annak eldöntésére, hogy monomer CuLH₁, vagy dimer Cu₂L₂H₂ komplexek képződnek-e az oldatban, az egyensúlyi adatokat monomer szerkezetű komplexeket tartalmazó modellel illesztettük.



34. ábra: A Cu(II)–Asp₃ rendszer ESR spektruma (pH = 6,33, c_{Cu(II)} = c_L = 50 mM, T = 120 K)

A Cu(II)–Asp₃ és –Glu₃ rendszer alacsony hőmérsékleten felvett ESR spektruma közötti különbség arra utal, hogy a dimerképződést nagymértékben befolyásolja a ligandum mérete és koordinációs módja. A Cu(II)–Asp₃ rendszerben a ligandum (NH₂,N⁻,β-COO⁻) koordinációval kötődik a Cu(II)-ionhoz, ahol a harmadik kötőhely az oldalláncból származik. Ily módon az Asp₃ molekula további része hídként kapcsolódhat egy másik Cu(II)-ionhoz. Ugyanez nem lehetséges Glu₃-nál, amely (NH₂,N⁻,CO) donorokkal kötődik a fémionhoz, mivel itt a harmadik koordinálódó donorcsoport is a peptidvázból származik, ezért a molekula fennmaradó része nem elegendő hosszúságú a dimer szerkezet kialakításához. A Cu(II)–Asp₄ rendszerben sem zárható ki a dimer szerkezetű komplexek képződése, azonban itt inkább az oligomerek jelenléte jellemző. Az ESR spektrumok alapján úgy tűnik, hogy az Asp₃ mérete a legkedvezőbb a dimerképződés szempontjából.

A dipeptidek CuLH₂ komplexeinek képződését az A₁₁ értékek jelentős csökkenése, és ezzel párhuzamosan a g₁₁/A₁₁ arány növekedése kíséri. Az egyes ligandumok paraméterei alig különböznek egymástól, ami alátámasztja, hogy a hidroxokomplex képződését minden esetben a fémion koordinációs geometriájának torzulása kíséri, és az is megállapítható, hogy az X-Asp peptideknél ez a torzulás kisebb mértékű. Hasonlóan a CD spektrális adatokhoz, ez is azt valószínűsíti, hogy az X-Asp ligandumok esetén a hidroxokomplexekben a β-karboxilátcsoport koordinálódik, míg a többi ligandum esetén a láncvégi karboxilátcsoport foglalja el a harmadik koordinációs helyet, így a paraméterek a Gly₂-nél meghatározott értékekkel egyeznek meg.

A tri- és tetrapeptideknél a pH-növelésével a karboxiláthidas oligomer szerkezetek felbomlanak, és már alacsony hőmérsékleten is monomer szerkezetű CuLH₂ komplexek képződnek. Az Asp₃ CuLH₂ komplexének paraméterei közel állnak a Gly-Gly-β-Ala CuLH₂ komplexének paramétereihez, míg a Glu₃ értékei a

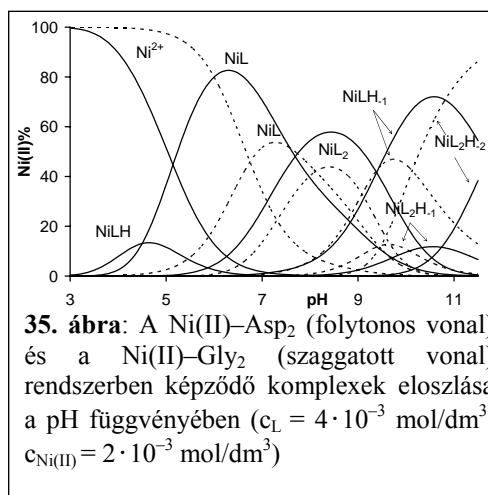
Gly₃ értékeihez hasonlóak.⁸⁹ Ennek alapján is az állapítható meg, hogy az előbbi ligandumnál (5,5,6), az utóbbinál (5,5,5) csatolt kelátgyűrűk alakulnak ki (NH₂,N⁻, N⁻,COO⁻) koordinációval.

A Cu(II)–Asp₄ rendszer ESR spektruma is egyértelműen bizonyítja, hogy csak két deprotonálódott amidnitrogén koordinálódik a Cu(II)-ionhoz. Az Asp₃ és Asp₄ ligandumok CuLH₂ komplexének g_{||} és A_{||} értékei gyakorlatilag megegyeznek egymással, és még erősen lúgos közegben sincs változás.

4.1.3. A ligandumok nikkell(II)komplexei

Ni(II)-ionokkal öt ligandum, az Asp₂, Asp₃, Asp₄, Glu₂ és Glu₃ komplexképzését tanulmányoztuk. A pH-potenciometriásan meghatározott állandókat és az összehasonlításához használt oligoglicin ligandumok állandóit a 8. táblázatban foglaltam össze.

A táblázat adataiból és a 35. ábrán is látható, hogy az Asp₂ ugyanolyan összetételű komplexeket képez Ni(II)-ionokkal, mint a Gly₂, azzal a különbséggel, hogy az előbbi ligandum esetén a protonált NiLH komplex is megjelenik az oldatban. Azonban az azonos komplexösszetétel itt nem jelent azonos koordinációs módot. Amíg a Gly₂ NiL és NiL₂ komplexeiben (NH₂,CO) koordinációval öttagú kelátgyűrű valósul meg, addig az Asp₂ ligandum tridentát módon koordinálódik. Ez utóbbi



35. ábra: A Ni(II)–Asp₂ (folytonos vonal) és a Ni(II)–Gly₂ (szaggatott vonal) rendszerben képződő komplexek eloszlása a pH függvényében ($c_L = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $c_{\text{Ni(II)}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

nagyobb stabilitást biztosít, aminek eredményeként mindkét komplex nagyobb mennyiségben képződik az Asp₂ ligandummal. Az aminosavszerű koordináció elősegíti az aminocsoport deprotonálódását, így a NiL képződése ezzel a ligandummal kisebb pH-n kezdődik. A NiLH₁ komplexben mindkét ligandumnál (NH₂,N⁻,COO⁻) koordináció valósul meg, de a Asp₂-nél a láncvégi karboxilátcsoport mellett vagy helyett a második aszparaginsavrész oldalláncbeli karboxilátcsoportja is koordinálódhat. A két ligandum amidnitrogénjének deprotonálódási állandója között nincs különbség, az Asp₂ két oldalláncbeli karboxilátcsoportjának hatása kompenzálja egymást. Ugyanakkor az Asp₂ esetén a biszligandumú komplexben gátolt az amidnitrogének deprotonálódása.

8. táblázat: A vizsgált és az összehasonlításként használt ligandumok⁹⁰ deprotonálódási állandói és nikkell(II)komplexeik stabilitási állandói

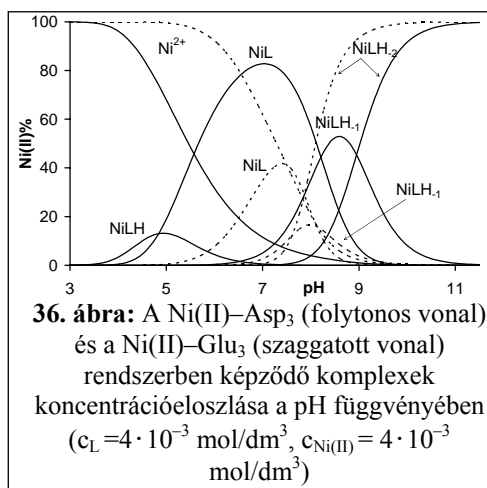
ligandum	Asp ₂	Asp ₃	Asp ₄	Glu ₂	Glu ₃	Gly ₂	Gly ₃	Gly ₄
pK ₁	2,58(1)	2,53(1)	2,69(1)	2,91(1)	3,04(1)	3,17	3,32	3,18
pK ₂	3,37(1)	3,25(1)	3,25(1)	3,88(1)	3,85(1)	8,13	7,93	7,97
pK ₃	4,39(1)	3,92(1)	3,86(1)	4,57(1)	4,29(1)	—	—	—
pK ₄	8,11(1)	4,78(1)	4,39(1)	8,05(1)	4,98(1)	—	—	—
pK ₅	—	8,06(1)	5,01(1)	—	8,02(1)	—	—	—
pK ₆	—	—	8,15(1)	—	—	—	—	—
NiLH ₂	—	—	15,23(6)	—	—	—	—	—
NiLH	10,08(1)	10,13(10)	10,84(3)	—	—	—	—	—
NiL	5,58(1)	5,29(3)	5,69(2)	3,82(1)	3,42(3)	3,96	3,75	3,65
NiLH ₋₁	-3,26(1)	-2,92(4)	-2,63(3)	-4,98(2)	-4,70(4)	-4,91	-5,45	-4,45
NiLH ₋₂	—	-11,87(4)	-10,79(2)	—	-12,31(2)	—	-12,85	—
NiLH ₋₃	—	—	—	—	—	—	—	-20,90
NiL ₂	9,12(2)	—	—	6,03(12)	—	7,16	6,77	—
NiL ₂ H ₋₁	-1,21(9)	—	—	—	—	-2,51	—	—
NiL ₂ H ₋₂	-11,95(2)	—	—	—	—	-11,99	—	—
pK(NiLH ₂ / NiLH)	—	—	4,39	—	—	—	—	—
pK(NiLH/ NiL)	4,50	4,84	5,15	—	—	—	—	—
pK(NiL/ NiLH ₋₁)	8,84	8,21	8,32	8,80	8,12	8,87	9,20	8,10
pK(NiLH ₋₁ / NiLH ₋₂)	—	8,95	8,16	—	7,61	—	7,40	8,23
pK(NiL ₂ / NiL ₂ H ₋₁) ^a	10,33	—	—	—	—	9,67	—	—
pK(NiL ₂ H ₋₁ / NiL ₂ H ₋₂) ^a	10,74	—	—	—	—	9,48	—	—
lgK ₁ /K ₂ (NiL ₂) ^b	2,04	—	—	1,61	—	0,76	0,73	—
lgK ₁ /K ₂ (NiL ₂ H ₋₂) ^b	5,43	—	—	—	—	2,17	—	—
lgβ(NiL) – pK _{amino}	-2,53	-2,77	-2,46	-4,23	-4,60	-4,17	-4,18	-4,32

^a $pK(\text{NiL}_2\text{H}_n/\text{NiL}_2\text{H}_{n-1}) = \lg\beta(\text{NiL}_2\text{H}_n) - \lg\beta(\text{NiL}_2\text{H}_{n-1})$

^b $\lg K_1/K_2(\text{ML}_2\text{H}_{2n}) = \lg K(\text{MLH}_n) - \lg K(\text{ML}_2\text{H}_{2n}) = 2 \cdot \lg\beta(\text{MLH}_n) - \lg\beta(\text{ML}_2\text{H}_{2n})$

A Glu_2 komplexképzése sokkal egyszerűbb; csak NiL , NiLH_1 és NiL_2 komplexek képződnek, és valamennyi vizsgált fém/ligandum arányánál már pH 10 alatt csapadék válik ki az oldatból. A képződő komplexekben ugyanolyan koordinációs mód valósul meg, mint a Gly_2 -vel, az oldalláncbeli karboxilátcsoport nem vesz részt a koordinációban. Ugyanakkor a ligandum a Gly_2 -nél is gyengébb komplexképző. Ez megnyilvánul a komplexek stabilitási állandóiban, bár a különbség igen kismértékű. A biszligandumú NiL_2 komplex képződése kevésbé kedvezményezett, a képződésére vonatkozó $\lg K_1/K_2$ lényegesen nagyobb, mint a statisztikai érték. A NiL_2H_1 és NiL_2H_2 komplexek képződésének hiánya azzal értelmezhető, hogy ezek töltése igen nagy, -5 , illetve -6 lenne, és nincs semmi olyan tényező, ami a töltésnövekedés kedvezőtlen hatását kompenzálni tudná.

A 36. ábrán az Asp_3 és a Glu_3 komplexképzését hasonlíthatjuk össze. Látható, hogy az Asp_3 hatékonyabb fémmegekötő, a komplexképződés ezzel a ligandummal már pH 4 alatt megkezdődik, míg a Glu_3 -nál csak pH 5 felett jelenik meg az első komplex. Mindkét rendszerben ekvimoláris oldatban és ligandumfelesleg esetén is csak 1:1 arányú komplexek képződnek. A ligandumok mérete és nagy negatív töltése nem kedvez a NiL_2 komplex képződésének és ezek deprotonált formái sem alakulnak ki.



Az Asp_3 NiL komplexének nagy stabilitását mutatja, hogy a fiziológiai pH-tartományban 80%-ban ez a részecske van jelen. Az Asp_3 -nál ($\text{NH}_2, \beta\text{-COO}^-$), a Glu_3 -nál (NH_2, CO) koordináció jön létre. Az Asp_3 -nál a β -alaninszerű koordináció kialakulása megnöveli a ligandum fémmegekötő tulajdonságát, ugyanakkor az amidnitrogén deprotonálódását akadályozza. A Glu_3 -nál már pH 8, míg az Asp_3 -nál csak pH 9 körül játszódik le ez a folyamat. Az előbbi esetben a NiLH_1 komplex nagyon kis mennyiségben jelenik meg, ami arra utal, hogy ennél a ligandumnál a két amidnitrogén deprotonálódása kooperatív módon következik be. Ezzel szemben az Asp_3 -nál elválnak egymástól ezek a lépések. Ebben az esetben a NiLH_1 komplex képződése kedvező az oldalláncbeli karboxilátcsoport koordinációja miatt. Ezzel értelmezhető az is, hogy ennél a ligandumnál a NiLH_2 komplex nagyobb pH-n képződik.

Az Asp_4 komplexképzése nagyon hasonlít az Asp_3 -éra. Ennél a ligandumnál egy további protonált komplex, a NiLH_2 is megjelenik, a többi komplex azonban összetételét és koordinációs módját tekintve is azonos az Asp_3 -mal képződőkkel.

Az Asp₄-nél a két amidnitrogén deprotonálódása kevésbé különül el, mivel a NiLH₁ komplexben a második β-karboxilátcsoport koordinációjának stabilizáló hatása – hasonlóan a Cu(II)–Asp₄ rendszerhez – a molekula nagyobb mérete miatt kisebb mértékben jelentkezik. A NiLH₂ komplexben a harmadik aszpartilrész oldalláncbéli karboxilátcsoportja foglalja el a Ni(II)-ion negyedik koordináció helyét. Hasonlóan a Cu(II)–Asp₄ rendszerhez, a harmadik amidnitrogén deprotonálódását a nikkell(II)ion sem képes elősegíteni. Ugyanakkor a Kozłowski és mtsai által vizsgált valamennyi tetrapeptidnél lejátszódott ez a folyamat; az Ala-Ala-Asp-Ala esetén a harmadik amidnitrogén deprotonálódására vonatkozó p*K*-érték 8,29, a két aszparaginsavat tartalmazó peptideknél (Ala-Asp-Asp-Ala, Ala-Asp-Ala-Asp és Ala-Ala-Asp-Asp) 9,55-9,70. Ennek alapján az Asp₄ ligandumnál a NiLH₃ komplex képződésének hiánya annak nagy negatív töltésével értelmezhető.

Savas és semleges pH-tartományban valamennyi ligandummal oktaédes geometriájú komplexek képződnek, azonban a tri- és tetrapeptidek NiLH₂ komplexei síknégyszetes geometriájúak. Ezek spektrális paramétereit is meghatároztuk (9. táblázat). Az Asp₃ és Asp₄ ligandumok spektrális paramétereit hasonlóak, és eltérnek a másik három peptidétől. Ez azt támasztja alá, hogy az Asp₃ és Asp₄ NiLH₂ komplexének koordinációs módja azonos; (NH₂,N⁻,N⁻,β-COO⁻) koordinációval (5,5,6) csatolt kelátrendszer alakul ki. Ugyanakkor a Glu₃ NiLH₂ komplexében a γ-karboxilátcsoport koordinációja nem játszik szerepet, hasonlóan az egyszerű tripeptidekhez (NH₂,N⁻,N⁻,α-COO⁻) koordinációjú, (5,5,5) csatolt kelátrendszer jön létre.

9. táblázat: A NiLH₂ komplexek spektrális paramétereit

ligandum	Vis λ _{max} (ε) [nm(M ⁻¹ cm ⁻¹)]	CD	
		N ⁻ →Ni(II)	d-d
Asp ₃	440(265)	232(-5,08)	492(-2,60) 422(+0,88)
Asp ₄	438(229)	234(-12,19)	499(-2,10) 426(+1,55)
Glu ₃	428(102)	249(+7,34)	474(-3,43)
Gly ₃ ⁹⁰	427(197)	—	—
Ala ₃	—	248(+4,21)	473(-2,33)

4.2. ϵ -lizinkötést tartalmazó vegyületek

4.2.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai

10. táblázat: Az Asp- ϵ -Lys és az összehasonlításként használt peptidek deprotonálódási állandói

ligandum	Asp- ϵ -Lys	Glu- ϵ -Lys ⁹⁴	β -Ala
pK_1	1,91(4)	1,78	3,52(1)
pK_2	3,11(2)	2,56	10,09(1)
pK_3	7,79(2)	8,86	—
pK_4	9,66(1)	9,71	—

A vizsgált ligandumok szerkezete a 19. ábrán (29. old.) látható.

Az Asp- ϵ -Lys az egyszerű dipeptidektől eltérően két amino- és két karboxilcsoportot tartalmaz. Teljesen protonált alakja $[H_4L]^{2+}$ formában írható, így négy deprotonálódási állandóval jellemezhető (10. táblázat). A pK_1 és pK_2 a karboxil-, a pK_3 és pK_4 értékek a protonált aminocsoportok deprotonálódására vonatkoznak.

A molekula mindkét vége szubsztituált aminosavnak tekinthető. A lizinrész amino- és karboxilcsoportja távol helyezkedik el az amidcsoporttól, ezért ezen molekularész sav-bázis tulajdonságai nagy hasonlóságot mutatnak az alifás α -aminosavakkal.¹⁷⁷ Ennek eredményeként a legkisebb és legnagyobb pK -értékek (pK_1 ill. pK_4) javarészt a lizinrész karboxil- és aminocsoportjához rendelhetőek. Ezek az adatok igen közel vannak a Glu- ϵ -Lys lizinrészének pK -értékeihez (pK_1 , pK_4), a két ligandum megfelelő állandói közötti különbség a hasonló környezet miatt igen kismértékű.

Az aszparaginsavrészen β -alaninszerű a funkciócsoportok elhelyezkedése, és emellett ennél a molekularésznel az amidcsoport a két funkciócsoporthoz közel található. Ennek eredményeként a β -alaninhoz képest a karboxilcsoport savassága növekszik, az aminocsoport bázicitása csökken.

11. táblázat: A Gly-Lys(Gly) és az összehasonlításként használt peptidek deprotonálódási állandói

ligandum	Gly-Lys(Gly)	Gly-Gly ⁹⁰	Gly-Lys ¹⁷⁸	Gly-NH ₂	Gly ₃ ⁹⁰
pK_1	3,09(2)	3,17	2,77	3,81(1)	3,32
pK_2	7,71(1)	8,13	8,11	8,01(1)	7,93
pK_3	8,44(1)	—	10,60	—	—

A Gly-Lys(Gly) vegyületben két amino- és egy karboxilcsoport van, ezért teljesen protonált alakja $[H_3L]^{2+}$ formában adható meg. Ennek megfelelően három deprotonálódási állandó rendelhető hozzá (11. táblázat). A pK_1 érték a karboxil-, a pK_2 és pK_3 értékek a protonált aminocsoportok deprotonálódására vonatkoznak.

A karboxilcsoport deprotonálódási állandója jó egyezést mutat a diglicin megfelelő értékével, mivel a két karboxilcsoport hasonló környezetben van, Gly-Lys(Gly) esetén a második aminocsoport ettől messze található, így nincs számottevő hatása. Ugyanakkor a Gly-Lys és a Gly-Lys(Gly) pK_1 értékei között már jelentősebb a különbség, mivel az előbbi esetben amino-, az utóbbi esetben amidcsoport kapcsolódik hosszú láncsal a karboxilcsoportoz.

A ligandum két protonált aminocsoportjának átlagos deprotonálódási állandója 8,08, ami nagy hasonlóságot mutat az egyszerű dipeptidekhez, illetve a glicinamidhoz. A két aminocsoport pK -ja közötti különbség (0,73) alig nagyobb a statisztikai értéknél (0,6), így a két deprotonálódási lépés nem különül el teljesen egymástól. Általánosságban azt mondhatjuk, hogy az N-terminális glicin aminocsoportjának pK -ja egy dipeptid aminocsoportjához, a lizin ϵ -aminocsoportjához kapcsolódó glicin aminocsoportja egy tripeptid aminocsoportjához hasonlítható. Ennek alapján az előbbinek a nagyobb, az utóbbinak a kisebb pK -értékhez való hozzájárulása a nagyobb. Ettől többet a deprotonálódási mikroállandók meghatározása nélkül azonban nem mondhatunk.

4.2.2. Az Asp- ϵ -Lys átmenetifém-komplexei

12. táblázat: Az Asp- ϵ -Lys ligandummal képződő átmenetifém-komplexelek stabilitási állandói

A komplex összetétele	$\lg\beta(\text{Cu(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Ni(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Zn(II)-komplex})$
$[\text{MLH}]^+$	16,44(6)	14,88(5)	13,85(5)
$[\text{M}_2\text{L}_2]$	26,74(10)	18,80(10)	15,30(7)
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$	7,34(14)	—	—
$[\text{MLH}_1]^-$	—	—	-2,59(4)
$[\text{M}_2\text{L}]^+$	14,29(24)	—	—

Az Asp- ϵ -Lys ambidentát ligandum, többféle koordinációs mód kialakulására is lehetőség van. Ahogy azt már a sav-bázis tulajdonságoknál említettem, a molekula lizinrésze szubsztituált α -aminosavnak, az aszpartilrésze szubsztituált β -alaninnak tekinthető. Ennek megfelelően öt-, illetve hattagú kelátgyűrű alakulhat

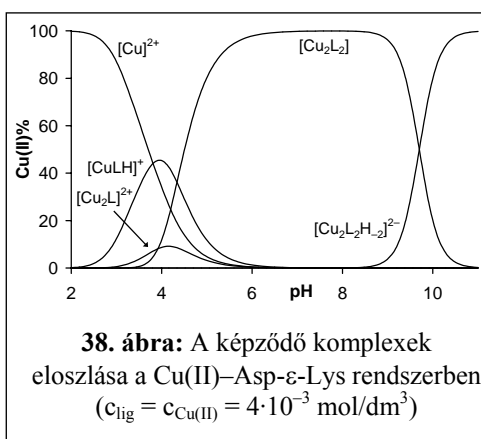
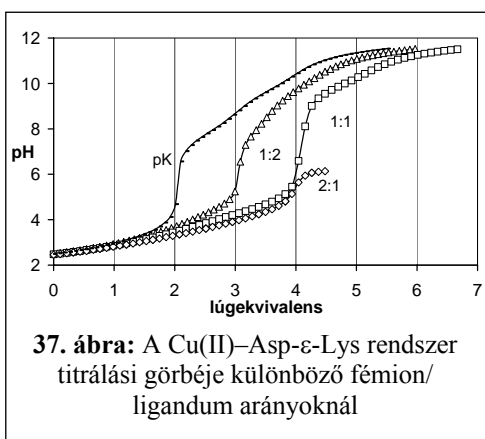
ki (NH₂,COO⁻) koordinációval. Emellett az aszpartilrész szubsztituált amidnak is felfogható, (NH₂,CO) és (NH₂,N⁻) koordináció is létrejöhet. Ennek megfelelően a ligandum komplexkémiai viselkedése igen összetett. A 12. táblázatban szereplő modellekkel illeszthetők legjobban a potenciometriás adatok, és ezek összhangban vannak a spektrális paraméterekkel is.

4.2.2.1. Az Asp-ε-Lys réz(II)komplexei

A képződő komplexek stabilitási állandóit a 12. táblázat, a spektrális adatokat és a különböző sztöchiometriájú komplexekben megvalósuló koordinációs módokat a 13. táblázat tartalmazza.

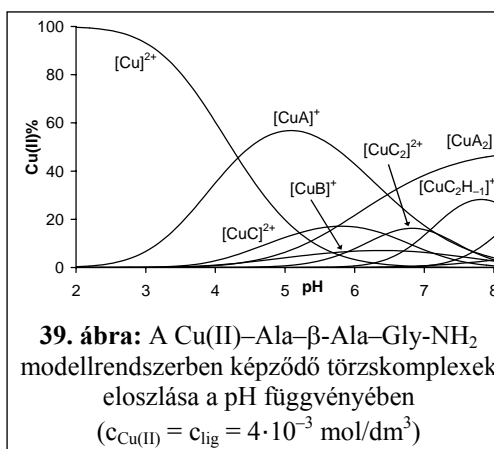
13. táblázat: Az Asp-ε-Lys Cu(II)-komplexeinek spektrális adatai és a komplexekben megvalósuló koordináció típusa

	λ_{\max} (nm)	g_{\parallel} ; A_{\parallel} (10^{-4}cm^{-1})	Koordináció
[CuLH] ⁺	728	2,304; 164	(NH ₂ ,COO ⁻) + NH ₃ ⁺
[Cu ₂ L ₂]	644	—	2[(NH ₂ ,COO ⁻)(NH ₂ ,COO ⁻)]
[Cu ₂ L ₂ H ₂] ²⁻	582	—	2[(NH ₂ ,N ⁻)(NH ₂ ,COO ⁻)]
[Cu ₂ L] ²⁺	—	—	2(NH ₂ ,COO ⁻)



A titrálási (37. ábra) és a komplexeloszlási görbe (38. ábra) is azt mutatja, hogy már savas pH tartományban megkezdődik a komplexképződés, a rendszerben elsőként megjelenő komplex a [CuLH]⁺, amelyben többféle koordináció is kialakulhat. Az eloszlási görbén látható, hogy ez a részecske legnagyobb

mennyiségben pH 4 körül képződik. Az α - és β -aminosavak irodalmi adatai alapján^{52,171,177} a glicinszerű ($\text{NH}_2, \alpha\text{-COO}^-$) és a glicinamidszerű (NH_2, CO) koordinációval kialakuló öttagú kelátgyűrűk képződése kedvezményezett ilyen körülmények között. Bár lehetőség lenne hattagú kelátgyűrű kialakulására is, – ($\text{NH}_2, \beta\text{-COO}^-$) koordinációval – azonban az aszpartilrész β -alaninszerű kötőhelyének fémmegkötő-képessége kisebb, így a molekula ezen részének kötődése csak nagyobb pH-n várható. Mivel az α -aminosavak fémkomplexei termodinamikailag stabilisabbak, mint az amidoké, a két előbbi kötődési mód közül az ($\text{NH}_2, \text{COO}^-$) koordináció kialakulása valószínűbb. Ezt támasztja alá a 39. ábra modellrendszere is, ahol a Cu(II)-ionok megoszlása látható az α -alanint (A), β -alanint (B) és glicinamidot (C) 1:1:1 arányban tartalmazó rendszerben. A vegyesligandumú komplexek képződésétől itt eltekintettünk. Az Asp- ϵ -Lys $[\text{CuLH}]^+$ komplexének képződési tartományában (pH = 2-6) az α -alanin $[\text{CuA}]^+$ komplexe alakul ki a legnagyobb mennyiségben, ettől lényegesen kisebb koncentrációban van jelen a glicinamid megfelelő komplexe ($[\text{CuC}]^{2+}$), míg a β -alaninnal képződő komplex ($[\text{CuB}]^+$) mennyisége nem számottevő. A komplex ESR paraméterei ($g_{\parallel} = 2,304$, $A_{\parallel} = 164 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) ugyanakkor jelentősen eltérnek az α -alanin¹⁷⁹ ($g_{\parallel} = 2,300$, $A_{\parallel} = 177 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$), és a glicinamid¹⁷¹ ($g_{\parallel} = 2,331$, $A_{\parallel} = 161 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) ESR paramétereitől is, ami arra utal, hogy a különböző koordinációs módok között egyensúly valósul meg.



39. ábra: A Cu(II)–Ala– β -Ala–Gly–NH₂ modellrendszerben képződő törzskomplexek eloszlása a pH függvényében ($c_{\text{Cu(II)}} = c_{\text{lig}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

Ha figyelembe vesszük az aminocsoportok bázicitását (a komplex stabilitási állandójából kivonjuk a még protonált aminocsoport deprotonálódási állandóját ($\lg \beta(\text{CuLH}) - pK_3$, illetve $\lg \beta(\text{CuLH}) - pK_4$) akkor a hattagú kelátgyűrű kialakulása esetén 8,65, öttagú kelátgyűrű esetén 6,78 a korrigált stabilitási állandó. Ezek az értékek viszonylag közel vannak a két aminosav $[\text{CuL}]^+$ komplexének stabilitási állandójához (14. táblázat), ami ezen koordinációs módok kialakulását alátámasztja.

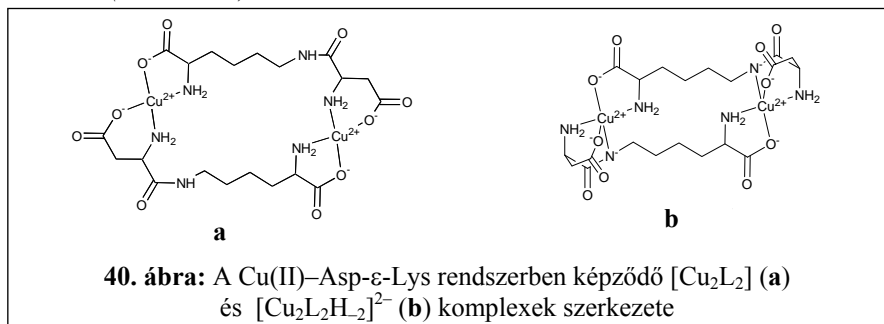
Ha figyelembe vesszük az aminocsoportok bázicitását (a komplex stabilitási állandójából kivonjuk a még protonált aminocsoport deprotonálódási állandóját ($\lg \beta(\text{CuLH}) - pK_3$, illetve $\lg \beta(\text{CuLH}) - pK_4$) akkor a hattagú kelátgyűrű kialakulása esetén 8,65, öttagú kelátgyűrű esetén 6,78 a korrigált stabilitási állandó. Ezek az értékek viszonylag közel vannak a két aminosav $[\text{CuL}]^+$ komplexének stabilitási állandójához (14. táblázat), ami ezen koordinációs módok kialakulását alátámasztja.

pH 4 körül már 1:1 fém/ligandum aránynál is képződik kis mennyiségben kétmagvú $[\text{Cu}_2\text{L}]^{2+}$ részecske. Ebben az esetben a ligandum mindkét vége egy-egy Cu(II)-iont köt meg ($2(\text{NH}_2, \text{COO}^-)$ koordináció), így egy öt- és egy hattagú kelátgyűrű alakul ki.

14. táblázat: Az α-alanin és β-alanin Cu(II)-, Ni(II)-, és Zn(II)-ionokkal képzett [ML]⁺ komplexeinek stabilitási állandói¹⁷⁷

Ligandum	lgβ(Cu(II)-komplex)	lgβ(Ni(II)-komplex)	lgβ(Zn(II)-komplex)
α-alanin	8,14	5,41	4,63
β-alanin	6,99	4,55	4,14

A pH 6 körül képződő komplex összetétele [CuL] vagy [Cu₂L₂] formában adható meg. Potenciometriás méréssel nem tudunk különbséget tenni az azonos sztöchiometriájú egymagvú és többmagvú komplexek között, a mérési adatok a [CuL] komplexekkel csaknem ugyanolyan jól illeszthetők, mint a [Cu₂L₂] komplexekkel. A sztérikus körülmények azonban nem teszik lehetővé, hogy a ligandum mindkét vége ugyanahhoz a fémionhoz kötődjön, ezért a [CuL] komplex koordinációs szférája telítetlen lenne. Ez biszkomplekképződést eredményezne, azonban ezt semmilyen pH-n, és egyetlen fém/ligandum aránynál sem tapasztaltuk. A spektrális paraméterek is a dimer szerkezetű komplexek képződését támasztják alá; az ESR spektrum kiszélesedik, az abszorpciós spektrum két nitrogéndonoratom koordinációjára utal ($\lambda_{\max} = 644$ nm). Az α-alanin vagy más α-aminosavak esetén a biszkomplexek abszorpciós maximuma valamivel kisebb hullámhosszknál (620-640 nm) jelentkeznek, de amíg ez utóbbi esetben csak öttagú, addig a [Cu₂L₂] komplexben öt- és hattagú kelátgyűrű is kialakul. Két lehetőség van a dimer komplex képződésére: a) mindkét fémion körül kialakul egy-egy öt- és hattagú kelátgyűrű, b) az egyik fémion körül két öttagú, a másik körül két hattagú kelátgyűrű jön létre (NH₂,COO⁻) koordinációval. A vegyesligandumú komplexek vizsgálata azt mutatja, hogy a réz(II)komplexek stabilitása a kelátgyűrűk tagszámát tekintve a következőképpen változik: (5,6) ≥ (5,5) > (6,6).¹⁸⁰⁻¹⁸² Ez azt jelenti, hogy a két hattagú kelátgyűrűt tartalmazó biszkomplexek sokkal kevésbé stabilisak, mint a többi rendszer. Ennek alapján a vegyeskoordinációjú Cu(II)-ionokat tartalmazó [Cu₂L₂] komplexek képződése valószínűbb (40.a. ábra).



A $[\text{Cu}_2\text{L}_2]$ komplexben feltételezett koordináció modellezésére a $\text{Cu(II)}-\beta$ -alanin-glicin rendszert tanulmányoztuk. A rendszerben egyetlen vegyeskomplex, a $[\text{CuAB}]$ képződik (15. táblázat). A komplex stabilitási és statisztikai állandójának különbsége: $(\text{CuA}_2 + \text{CuB}_2 \rightleftharpoons 2\text{CuAB})$

$$\Delta \lg \beta_{1110} = \lg \beta_{1110} - 1/2(\lg \beta_2(\beta\text{-Ala}) + \lg \beta_2(\text{Gly}) + \lg 4)$$

$$\Delta \lg \beta_{1110} = 13,90 - 1/2(11,42 + 14,84 + 0,60) = 0,47$$

ahol A: β -alanin, B: glicin, a stabilitási állandó alsó indexében szereplő számok a komponenseket jelölik, ezek sorrendje: Cu, A, B, H.

$\Delta \lg \beta_{1110}$ alapján a $[\text{CuAB}]$ vegyeskomplex képződése, amelyben ötös és hatos kelát alakul ki, kedvezményezett. Ezzel szemben $\text{Cu(II)}-\alpha$ -alanin-glicin rendszerben (0,05 M KCl)

$$\Delta \lg \beta_{1110} = 15,36 - 1/2(14,99 + 15,11 + 0,60) = 0,01.$$

Tehát a $\text{Cu(II)}-\text{Ala}-\text{Gly}$ vegyeskomplex képződése, amely a biszkomplexekhez hasonlóan csak öttagú kelátgyűrűt tartalmaz, nem kedvezményezett.¹⁸³ Így ezek az eredmények is alátámasztják a vegyeskoordináció kialakulását az Asp- ϵ -Lys $[\text{Cu}_2\text{L}_2]$ komplexe esetén.

15. táblázat: A vizsgált vegyesrendszerekben képződő vegyesligandumú komplexek stabilitási állandói és spektrális adatai (Ga: glicinamid)

	Összetétel	$\lg \beta$	$\lambda_{\max}(\text{nm});$	$\varepsilon(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$
$\beta\text{-Ala}-\text{Gly}$	$[\text{CuAB}]$	13,90(1)	634	74
Ga-Gly	$[\text{CuAB}]^+$	12,35(2)	—	—
	$[\text{CuABH}_{-1}]$	4,91(1)	583	49

pH 9 körül egy újabb lúgfogyasztó folyamat jelentkezik, amit az abszorpciós spektrum jelentős kék eltolódása kísér. Ez egy további nitrogéndonoratom koordinációjára utal. Itt is érvényes az, amit a $[\text{CuL}]/[\text{Cu}_2\text{L}_2]$ komplexeknél elmondunk: a mérési adatok a $[\text{CuL}]$ és $[\text{CuLH}_{-1}]^-$ komplexekkel csaknem ugyanolyan jól illeszthetők, mint a $[\text{Cu}_2\text{L}_2]$ és a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexekkel, azonban az első modell a spektrális eredményekkel ellentmondásban van. Az ESR spektrum egyértelműen jelzi a dimer szerkezetű $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplex képződését. Az amidnitrogén deprotonálódását követően az ekvatoriális síkban az aszpartilrész ($\text{NH}_2, \text{COO}^-$) donorcsoportjait (NH_2, N^-) donorcsoportok helyettesítik, és a β -karboxilátcsoport axiális irányú koordinációja feltételezhető. Ebben az esetben is szimmetrikus szerkezet alakul ki (40.b. ábra).

A $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexben megvalósuló $(\text{NH}_2, \text{N}^-)(\text{NH}_2, \text{COO}^-)$ koordináció modellezésére a $\text{Cu(II)}-\text{glicinamid}-\text{glicin}$ vegyesrendszert tanulmányoztuk (15.táblázat). $(\text{MA}_2\text{H}_2 + \text{MB}_2 \rightleftharpoons 2 \text{MABH}_2)$

$$\Delta \lg \beta_{111-2} = \lg \beta_{111-2} - 1/2(\lg \beta_{120-2} + \lg \beta_{102} + \lg 4)$$

$$\Delta \lg \beta_{111-2} = 4,91 - 1/2(-5,84 + 14,84 + \lg 4) = 0,11$$

ahol A: glicinamid, B: glicin.

Ennek a rendszernek a vizsgálatát már korábban is elvégezték¹⁸⁴, az általunk kapott értékek jól egyeznek az irodalmi adatokkal. $\Delta \lg \beta_{111-2}$ alapján azt mondhatjuk, hogy a vegyeskomplex stabilitása csak kicsit nagyobb a statisztikai értéknél, azonban az Asp-ε-Lys esetén kialakuló dimer szerkezet stabilizáló tényező lehet, aminek következtében az $(\text{NH}_2, \text{N}^-)(\text{NH}_2, \text{COO}^-)$ koordináció kedvezővé válik.

A vegyeskomplexnél és a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexnél kapott látható-spektrális adatok jól egyeznek (13. és 15. táblázat), $\lambda_{\text{max}} \sim 582$ nm mindkét esetben, ami alapján hasonló koordináció feltételezhető. Ez is megerősíti az $(\text{NH}_2, \text{N}^-)(\text{NH}_2, \text{COO}^-)$ koordináció kialakulását.

A dimer szerkezetek jelenlétére az ESR spektrum kiszélesedése is utal, azonban így nem hasonlíthatók össze az ESR spektrális paraméterek más komplexek megfelelő adataival.

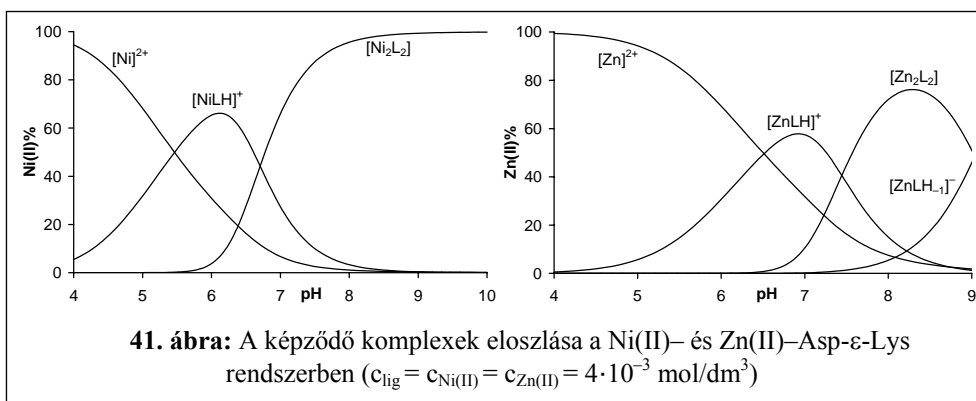
4.2.2.2. Az Asp-ε-Lys nikkell(II)- és cink(II)komplexei

Ni(II)-ionokkal pH-potenciometriás és UV-látható spektrofotometriás, Zn(II)-ionokkal csak pH-potenciometriás méréseket végeztünk. A képződő komplexek stabilitási állandóit a 12. táblázat tartalmazza. Az Asp-ε-Lys Ni(II)- és Zn(II)-komplexeit együtt mutatom be, mert e két átmenetifém ezzel a ligandummal azonos összetételű és szerkezetű komplexeket képez.

A táblázat adatait összehasonlítva láthatjuk, hogy a nikkell(II)- és cink(II)ionok Asp-ε-Lys-nel való komplexképzése némileg eltér a réz(II)ionokétól. Természetesen a potenciometriás adatok nem nyújtanak információt a különböző részecskék szerkezetére vonatkozóan, azonban ha a stabilitási állandókat összehasonlítjuk az irodalmi adatokkal, akkor az egyes komplexek kötődési módjai többé-kevésbé megállapíthatóak.

A komplexképződés mindkét fém esetén az $[\text{MLH}]^+$ komplex kialakulásával kezdődik. (41. ábra) Ebben a komplexben a lizinrész vagy az aszparaginsavrész amino- és karboxilátcsoportjának koordinációjával öttagú, illetve hattagú kelátgyűrű alakul ki, a másik aminocsoport még protonált formában van jelen. A réz(II)-Asp-ε-Lys rendszerben egyensúly kialakulását feltételeztük az α-alanin, és a glicinamidyszerű koordináció között, a β-alaninszerű koordinációt tartalmazó komplexek mennyisége abban a rendszerben nem számottevő. Ugyanakkor a nikkell(II)- és cink(II)ionok esetén ez a komplex már nagyobb pH-n képződik, ahol a β-alaninszerű koordináció is jelentőssé válhat.

Figyelembe véve az aminosocsoportok bázicitását, a kétféle kelátgyűrűvel képezett komplex stabilitására kapott érték $\lg K = 7,09$ és $5,22$ a nikkell(II)komplexek, illetve $\lg K = 6,06$ és $4,19$ a cink(II)komplexek esetén. Ezek az értékek az α -alanin és a β -alanin $[ML]^+$ komplexének stabilitási állandóival vehetők össze (14. táblázat).¹⁷⁷ A táblázat adataiból megállapítható, hogy a nikkell(II)- és cink(II)ionok esetén az egyszerű aminosavakhoz képest extrastabilizáció jelentkezik, míg a réz(II)ionoknál ez nem figyelhető meg. A réz(II)ion és a másik két fémion közötti különbség a komplexek szerkezetével értelmezhető. A réz(II)ion Asp- ϵ -Lys-nel képzett $[CuLH]^+$ komplexében a ligandum a két aminosavkomplexben megvalósuló koordinációs módhoz hasonlóan csak az amino- és a karboxilátcsoportokkal koordinálódik a réz(II)komplexekre jellemző torzult oktaéderes a szerkezetet létrehozva. Ugyanakkor, a nikkell(II) és cink(II) $[MLH]^+$ komplexek szabályos oktaéderes geometriájúak, ahol a ligandum az aminosavaktól eltérően tridentát módon kötődik; az amino- és a karboxilátcsoportok mellett egy másik karboxilát- vagy karbonilcsoport is részt vesz a fémion koordinálásában.



A pH növelésével $[ML]$ vagy $[M_2L_2]$ összetételű komplexek képződnek. A potenciometriás mérések alapján nem dönthető el egyértelműen, hogy monomer vagy dimer szerkezetű komplexek vannak-e az oldatban. Azonban ha figyelembe vesszük azt, hogy hasonlóan a réz(II)komplexekhez, itt sem tapasztaltunk biszkompleképződést, és hogy a sztérikus körülmények nem teszik lehetővé azt, hogy egyetlen ligandum telítse a fémionok koordinációs szféráját, akkor ebben az esetben is a dimer szerkezetű $[M_2L_2]$ komplexek képződését feltételezhetjük.

A legnagyobb különbség a réz(II)ion és a másik két fémion komplexképzése között az, hogy az amidnitrogén ez utóbbi két esetben nem deprotonálódik és koordinálódik. Ez a cink(II)komplex esetén nem meglepő, mert a cink(II)ion általában nem képes elősegíteni az amidnitrogén deprotonálódását, azonban a nikkell(II)ion egyszerű di- és tripeptidkomplexeiben a deprotonálódott

amidnitrogén koordinációja jellemző.^{44,50} A stabilis kelátgyűrűk kialakulása általában akadályozza ezt a folyamatot. Ez megfigyelhető az aszpartil-fenilalaninamid (Asp-Phe-NH₂) nikkell(II)komplexénél is, azonban az aszpartilrész koordinációja abban az esetben csak kismértékben gátolja az amidnitrogén deprotonálódását.¹⁸⁵ Ugyanakkor a Ni(II)–glicil-ciszteil-diszulfid [(Gly-Cys)₂] rendszerben a [NiL] komplexekben kialakuló makrokelát kialakulása olyan mértékben stabilizálja a dipeptidszerű (NH₂,CO) koordinációt, hogy az amidnitrogén deprotonálódása nem következik be. A Ni(II)–Asp- ϵ -Lys rendszer komplexképző sajátosságai hasonlóan magyarázhatóak: a dimer szerkezet stabilizálja a [Ni₂L₂] komplexet, és ez megakadályozza az amidnitrogének deprotonálódását és koordinációját. Ez szintén azt a feltételezést támasztja alá, hogy egy fémion körül négy donorcsoport koordinálódik.

A Zn(II)-ionokkal annyi eltérés mutatkozik a Ni(II)-komplexekhez képest, hogy pH 8 felett [ZnLH₋₁]⁻ összetételű vegyes-hidroxokomplex képződik, majd csapadék válik ki az oldatból.

4.2.3. A Gly-Lys(Gly) átmenetifém-komplexei

A Gly-Lys(Gly) réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)ionokkal képzett komplexeinek stabilitási állandóit pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg, az adatokat a 16. táblázatban foglaltam össze. A táblázat adataiból látható, hogy a komplexek stabilitási sorrendje követi az Irving-Williams sort, és biszkomplexek csak a nikkell(II)- és cink(II)ionokkal képződnek.

16. táblázat: A Gly-Lys(Gly) ligandummal képződő átmenetifém-komplexek stabilitási állandói

A komplex összetétele	lg β (Cu(II)-komplex)	lg β (Ni(II)-komplex)	lg β (Zn(II)-komplex)
[MLH ₂] ³⁺	17,96(18)	—	—
[MLH] ²⁺	14,19(6)	12,25(5)	11,42(8)
[ML] ⁺	9,68(2)	6,07(2)	4,74(2)
[MLH ₋₁]	3,54(4)	-3,39(4)	—
[ML ₂]	—	9,14(8)	7,0(1)
pK(MLH ₂ /MLH)	3,77	—	—
pK(MLH/ML)	4,51	6,18	6,68
pK(ML/MLH ₋₁)	6,14	9,46	—
lgK ₁ /K ₂ (ML ₂)	—	3,00	2,48

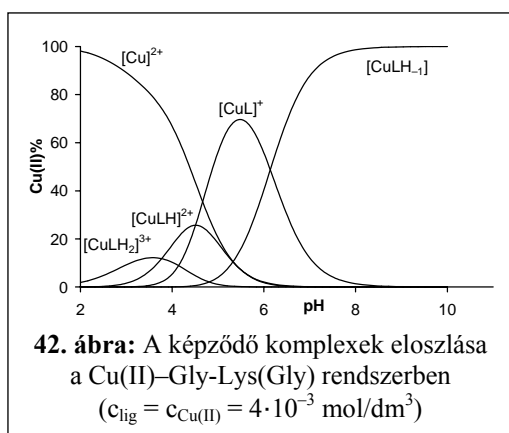
4.2.3.1. A Gly-Lys(Gly) réz(II)komplexei

A különböző fém/ligandum arányoknál végzett pH-potenciometriás és UV-VIS spektrofotometriás méréseinket kiegészítettük az Olaszországban végzett ESR spektrális vizsgálatok eredményeivel. Az egyes komplexekre vonatkozó paramétereket a 17. táblázatban foglaltam össze.

17. táblázat: A Cu(II)–Gly-Lys(Gly) rendszerben és az összehasonlításként használt Cu(II)–Gly-Gly rendszerben képződő komplexek spektrális adatai és a komplexekben kialakuló koordináció típusa

	$\lambda_{\max}(\text{nm});$ $\varepsilon (\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1})$	$g_{\parallel}; A_{\parallel} (10^{-4} \text{cm}^{-1})$	Koordináció
<u>Gly-Lys(Gly)</u>			
$[\text{CuLH}_2]^{3+}$	—	—	(NH_2, CO)
$[\text{CuLH}]^{2+}$	788	2,325; 160	(NH_2, CO)
$[\text{CuL}]^+$	639	—	($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-$)
$[\text{CuLH}_{-1}]$	623; 89	”a” 2,248; 165 ”b” 2,213; 167	(NH_2, CO)(NH_2, N^-) ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-$)(NH_2, CO)
<u>Gly-Gly¹⁷¹</u>			
$[\text{CuL}]^+$	—	2,332; 161	(NH_2, CO)
$[\text{CuLH}_{-1}]$	640; 84	2,248; 185	($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-$)
$[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^{2-}$	625; 82	2,232; 168	($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-$)(NH_2, CO)

A Cu(II)–Gly-Lys(Gly) rendszerben valamennyi fém/ligandum aránynál és minden pH-n csak 1:1 összetételű komplexek képződnek. A 42. ábrán látható, hogy a komplexképződési folyamat már pH 3 alatt elkezdődik, ami a ligandum nagy fémmegkötő tulajdonságát mutatja. Az elsőként képződő $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ komplexben az egyik amino- és az ezzel szomszédos karbonilcsoport koordinálódásával öttagú kelátgyűrű alakul ki, a karboxil- és a másik aminocsoport még protonált. Spektrális paraméterek erre a részecskére nem határozhatók meg, mivel igen kis mennyiségben, és más komplexekkel átfedésben képződik.



42. ábra: A képződő komplexek eloszlása a Cu(II)–Gly-Lys(Gly) rendszerben ($c_{\text{lig}} = c_{\text{Cu(II)}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

A pH 3 fölött megjelenő $[\text{CuLH}]^{2+}$ részecske ESR paramétereit (17. táblázat) az (NH_2, CO) koordinációt tartalmazó glicil-glicin $[\text{CuL}]^+$ komplexének ESR paramétereivel jól egyeznek. Ebből arra következtethetünk, hogy a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ komplexben megvalósuló (NH_2, CO) koordináció megmarad a $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplexben is, eltérés csak abban mutatkozik, hogy ez utóbbi komplexben a karboxilcsoport már deprotonálódott. Ugyanakkor a diglicin és a glicinamid savbázis és fémmegekötő tulajdonságainak hasonlósága alapján^{171,184} azt feltételezhetjük, hogy az (NH_2, CO) koordináció a molekula mindkét végén kialakulhat, miközben a nemkoordinálódó molekularész részben vagy teljesen protonált marad. Ez azt jelenti, hogy a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ mellett a $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplexnek is lehetnek izomerjei. Azonban az azonos koordinációs mód miatt a pH-potenciometria, illetve a látható és az ESR spektroszkópia sem tud különbséget tenni a két izomer között.

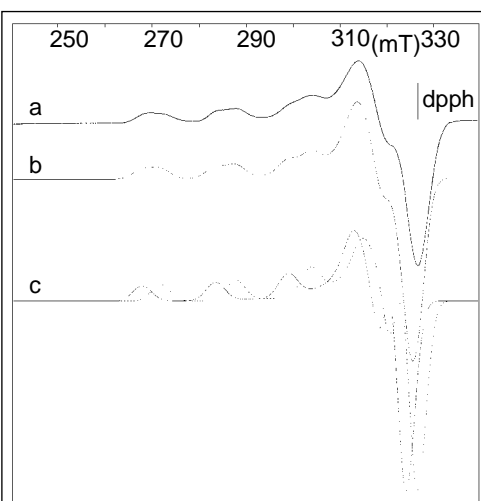
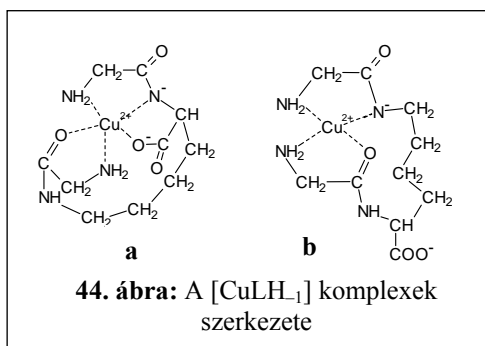
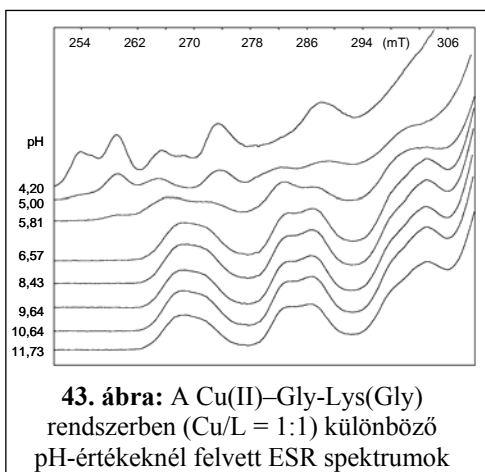
A $[\text{CuL}]^+$ komplex képződését az abszorpciós spektrum jelentős kék eltolódása kíséri, ami legalább még egy nitrogéndonoratom koordinációjára utal. Ez kétféleképpen valósulhat meg: $2(\text{NH}_2, \text{CO})$ koordinációjú biszligandumú komplexek alakulhatnak ki, vagy az egyik amidnitrogén deprotonálódik és koordinálódik. A glicil-szarkozin $[\text{CuL}_2]$ komplexében az előbbi feltételezték, ebben az esetben az abszorpciós spektrum maximuma 658 nm-nél található.¹⁷¹ Ez az érték határozottan nagyobb, mint a Gly-Lys(Gly) $[\text{CuL}]^+$ komplexére kapott érték, és a sztérikus körülmények is kizárják a koordináció ezen típusának kialakulását az egymagvú komplexekben. Ennek alapján az egyik amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja sokkal valószínűbb, amikoris a ligandum egyik vége tridentát módon, $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$ donoresoportokkal, vagy bidentát módon $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ donoresoportokkal kötődik, miközben a másik aminos csoport továbbra is protonált marad. Ennek alapján a komplex sztöchiometriája $[\text{CuLH}_1\text{H}]^+$. Az abszorpciós spektrum alátámasztja ezt a feltételezést: a Gly-Gly $[\text{CuLH}_1]$ komplexének abszorpciós maximuma – ahol ez a $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$ koordináció alakul ki – 640 nm-nél jelentkezik. Az ESR paraméterek azonban nem hasonlíthatók össze, mivel egyidejűleg több részecske van jelen az oldatban. Ennek némileg ellentmondani látszik az eloszlási görbe, ahol látható, hogy pH 5,5 körül 70%-ban képződik a $[\text{CuL}]^+$ komplex. Azonban figyelembe kell venni, hogy a $[\text{CuLH}_1\text{H}]^+$ komplexnek két izomerje lehetséges: az egyik a Gly-Gly-nél említett koordinációval, a másik a molekula másik végének $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ koordinációjával (glicinamidszerű koordináció) alakul ki. A két izomer ESR paramétereit csak kismértékben különböznek egymástól, így kis felbontású ESR spektrumot kaptunk (43. ábra pH = 5,00, 5,81).

A potenciometriás mérésekből számított eloszlás alapján a rendszer főkomponense a $[\text{CuLH}_1]$, amely pH 5 körül jelenik meg, és pH 8 felett már az egyedüli részecske az oldatban. A komplex képződését az abszorpciós spektrum kismértékű kék eltolódása kíséri, az abszorpciós maximum a dipeptid $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$

biszkomplexek abszorpciós maximumának felel meg.¹⁷¹ A Cu(II)–Gly-Lys(Gly) rendszer ekvimoláris oldatának ESR spektruma azonban bonyolultabb rendszerre utal, mint amit a dipeptidek esetén kaptak. pH 6,6-tól két részecske van egymással egyensúlyban, ezek relatív koncentrációja közelítőleg 1:1, majdnem állandó. Feltételezésünk szerint ez a két komplex a [CuLH₁] izomerjei.

Az "a" izomerben (44. ábra) a Gly-Lys-rész tridentát módon koordinálódik a Cu(II)-ionhoz ((NH₂,N⁻,COO⁻) típusú koordináció), ehhez hozzájárul a másik glicinrész (NH₂,CO) típusú koordinációja, ami egy makrokelátot eredményez.

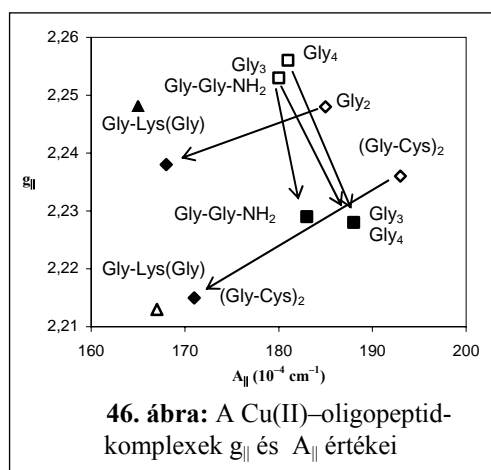
A "b" izomerben (44. ábra) (NH₂,N⁻) bidentát koordináció alakul ki az ε-Lys-résszel, ami kiegészül az N-terminális Gly (NH₂,CO) típusú koordinációjával. Így (NH₂,CO)(NH₂,N⁻) donorcsoportokat tartalmazó makrokelát alakul ki. Ebben az esetben a karboxilátcsoport koordinációja nem kedvező a kialakuló kelátgyűrű mérete miatt.



A két izomerre kapott meglehetősen bonyolult ESR spektrum felbontható két spektrum összegére (45. ábra), amelynek jellemző paraméterei egy-egy izomerhez

rendelhetők. Abban, hogy mely paraméterek mely izomerhez tartoznak, a Cu(II)-peptidkomplexek ESR paramétereinek összehasonlítása segít.

A 46. ábra különböző oligopeptidek deprotonálódott amidcsoportot tartalmazó monokomplexeinek (üres négyzetek), valamint egy második ligandum koordinálásával létrejövő biszkomplexeinek (fekete négyzetek) ESR paramétereit ábrázolja, míg a nyilak az ESR spektrális paramétereinek változását mutatják, miközben a monokomplexből biszkomplex képződik. Ezen változások alapján a ligandumok két csoportba oszthatók.



Az egyik esetben $g_{||}$ csökken, $A_{||}$ kissé növekszik. Ez jellemző a triglicinre és a tetraglicinre, valamint a glicil-glicinamidra. Ebben az esetben azt feltételezzük, hogy a karbonilcsoport, mely a monokomplexben az $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ donoratomban mellett, az ekvatoriális síkban kötődik a fémionhoz, a második ligandum aminos csoportjával helyettesítődik. Így a biszkomplexben három nitrogénatom található ekvatoriális helyzetben és a geometria közelítőleg síknégyzetes.

A második csoportba tartozó ligandumok esetén $g_{||}$ és $A_{||}$ is csökken. Ez teljesül a diglicinre és a glicil-ciszteil-diszulfidra is. Az ESR spektrális paraméterek ilyen irányú változása nem jellemző a szabályos szerkezetekre. Ebben az esetben a monokomplex erősen koordinálódó karboxilát csoportját $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$ koordináció a második ligandum nem képes kiszorítani az ekvatoriális helyzetből. Ezért a dipeptidek $\text{CuL}_2\text{H}_{-1}$ komplexében a második ligandum aminos csoportja a torzult szerkezet axiális pozíciójában található, vagy az aminonitrogén és a karboniloxigén donoratomban között ekvatoriális-axiális egyensúly alakul ki. Ugyanez a koordináció figyelhető meg a $(\text{Gly-Cys})_2 \text{CuLH}_{-1}$ komplexében is, ahol az $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$ koordináció $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{NH}_2, \text{CO})$ koordinációvá bővül.¹⁸⁶

A Cu(II)–GlyLys(Gly) rendszerben képződő “a” izomer (üres háromszög) a paraméterek alapján a komplexek második csoportjába tartozik, $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)$ (NH_2, CO) donoratomban koordinációjával torzult geometria alakul ki.

A “b” izomer spektruma rendhagyó, az izomer jele az ábra felső részén található (fekete háromszög). Ez az eddigiektől eltérő szerkezetre utal. Ennél a komplexnél karboxilát csoport nem vesz részt a koordinációban. Itt a Lys-rész ϵ -pozíciójában található deprotonált amidcsoport koordinálásával $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ és a

ligandum másik részének (NH₂,CO) donorcsoportjaival torzult geometriájú szerkezet alakul ki.

Mivel a stabilitási állandókat pH-potenciometriás mérésekből határoztuk meg, és ez a módszer nem tud különbséget tenni a két izomer között, a számított lgβ állandók kiátlagolt értékek.

4.2.3.2. A Gly-Lys(Gly) nikkell(II)- és cink(II)komplexei

Hasonlóan az Asp-ε-Lys-hez a Gly-Lys(Gly) Ni(II)- és Zn(II)- komplexeit is együtt értékelem. Együttes tárgyalásukat a két fémion esetén hasonló, a Cu(II)-komplexeiktől eltérő szerkezetek kialakulása indokolja. A Ni(II)–Gly-Lys(Gly) rendszerben képződő komplexek eloszlását a 47. ábra mutatja.

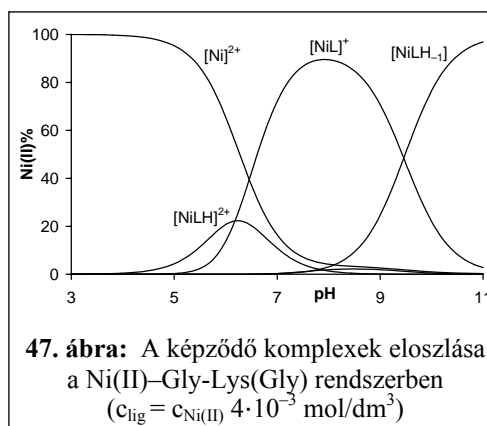
Savas közegben mindkét fémion esetén az [MLH]²⁺ komplex jelenik meg először az oldatban. Az analóg [CuLH]²⁺ komplexhez hasonlóan itt is (NH₂,CO) típusú koordináció alakul ki az egyik amino- és a szomszédos karbonilcsoport részvételével, a másik aminocsoport még protonált. Ezt a koordinációt támasztja alá, hogy az [NiLH]²⁺ komplexre vonatkozó, az aminocsoport p*K*-értékével korrigált stabilitási állandó a szintén (NH₂,CO) donorkat tartalmazó glicinamid [NiL]²⁺ komplexének stabilitási állandójával¹⁸⁵ egyezik meg:

$$\lg\beta(\text{NiLH}) - pK_3 = 12,25 - 8,44 = 3,81$$

$$\lg\beta(\text{NiL})_{\text{Ga}} = 3,80.$$

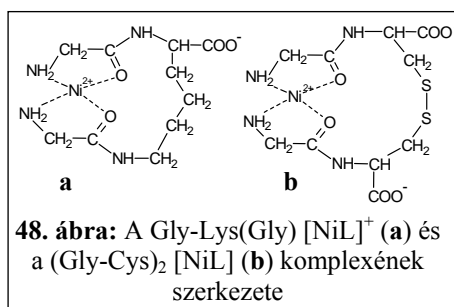
A pH emelésével mindhárom rendszerben megjelenik az [ML]⁺ komplex. Amíg a Cu(II)–Gly-Lys(Gly) rendszerben az MLH → ML + H⁺ folyamatra jellemző p*K*-érték az amidnitrogén deprotonálódására vonatkozik (p*K*(CuLH/CuL) = 4,51), addig a Ni(II) és a Zn(II) esetén az aminocsoport deprotonálódását jellemzi. Mivel p*K*(NiLH/NiL) = 6,18, illetve p*K*(ZnLH/ZnL) = 6,68 kisebb, mint a p*K*₂ a szabad ligandum esetén, a második aminocsoport deprotonálódása és koordinációja kedvezményezett folyamat. A Zn(II)-komplex nagyobb protonálódási állandója azt mutatja, hogy a Zn(II)-ion kevésbé tudja elősegíteni az aminocsoport deprotonálódását és koordinációját.

Ez a koordináció úgy valósulhat meg, hogy az [ML]⁺ komplexben a központi fémionhoz a ligandum mindkét vége (NH₂,CO) donorcsoportokkal kötődik. A (glicil-ciszteil)-diszulfid esetén is hasonló szerkezetek kialakulását tapasztalták



47. ábra: A képződő komplexek eloszlása a Ni(II)–Gly-Lys(Gly) rendszerben ($c_{\text{lig}} = c_{\text{Ni(II)}} 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

(48. ábra). A $[\text{NiL}]^+$ és a $[\text{ZnL}]^+$ komplexben a két amino- és az ezekkel szomszédos karbonilcsoportok koordinálásával makrokelát alakul ki. Vizsgálati eredményeink is összhangban vannak a $(\text{Gly-Cys})_2$ ligandumnál tapasztaltakkal,¹⁸⁶ ahol $pK(\text{NiLH}/\text{NiL}) = 5,44$, $pK(\text{ZnLH}/\text{ZnL}) = 5,86$. A Zn(II) -ionok itt is kevésbé segítik elő az aminocsoport deprotonálódását és koordinációját. A kialakuló koordináció stabilizálja a $[\text{NiL}]^+$ komplexet, ami nagyobb mennyiségben képződik, mint a $[\text{CuL}]^+$ komplex. Hasonló stabilitásnövekedés a $(\text{Gly-Cys})_2$ -nél is megfigyelhető.



A $2(\text{NH}_2, \text{CO})$ koordinációt igazolja a Gly-Lys(Gly) $[\text{NiL}]^+$ és a hasonló koordinációt tartalmazó glicinamid NiL_2 ,^{67,187} illetve a $(\text{Gly-Cys})_2$ NiL komplexek spektrális tulajdonságainak összehasonlítása is (18. táblázat).

18. táblázat: A $2(\text{NH}_2, \text{CO})$ koordinációt tartalmazó Ni(II)-komplexek spektrális paraméterei

Ligandum komplex	Gly-Lys(Gly) $[\text{NiL}]^+$	Glicinamid $[\text{NiL}_2]^{2+}$	$(\text{Gly-Cys})_2$ $[\text{NiL}]$
λ_{max} (nm)	377 624 980	373 621	373 620

Amíg a $\text{Cu(II)}\text{-Gly-Lys(Gly)}$ rendszerben a $[\text{CuLH}_{-1}]$ a főkomponens, Ni(II)- és Zn(II)-ionokkal az $[\text{ML}]^+$ részecske képződik a legnagyobb mennyiségben, és a további deprotonálódási lépés csak pH 9 felett következik be. A Ni(II)-Gly-Lys(Gly) rendszerben azonban szintén kialakul az $[\text{MLH}_{-1}]$ összetételű komplex. A komplex képződésére vonatkozó $pK(\text{NiL}/\text{NiLH}_{-1}) = 9,46$ nagyobb, mint a második aminocsoport protonálódási állandója a szabad ligandumban ($pK_3 = 8,44$). Ha a $[\text{NiL}]^+$ komplexben a $\text{Cu(II)}\text{-Gly-Lys(Gly)}$ rendszerhez hasonlóan $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-) + \text{NH}_3^+$ koordináció alakulna ki, akkor a deprotonálódásnak pH 7-8 között végbe kellett volna mennie. Ez azonban nem következett be, így az előbbi pK -érték az amidnitrogén deprotonálódására vonatkozik. Ezt támasztja alá az is, hogy a glicinamid esetén a $\text{NiL}_2 \rightarrow \text{NiL}_2\text{H}_2 + 2\text{H}^+$ folyamatra $pK(\text{átlag}) = 9,46$, ez megegyezik a Gly-Lys(Gly) Ni(II)-komplexének fent számított pK -értékével. Másrészt hasonlóan a Ni(II)- $(\text{Gly-Cys})_2$ rendszerhez, az egyszerű dipeptidekhez képest gátolt az amidnitrogén deprotonálódása (a glicil-glicinnél $pK(\text{NiL}/\text{NiLH}_{-1})$

= 8,87).⁹⁰ Ugyanakkor, ha összehasonlítjuk a (Gly-Cys)₂ komplexekre vonatkozó állandókkal ($\lg\beta(\text{NiL}) = 7,41$, $\lg\beta(\text{ZnL}) = 6,69$), az is látható, hogy a Gly-Lys(Gly) ligandummal képződő komplexek stabilitása kisebb mint a (Gly-Cys)₂ esetén. Mivel a képződő komplexek hasonló koordinációt tartalmaznak, a stabilitáskülönbség oka valószínűleg az, hogy a Gly-Lys(Gly) esetén a középső, nem koordinálódó részből kialakuló gyűrű tagszáma eggyel kisebb, s ez feszítettebbé teszi a szerkezetet.

Feltételezhető, hogy Cu(II)-komplexhez hasonlóan két [NiLH₋₁] izomer van jelen az oldatban: (NH₂,N⁻,COO⁻)(NH₂,CO) és (NH₂,N⁻)(NH₂,CO) koordináció is megvalósulhat.

A kapott UV-látható spektrumok a képződő komplexek átfedése miatt csak a [NiL]⁺ és a [NiLH₋₁] komplexekre értékelhetők ki (a [NiL]⁺-nél abszorpciós maximum 377, 624 és 980 nm-nél, a [NiLH₋₁] komplex esetén 361, 597 és 862 nm-nél jelenik meg), az azonban a spektrumokból megállapítható, hogy a vizsgált pH-tartományban nem következik be geometriaváltás, végig oktaéderes komplexek vannak jelen.

A Zn(II)-komplexben nem játszódik le az amidcsoport deprotonálódása, s ez a szerkezet nem képes megakadályozni a Zn(II)-ion hidrolízisét, pH 9 felett csapadék válik ki az oldatból.

Mindkét fémionnal végeztünk méréseket ligandumfelesleg esetén is. Ekkor [ML₂] összetételű részecskék képződését is kimutattuk. Az [ML]⁺ és [ML₂] komplexekre vonatkozó $\lg(K_1/K_2)$ Ni(II) esetén 3,00, Zn(II) esetén 2,48, ami lényegesen nagyobb, mint a statisztikai érték (0,60). Ez azzal a magyarázható, hogy az [ML]⁺ nagy stabilitású komplex, így nem kedvező a második ligandum belépése.

4.3. Bisz(imidazol-2-il)-metil-csoportot tartalmazó aminosavszármazékok

4.3.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai

4.3.1.1. A ligandumok deprotonálódási makrofolyamatai

A vizsgált ligandumok szerkezete a 20. ábrán (29. old.) látható. Az α -Asp-BIMA, az α -Glu-BIMA és a γ -Glu-BIMA két imidazolgyűrűt, egy amino- és egy karboxilcsoportot tartalmaz. Teljesen protonált alakjuk $[H_4L]^{3+}$ formában adható meg. Ennek megfelelően 4-4 deprotonálódási állandóval jellemezhetőek. A β -Ala-BIMA ligandumban a karboxilátcsoportot leszámítva ugyanezek a funkciócsoportok találhatóak, így 3 deprotonálódási állandó rendelhető hozzá. A vizsgált, és az összehasonlításhoz használt ligandumok deprotonálódási állandóit a 19. táblázatban tüntettem fel.

19. táblázat: Az általunk vizsgált és az összehasonlításként használt ligandumok deprotonálódási állandó értékei

ligandum	$pK(-NH_3^+)$	$pK(Im_2)$	$pK(Im_1)$	$pK(-COOH)$ (oldallánc)	$pK(-COOH)$ (C-terminális)	$pK(His)$
α -Asp-BIMA	7,48(1)	5,49(2)	2,32(5) ill. 3,32(3)	—	—	—
α -Glu-BIMA	7,65(1)	5,55(3)	2,66(8) ill. 3,77(5)	—	—	—
γ -Glu-BIMA	9,045(7)	5,83(2)	3,41(3)	1,79(5)	—	—
β -Ala-BIMA	9,23(1)	5,51(1)	3,13(2)	—	—	—
Gly-BIMA ⁹⁸	7,95	5,51	3,22	—	—	—
Phe-BIMA ⁹⁹	7,17	5,28	3,09	—	—	—
His-BIMA ⁹⁹	7,28	4,53	2,61	—	—	5,81
Gly-Leu-BIMA ¹⁸⁹	7,92	5,58	3,17	—	—	—
α -Asp-Gly ⁷⁶	7,94	—	—	3,56	2,81	—
α -Glu-Val ⁷⁶	7,86	—	—	4,12	3,16	—
γ -Glu-Val ⁷⁶	9,16	—	—	2,05	3,46	—
γ -Glu-His ⁷⁶	9,33	—	—	1,91	2,85	7,01
β -Ala-Gly ⁹⁰	9,44	—	—	—	3,29	—

Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA deprotonálódási állandóit a szerkezeti hasonlóság miatt együtt tárgyalom. A legnagyobb deprotonálódási állandók az aminosoporthoz rendelhetőek. Ezek az értékek kisebbek, mint az α -Asp-X és az α -Glu-X dipeptidek megfelelő deprotonálódási állandói. Ez azzal értelmezhető, hogy a bisz(imidazol-2-il)-csoport csökkenti az aminosoporthoz bázicitását. Ugyanez a hatás figyelhető meg a Gly- és a His-származékokban is: Gly-Gly¹⁷¹: 8,13 – Gly-BIMA: 7,95, illetve His-Gly¹⁹⁰: 7,59 – His-BIMA: 7,28. Ugyanakkor a két ligandum aminosoportjainak deprotonálódási állandója a Gly-BIMA-énál is kisebb. Ezt a csökkenést az oldalláncbeli karboxilátcsoport okozza. Ilyen hatást az α -Asp-X és az α -Glu-X típusú peptideknél is megfigyeltek: pl. Gly-Gly: 8,13, α -Asp-Gly: 7,94 (α -Glu-Val: 7,86).

Az imidazolnitrogén deprotonálódási állandói a többi BIMA-származékhoz hasonlóan kisebbek, mint az imidazolé (6,95). Ezt egyrészt az aromás gyűrűk közötti kölcsönhatás, másrészt a többi funkciócsoport jelenléte okozza. A $pK(\text{Im}_2)$ értékek megfelelnek a Gly-BIMA és a Gly-Leu-BIMA $pK(\text{Im}_2)$ értékének, de nagyobbak, mint az aromás oldalláncot tartalmazó Phe-BIMA és His-BIMA megfelelő értéke. A $pK(\text{Im}_1)$ és a $pK(\text{COOH})$ egymáshoz nagyon közeli érték, a két csoport deprotonálódása egymással átfedő lépésekben történik. Az α -Glu-BIMA esetén az egyes csoportokhoz rendelhető mikroállandókat is meghatároztuk, erre a későbbiekben térek ki. Azonban ezeket az értékeket más ligandumok pK -értékeivel összehasonlítva már a mikroállandók ismerete nélkül is megállapítható, hogy az imidazolnitrogén deprotonálódása kisebb pH-n kezdődik, mint a karboxilcsoporté. Az is látható, hogy a $pK(\text{Im}_2)$ értékek hasonlóan a többi aminosav-származékhoz lényegesen kisebbek, mint a BIM⁹⁶ megfelelő értéke. Az amidkötés megjelenése eleve csökkenti mindkét imidazolnitrogén deprotonálódási állandóját; BIM: 6,92 és 4,74, Gly-BIMA: 5,51 és 3,22, azonban az oldalláncbeli donorcsoportok jelenléte további csökkenést okoz. Az imidazolgyűrű (His) jelentős csökkentő tényező (Gly-BIMA: 3,22 – His-BIMA: 2,61, valamint Ac-Pro-Leu-Gly-BIMA:⁴ 3,33 – Ac-Pro-Leu-His-BIMA:¹⁹¹ 2,85). Hasonló a hatása az oldalláncbeli karboxilcsoportnak is, ez különösen az aszparaginsav esetén figyelhető meg.

Az aszparaginsav és a glutaminsav oldalláncbeli karboxilcsoportjának deprotonálódási állandója valamivel kisebb, mint az aszparaginsav-, illetve a glutaminsav-tartalmú dipeptidekben. A BIMA-származékokban a láncvégi karboxilcsoport helyett két imidazolgyűrű van jelen, melynek kisebb hatása van az oldalláncbeli karboxilcsoport deprotonálódására. Hasonló, bár csekélyebb mértékű változás figyelhető meg a hisztidin esetén is: His-Gly:¹⁹⁰ 5,94 – His-BIMA: 5,81.

A γ -Glu-BIMA-ban az amino- és a karboxilcsoport ugyanolyan helyzetben van egymással, mint az α -aminosavakban. Ez a deprotonálódási állandó értékekben is tükröződik: a karboxilcsoport pK -ja lényegesen kisebb, az aminosoporthoz pK -ja

lényegesen nagyobb, mint az α -Glu-BIMA megfelelő értékei. Ugyanez a tendencia figyelhető meg, ha összehasonlítjuk az α -Glu-X és a γ -Glu-X típusú dipeptidek deprotonálódási állandóit (pl. α -Glu-Val: 4,12 és 7,48, γ -Glu-Val: 2,05 és 9,16).

Ha γ -Glu-BIMA karboxil- és aminocsoportjának deprotonálódási állandóit γ -Glu-X dipeptidek megfelelő értékeivel hasonlítjuk össze, akkor a bisz(imidazol-2-il)-csoport hatása figyelhető meg: a γ -Glu-BIMA karboxilcsoportjának pK -ja kisebb mint a dipeptidekben, mert a bisz(imidazol-2-il)-csoport kisebb hatást gyakorol rá, mint a dipeptidek láncvégi karboxilátcsoportja, másrészt az aminocsoport pK -ja is kisebb, mert a bisz(imidazol-2-il)-csoport csökkenti az aminocsoport bázicitását.

Az imidazolnitrogének deprotonálódási állandója lényegesen nagyobb, mint a többi aminosavszármazékban. Az aminocsoport ebben az esetben két metilén-csoporttal távolabb van a bisz(imidazol-2-il)-résztől, mint a korábban vizsgált ligandumokban, így kevésbé csökkenti az aromás nitrogének bázicitását.

Az egyes csoportokhoz tartozó deprotonálódási mikroállandókat ennél a ligandumnál is meghatároztuk, ennek ismertetésére a 4.3.1.2. fejezetben térek ki.

A β -Ala-BIMA ligandum nem tartalmaz oldalláncbeli karboxilátcsoportot, és a két imidazolilcsoport is viszonylag messze található az aminocsoporttól, így ez utóbbi deprotonálódási állandója a vizsgált ligandumok közül itt a legnagyobb, értéke a C-terminális β -alanint tartalmazó peptidhez mérhető.

Az imidazolnitrogének deprotonálódási állandói gyakorlatilag megegyeznek a Gly-BIMA megfelelő értékeivel.

4.3.1.2. Az α - és a γ -Glu-BIMA deprotonálódási mikroflowamatainak összehasonlítása

Két ligandum, az α -Glu-BIMA és a γ -Glu-BIMA esetén $^1\text{H-NMR}$ módszerrel a deprotonálódási mikroállandókat is meghatároztuk. A módszer részletes leírása a publikációs lista 4. közleményében olvasható. Itt csak a legfontosabb eredményeket ismertetem. A két ligandum összegképlete azonos, ugyanazokat a funkciócsoportokat tartalmazzák, ugyanazok a deprotonálódási mikroflowamatok írhatók fel rájuk, (49. ábra) azonban eltérő szerkezetükből adódóan már a deprotonálódási mikroállandók között is jelentős különbség van. A legfontosabb mikrokonstans értékeket a 20. táblázatban foglaltam össze.

Az adatokból látható, hogy a várakozásnak megfelelően, ha a ligandum protonáltsági foka csökken, akkor egy adott protonálódási hely pK -ja növekszik, hiszen minél kevesebb proton van a ligandumon, azaz minél kisebb a töltés, annál nehezebb egy további protont eltávolítani.¹⁹² A táblázat utolsó négy sorában feltüntettük a $pK^{1/2}$ értékeket, amelyek a különböző funkciócsoportok 50%-os

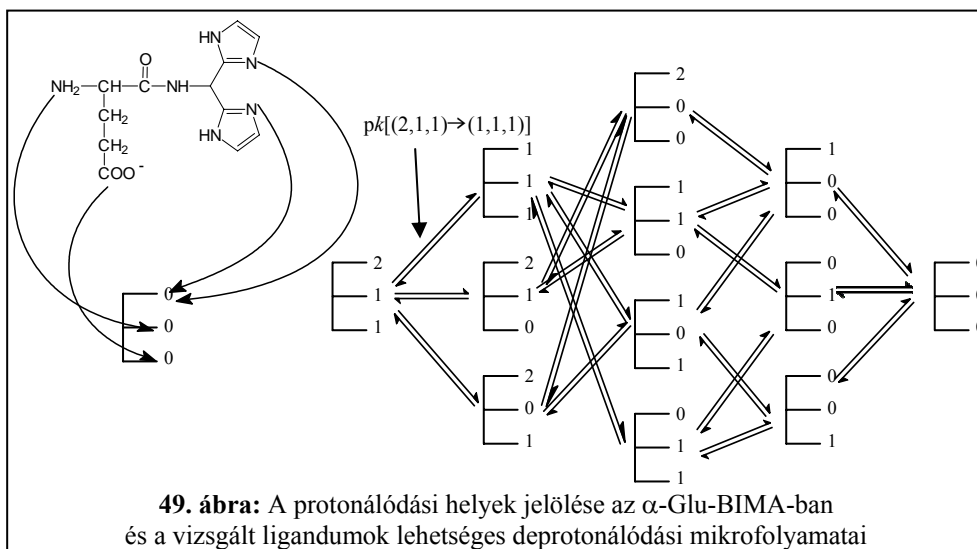
protonáltságához tartozó pH értékek felelnek meg. Látható, hogy a Gly-BIMA-hoz képest az α -Glu-BIMA valamennyi $pK^{1/2}$ értéke kisebb, míg a γ -Glu-BIMA-é nagyobb, ahogy azt már a makroszkópikus állandóknál is megállapítottuk, és értelmeztük.

20. táblázat: A vizsgált ligandumok és a Gly-BIMA mikrorészecskéinek mikroszkópikus deprotonálódási állandói, és az 50%-os protonáltságához tartozó mikroszkópikus deprotonálódási állandók

	α -Glu-BIMA	γ -Glu-BIMA	Gly-BIMA
$pK(\text{Im}_1)$	$(2,1,1) \rightarrow (1,1,1)$ 2,76(2)	$(2,1,1) \rightarrow (1,1,1)$ 3,13(9)	$(2,1) \rightarrow (1,1)$ 3,22(1)
	$(2,1,0) \rightarrow (1,1,0)$ 2,96(7)	$(2,1,0) \rightarrow (1,1,0)$ 3,40(1)	—
$pK(\text{Im}_2)$	$(1,1,1) \rightarrow (0,1,1)$ 4,36(4)	$(1,1,1) \rightarrow (0,1,1)$ 3,9(5)	$(1,1) \rightarrow (0,1)$ 5,55(1)
	$(1,1,0) \rightarrow (0,1,0)$ 5,46(2)	$(1,1,0) \rightarrow (0,1,0)$ 5,84(1)	$(1,0) \rightarrow (0,0)$ 9,00(5)
	$(1,0,1) \rightarrow (0,0,1)$ 4,4(4)	$(1,0,0) \rightarrow (0,0,0)$ 7,3(3)	—
$pK(-\text{NH}_3^+)$	$(2,1,1) \rightarrow (2,0,1)$ 4,4(3)	$(1,1,0) \rightarrow (1,0,0)$ 7,5(3)	$(1,1) \rightarrow (1,0)$ 6,56(5)
	$(2,1,0) \rightarrow (2,0,0)$ 4,9(4)	$(0,1,1) \rightarrow (0,0,1)$ 5,8(8)	—
	$(1,1,1) \rightarrow (1,0,1)$ 5,7(3)	$(0,1,0) \rightarrow (0,0,0)$ 9,04(1)	—
	$(0,1,1) \rightarrow (0,0,1)$ 5,8(1)	—	—
	$(0,1,0) \rightarrow (0,0,0)$ 7,48(2)	—	—
$pK(\text{COOH})$	$(2,1,1) \rightarrow (2,1,0)$ 3,58(7)	$(2,1,1) \rightarrow (2,1,0)$ 1,81(1)	—
	$(1,1,1) \rightarrow (1,1,0)$ 3,78(2)	$(1,1,1) \rightarrow (1,1,0)$ 2,08(9)	—
	$(0,1,1) \rightarrow (0,1,0)$ 4,88(4)	$(0,1,1) \rightarrow (0,1,0)$ 4,0(6)	—
	$(0,0,1) \rightarrow (0,0,0)$ 6,5(1)	$(0,0,1) \rightarrow (0,0,0)$ 7,2(5)	—
$pK^{1/2}(\text{Im}_1)$	2,8	3,4	3,2
$pK^{1/2}(\text{Im}_2)$	5,3	5,8	5,6
$pK^{1/2}(-\text{NH}_3^+)$	7,4	9,0	7,8
$pK^{1/2}(\text{COOH})$	3,9	1,8	—

A zárójelben a számok azt jelölik, hogy a különböző protonálódási helyeken, N(Im), $-\text{NH}_2$, $-\text{COO}^-$ sorrendben, hány proton található.

A deprotonálódási mikroállandók mellett az is érdekes, hogy az adott protonáltsági fokú részecskében hogyan oszlanak meg a protonok a különböző funkciócsoportok között (21. táblázat).

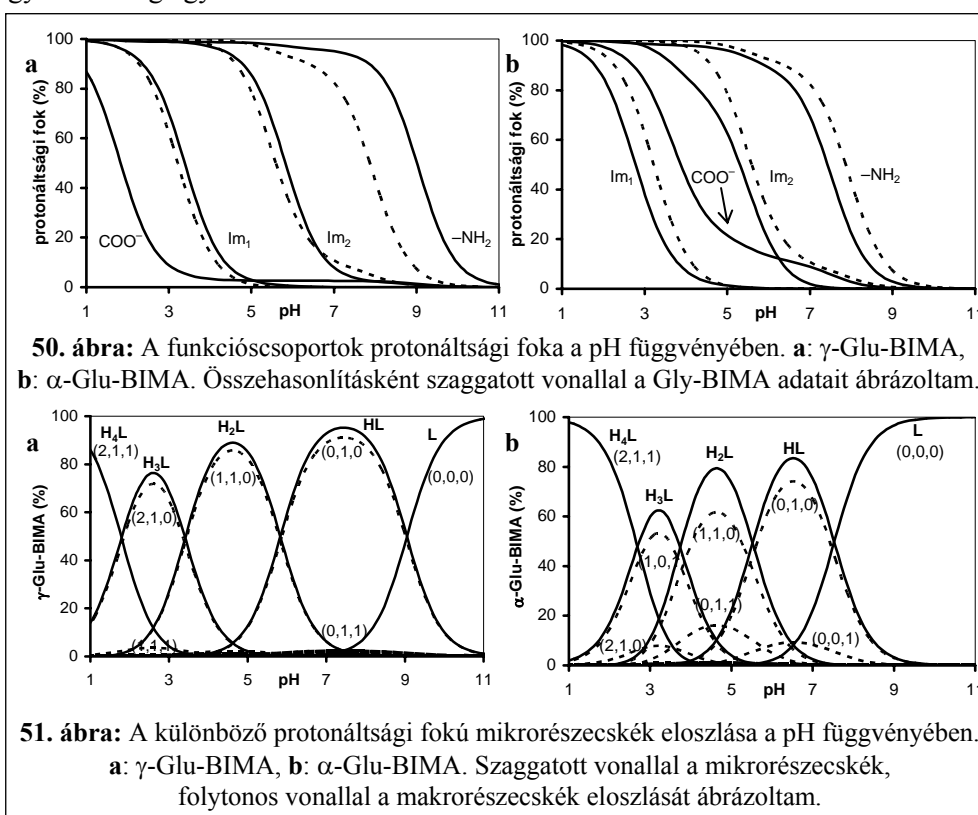
**21. táblázat:** A protonok megoszlása a különböző protonáltsági fokú részecskékben

ligandum	protonálódási hely	HL	H ₂ L	H ₃ L
α -Glu-BIMA	Im ₁	0,0000	0,7971	1,000
	Im ₂	0,0000	0,0099	0,1464
	-NH ₂	0,8885	0,9817	0,9817
	-COO ⁻	0,1115	0,2114	0,8720
γ -Glu-BIMA	Im ₁	0,0194	0,9759	1,000
	Im ₂	0,0000	0,0101	0,9537
	-NH ₂	0,9546	0,9879	0,9879
	-COO ⁻	0,0260	0,0260	0,0584
Gly-BIMA	Im ₁	0,0900	1,000	1,0000
	Im ₂	0,0000	0,000	1,0000
	-NH ₂	0,9100	1,000	1,0000

Az L részecskében a protonok száma minden protonálódási helyen 0, az α -Glu-BIMA és a γ -Glu-BIMA H₄L részecskéjében minden protonálódási helyen 1.

A 21. táblázat adataiból készített ábrák további információt szolgáltatnak. Az 50.a. ábrán látható, hogy a γ -Glu-BIMA esetén az egyes deprotonálódási lépések elkülönülnek egymástól, először a karboxil-, majd a két imidazolil-, végül a

protonált aminos csoport deprotonálódik. A legegyszerűbb aminosavszármazékhoz, a Gly-BIMA-hoz képest az aminos csoport pK -ja nagyobb, ami az elektronszívó amidcsoport nagyobb távolságának tulajdonítható. Az imidazolnitrogének deprotonálódási állandója a Gly-BIMA-hoz viszonyítva szintén nagyobb, ami a karboxiláts csoport, illetve az amidcsoport ligandumbeli helyzetével értelmezhető. Ha a különböző protonáltsági fokú mikrorészecskék eloszlását nézzük (51.a. ábra), akkor láthatjuk, hogy ennél a ligandumnál az egyes deprotonáltsági fokokhoz gyakorlatilag egyetlen mikrorészecske rendelhető.



50. ábra: A funkciócsoportok protonáltsági foka a pH függvényében. a: γ -Glu-BIMA, b: α -Glu-BIMA. Összehasonlításként szaggatott vonallal a Gly-BIMA adatait ábrázoltam.

51. ábra: A különböző protonáltsági fokú mikrorészecskék eloszlása a pH függvényében. a: γ -Glu-BIMA, b: α -Glu-BIMA. Szaggatott vonallal a mikrorészecskék, folytonos vonallal a makrorészecskék eloszlását ábrázoltam.

Az α -Glu-BIMA-nál az egyes deprotonálódási lépések kevésbé válnak el egymástól (50.b. ábra), és a γ -Glu-BIMA-hoz képest a karboxil- és az első imidazolilcsoport deprotonálódási sorrendje felcserélődik egymással. A mikrorészecskék eloszlási görbéjén (51.b. ábra), és különösen az egyes részecskék protonáltsági fokát mutató eloszlási görbén látható, hogy ennél a ligandumnál még pH 7 körül is kb. 10%-ban protonált a karboxilcsoport, ami a karboxil- és az aminos csoport közötti belső hidrogénhid-kötés kialakulásával magyarázható. Az eloszlási görbéből az is megállapítható, hogy mindegyik közbenső protonáltsági foknál legalább két mikrorészecske van jelen.

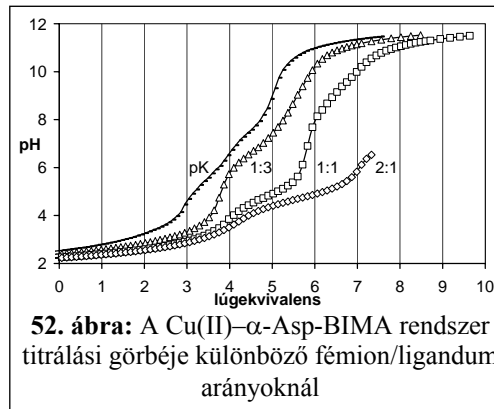
4.3.2. Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA átmenetifém-komplexei

Az α -Asp-BIMA ligandum mindkét láncvége koordinálódhat, az oldalláncbeli karboxilcsoport jelenléte a Gly-BIMA-hoz képest újabb koordinációs lehetőségeket teremt. A bisz(imidazolil)-koordináció mellett az aszpartilrészén β -alaninszerű koordináció alakulhat ki, és az amidnitrogén deprotonálódására is lehetőség van. Ennek eredményeként kétmagvú komplexek, dimer és izomer szerkezetek jöhetnek létre.

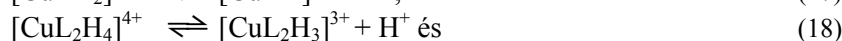
Az α -Glu-BIMA ugyanazokat a funkciós csoportokat tartalmazza, mint az α -Asp-BIMA, azonban az oldalláncbeli karboxilcsoport egy metilén-csoporttal távolabb van a többi funkciós csoporttól. Ennek következtében ($\text{NH}_2, \gamma\text{-COO}^-$) koordinációval csak héttagú kelátgyűrű alakulhatna ki, ami nem kedvező a vizsgált fémionok számára. Ugyanakkor bisz(imidazolil)-koordinációra és az amidnitrogén deprotonálódására itt is lehetőség van. Ezek alapján komplexkémiai szempontból Gly-BIMA-szerű viselkedést várunk.

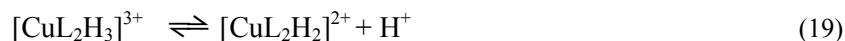
4.3.2.1. Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA réz(II)komplexei

A két ligandum Cu(II)-komplexeit pH-potenciometriás, UV-látható és ESR spektroszkópiás módszerrel tanulmányoztuk, valamint az α -Glu-BIMA esetén CD méréseket is végeztünk. A képződő komplexek stabilitási állandóit a 22. táblázat, a spektrális paramétereiket a 23. táblázat tartalmazza. A Cu(II)- α -Asp-BIMA rendszer különböző fémion/ligandum arányoknál készült titrálási görbéje az 52. ábrán látható.



A komplexképződés mindkét ligandumnál már erősen savas közegben elkezdődik (53. ábra). A bisz(imidazolil)-koordinációval kialakuló $[\text{CuLH}]^{2+}$, $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$, $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ komplexekben a terminális aminocsoport(ok) protonált(ak). Ugyanakkor mivel az α -Glu-BIMA oldalláncbeli karboxilcsoportjának deprotonálódási állandója nagyobb, mint az α -Asp-BIMA ligandumé, így ebben az esetben olyan bisz(imidazolil)-koordinációt tartalmazó részecskék is megjelennek, amelyekben még a karboxilcsoport is protonált. A





folyamatokra jellemző pK -értékek (22. táblázat) a karboxilcsoport deprotonálódási állandójának felelnek meg.

22. táblázat: Az α -Asp-BIMA-val és az α -Glu-BIMA-val képződő réz(II)komplexek stabilitási állandói

A komplex összetétele	α -Asp-BIMA	α -Glu-BIMA
$[\text{CuL}_2\text{H}_4]^{4+}$	—	37,46(7)
$[\text{CuL}_2\text{H}_3]^{3+}$	—	34,01(8)
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$	29,04(9)	29,84(5)
$[\text{CuL}_2\text{H}]^+$	23,11(36)	—
$[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$	8,7(9)	—
$[\text{CuLH}_2]^{3+}$	—	19,97(2)
$[\text{CuLH}]^{2+}$	15,63(3)	16,38(12)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$	25,25(16)	—
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$	15,46(13)	16,70(3)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$	6,66(26)	8,26(12)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{2-}$	-2,33(19)	-0,71(6)
$[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_4]$	9,33(11)	7,97(11)
$[\text{Cu}_2\text{LH}_1]^{2+}$	9,92(7)	10,06(5)
$pK(\text{CuL}_2\text{H}_4/\text{CuL}_2\text{H}_3)$	—	3,45
$pK(\text{CuL}_2\text{H}_3/\text{CuL}_2\text{H}_2)$	—	4,17
$pK(\text{CuL}_2\text{H}_2/\text{CuL}_2\text{H})$	5,93	—
$pK(\text{CuLH}_2/\text{CuLH})$	—	3,59
$pK_{\text{ait}}(\text{Cu}_2\text{L}_2/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2)^{\text{a}}$	4,90	—
$pK(\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3)^{\text{b}}$	8,80	8,44
$pK(\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4)$	8,99	8,97
$\lg(K_1/K_2) (\text{CuL}_2\text{H}_4)$	—	2,48
$\lg(K_1/K_2) (\text{CuL}_2\text{H}_2)$	2,22	2,92

^a $pK_{\text{ait}}(\text{Cu}_2\text{L}_2/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2) = (\lg\beta(\text{Cu}_2\text{L}_2) - \lg\beta(\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2))/2$

^b $pK(\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_n/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{n-1}) = \lg\beta(\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_n) - \lg\beta(\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{n-1})$

23. táblázat: Az általunk vizsgált és az összehasonlításhoz használt ligandumok réz(II)komplexeinek koordinációs módja és spektrális paraméterei

		α -Asp- BIMA	α -Glu- BIMA	γ -Glu- BIMA	β -Ala- BIMA	Gly- BIMA ^{*98}	His- BIMA ¹⁸⁹
CuLH ₂	$A_{ }$ (10^{-4})	—	168	—	—	—	176
N(Im), N(Im)	$g_{ }$	—	2,298	—	—	—	2,298
	λ_{\max} (ϵ)	—	687 (31)	—	—	—	683 (32)
	CuLH ^{**}	$A_{ }$ (10^{-4})	171	180	172	170	175
N(Im), N(Im)	$g_{ }$	2,298	2,287	2,296	2,296	2,299	—
	λ_{\max} (ϵ)	690 (46)	695 (25)	688 (43)	691 (41)	681 (31)	—
	CuL ₂ H _n (n = 2-4)	$A_{ }$ (10^{-4})	193	193	193	192	201
2(N(Im), N(Im))	$g_{ }$	2,234	2,232	2,234	2,233	2,236	2,234
	λ_{\max} (ϵ)	601 (42)	596 (65)	592 (46)	592 (46)	590 (34)	605 (50)
	Cu ₂ L ₂ H ₂	λ_{\max} (ϵ)	591 (113)	589 (104)	—	564 (93)	595 (91)
(NH ₂ ,N ⁺ ,N(Im)) + N(Im)-híd	Cu–Cu távolság	393	393	—	414	390	397
Cu ₂ L ₂ H ₄	λ_{\max} (ϵ)	567 (95)	562 (100)	—	—	—	565 (117)
(NH ₂ ,N ⁺ ,N(Im)) + N(Im)-híd	Cu–Cu távolság	386	385	—	—	—	384

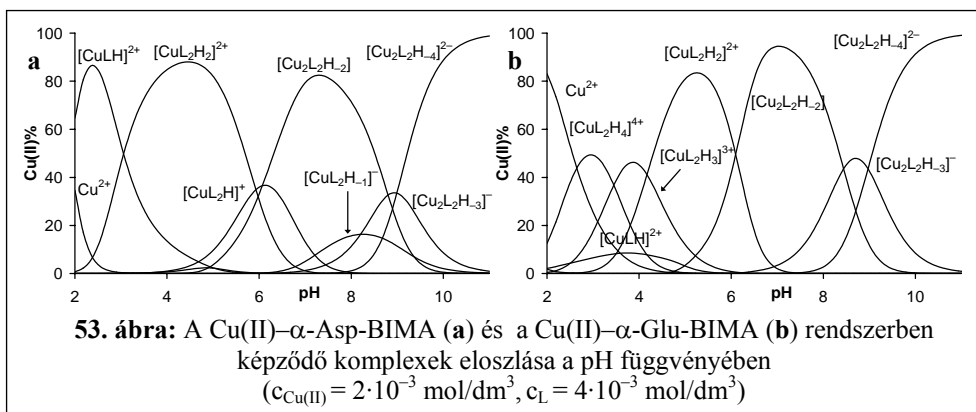
A táblázatban szereplő mennyiségek mértékegységei: λ_{\max} : nm, ϵ : $M^{-1}cm^{-1}$, $A_{||}$: $10^{-4} cm^{-1}$, Cu–Cu távolság: pm.

* A Gly-BIMA ESR spektruma a réz természetes izotópkeverékével készült.

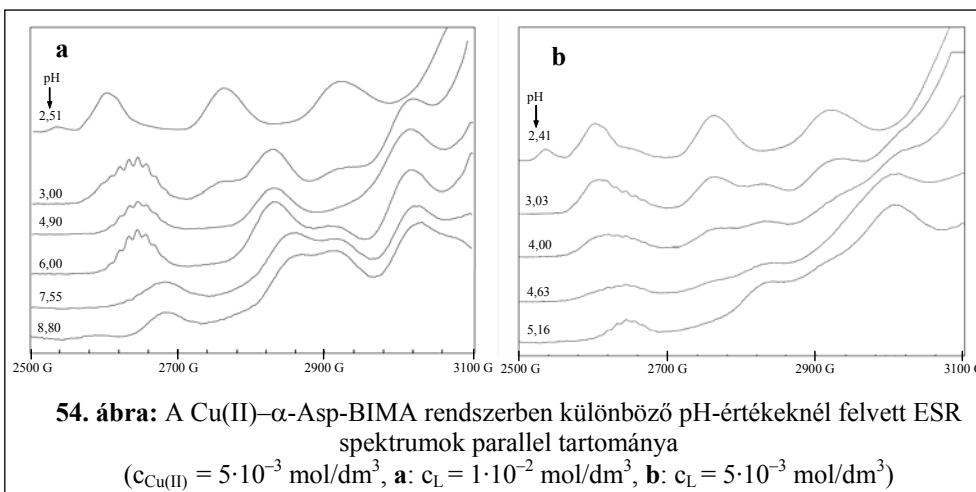
** Az α -Glu-BIMA CuLH komplexének koordinációs módja eltér: (N(Im), N(Im) + COO⁻).

Az α -Glu-BIMA [CuLH₂]³⁺ és [CuLH]²⁺ komplexeinek ESR paraméterei eltérnek egymástól, ami alapján a bisz(imidazolil)-koordináció mellett az utóbbi komplexben az oldalláncbeli karboxilátsoport gyenge axiális irányú koordinációja feltételezhető. Ugyanakkor az α -Asp-BIMA [CuLH]²⁺ komplexének ESR paraméterei az α -Glu-BIMA [CuLH₂]³⁺ komplexének ESR paramétereihez hasonlóak, tehát az α -Asp-BIMA [CuLH]²⁺ komplexében nem koordinálódik az oldalláncbeli karboxilátsoport. A két ligandum közötti különbség azzal értelmezhető, hogy a α -Glu-BIMA-ban távolabb van a karboxilátsoport a

bisz(imidazolil)-résztől, így sztérikus szempontból kedvezőbb egy makrokelát kialakulása.

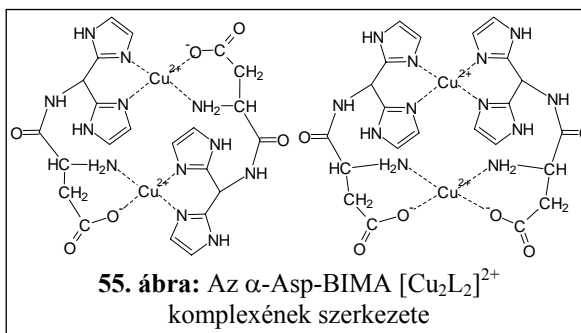


A biszligandumú komplexek ESR paraméterei (23. táblázat) hasonlóak a korábban vizsgált aminosavszármazékok biszkomplexeinek paramétereire, ami alátámasztja, hogy itt is 4 N(Im)-es koordináció valósul meg. Az ESR spektrum 9 vonalból álló szuperhiperfinom felhasadása (54.a. ábra) utal a négy ekvivalens nitrogén-donoratom koordinációjára.



Az α -Asp-BIMA ligandum esetén 1:1 fém/ligandum aránynál az aminos csoport deprotonálódásával párhuzamosan, $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex alakul ki. Ilyen sztöchiometriával két izomer komplexszerkezet adható meg: $2(\text{N}(\text{Im}),\text{N}(\text{Im})) + 2(\text{NH}_2,\text{COO}^-)$ és $2[(\text{N}(\text{Im}),\text{N}(\text{Im})) + (\text{NH}_2,\text{COO}^-)]$ koordinációjú részecskék lehetnek jelen (55. ábra). Az ESR spektrumban azon a pH-n, ahol ezek a komplexek is jelen vannak (54.b. ábra pH = 5,16) a dimer komplexekre jellemző emelkedés mellett négy imidazolnitrogén koordinációjára utaló kilenc vonalas

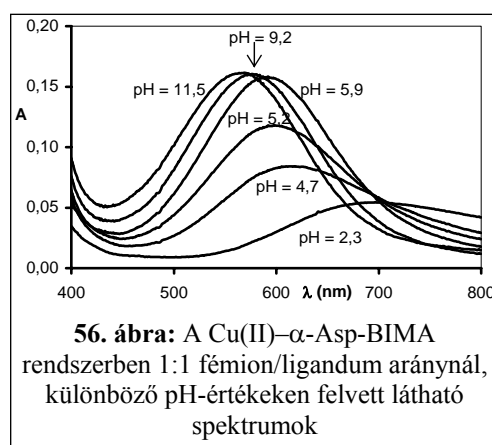
szuperhiperfinom felhasadás is látható. Ez a felhasadás ahhoz az izomerhez rendelhető, amelyben az egyik réz(II)ionhoz négy imidazolnitrogén koordinálódik. Bár valószínűleg nem csak egy típusú jel van, mivel széles a spektrum, nem lehet megítélni az egyéb koordinációjú réz(II)ionok



jelenlétét, de feltehetőleg hasonlóan a Cu(II)–His-BIMA rendszerhez, mindkét izomer kialakul. Hasonló izomerek a Leu-Gly-BIMA, Gly-Leu-BIMA és a Phe-Gly-BIMA¹⁸⁹ ligandumokkal is képződtek, ahol a terminális amino- és a karbonilcsoport vett részt a koordinációban.

A pH emelésével mindkét ligandumnál extra lúgfogyasztó folyamat jelentkezik, ami az amidnitrogén deprotonálódásának tulajdonítható. Az α -Glu-BIMA esetén ez az aminocsoport deprotonálódásával párhuzamosan játszódik le. A potenciometriás adatok alapján nem dönthető el, hogy monomer vagy dimer szerkezetű részecskék képződnek, az ESR spektrum azonban hasonlóan a korábban vizsgált aminosav-származékokhoz dimer szerkezetű $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ komplexek jelenlétére utal (10. ábra, 20. old. $\text{R} = -\text{CH}_2-\text{COO}^-$, illetve $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$). Az ESR spektrumból kiszámíthatjuk a Cu-Cu távolságot. A merőleges tartományban $g \sim 2$ mindkét oldalán két nagy intenzitású csúcs van egymástól kb. 480 G-ra. Ebből meghatározhatjuk a D értéket és a g_{\perp} -t, amiből a Stevens egyenlet¹⁶⁹ alapján (41. old. 16. egyenlet) az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ komplexében a Cu-Cu távolság 393 pm. Ez az érték az azonos koordinációt tartalmazó Gly-BIMA-nál 390, a Phe-BIMA-nál 393, a His-BIMA-nál 397 pm. A kapott értékek hasonlósága alátámasztja, hogy ezeknél a ligandumnál is imidazolhidas, nem pedig karboxiláthidas szerkezetek alakulnak ki. Az UV-látható spektrális paraméterek (24. táblázat) is megerősítik az $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})) + \text{Im}$ -hidas szerkezetek képződését.

A pH további növelése újabb lúgfogyasztó folyamatot eredményez, amit az abszorpciós spektrum kék eltolódása (592 \rightarrow 567 nm, illetve 583 \rightarrow 562 nm) (56. ábra) és az ESR spektrum jellegzetes változása kísér.



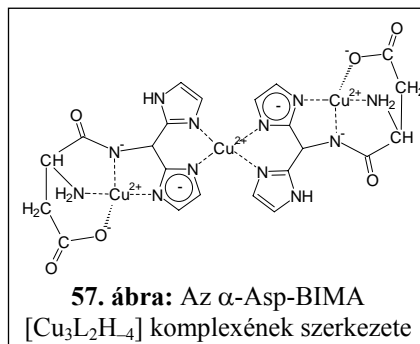
Az ESR spektrum alapján bizonyos, hogy továbbra is dimer komplexek vannak jelen, azonban a d-d sávok eltolódása arra utal, hogy ez nem vegyes-hidroxokomplex képződésnek, hanem a pirroltípusú nitrogének deprotonálódásának tulajdonítható. Hasonlóan a Cu(II)-His-BIMA-rendszerhez itt is $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ és $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{2-}$ komplexeket feltételeztünk. Az előbbi csak kis mennyiségben, más részecskékkel átfedésben jelenik meg az oldatban, ezért spektrális paramétereket csak a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{2-}$ komplexre tudtuk meghatározni. Az α -Asp-BIMA $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]$ komplexében a Cu-Cu távolság 386, az α -Glu-BIMA esetén 385 pm. A His-BIMA-nál ez az érték 384 pm. Az imidazolrész pirroltípusú N(1)H-csoportjának deprotonálódása ezeknél a ligandumoknál is a Cu-Cu távolság csökkenését eredményezi. Ilyen komplex a Gly-BIMA-nál nem jelenik meg. A His-BIMA-nál képződése azzal magyarázható, hogy a hisztidiloldallánc gyenge axiális kölcsönhatása megvédi a komplexet a hidrolízistől. Ezek alapján feltételezhető, hogy az aszpartil- és a glutamilrész karboxilátcsoportjának koordinációja is képes megakadályozni a hidrolízist.

pH 6 felett mindkét ligandumnál ligandumfeleslegnél is a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ és a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{2-}$ az uralkodó részecske. Ugyanakkor az α -Asp-BIMA ESR spektrumából megállapítható (54.a. ábra), hogy a fent említett komplexek mellett ebben az esetben kis mennyiségben monomer $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ komplex is jelen van, amelyben az egyik ligandum háromfogú ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})$), míg a másik egyfogú ligandumként (Im) koordinálódik. Az α -Glu-BIMA esetén nem képződik ilyen részecske. pH 7 felett már ligandumfeleslegnél is csak dimer szerkezetű komplexek vannak jelen, az 1:1 és az 1:2 arány eloszlása azonos.

A ligandumok szerkezetükből adódóan két fémion megkötését is lehetővé teszik. Ezért fémfölöslegnél is tanulmányoztuk ezen ligandumok komplexképző sajátosságait. Ebben az esetben $[\text{Cu}_2\text{LH}_1]^{2+}$ komplexek is képződnek. Feltételezésünk szerint a ligandumok N- és C-terminális részéhez is egy-egy réz(II)ion kötődik ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})$), illetve ($\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im})$) koordinációval. Azonban a ESR spektrum jeleinek kiszélesedése miatt ezzel a módszerrel nem igazolható a komplexben megvalósuló koordinációs mód.

3:2 fém/ligandum aránynál pH 5 felett extra lúgfogyasztó folyamat kezdődik. Az ESR spektrum polimer szerkezet kialakulására utal, az abszorpciós spektrumban kék eltolódás figyelhető meg. Képződhetne hidroxohidas dimer komplex, de a pirroltípusú N(1)H-csoport deprotonálódása és koordinációja is feltételezhető. A spektrumok inkább ez utóbbit valószínűsítik. Így hasonlóan a His-BIMA-hoz, hárommagvú $[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_4]$ komplexek képződését feltételeztük. Ilyen körülmények között pH 7-nél gyakorlatilag csak ez a komplex van jelen az oldatban. Ebben a komplexben két fémion körül ekvatoriálisan ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})$) donorcsoportok koordinálnak, a harmadik fémion koordinációs helyeit négy imidazolnitrogén foglalja el. Ezt a szerkezetet a karboxilátcsoportok axiális irányú

kötődése stabilizálja (57. ábra). Ahhoz, hogy ez a komplex kialakulhasson, az imidazol-N(1)H-csoportnak már $\text{pH} = 5$ és 6 között deprotonálódnia kell, ami szokatlanul kis érték. Azonban ebben az esetben a pirrol-típusú nitrogén deprotonálódását a réz(II)ion koordinációja kíséri, így lényegesen kisebb pH -n bekövetkezhet ez a folyamat, mint a szabad ligandum esetén.



A $\text{Cu(II)}-\alpha\text{-Glu-BIMA}$ ekvimoláris oldatában CD méréseket is végeztünk. Ez az első bisz(imidazol-2-il)-metil-aminosavszármazék, amelyet ezzel a módszerrel vizsgáltunk, így a meghatározott paramétereket egyelőre nem tudjuk más vegyületekével összehasonlítani. 1:1 aránynál az egyes részecskékhez tartozó spektrumokat a PSEQUAD program segítségével meghatároztuk, a leolvasott paramétereket a 24. táblázat tartalmazza. A bisz(imidazolil)-koordinációt tartalmazó részecskéknek – mivel ez a kötéshely távol helyezkedik el a kiralitáscentrumtól – nincs CD-aktivitásuk a d-d sávok tartományában. Az UV-tartományban megjelenő nagyobb intenzitású sávok az amid- $\text{N}^- \rightarrow \text{Cu(II)}$ töltésátviteli sávnak felelnek meg, míg 500 nm körül a d-d átmenethez tartozó sávok láthatók. Az extra lúgfogyasztó folyamattal párhuzamosan a d-d átmenetknél és az amid- $\text{N}^- \rightarrow \text{Cu(II)}$ töltésátviteli sávnál is eltolódás figyelhető meg, ami az imidazol-N(1)H-csoport deprotonálódására utalhat ($[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{2-}$ komplex).

24. táblázat: A $\text{Cu(II)}-\alpha\text{-Glu-BIMA}$ rendszerben képződő különböző komplexek CD spektrális adatai

komplex	$\lambda_{\text{max}}(\Delta\epsilon)$ [nm] ($[\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}]$)	
	$\text{N}^- \rightarrow \text{Cu(II)}$	d-d
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]$	300(-1,60)	600(+0,24)
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$	300(-1,60)	550(+0,26)
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_4]^{2-}$	290(-1,38)	480(+0,10)

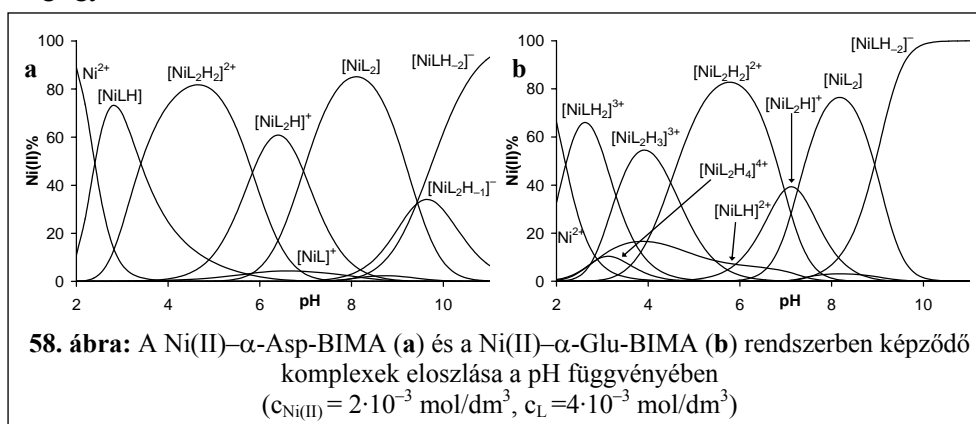
4.3.2.2. Az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA nikkell(II)komplexei

25. táblázat: Az α -Asp-BIMA nikkell(II)- és az α -Glu-BIMA nikkell(II), valamint cink(II)komplexeinek stabilitási állandói

A komplex összetétele	α -Asp-BIMA	α -Glu-BIMA	
	$\lg\beta(\text{Ni(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Ni(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Zn(II)-komplex})$
$[\text{ML}_2\text{H}_4]^{4+}$	—	34,15(27)	—
$[\text{ML}_2\text{H}_3]^{3+}$	—	31,41(6)	28,33(2)
$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	27,12(10)	26,92(9)	23,79(2)
$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	21,28(28)	19,95(15)	16,99(2)
$[\text{ML}_2]$	14,33(20)	12,69(8)	9,42(3)
$[\text{ML}_2\text{H}_{-1}]^-$	4,89(40)	—	—
$[\text{MLH}_2]^{3+}$	—	17,89(4)	15,97(1)
$[\text{MLH}]^{2+}$	14,30(2)	14,19(4)	11,99(2)
$[\text{ML}]^+$	8,59(10)	—	—
$[\text{MLH}_{-2}]^-$	- 7,70(11)	- 8,20(5)	—
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}]$	4,94(19)	2,80(6)	0,83(4)
$[\text{M}_2\text{LH}_{-1}]^{2+}$	5,02(21)	—	—
$pK(\text{ML}_2\text{H}_4/\text{ML}_2\text{H}_3)$	—	2,74	—
$pK(\text{ML}_2\text{H}_3/\text{ML}_2\text{H}_2)$	—	4,49	4,54
$pK(\text{ML}_2\text{H}_2/\text{ML}_2\text{H})$	5,84	6,97	6,80
$pK(\text{ML}_2\text{H}/\text{ML}_2)$	6,95	7,26	7,57
$pK(\text{ML}_2/\text{ML}_2\text{H}_{-1})$	9,44	—	—
$pK(\text{MLH}_2/\text{MLH})$	—	3,70	3,98
$\lg K_1/K_2(\text{ML}_2\text{H}_4)$	—	1,63	—
$\lg K_1/K_2(\text{ML}_2\text{H}_2)$	1,48	1,46	0,19
$\lg K_1/K_2(\text{ML}_2)$	2,85	—	—

Hasonlóan a réz(II)rendszerekhez, nikkell(II)ionokkal is már savas közegben megkezdődik a komplexképződés, és az ott keletkező 2, illetve 4 N(Im)-es

komplexek itt is megjelennek (25. táblázat, 58. ábra). Azonban amíg a réz(II)komplexekben az ekvatoriális kötőhelyeket foglalta el a négy imidazolnitrogén, addig az oktaédes nikkell(II)komplexekben már lehetőség van axiális irányú koordinációra is. Ezzel értelmezhető, hogy a lépcsőzetes stabilitási állandók aránya a nikkell(II)komplexeknél kisebb, mint a réz(II)komplexeknél, vagyis nikkell(II)ionokkal kedvezményezettebb a biszkomplexek képződése. Ez a tendencia a BIM-nél, BIP-nél, és a korábban vizsgált aminosavszármazékoknál is megfigyelhető.



Az aminosóport deprotonálódását követően, a Ni(II)– α -Asp-BIMA ekvimoláris oldatában nagy mennyiségben képződik 1:1 összetételű komplex. A ligandum szerkezete lehetővé teszi, hogy az (N(Im),N(Im)) és az (NH₂, β -COO⁻) donorcsoportok egyidejűleg kötődjenek ugyanahhoz a fémionhoz. Ugyanakkor lehetőség van arra is, hogy [Ni₂L₂]²⁺ összetételű dimer komplex képződjön.

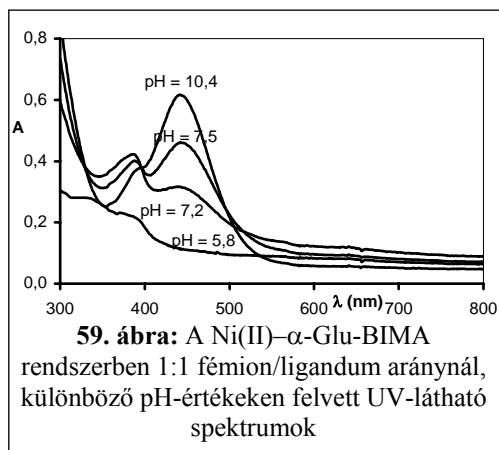
Potenciometriás méréssel nem dönthető el, hogy monomer vagy dimer szerkezetű komplexek vannak-e jelen. Mivel a nikkell(II)ionoknál kevésbé jellemző a dimer komplexek kialakulása, és a α -Asp-BIMA szerkezete lehetővé teszi a monomer [NiL]⁺ képződését, a 25. táblázat csak ezt a modellt tartalmazza. A α -Glu-BIMA ligandummal nem képződik ilyen összetételű komplex, mivel ebben az esetben az oldalláncbéli karboxilátcsoport koordinációjával csak héttagú kelátgyűrű jöhetne létre.

A pH növelésével mindkét ligandum amidnitrogénje deprotonálódik. Ezt a folyamatot geometriaváltás kíséri. A látható spektrum egyértelműen jelzi a síknégyzetes komplexek jelenlétét. Ahhoz, hogy síknégyzetes nikkell(II)komplex jöjjön létre, három N-donorcsoport és egy H₂O-nél erősebb donorcsoport koordinációja szükséges. A [NiLH₋₁] komplexben nem koordinálódhat valamennyi donoratom ekvatoriálisan, de arra lehetőség van, hogy ugyanazon ligandum négy donorcsoportja oktaédesen kötődjön a Ni(II)-ionhoz. Így ha ezekben a rendszerben csak [NiLH₋₁] komplex lenne jelen, akkor pH 8 körül nem jelenhetne

meg a síknégyszetes sáv. Ebben a komplexben hasonlóan a Gly-His oktaédes geometriájú $[\text{NiLH}_1]^+$ komplexéhez ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})$) koordináció alakulhat ki. Azonban az α -Asp-BIMA esetén 444 nm-nél ($\epsilon = 99 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), az α -Glu-BIMA esetén pedig 443 nm-nél ($\epsilon = 182 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) intenzív sáv látható, amely négy ekvatoriálisan koordinálódó csoportra utal. A leírtak alapján mindkét rendszerben dimer szerkezetű $[\text{Ni}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ komplex képződését feltételezzük. A moláris abszorpciós koefficiens értékek más komplexekre jellemző értékével való összehasonlításából arra következtethetünk, hogy az α -Asp-BIMA esetén monomer és dimer részecskék egyaránt jelen vannak, oktaédes \rightleftharpoons síknégyszetes egyensúly valósul meg, míg az α -Glu-BIMA esetén csak $[\text{Ni}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ komplex van képződik.

Ligandumfeleslegnél a deprotonálódott amidnitrogén koordinációjával biszligandumú komplexek is kialakulhatnak. Amíg az α -Asp-BIMA ligandum esetén a $[\text{NiL}_2]$ komplexben bisz(imidazolil)-koordináció valósult meg, addig az α -Glu-BIMA esetén a komplex képződésével párhuzamosan megjelenő, a síknégyszetes komplexekre jellemző sáv (59. ábra) arra utal, hogy deprotonálódott amidnitrogén koordinációjával síknégyszetes komplex alakul ki. Így hasonlóan a Ni(II)–Gly-BIMA rendszerhez, a $[\text{NiL}_2]$ részecske pontosabb felírasmódja $[\text{NiLH}_1\text{LH}]$. A Ni(II)– α -Asp-BIMA rendszerben pedig $[\text{NiL}_2\text{H}_1]^-$ komplex képződik viszonylag nagy mennyiségben. Ebben a rendszerben 1:2 aránynál gátoltabb az amidnitrogén deprotonálódása, mivel az oktaédes geometriájú biszkomplexben a két ligandum háromfogú kötődése akadályozza a $[\text{NiL}_2\text{H}_1]^-$ komplex képződését. Ugyanakkor 1:1 aránynál nincs jelen biszkomplex, az amidnitrogén deprotonálódása kisebb pH-n következik be.

A pH növelésével mindkét ligandum esetén újabb deprotonálódási lépés játszódik le, ami a hidrolízisnek tulajdonítható. Hasonlóan a Gly-BIMA-hoz és a His-BIMA-hoz $[\text{NiLH}_2]$ összetételű vegyes-hidroxokomplexek képződnek.



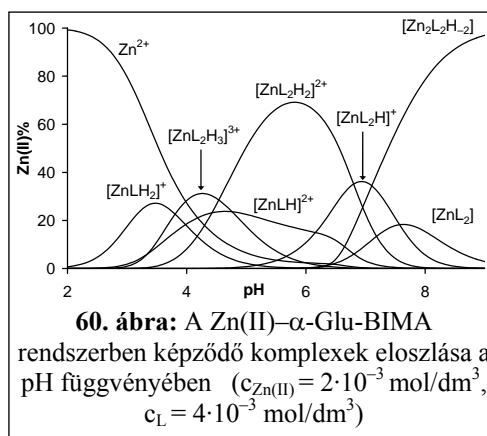
59. ábra: A Ni(II)– α -Glu-BIMA rendszerben 1:1 fémion/ligandum aránynál, különböző pH-értékeken felvett UV-látható spektrumok

4.3.2.3. Az α -Glu-BIMA cink(II)komplexei

A Zn(II)-komplexek termodinamikai stabilitása kisebb, mint a Cu(II)-, vagy Ni(II)-komplexeké (22. és 25. táblázat), ezért a komplexképződés – mint a BIMA-származékoknál – általában, nagyobb pH-n kezdődik (60. ábra). Emiatt a protonált komplexek koncentrációja kisebb, mint az előbbi két fémionnál, és $[\text{ZnL}_2\text{H}_4]^{4+}$ már nem mutatható ki a rendszerben.

pH 7 alatt gyakorlatilag csak bisz(imidazolil)-koordináció valósul meg. A deprotonálódási lépcsők hasonlóan a Ni(II)- α -Glu-BIMA rendszerhez, a karboxil- és az aminocsoportok deprotonálódásának felelnek meg. Abban azonban eltérés mutatkozik, hogy a $[\text{ZnL}_2]$ komplexben szintén bisz(imidazolil)-koordináció alakul ki, nem a deprotonálódott amidnitrogén koordinálódik. Erre utal, hogy deprotonálódási folyamat pK -ja megfelel a szabad ligandum $pK(-\text{NH}_3^+)$ értékének.

Ekvimoláris oldatban már $\text{pH} = 6,5$ -nél csapadék válik le, az 1:2 arányú oldat azonban nagyobb pH-n is tiszta marad. Ebben az esetben pH 7 felett extra lúgfogyasztó folyamat jelentkezik. Ezt okozhatja hidroxokomplekképződés, de az amidnitrogén is deprotonálódhat. Mivel $\text{pH} = 9$ -ig nem észleltünk csapadékképződést, hidroxokomplexek esetén azonban ennek kisebb pH-n be kellett volna következnie, ezért azt feltételezzük, hogy hasonlóan a Zn(II)-Gly-BIMA rendszerhez, ebben az esetben is lejátszódott az amidnitrogén deprotonálódása. Feltételezésünk szerint a Ni(II)- α -Glu-BIMA rendszerhez hasonlóan dimer szerkezetű, $[\text{Zn}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}]$ összetételű komplex képződik.



4.3.3. A γ -Glu-BIMA átmenetifém-komplexei

Bár a γ -Glu-BIMA ugyanolyan funkciócsoportokat tartalmaz, mint a másik két vizsgált ligandum, komplexkémiai viselkedése eltér azokétól. Hasonlóan a többi aminosavszármazékhoz lehetőség van bisz(imidazolil)-koordinációra, emellett a glutamirészen α -aminosavszerű koordináció valósulhat meg. Ugyanakkor az amidnitrogén olyan távol van az amino- és a karboxilcsoporttól, hogy a peptidszerű kötődés nem kedvezményezett, $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ koordinációval csak

héttagú kelátgyűrű alakulhat ki. A Cu(II)- és Ni(II)-ionokkal képződő komplexek stabilitási állandóit a 26. táblázatban foglaltam össze.

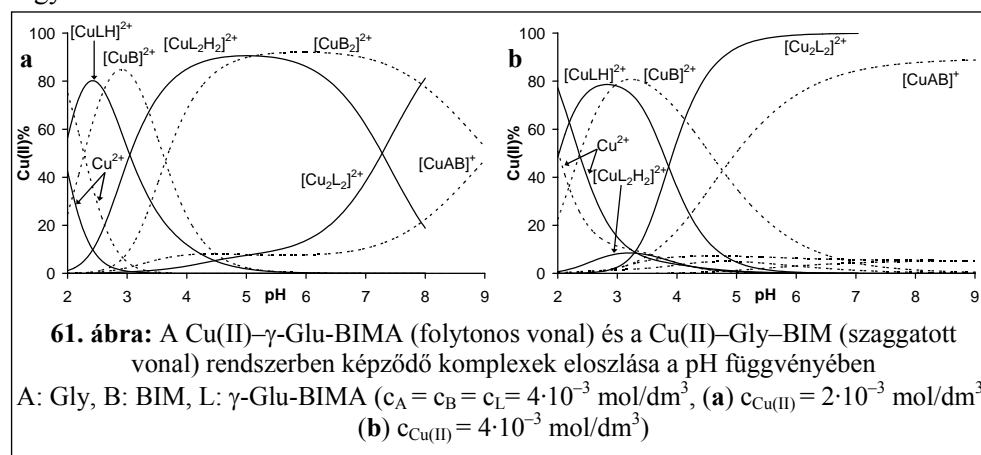
26. táblázat: A γ -Glu-BIMA-val képződő átmenetifém-komplexek stabilitási állandói

A komplex összetétele	$\lg\beta(\text{Cu(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Ni(II)-komplex})$
$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	32,54(5)	30,64(3)
$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	—	22,85(10)
$[\text{MLH}]^{2+}$	17,18(2)	15,77(9)
$[\text{ML}]^+$	—	9,53(2)
$[\text{M}_2\text{L}_2]^{2+}$	29,09(6)	—
$[\text{M}_2\text{LH}_1]^{2+}$	10,45(7)	—
$\lg(K_1/K_2)^{\text{H}}$	1,82	0,9

4.3.3.1. A γ -Glu-BIMA réz(II)komplexei

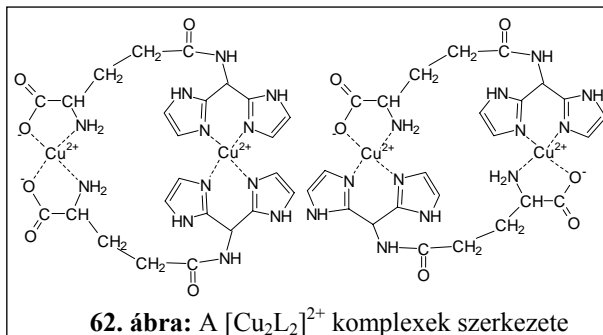
A spektrális adatok (23. táblázat) alapján azt feltételezzük, hogy savas pH-tartományban ennél a ligandumnál is a bisz(imidazolil)-részen kezdődik el a fémion koordinációja. A $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplexben kettő, a $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplexben négy imidazolnitrogén kötődik.

Mivel a ligandum glutamill részén ($\text{NH}_2, \text{COO}^-$) koordináció, a másik végén bisz(imidazolil)-koordináció kialakulására van lehetőség, a γ -Glu-BIMA komplexképzése jól modellezhető a glicin-bisz(imidazol-2-il)-metán (Gly-BIM) vegyesrendszerrel.⁵



A 61. ábrán látható, hogy abban a pH tartományban ahol a γ -Glu-BIMA-nál bisz(imidazolil)-koordinációt feltételezünk, a vegyesrendszerben a BIM-mel képződő $[\text{CuB}]^{2+}$ és $[\text{CuB}_2]^{2+}$ komplex van jelen. A bisz(imidazolil)-koordináció kedvezményezettebb az α -aminosavszerű koordinációval szemben: a glicinnel képződő $[\text{CuA}]^+$ és $[\text{CuA}_2]$ komplex csak 1:1:1 aránynál, és nagyon kis koncentrációban van jelen. Ez alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a $[\text{CuLH}]^{2+}$ és a $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplexekben bisz(imidazolil)-koordináció valósul meg.

Az aminos csoport deprotonálódását követően $(\text{NH}_2, \text{COO}^-) + (\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im}))$ koordinációjú $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ és $2(\text{NH}_2, \text{COO}^-)$ koordinációjú $[\text{CuL}_2]$ komplex képződésére is lehetőség lenne, azonban ebben a rendszerben ilyen komplexeket nem tudtunk kimutatni. Amikor a lánc mindkét vége koordinálódhat, ligandumfelesleg jelenlétében sem mutatható ki biszkomplex, hanem dimer szerkezetű $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex képződik. Ennek két izomerje lehetséges: kialakulhat szimmetrikus szerkezet $2(\text{NH}_2, \text{COO}^-) + 2(\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im}))$ koordinációval vagy aszimmetrikus szerkezet $2[(\text{NH}_2, \text{COO}^-) + (\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im}))]$ koordinációval (62. ábra). A spektrális paraméterek alátámasztják feltételezésünket. A $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplexre jellemző abszorpciós spektrumban maximális elnyelés $\lambda_{\text{max}} = 602$ nm-nél található. Ez megfelel a Cu(II)-ion körüli $(\text{NH}_2, \text{COO}^-) + (\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im}))$ koordinációnak. Ilyen koordinációra 37. oldalon található 10. egyenlet alapján számított érték $\lambda_{\text{max}} = 597$ nm. A $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex ESR paraméterei a vegyesrendszerben képződő $[\text{CuAB}]^+$ komplex paramétereireihez hasonlóak ($g_{\parallel} = 2,239$, $A_{\parallel} = 190 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$).



A Cu(II)–Gly–BIM vegyes rendszer alapján az valószínűsíthető, hogy mindkét izomer megjelenik 1:1:1 aránynál. A vegyes-koordinációjú $[\text{CuAB}]^+$ komplex mellett bár csak kisebb mennyiségben, de $[\text{CuA}_2]$ és $[\text{CuB}_2]^{2+}$ is képződik.

1:2 aránynál pH 8, 1:1 aránynál pH 7 felett csapadék jelenik meg. A csapadék kék színe arra utal, hogy komplex válik ki az oldatból, nem hidrolízis következik be. Ellentmondás is lenne, ha világoskék $\text{Cu}(\text{OH})_2$ csapadék jelenne meg, mert ezen a pH-n lehetőség van az aminosavszerű koordinációra, ami vízdoldható komplexek képződéséhez vezetne. A csapadék akkor vált le, amikor az összes donorcsoport deprotonálódott. Feltételezésünk szerint ekkor megbomlik a dimer szerkezet és vízben nem oldódó polimer alakul ki.

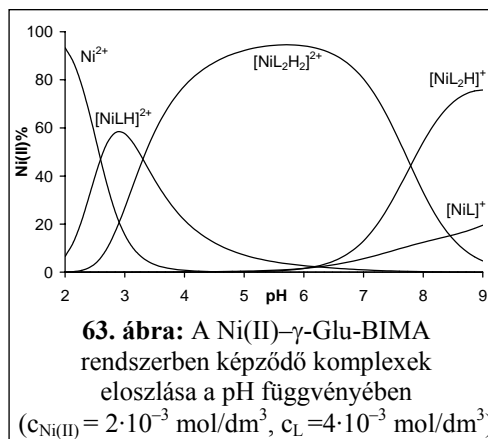
A Cu(II)– γ -Glu-BIMA rendszert 2:1 fém/ligandum aránynál is vizsgáltuk. Az aminocsoport deprotonálódását követően bár várható lenne a $[\text{Cu}_2\text{L}]^{3+}$ komplex kialakulása, amelyben a ligandum mindkét végéhez egy-egy fémion koordinálódik, ilyen komplex nem képződik. Ennél az aránynál is $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex alakul ki. A $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex kiugró stabilitását jelzi az is, hogy a réz(II) $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplexben van jelen, így a szabad réz(II) koncentrációja nagyobb, mint a vegyesrendszerben, ahol fémfeleslegnél a $[\text{CuAB}]^+$ mellett viszonylag nagy mennyiségben képződik $[\text{CuA}]^+$ és $[\text{CuB}]^{2+}$ komplex is.

A pH növelésével extra lúgfogyasztó folyamat kezdődik, ami a $[\text{Cu}_2\text{LH}_1]^{2+}$ vegyes-hidroxokomplex képződésének tulajdonítható, majd pH = 7-nél 2:1 aránynál is csapadék válik ki az oldatból.

4.3.3.2. A γ -Glu-BIMA nikkell(II)komplexei

A Ni(II)– γ -Glu-BIMA rendszerben a bisz(2-imidazolil)- és az aminocsoport deprotonálódása elkülönülten játszódik le. Ebben az esetben az α -Asp-BIMA és az α -Glu-BIMA ligandumoktól eltérően csak oktaéderes komplexek alakulnak ki. A képződő komplexek eloszlása a 63. ábrán látható, a stabilitási állandókat a 26. táblázat tartalmazza.

Nikkel(II)ionokkal kedvezőbb a biszkomplexek képződése, így ekvimoláris oldatban is jelen vannak 4 N(Im) koordinációt tartalmazó komplexek. Ugyanakkor a biszkomplexek jelenléte miatt az aminocsoport deprotonálódása nagyobb pH-n játszódik le, mint réz(II)ionok esetén. 1:1 aránynál csak pH 6, 1:2-nél pH 7 felett kezdődik a folyamat. Ebben az esetben $[\text{NiL}_2\text{H}]^+$ komplex is képződik, amelynek két izomerje lehetséges. Az egyik izomerben $(\text{NH}_2, \text{COO}^-) + (\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im}))$ koordináció alakulhat ki, és a nem koordinálódó aminocsoport protonált. A másik izomer szerkezetben pedig lehetőség van az egyik ligandum tridentát koordinációjára: a négy imidazolnitrogén kötődése mellett az egyik aminonitrogén deprotonálódik és koordinálódik. $[\text{NiL}_2]$ komplex képződését nem tudtuk kimutatni, mert a következő deprotonálódási lépésnél fehér színű csapadék vált ki.



1:1 arányánál az aminocsoport deprotonálódását követően $[\text{NiL}]^+$ vagy $[\text{Ni}_2\text{L}_2]^{2+}$ komplex képződik. Cu(II)-ionokkal nem alakulhat ki monomer szerkezet, azonban az oktaéderes geometriájú Ni(II)-ion esetén lehetőség van arra, hogy a két láncvég egyidejűleg koordinálódjon ugyanahhoz a fémionhoz. A potenciometriás adatok alapján nem dönthető el, hogy melyik részecske van jelen. Azonban azok alapján, hogy Ni(II)-ionoknál kevésbé jellemző a dimer komplexek kialakulása, valamint hogy ellentétben a Cu(II)- γ -Glu-BIMA rendszerrel itt az 1:1 fém/ligandum arányú komplex nem kiugró stabilitású, a monomer szerkezetű $[\text{NiL}]^+$ komplex képződése valószínűbb. Ugyanakkor a pH 8-nál megjelenő fehér pelyhes csapadék polimer szerkezet létrejöttére utalhat. Ebben az esetben sem hidrolízis játszódott le, mert ez esetben világoszöld $\text{Ni}(\text{OH})_2$ képződött volna.

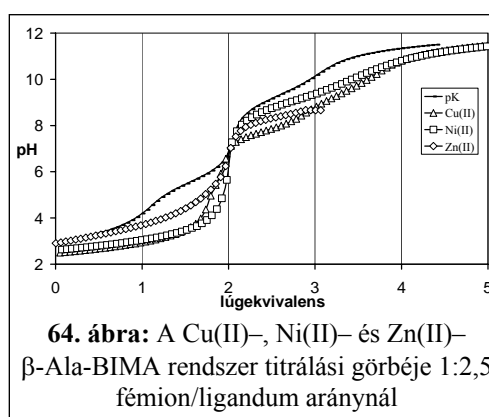
4.3.4. A β -Ala-BIMA átmenetifém-komplexei

27. táblázat: A β -Ala-BIMA-val képződő átmenetifém-komplexek stabilitási állandói

A komplex összetétele	$\lg\beta(\text{Cu(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Ni(II)-komplex})$	$\lg\beta(\text{Zn(II)-komplex})$
$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{2+}$	32,73(6)	30,42(1)	26,74(2)
$[\text{ML}_2\text{H}]^+$	—	22,11(3)	—
$[\text{ML}_2]$	—	12,50(11)	10,52(1)
$[\text{MLH}]^{2+}$	17,28(5)	15,55(2)	13,69(1)
$[\text{ML}]$	11,95(5)	—	—
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]$	13,93(12)	4,55(6)	—
$[\text{MLH}_2]$	-3,52(10)	-9,43(3)	—
$[\text{M}_3\text{L}_2\text{H}_4]$	6,64(10)	—	—
$\text{p}K(\text{ML}_2\text{H}_2/\text{ML}_2\text{H})$	—	8,09	8,11
$\text{p}K(\text{ML}_2\text{H}/\text{ML}_2)$	—	9,61	—
$\text{p}K(\text{MLH}/\text{ML})$	5,33	—	—
$\lg K_1/K_2(\text{ML}_2\text{H}_2)$	1,83	0,68	0,64

A β -Ala-BIMA a többi vizsgált ligandumtól eltérően nem tartalmaz karboxilcsoportot, így a lehetséges koordinációs módok száma ennél a ligandumnál kisebb. A bisz(imidazolil)-koordinációra itt is lehetőség van, emellett (NH_2, CO) koordinációval, és az amidnitrogén deprotonálódását követően $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ koordinációval hattagú kelátgyűrű alakulhat ki. A korábbi aminosav-származékokkal végzett mérésekből kiderült, hogy abban az esetben, ha $(\text{NH}_2, \text{N}^-)$ koordinációval öttagú kelátgyűrű alakulhat ki, akkor bekövetkezik az amidnitrogén deprotonálódása, – kivételt csak a Ni(II)- és Zn(II)-Phe-BIMA rendszer jelent – héttagú kelátgyűrű esetén azonban nem. Így ennél a ligandumnál azt is vizsgáltuk, hogy a hatos kelátgyűrű kialakulása kedvező-e az amidnitrogén deprotonálódása szempontjából.

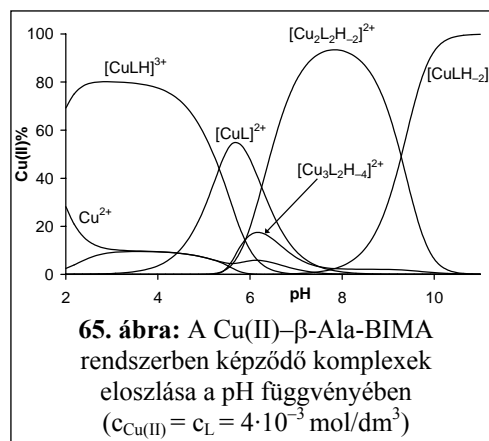
A Cu(II)-, Ni(II)- és Zn(II)- β -Ala-BIMA rendszerek ligandumfeleslegnél készült titrálási görbéje a 64. ábrán látható, a képződő komplexek stabilitási állandóit a 27. táblázatban foglaltam össze.



4.3.4.1. A β -Ala-BIMA réz(II)komplexei

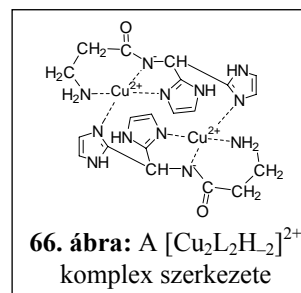
A koordináció savas közegben hasonlóan a többi ligandumhoz a bisz(imidazolil)-részen kezdődik el, 2N-es $[\text{CuLH}]^{3+}$ és 4N-es $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+}$ komplexek képződnek (65. ábra). Az ESR és a látható spektrális paraméterek (23. táblázat) megegyeznek a többi komplex értékeivel, ami az azonos koordinációs módot igazolja. A $\lg K_1/K_2(\text{ML}_2\text{H}_2)$ értékek alapján a biszligandumú komplex képződése hasonlóan a γ -Glu-BIMA-hoz kedvezményezettebb, mint az α -aminosav-származékoknál.

Az aminocsoport deprotonálódását követően alakul ki a $[\text{CuL}]^{2+}$ részecske, azonban a koordinációs mód változatlan marad. A sztérikus viszonyok nem teszik lehetővé, hogy



hasonlóan az α -Asp-BIMA-hoz és a γ -Glu-BIMA-hoz dimer szerkezetű Cu_2L_2 komplex alakul ki. Ez csak $(\text{NH}_2, \text{CO})(\text{N}(\text{Im}), \text{N}(\text{Im}))$ donorokkal valósulhatna meg, azonban az ilyen típusú dimerek csak hosszabb peptidláncnál, a Gly-Leu-BIMA, Leu-Gly-BIMA és a Phe-Gly-BIMA dipeptidszármazékoknál képződnek,¹⁸⁹ a Gly-BIMA-nál és a Phe-BIMA-nál sem jönnek létre.

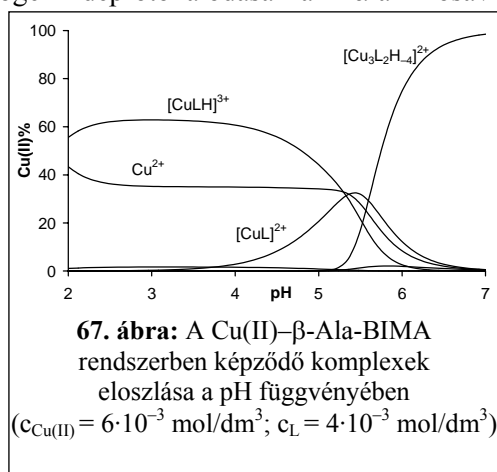
Az amidnitrogén deprotonálódása ennél a ligandumnál is bekövetkezik, és az α -Asp-BIMA-hoz és a α -Glu-BIMA-hoz hasonlóan imidazolhidas $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im}))$ koordinációjú $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplex alakul ki. A β -Ala-BIMA komplexének spektrális paraméterei azonban lényegesen eltérnek a többi ligandumétól. A különbséget az okozza, hogy a korábban vizsgált ligandumoknál (5,5) csatolt kelátgyűrű alakul ki, míg a β -Ala-BIMA esetén az amidnitrogén egy metilén-csoporttal távolabb van az aminocsoporttól, ezért az első kelátgyűrű hattagú (66. ábra). Ennek eredményeként a komplexben a Cu-Cu távolság nagyobb: 414 pm. (A többi ligandumnál ez az érték ~ 390 pm.) A hattagú kelátgyűrűben csökken a planáris komplexszerkezet merevsége, ahogy azt a különböző pozíciókban β -alanint tartalmazó oligopeptidek vizsgálatánál is megállapították.⁸⁹ A merevség csökkenése a komplex stabilitásának csökkenésében is megnyilvánul.



A vizsgált ligandumok koncentrációeloszlási görbéit (53. és 65. ábra) összehasonlítva látható, hogy a β -Ala-BIMA- $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplexe nagyobb pH-tartományban képződik, az amidnitrogén deprotonálódása az α -aminosavszármazékokhoz képest gátolt.

A pH 8 felett $[\text{CuLH}_2]$ összetételű vegyes-hidroxokomplex képződik az oldatban, amely pH 9-től uralkodó részecske lesz 1:2 és 1:1 fém/ligandum aránynál is.

Az α -Asp-BIMA-nál és az α -Glu-BIMA-nál képződő hárommagvú komplex ennél a ligandumnál is kialakul, bár képződése 1 pH egységgel eltolódik, 3:2 fém/ligandum aránynál pH 6 felett már kizárólag ez a részecske van jelen az oldatban (67. ábra).



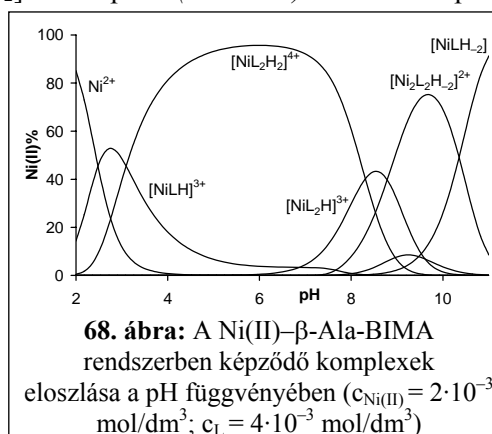
3.4.2. A β -Ala-BIMA nikkell(II)komplexei

Savas pH-tartományban a többi aminosav-származékhoz hasonlóan bisz(imidazolil)-koordinációt tartalmazó komplexek alakulnak ki. A 2 N(Im) koordinációjú $[\text{NiLH}]^{3+}$ részecske mellett igen nagy mennyiségben képződik a 4 N(Im) donoratomot tartalmazó $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{4+}$ komplex (68. ábra). Ez a komplex eltérően az α -Asp-BIMA-tól és az α -Glu-BIMA-tól, de hasonlóan a γ -Glu-BIMA-hoz, igen széles pH-tartományban (2-9) van jelen. Ez azzal értelmezhető, hogy az aminonitrogén deprotonálódása a két utóbbi vegyületnél a szabad ligandum nagy pK_{amino} értéke miatt nagyobb pH-n következik be, és addig csak bisz(imidazolil)-koordináció kialakulására van lehetőség. A $[\text{NiL}_2\text{H}]^{3+}$ komplexben is ugyanez a koordinációs mód, csak az egyik aminocsoport már deprotonálódott. Ugyanakkor a $[\text{NiL}_2]^{2+}$ komplex képződésére jellemző pK -érték arra utal, hogy ebben az esetben, hasonlóan a Gly-BIMA-hoz és az α -Glu-BIMA-hoz, az egyik ligandum amidnitrogénje deprotonálódott, így $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}(\text{Im})) + \text{N}(\text{Im})$ koordinációt tartalmazó síknégyszetes geometriájú komplex jön létre. Ez a komplex csak nagyon kis mennyiségben van jelen, így a pH 10 alatt megjelenő síknégyszetes komplexekre jellemző sáv elsősorban a $[\text{Ni}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexről származik. Ennek a koordinációs módja teljesen analóg a 66. ábrán látható a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexével.

A pH további növelésével már csak a $[\text{NiLH}_2]$ összetételű vegyes-hidrokokomplex van jelen az oldatban, ez azonban képes oldatban tartani a Ni(II)-ionokat, ligandumfelesleg esetén pH 11,5-nél sem jelenik meg csapadék az oldatban.

3.4.3. A β -Ala-BIMA cink(II)komplexei

Cink(II)ionokkal csak nagyobb pH-tartományban képződnek komplexek, mint a másik két fémion esetén. Ennél a ligandumnál csak bisz(imidazolil)-koordinációt tartalmazó komplexek vannak jelen. Ebben az esetben nem jelentkezik extra lúgfogyasztó folyamat, az amidnitrogén nem deprotonálódik. Ez azt jelenti, hogy a cink(II)ionok esetén nem kedvező a (6,5) csatolt kelátgyűrűt tartalmazó imidazolhidas dimer szerkezet. A bisz(imidazolil)-koordináció pH = 8,5-ig képes oldatban tartani a cink(II)ionokat, majd csapadék válik ki az oldatból.



4.4. A Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumát modellező peptidek

A 2.4. fejezetben leírtaknak megfelelően, a His-Val-His és a His-Val-Gly-Asp peptidek, és méginkább ezek terminálisan védett származékaik alkalmas modellek a Cu,Zn-SOD enzim szerkezeti viszonyainak jellemzésére. Azonban az enzim aktív centrumát közelebbről vizsgálva láthatjuk, hogy a His-Val-His két imidazolnitrogénje mellett egy harmadik imidazolnitrogén is koordinálódik a Cu(II)-ionhoz (24. old., 15. ábra). Ez az aminosavrész nem közvetlenül szomszédos a tripeptiddel, ezért a rézkötőhely olyan pentapeptidekkel modellezhető, ahol a tripeptid és az újabb hisztidin közé egy másik aminosavat iktatunk. Így sztérikusan lehetővé válik a harmadik hisztidinrész ugyanazon fémionhoz való koordinációja. A rézkötőhely ily módon történő modellezésére állítottam elő az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ peptideket. A vizsgálatok azt mutatták, hogy e két ligandum komplexképzési folyamatai igen összetettek, ezért a képződő komplexek szerkezetének tisztázása érdekében két prolintartalmú peptidet (Ac-His-Pro-His-Ala-His-NH₂ és Ac-His-Ala-His-Pro-His-NH₂) is szintetizáltam. Mivel a peptidláncba épülve a prolinnál nincs lehetőség az amidnitrogén koordinációjára, ezen ligandumok vizsgálatánál azt vártuk, hogy választ kapunk arra a kérdésre, hogy az első két ligandumnál a peptidlánc melyik részén kezdődik el a koordináció.

A cinkkötőhelynél a His-Val-Gly-Asp imidazolnitrogénje és karboxilátcsoportja mellett szintén koordinálódik egy másik imidazolnitrogén is. Ennek modellezésére állítottam elő az Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH₂ és az Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH₂ peptideket. A ligandumok szerkezete a 21. ábrán (29. old.) látható.

4.4.1. A ligandumok sav-bázis tulajdonságai

A vizsgált ligandumok protonálódási állandóit a 28. táblázat tartalmazza. Valamennyi peptid mindkét vége védett, így csak az oldalláncbeli donorcsoporthoz deprotonálódására jellemző állandók határozhatóak meg. Ennek megfelelően a három hisztidint tartalmazó peptideknél (a táblázat első négy oszlopa) a három deprotonálódási állandó a három imidazolcsoporthoz rendelhető. A négy ligandum esetén ezek az értékek igen közel vannak egymáshoz, és jól egyeznek a funkcióscsoportként szintén csak három hisztidint tartalmazó Ac-His-His-Gly-His-NH₂ peptid értékeivel.¹⁵⁰ A pK-értékek közötti kis különbség (0,6 logaritmus egység) arra utal, hogy az imidazolnitrogének deprotonálódása egymással átfedő lépésekben játszódik le.

Az aszparaginsav-tartalmú peptidek esetén a legkisebb deprotonálódási állandó az oldalláncbeli karboxilátcsoportnak tulajdonítható, ez jól elkülönül a két imidazolnitrogén egymáshoz közel eső deprotonálódási állandóitól.

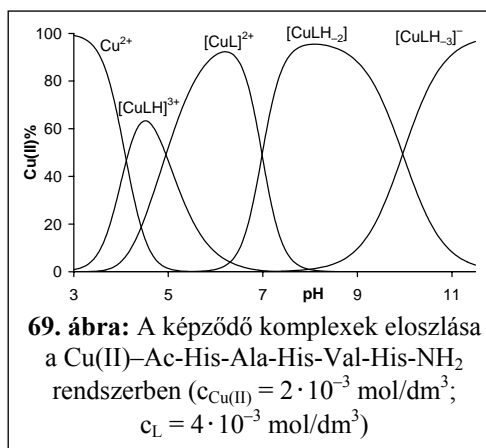
28. táblázat: A vizsgált ligandumok deprotonálódási állandói és réz(II)komplexeik stabilitási állandói

	HAHVH	HVHAH	HPHAH	HAHPH	HVGDH	HHVGD
pK_1	5,67(1)	5,75(1)	5,74(1)	5,78(1)	3,49(2)	3,67(3)
pK_2	6,24(1)	6,31(1)	6,31(1)	6,32(1)	6,13(1)	5,96(2)
pK_3	6,83(1)	6,94(1)	6,93(1)	6,93(1)	6,83(1)	6,83(1)
$[CuLH]^{3+/2+}$	13,06(2)	13,30(3)	13,04(3)	13,03(3)	10,46(19)	10,87(4)
$[CuL]^{2+/+}$	8,11(3)	8,45(3)	7,94(3)	8,00(3)	6,45(3)	6,24(2)
$[CuLH_{-1}]^{+/0}$	—	—	—	—	—	-0,24(3)
$[CuLH_{-2}]^{0/-}$	-5,86(4)	-5,62(4)	-5,78(4)	-6,60(4)	-7,57(4)	-7,70(3)
$[CuLH_{-3}]^{-2-}$	-15,82(6)	-15,17(7)	-15,50(6)	-16,34(8)	-17,06(7)	-18,04(3)
$[Cu_2LH_2]^{2+/+}$	-0,99(4)	-0,89(5)	1,58(7)	-1,81(7)	—	—
$[Cu_2LH_4]^{0/2-}$	-13,58(3)	-13,48(3)	-15,04(10)	—	—	—
$[Cu_2LH_5]^{-2-}$	-23,77(7)	-23,23(8)	-24,00(13)	—	—	—
$[Cu_2LH_6]^{2-/3-}$	-34,19(3)	-34,16(6)	—	—	—	—
$pK(CuLH/CuL)$	4,95	4,85	5,10	5,03	4,01	4,63
$pK_1(\text{amid})$	6,99	7,03	6,86	7,3	7,01	6,48
$pK_2(\text{amid})$	9,96	9,55	9,72	9,74	9,46	10,34
$pK(Cu_2LH_2/Cu_2LH_4)/2$	6,30	6,30	8,31	—	—	—
$pK(Cu_2LH_4/Cu_2LH_5)$	10,19	9,75	8,96	—	—	—
$pK(Cu_2LH_5/Cu_2LH_6)$	10,42	10,93	—	—	—	—

Az első töltés a három hisztidint tartalmazó peptidek (1-4. peptid), a második az aszparaginsavat tartalmazó peptidek komplexeire (5-6. peptid) vonatkoznak.

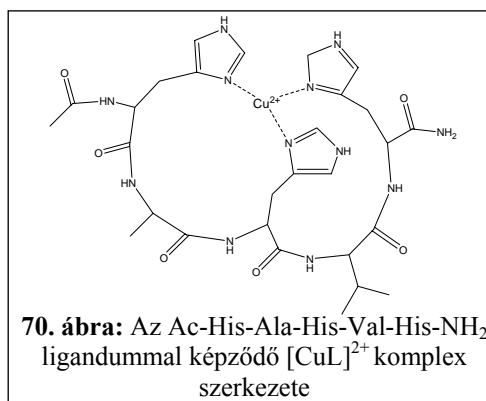
4.4.2. A három hisztidint tartalmazó peptidok réz(II)komplexei

Mivel az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ ligandumok komplexképzési tulajdonságai igen bonyolultak, összehasonlításként két prolintartalmú peptidet (Ac-His-Pro-His-Ala-His-NH₂ és Ac-His-Ala-His-Pro-His-NH₂) is vizsgáltam. A vizsgálatokat 1:2, 1:1 és 2:1 fém/ligandum aránynál végeztem. Az első két ligandum komplexkémiailag viselkedésében alapvetően nincs különbség, ezért csak a Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ ligandummal készült ábrákat mutatom be. A 28. táblázat adataiból és az eloszlási görbéből (69. ábra)



látható, hogy ligandumfeleslegnél és ekvimoláris oldatban is 1:1 összetételű komplexek vannak jelen, biszkomplexek ezekkel a ligandumokkal nem képződnek.

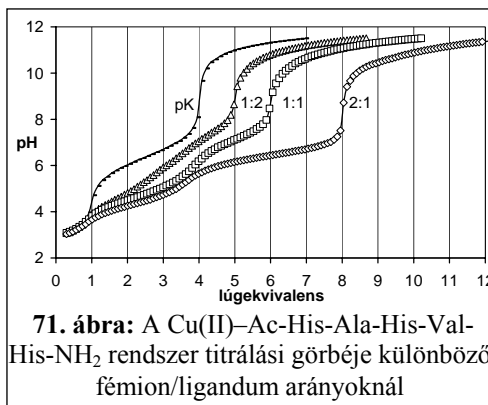
A komplexképződés savas tartományban mind a négy ligandumnál az imidazolnitrogéneken kezdődik el. Elsőként két imidazolnitrogén koordinációjával [CuLH]³⁺ makrokelát alakul ki, majd a harmadik imidazolnitrogén deprotonálódása után torzult szerkezetű [CuL]²⁺ komplexet eredményezve mindhárom nitrogénatom a réz(II)ionhoz kötődik (70. ábra). A [CuL]²⁺ komplexek az abszorpciós maximuma 665-655 nm-nél jelentkezik (29. táblázat), a CD spektrumában pH 5 alatt nagyon kis intenzitású pozitív töltésátviteli sáv jelenik meg a 700-650, illetve a 650-600 nm hullámhossz-tartományban. Hasonló megfigyelésekről számoltak be más peptidok vizsgálatánál is, amikor csak imidazolnitrogének koordinálódtak a réz(II)ionokhoz.^{50,71,193-195} Ez a komplex még pH 7-nél is ~50%-ban van jelen, ami azt jelenti, hogy a várakozásnak megfelelően, a korábbi modellvegyületekhez képest, a CuL



komplex képződése a nagyobb pH-tartományok felé tolódott el.

A Cu(II)–Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ rendszer titrálási görbéjéből (71. ábra) látható, hogy pH 10-ig 1:2 fém/ligandum aránynál egy, 1:1 fém/ligandum aránynál két ekvivalens extra lúg fogy. Ez arra utal, hogy ebben a pH-tartományban [CuLH₂] komplexek vannak jelen. A komplex képződését az

abszorpciós spektrum jelentős kék eltolódása és a CD spektrum jellegzetes változása kíséri. Ebben a komplexben két hisztidin közötti amidnitrogének koordinálnak az imidazolnitrogének mellett. Ennek eredményeként (7,5,6)-tagú csatolt kelátrendszer alakul ki. Az imidazol-oldallánc horgonycsoportként viselkedik, elősegíti az amidcsoport deprotonálódását és koordinálódását. Ezt a jelenséget korábban más N-terminálisan védett hisztidintartalmú peptidek esetén is megfigyelték.¹⁹⁶ A két amidnitrogén kooperatív módon koordinálódik, a spektrális vizsgálatok arra utalnak, hogy $[\text{CuLH}_1]^+$ komplex egyik rendszerben sem képződik.

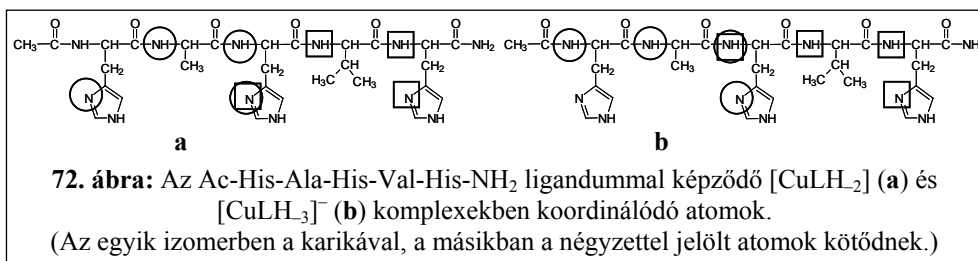


29. táblázat: A vizsgált ligandumok Cu(II)-komplexeinek UV-Vis spektrális paraméterei ($\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$)

	HAHVH	HVHAH	HPHAH	HAHPH	HVGDH	HHVGD
$[\text{CuLH}]^{3+/2+}$	730(43)	770(32)	760(35)	760(32)	—	770(55)
$[\text{CuL}]^{2+/+}$	655(73)	655(66)	650(60)	665(69)	675(65)	685(46)
$[\text{CuLH}_1]^{+/0}$	—	—	—	—	—	635(61)
$[\text{CuLH}_2]^{0/-}$	550(136)	565(123)	550(140)	575(126)	585(84)	555(109)
$[\text{CuLH}_3]^{-/2-}$	530(122)	520(117)	530(121)	530(113)	550(127)	545(121)

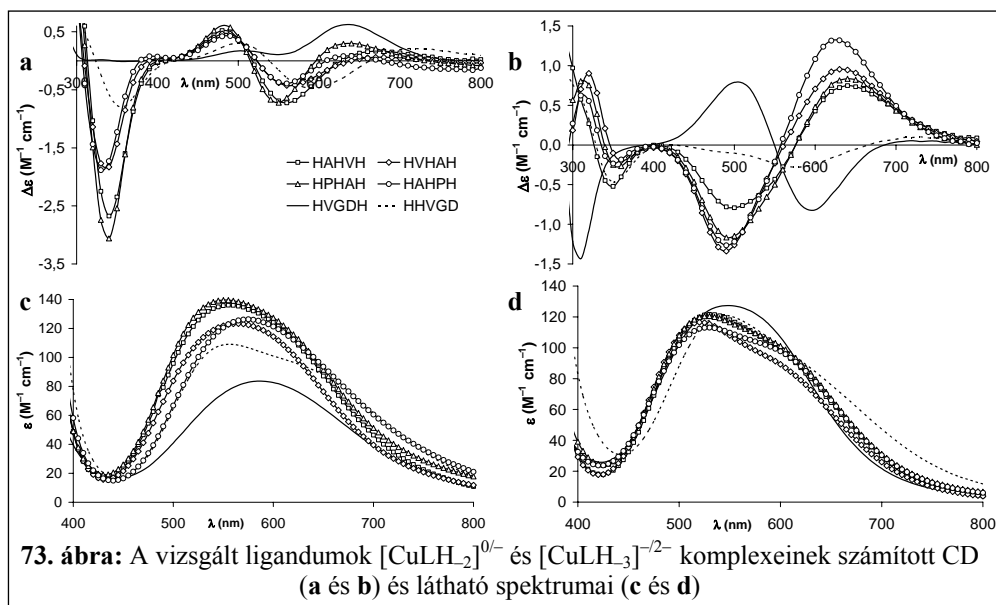
A táblázatban szereplő mennyiségek mértékegységei: λ_{max} : nm, ϵ : $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ ligandumoknál $[\text{CuLH}_2]$ sztöchiometriával két izomer komplexszerkezet valósulhat meg (72.a. ábra).



Ugyanakkor a prolintartalmú peptideknél csak az egyik izomer képződhet. A prolin peptidláncba épülése „töréspontot” jelent az amidnitrogének

deprotonálódása szempontjából: a szekunder aminocsoportjával kialakuló peptidkötés amidnitrogénje nem koordinálódhat a fémionokhoz.¹⁹⁷⁻²⁰² Az Ac-His-Pro-His-Ala-His-NH₂ ligandumnál csak a második és harmadik hisztidin közötti amidnitrogének deprotonálódásával, míg az Ac-His-Ala-His-Pro-His-NH₂ ligandumnál az első és a második hisztidin közötti amidnitrogének deprotonálódásával alakulhat ki ilyen összetételű komplex. A két prolintartalmú peptid [CuLH₂] komplexének CD spektruma intenzitását és maximumát tekintve is eltér egymástól (73.a. ábra és 30. táblázat). Ugyanilyen jellegű eltérés jelentkezik a másik két peptid között. A CD spektrumok lefutását tekintve az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ [CuLH₂] komplexe az Ac-His-Pro-His-Ala-His-NH₂ liganduméhoz, míg az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ peptidé inkább az Ac-His-Ala-His-Val-Pro-NH₂ liganduméhoz hasonlít. Ennek alapján az előbbi ligandumnál nagyobb mennyiségben képződik az az izomer komplex, ahol a réz(II)ion a ligandum C-terminális részén koordinálódik, míg az utóbbi ligandumnál a ligandum N-terminális részén kedvezményezettebb a kötődés. Ugyanez a következtetés vonható le a látható spektrumok összehasonlításából is (73.c. ábra és 29. táblázat). Ugyanakkor ESR spektroszkópiával a nagyon hasonló koordinációs környezet miatt nem tudunk különbséget tenni a két izomer között.



A pH emelésével valamennyi rendszerben újabb lúgfogyasztó folyamat kezdődik, és pH 11 felett ligandumfeleslegnél, valamint ekvimoláris oldatban is csaknem kizárólag [CuLH₃]⁻ komplex van jelen. A komplex képződésével párhuzamosan a CD és a látható spektrumban is jelentős változás következik be (73.b. és d. ábra). Ez arra utal, hogy nem vegyes-hidroxokomplex képződik,

hanem egy további amidnitrogén deprotonálódik és koordinálódik. A komplex képződésére jellemző pK -érték viszonylag nagy (9,5-10). Ez egyrészt abból származhat, hogy a harmadik amidnitrogénnek ki kell szorítani az imidazolnitrogént a réz(II)ion koordinációs szférájából, másrészt az acetylamidcsoport nitrogénje is koordinálódhat, és ennek a deprotonálódása nagyobb pH-n következik be, mint a peptidcsoport nitrogénjéé. A harmadik amidnitrogén kötődésével a (7,5,6)-tagú kelátrendszer (5,5,6)-tagú váltja fel, amelynek termodinamikai stabilitása sokkal nagyobb.⁸⁹ Az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ ligandumoknál ebben az esetben is izomerek alakulhatnak ki (72.b. ábra), míg a prolintartalmú peptideknél csak egyféle szerkezet valósulhat meg. A látható spektrumokban igen széles sávok jelennek meg, ami torzult szerkezetek, illetve izomerek kialakulására utal; a harmadik imidazolnitrogén axiális irányú koordinációja is feltételezhető.

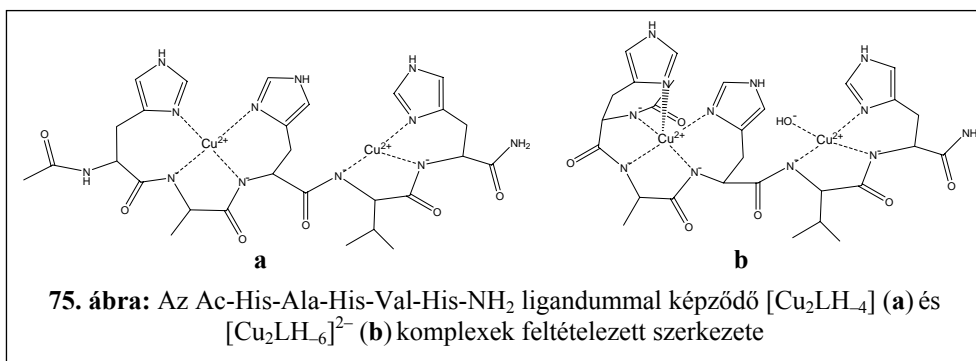
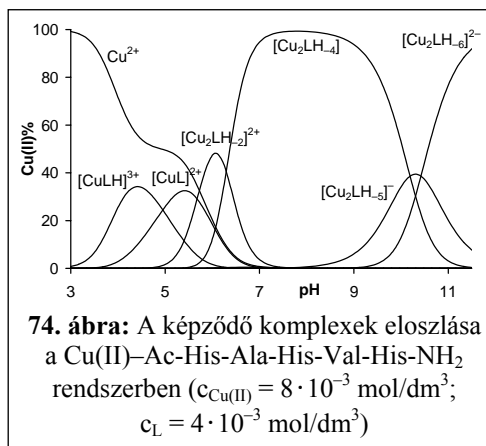
30. táblázat: A vizsgált ligandumok Cu(II)-komplexeinek CD spektrális paraméterei ($\lambda_{\max}(\Delta\epsilon)$)

	[CuLH ₂] ^{0/-}	[CuLH ₃] ⁻²⁻
HAHVH	670(+0,17) 560(-0,72) 480(+0,52) 340(-2,67)	640(+0,75) 500 (-0,79) 320(+0,27)
HVHAH	680(+0,06) 560(-0,43) 480(+0,46) 340(-1,83)	630(+0,90) 490(-1,34) 320(+0,90)
HPHAH	640(+0,30) 550(-0,72) 480(+0,61) 340(-3,06)	640(+0,83) 490(-1,17) 310(+0,80)
HAHPH	640(+0,08) 560(-0,39) 490(+0,43) 330(-1,88)	630(+1,32) 490(-1,27) 310(+0,62)
HVGDH	640(+0,62) 500(+0,17)	600(-0,82) 500(+0,79) 310(-1,44)
HHVGD	720(+0,21) 590(-0,47) 500(+0,30) 360(-0,78)	580(-0,28) 350(-0,47)

A táblázatban szereplő mennyiségek mértékegységei: λ_{\max} : nm, $\Delta\epsilon$: M⁻¹cm⁻¹.

Az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ ligandumok igen hatékony fémmegkötők, 2:1 fém/ligandum arányánál sem vált le csapadék az oldatból, még pH 11 felett sem. Savas pH-tartományban az elsőként megjelenő kétmagvú komplex a [Cu₂LH₂]²⁺ (74. ábra), amelyben egy [CuLH₂] komplexhez még egy réz(II)ion kötődik két imidazolnitrogéne keresztül.

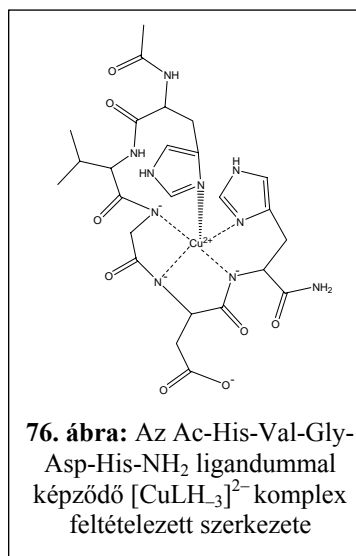
A titrálási görbén látható (71. ábra), hogy 2:1 aránynál pH 10-ig 4 ekvivalens extra lúg fogy, ami alapján $[\text{Cu}_2\text{LH}_4]$ komplex képződik abban a pH-tartományban. Ebben a komplexben mindkét réz(II)ion két deprotonálódott amidnitrogénhez és egy imidazolnitrogénhez koordinálódik, és az N-terminális-részen kötődő réz(II)ion emellett az első imidazolnitrogénhez is koordinálódhat (75.a. ábra). A pH további növelésével $[\text{Cu}_2\text{LH}_5]^-$, majd $[\text{Cu}_2\text{LH}_6]^{2-}$ komplexek képződnek, amelyekben egy további amidnitrogén deprotonálódása és egy hidroxidion koordinációja feltételezhető (75.b. ábra). Az ESR spektroszkópia ebben az esetben sem segít a koordinációs mód igazolásában; a kétmagvú komplexek jelenléte miatt a spektrum kiszélesedik.



4.4.3. Az Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH₂ réz(II)komplexei

Savas pH-tartományban egy, illetve két imidazolnitrogén koordinációjával $[\text{CuLH}]^{2+}$ és $[\text{CuL}]^+$ komplexek képződnek. Ez utóbbi esetben szokatlanul nagy tagszámú kelátgyűrű alakul ki, s emellett mindkét komplexben lehetőség van az oldalláncbéli karboxilátcsoport koordinációjára is. Ez azt jelenti, hogy a Cu,Zn-SOD enzim fémmegkötőhelyénél megfigyelhető torzult szerkezet kialakul ezzel a ligandummal.

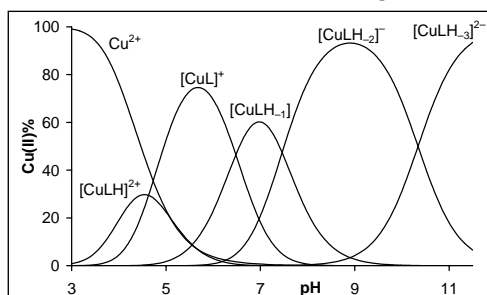
A $[\text{CuL}]^+$ komplexből közvetlenül képződik a $[\text{CuLH}_2]^-$ komplex, az amidnitrogének ennél a ligandumnál is kooperatív módon deprotonálódnak. A korábbi irodalmi megállapításoknak megfelelően azt feltételezzük, hogy az amidnitrogének deprotonálódása a C-terminális hisztidintől a ligandum N-terminális része felé halad.¹⁹⁶ A két amidnitrogén, és a C-terminális hisztidin imidazolnitrogénjének koordinációja mellett az első hisztidin axiális irányú koordinációja is megvalósulhat. 11-es pH felett ennél a ligandumnál is $[\text{CuLH}_3]^{2-}$ komplex van jelen az oldatban. Ennek képződését a spektrális paraméterek nagymértékű változása kíséri, ami alapján egy további amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása feltételezhető (76. ábra). További változás a látható és a CD spektrumban azonban már nincs pH 10,8 felett, ami alapján a négy deprotonálódott amidnitrogént tartalmazó $[\text{CuLH}_4]^{3-}$ komplex képződése ennél a ligandumnál is kizárható.



4.4.4. Az Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH₂ réz(II)komplexei

A ligandum bár ugyanolyan funkciócsoportokat tartalmaz, mint az Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH₂, a szerkezeti különbségekből adódóan komplexkémiai viselkedésében jelentős eltérés mutatkozik. A savas pH tartományban képződő $[\text{CuLH}]^{2+}$ és $[\text{CuL}]^+$ komplexekben ebben az esetben is az imidazolnitrogének és a karboxilátcsoport koordinálódik, eltérés csak a kialakuló kelátgyűrűk tag-számában van.

Az amidnitrogén deprotonálódása ennél a ligandumnál is bekövetkezik, azonban ez a folyamat nem kooperatív, $[\text{CuLH}_1]$, $[\text{CuLH}_2]^-$ és $[\text{CuLH}_3]^{2-}$ komplexek egyaránt képződnek (77. ábra). A $[\text{CuLH}_1]$ komplexben a két imidazolnitrogén mellett a közöttük levő amidnitrogén is koordinálódik, aminek eredményeként egy (7,6)-tagú

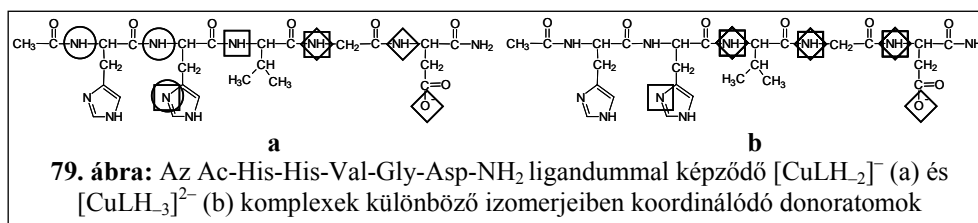
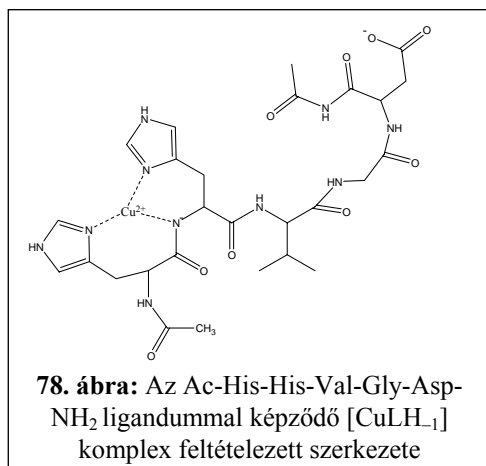


77. ábra: A képződő komplexek eloszlása a Cu(II)–Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH₂ rendszerben ($c_{\text{Cu(II)}} = c_{\text{L}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$)

csatolt kelát alakul ki (78. ábra). Az imidazolcsoport itt is elősegíti az amidnitrogén deprotonálódását.

A [CuLH₂]⁻ komplexnek három izomerje lehetséges (79.a. ábra). A komplex kialakulhat oly módon, hogy az első imidazolnitrogént kiszorítja az acetilamidcsoport nitrogénje (karikával jelölt donoratomok), illetve a második imidazolnitrogéntől kezdve a peptid C-terminális része felé is deprotonálódhatnak az amidnitrogének (négyzettel jelölt donoratomok). Erre viszonylag kevés példa van az irodalomban: a

human prion „octarepeat”-je (Ac-PHGGGWGQ-NH₂) esetén az N-terminális prolin jelenléte miatt az amidnitrogén deprotonálódása ebben az irányban játszódik le.²⁰³ További lehetőség, hogy az amidnitrogének deprotonálódása az aszpartilrész karboxilátcsoportjától a ligandum N-terminális része felé halad (csúcsán álló négyzettel jelölt donoratomok). A látható spektrumban a 650-600 nm között megjelenő váll (73. ábra) izomerek jelenlétére vagy a szerkezet torzulására is utalhat.



A [CuLH₃]²⁻ komplexnek is legalább két izomerje lehetséges: a második hisztidin imidazolnitrogénjének és az azt követő három amidnitrogén koordinációjával (7,5,5)-tagú (négyzettel jelölt donoratomok), vagy ugyanezen három amidnitrogén mellett a karboxilátcsoport koordinációjával (5,5,6)-tagú csatolt kelát alakul ki (csúcsán álló négyzettel jelölt donoratomok) (79.b. ábra). Az előbbi esetben az imidazol- (a már említett „nem szokványos módon” – N-terminális irányban), az utóbbiban a karboxilátcsoport szerepel horgonycsoportként. A harmadik amidnitrogén deprotonálódására vonatkozó állandó viszonylag nagy érték, ami akár abból is származhat, hogy az első izomer képződéséhez a [CuLH₁] komplex szerkezetének teljes átalakulása szükséges.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A metalloproteinekben a fémionok megkötésére leggyakrabban a peptidlánc oldalláncbéli donorcsoportjai szolgálnak. Ezek közül a leggyakoribb kötőhelyeket az aszparaginsav és glutaminsav karboxilátcsoportja és a hisztidin imidazolgyűrűi jelentik. Doktori munkám során olyan ligandumok réz(II)-, nikkel(II)-, és cink(II)-ionokkal való komplexképzését tanulmányoztam, amelyek ezen funkcióscsoportok valamelyikét tartalmazzák.

A ligandumok protonálódási állandóit és a különböző sztöchiometriájú komplexek stabilitási állandóit pH-potenciometriás módszerrel határoztuk meg. A protonálódási mikroállandók meghatározásához $^1\text{H-NMR}$ méréseket, a komplexek összetételének és szerkezetének megállapításához UV-látható spektrofotometriás, CD és ESR spektroszkópiás méréseket végeztünk.

A vizsgált ligandumok négy csoportba sorolhatóak, a legfontosabb eredményeket csoportonként foglalom össze.

1. Aszparaginsav- és glutaminsav-tartalmú peptidek

Az ebbe a csoportba tartozó 13 vizsgált ligandum 2-5 karboxilátcsoportot tartalmaz. Általában elmondható, hogy ennek a funkcióscsoportnak a jelenléte megnöveli a peptid fémion-megkötő képességét, különösen az aszparaginsav-tartalmú oligopeptidek esetén. Az N-terminális aszparaginsavat tartalmazó peptideknél ez az ML komplexek stabilitásában mutatkozik meg. Az ezeknél kialakuló ($\text{NH}_2, \beta\text{-COO}^-$) koordináció sokkal stabilisabb komplexeket eredményez, mint az egyszerű peptideknél megvalósuló (NH_2, CO) kötésmód. A második helyen levő aszparaginsav ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \beta\text{-COO}^-$), a harmadik helyen levő ($\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \beta\text{-COO}^-$) kötődést tesz lehetővé. Az előbbi a MLH_1 összetételű komplexek stabilitásának növekedését okozza, míg az utóbbi az Asp_4 esetén megakadályozza a harmadik amidnitrogén deprotonálódását. Ez utóbbi esetben a kialakuló többszörös negatív töltés szintén akadályozó tényező.

A glutaminsav oldalláncbéli karboxilátcsoportjával csak hétagú kelátgyűrű alakulhat ki, amelynek képződése nem kedvező, így a γ -karboxilátcsoporttal megvalósuló gyenge kölcsönhatás a komplexek stabilitását csak kis mértékben növeli, ugyanakkor a komplexek negatív töltésének növekedése stabilitáscsökkenést okoz.

Vizsgálataink alapján megállapíthatjuk, hogy az oldalláncbéli karboxilátcsoport koordinációja növeli a komplexek stabilitását és elősegíti a dimer/polimer szerkezetek kialakulását. Bár nem a komplex negatív töltésének növekedése a meghatározó a komplexképző sajátságok szempontjából, bizonyos komplexek képződésénél a nagy negatív töltés is akadályozó tényező lehet.

2. ϵ -lizinkötést tartalmazó vegyületek

A lizin ϵ -aminocsoportjának részvétele a peptidkötésben a peptidváz módosulását eredményezi és új koordinációs módokat teremt. Az $\text{Asp-}\epsilon\text{-Lys}$ az egyszerű

dipeptidektől eltérően dimer szerkezeteket képez. Az $[M_2L_2]$ komplexben mindkét fémion körül egy-egy öt-, illetve hattagú kelátgyűrű alakul ki $2(NH_2,COO^-)$ koordinációval. Ez a koordináció a réz(II)-ionok esetén akadályozza, míg a nikkell(II)- és cink(II)-ionok esetén teljesen meggátolja az amidnitrogén deprotonálódását.

A Gly-Lys(Gly) peptidben a ligandum két vége α -, illetve β -aminosavszerű koordinációt tesz lehetővé, és emellett az amidnitrogének deprotonálódására is lehetőség van. Ez izomerek képződéséhez vezet, valamint az oktaédes geometriájú nikkell(II)- és cink(II)-ionokkal a ligandum két végének egyidejű koordinációjával $[ML]^+$ összetételű makrokelát alakul ki.

3. Bisz(imidazol-2-il)-metil-csoportot tartalmazó aminosavszármazékok

Savas pH-tartományban valamennyi ligandumnál bisz(imidazolil)-koordinációt tartalmazó mono- és biszligandumú komplexek alakulnak ki. Ha a karboxilcsoport kelátképző helyzetben van, akkor az aminosavszerű koordinációval izomer szerkezetű Cu_2L_2 komplexek képződnek.

Azoknál a ligandumoknál, ahol az amidnitrogén kelátképző helyzetben van peptidszerű koordinációval imidazoláto-hidas $Cu_2L_2H_2$ komplex jön létre. Ezeknél a ligandumoknál fémionfelesleg esetén a deprotonálódott pirroltípusú nitrogének koordinációjával $Cu_3L_2H_4$ komplex képződik. Ez a folyamat szokatlanul kis pH-n, már a fiziológias pH-tartományban lejátszódik, így ezen ligandumok átmenetifém-komplexei potenciális SOD modellek lehetnek.

Nikkell(II)ionokkal nagyobb mennyiségben képződnek biszkomplexek, és az amidnitrogén deprotonálódása után síknégyszetes geometriájú komplexek alakulnak ki. Cink(II)ionokkal a komplexképződés a nagyobb pH-tartományok felé tolódik el, a komplexek stabilitása az Irving-Williams sornak megfelelően csökken.

4. A Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumát modellező peptidok

A Cu,Zn-SOD enzim modellezésére az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂, Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂, Ac-His-Pro-His-Ala-His-NH₂, Ac-His-Ala-His-Pro-His-NH₂, Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH₂ és az Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH₂ peptideket állítottam elő, és ezek Cu(II)-ionnal való komplexképzését tanulmányoztam. Valamennyi ligandumnál megjelenik az enzimaktivitás szempontjából jelentős CuL makrokelát, amelyben 2-3 hisztidinnitrogén, esetleg az aszparaginsav karboxilátscsoportja koordinálódik. A komplex képződése a korábbi modellekhez képest a nagyobb pH-tartományok felé tolódik el, azonban pH 7 felett minden rendszerben lejátszódik az amidnitrogén deprotonálódása, ami különböző izomer szerkezetek kialakulásához vezet.

Az Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ és az Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ peptidok két ekvivalens réz(II)ion megkötésére is képesek, amikor is Cu_2LH_2 , Cu_2LH_4 , Cu_2LH_5 és Cu_2LH_6 komplexek jelennek meg az oldatban.

6. SUMMARY

The N(1)/N(3) donor atoms of histidyl and the carboxylate groups of aspartyl and glutamyl residues are the main binding sites of metalloenzymes. Coordination chemistry of derivatives of amino acids and peptides containing these functional groups were studied with copper(II), nickel(II) and zinc(II) ions.

pH-potentiometric measurements were used to determine the protonation constants of the ligands and the stability constants of the copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes in aqueous solution. $^1\text{H-NMR}$ measurements were used to give the protonation microconstants of the ligands. UV-Visible, circular dichroism (CD) and electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy were used to determine the structures of the complexes.

The studied ligands can be divided into four groups:

1. Oligopeptides containing aspartyl and glutamyl residues

We studied copper(II) complexes of thirteen di- tri- and tetra-peptides built up from Asp and/or Glu residues (Asp-Ala, Ala-Asp, Asp-Val, Val-Asp, Glu-Val, Val-Glu, Asp-Glu, Glu-Asp, Asp₂, Glu₂, Asp₃, Glu₃ and Asp₄). In the case of the five last peptides experiments were carried out also with nickel(II) ions.

These ligands contain two to five carboxylate functions, which results in the enhanced metal binding ability of the peptides, it is especially true for the oligopeptides of aspartic acid. In the case of peptides containing aspartyl residue in the N-terminal position the stability enhancement is reflected in the equilibrium data of the species ML containing the $(\text{NH}_2, \beta\text{-COO}^-)$ -coordination mode in a 6-membered chelate. In the case of Asp₂ and Asp₃ the $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \beta\text{-COO}^-)$ and $(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{N}^-, \beta\text{-COO}^-)$ coordination modes will be favoured, which contain (5,6) and (5,5,6) joined chelate ring systems, respectively. The outstanding stability of the latter binding mode and the high negative charge of the corresponding species suppress the metal ion coordination of the third amide function of Asp₄. These findings are true for both copper(II) and nickel(II) ions.

γ -carboxylate group of glutamic acid would form a seven-membered chelate ring, which is not favourable. Therefore its weak interaction with the metal ions results only in slight increase of the stability of the complexes, but in the case of Glu₃ the increased negative charge of the CuL complex results in the decrease of its stability.

It is also important to note that the presence of side chain carboxylate functions results in the formation of carboxylato-bridged polynuclear complexes in medium pH range. The extent of oligomerisation can be significantly enhanced by the increase of concentration and by the decrease of temperature.

2. Oligopeptides containing ε -amide bond

Peptide amide bonds of oligopeptides and proteins are generally built up from the α -carboxylic and α -amino groups of two amino acids in adjacent positions. Metal binding of these molecules are generally described via the coordination of the terminal amino and subsequent, deprotonated amide nitrogens in the form of stable five-membered linked chelate rings. However, in the case of lysine the ε -amino group can also form a peptide bond with the carboxylic group of another amino acid. This type of peptide amide bond has a great importance in biology. The ε -(γ -glutamyl)lysine function is one of the covalent crosslink types within and between molecules, and its role is to maintain gross forms of structure and limit degrees extensibility. The amide groups of ε -(glycyl)lysine and ε -(alanyl)lysine are oligopeptide crossbridges in bacterial cell walls to connect polysaccharide chain, thus forming a polypeptidoglycan network.

The peptide amide bonds formed with the involvement of ε -amino groups of lysine are separated from the peptide backbone creating new coordination environments for metal ions. We studied the copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes of two oligopeptides containing the amide bond on the ε -amino group of lysine, namely α -Asp- ε -Lys and Gly-Lys(Gly).

The coordination chemistry of Asp- ε -Lys is the best characterised by the presence of amino acid binding sites similarly to those of α - and β -alanine. In addition, it can behave as a substituted glycineamide with very high affinity for dimerisation. The stoichiometries of the dinuclear complexes can be given as $[M_2L_2]$ ($2[(NH_2,COO^-)(NH_2,COO^-)]$ coordination) and $[M_2L_2H_2]^{2-}$ ($2[(NH_2,N^-)(NH_2,COO^-)]$ coordination). In the case of copper(II) the formation of both dinuclear species has been detected in agreement with the high affinity of copper(II) for binding to amide nitrogens of peptides. However, in the nickel(II)- and zinc(II)-Asp- ε -Lys systems only the species $[M_2L_2]$ was detected containing the amino acid like binding mode and suppressing deprotonation of both amide groups and coordinated water molecules.

In Gly-Lys(Gly) both amino groups of lysyl are bounded to glycines. Thus this ligand is built up from 3 amino acids, but its coordination chemistry is completely different from those of common tripeptides. It can coordinate to the metal ions via the amino and carbonyl groups at both termini or after the deprotonation of the amide functions it can be considered either as a substituted dipeptide or a substituted glycineamide. The stoichiometry of the major species is $[CuLH_{-1}]$ in the copper(II)-Gly-Lys(Gly) system and the EPR spectroscopy unambiguously prove the existence of two isomeric forms of the complex. The extra stability of these isomers arises from the formation of chelate rings coupled via a macrochelate ($(NH_2,CO)(NH_2,N^-)$ and $(NH_2,N^-,COO^-)(NH_2,CO)$ coordination) and suppresses hydrolytic reactions. The nickel(II)- and zinc(II)-

Gly-Lys(Gly) systems have been characterized by the formation of stable $[ML]^+$ complexes and the increased stability of these species was explained by the bis(NH₂,CO) coordination coupled via a macrochelate. Deprotonation and coordination of the amide nitrogens were, however, detected only in the copper(II) and nickel(II) complexes of Gly-Lys(Gly).

3. Amino acid derivatives of bis(imidazol-2-yl)methyl residue

One important group of enzyme models contains several imidazole residues linked via various carbon chains. Derivatives of bis(imidazol-2-yl)methane (BIM), in which the imidazole rings are linked via a single tetrahedral carbon atom are the most simple representatives of polyimidazole ligands. The coordination chemistry of the ligands containing two imidazole rings is more versatile when the chelating nitrogen donors are linked to other chelating ligands, creating multi- and/or ambidentate ligands. The derivatives of amino acids containing bis(imidazol-2-yl)methyl group on their C-termini belong to this group of multidentate ligands. The potential donor atoms of the amino acid connected to the bis(imidazol-2-yl) group are able to change the bis(imidazolyl)-like coordination mode.

The side chain donor atoms of amino acids also can affect the complex formation processes of ligands. For example, the significant influence of the side chain imidazole ring of histidine was observed in the case of His-BIMA. The other important binding site of metalloenzymes is the carboxylate group. We have investigated the effect of side chain carboxylate group on the complexation of amino acid-bis(imidazol-2-yl) derivatives. We have studied the copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes of amino acid derivatives: α -Asp-BIMA, α -Glu-BIMA, γ -Glu-BIMA and β -Ala-BIMA.

Our conclusions are the following:

With *copper(II)* ions the complex formation processes start in very acidic solution ($\text{pH} \leq 2$), and the bis(imidazol-2-yl)methyl residue is the exclusive binding site in this pH region.

The side chain donor groups of amino acids form six- or five membered chelate rings with terminal amino group and this results in the formation of isomers of dinuclear complexes with ligand bridging. It was observed in the case of α -Asp-BIMA and γ -Glu-BIMA.

For all amino acid derivatives, in which the terminal amino and deprotonated amide nitrogen can form five- or six membered chelates, the deprotonation of amide nitrogen takes place at slightly acidic pH (above pH 6), and the coordination of (NH₂,N⁻,Im(N)) donor set is able to break the bis(imidazol-2-yl)methyl coordination mode. It results in the formation of dinuclear Cu₂L₂H₂ species, in which one of the imidazole rings of bis(imidazol-2-yl)methyl moiety serves a bridge. This process, however, does not occur in the case of γ -Glu-BIMA, in which the amino and amide nitrogen could form only seven membered chelate ring.

A new base consuming process can be observed in alkaline solution. This process can be explained by mixed hydroxo complex formation in the case of amino acid derivatives with non-coordinating side chain (β -Ala-BIMA), and the deprotonation of pyrrole type nitrogen of ligands containing side chain donor group (α -Asp-BIMA and α -Glu-BIMA). As a consequence, the presence of side chain donor group can prevent the hydrolysis of copper(II) complex, probably because of its weak interaction with copper(II) ion.

The deprotonation of the pyrrole type nitrogen creates a new metal ion binding site, which leads to the existence of a trinuclear $\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_4$ complex with negatively charged imidazolate bridge in the $\text{Cu(II)}-\alpha\text{-Asp-BIMA}$ and $\text{Cu(II)}-\alpha\text{-Glu-BIMA}$ systems at 3:2 molar ratio. The formation of trinuclear species also can be supposed for $\text{Cu(II)}-\beta\text{-Ala-BIMA}$ at excess of metal ion. The coordination sphere of copper(II) ions with negatively charged imidazolato bridges resembles the active site of CuZn-SOD enzyme.

The stoichiometries of the *nickel(II) and zinc(II) complexes* are very similar to those of copper(II) complexes, but these species have much lower thermodynamic stabilities, which shifts the complex formation reactions to higher pH values. As a consequence, the concentration of protonated complexes is much lower, especially in the case of zinc(II).

Similarly to copper(II) the bis(imidazolyl) residues were detected as the major metal binding sites in acidic solutions, but the low ratio of the stepwise stability constants shows some differences in the binding modes of copper(II) and nickel(II) or zinc(II) complexes. Namely, protonated bis(ligand) complexes of copper(II) were described by the equatorial coordination of 4N donor atoms, while the regular octahedral geometry of nickel(II) and zinc(II) complexes provides a more flexible coordination environment. On the other hand, the relatively high stability of bis(ligand) complexes slightly suppresses amide deprotonation in the corresponding nickel(II) and zinc(II) complexes as compared to that of copper(II) species.

The concentration of dimer complexes with these ions are also lower, and in the $\text{Ni(II)}-\alpha\text{-Asp-BIMA}$ system following the deprotonation of amide nitrogen a monomer \rightleftharpoons dimer equilibrium exists.

4. *Pentapeptides related to the active site of Cu,Zn-superoxide dismutase*

In the active site of Cu,Zn-SOD both binding sites mentioned earlier are found; the ions are coordinated by the carboxylate group of aspartic acid and the imidazole nitrogens of histidine. The protein part of the enzyme which is included in the metal ion binding can be mimicked with oligopeptides. For this reason I synthesized peptides containing histidine and aspartic acid ($\text{Ac-His-Ala-His-Val-His-NH}_2$, $\text{Ac-His-Val-His-Ala-His-NH}_2$, $\text{Ac-His-Pro-His-Ala-His-NH}_2$, $\text{Ac-His-Ala-His-Pro-His-NH}_2$, $\text{Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH}_2$ and $\text{Ac-His-His-Val-Gly-Asp-His-NH}_2$).

Asp-NH₂). I characterized the coordination chemistry of these peptides with copper(II) ions.

These ligands have very efficient binding sites. In acidic solution CuL macrochelates form, in which three histidine nitrogens or two histidine nitrogens and one aspartate oxygen are coordinated. These binding modes result in higher stability, and shift the formation of this complex to higher pH range. However above pH 7 the deprotonation and coordination of amide nitrogens take place resulting isomer CuLH₂ and CuLH₃ complexes in the case of Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂, Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ and Ac-His-His-Val-Gly-Asp-NH₂. However, with Ac-His-Val-Gly-Asp-His-NH₂ and with the peptides containing proline only one complex structure is possible.

Ac-His-Ala-His-Val-His-NH₂ and Ac-His-Val-His-Ala-His-NH₂ are able to bind two equivalent copper(II) ion and Cu₂LH₂, Cu₂LH₄, Cu₂LH₅ and Cu₂LH₆ complexes form.

7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. I. Bertini, C. Lucinat and A. Scozzafava: *Struct. Bonding* (eds.: M.J. Clarke, P.Hemmerich, C.K. Jorgenson, D. Reinen and R.J.P. Williams), Springer-Verlag, New York, **48**, p. 45 (1982).
2. F.A. Quichio and W.N. Lipscomb: *Adv. Protein Chem.*, **25**, 1 (1971).
3. P.M. Collman, H.C. Freeman, J.M. Guss, M. Murata, V.A. Norris, J.A.M. Ramshwa and M.P. Venkatapp: *Nature*, **272**, 319 (1978).
4. K. Várnagy, I. Sóvágó, K. Ágoston, Zs. Likó, H. Süli-Vargha, D. Sanna and G. Micera: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2939 (1994).
5. Várnagy K., Sóvágó I., Ágoston K., Likó Zs. és Süli-Vargha H.: *Magy. Kém. Foly.*, **100**, 127 (1994).
6. H. Bühler and G. Anderegg: *Chimia*, **24**, 433 (1970).
7. K. Várnagy and H. Süli-Vargha: *Molecular Modeling and Dynamics of Bioinorganic Systems in NATO ASI Series* (eds.: L. Banci and B. Comba), Dordrecht/Boston/London p. 441 (1997).
8. M.C. Linder: *Biochemistry of Copper*, Plenum Press, New York, p. 1 (1991).
9. K.D. Karlin and Z. Tyeklar (eds.): *Bioinorganic Chemistry of Copper*, Chapman and Hall, New York, p. 506 (1993).
10. W. Kaim and B. Schwedersk: *Bioinorganic Chemistry in Inorganic Elements in The Chemistry of Life*, Wiley, Chichester (1994).
11. N. Kitajima: *Adv. Inorg. Chem.*, **39**, 1 (1992)
12. J.R.J. Sorenson: *Chem. Br.* **16**, 1110 (1984).
13. R.K. Gouch, T.W. Kensler, L.W. Oberlew and J.R.J. Sorenson: *Biochemical and Inorganic Copper Chemistry*, **1**, Adenine, New York, p. 139 (1986).
14. J. B. Sumner: *J. Biol. Chem.*, **69**, 435 (1926).
15. N. E. Dixon, R. L. Blakeley and B. Zerner: *Can. J. Biochem.*, **58**, 469 (1980).
16. E. Jabri, M.B. Carr, R.P. Hausinger and P.A. Karplus: *Science*, **268**, 998 (1995).
17. S.J. Lippard: *Science*, **268**, 996 (1995).
18. P.A. Karplus and M.A. Pearson: *Acc. Chem. Res.*, **30**, 330 (1997).
19. S. Cuirli, S. Benini, W.R. Rypniewski, K.S. Wilson, S. Miletta and S. Mangani: *Coord. Chem. Rev.* **190-192**, 331 (1999)
20. S. Benini, W.R. Rypniewski, K.S. Wilson, S. Miletta, S. Cuirli and S. Mangani: *Structure*, **7**, 205 (1999).
21. S. Benini, W.R. Rypniewski, K.S. Wilson, S. Ciurli and S. Mangani: *J. Biol. Inorg. Chem.*, **6**, 778 (2001).
22. F. Musiani, E. Arnofi, R. Casadio and S. Ciurli: *J. Biol. Inorg. Chem.*, **6**, 300 (2001).
23. A.F. Kolodziej: *Prog. Inorg Chem.*, **41**, 493 (1994)
24. J.R. Lancaster: *The Bioinorganic Chemistry of Nickel*, VCH, Weinheim, p. 337 (1988).
25. H. Sigel: *Nickel and its Role in Biology in Metal Ions in Biological Systems*, **23**, Dekker, New York, p. 488 (1988).
26. A.S. Prasad: *Biochemistry of Zinc*, Plenum Press, New York, p. 303 (1993).
27. D. Bryce-Smith: *Chem. Br.*, **25**, p. 783-6, 1207 (1986).
28. B. L. Vallee and D. S. Auld: *Acc. Chem. Res.*, **26**, 543 (1993).
29. N. P. Pavletich and C.O. Pabo: *Science*, **261**, 1701-7 (1993).
30. N.N. Greenwood and A. Earnshaw: *Az elemek kémiája*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (1999).
31. Folio Bound VIEWS: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, Version 3.1a, John Wiley & Sons, Ltd (1994).

32. M.R. McDonald, W.M. Scheper, H.D. Lee and D.W. Margerum: *Inorg. Chem.*, **34**, 229 (1995).
33. M.R. McDonald, F. C. Fredericks and D.W. Margerum: *Inorg. Chem.*, **36**, 3119 (1997).
34. T. Frömmel, W. Peters, H. Wunderlich and W. Kuchen: *Angew. Chem., Int. Ed.*, **31**, 612, (1992).
35. R.H. Holm, G. W. Everett and A. Chakravorty: *Prog. Inorg. Chem.*, **7**, 83 (1966).
36. L. Sacconi: *Coord. Chem. Rev.*, **1**, 126 (1966).
37. R.H. Holm and M.J. O'Connor: *Prog. Inorg. Chem.*, **14**, 241 (1971).
38. S.J. Kim, J.S. Choi, S.G. Kang, C.S. Kim, and M.P. Suh: *Bull. Korean. Chem. Soc.*, **16**, 217-221 (1995).
39. R. H. Holm: *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 4683 (1961).
40. W.C. Fernelius and B.E. Bryant: *Inorg. Synth.*, **5**, 105 (1978).
41. G.J. Bullen, R. Mason and P. Pauling: *Inorg. Chem.*, **4**, 456 (1965).
42. G.E. Kirvan, D.W. Margerum: *Inorg. Chem.*, **24**, 3253 (1985).
43. M. Ray, B.S. Hammes, G.P.A. Yap, A.L. Rheingold and A.S. Borovik: *Inorg. Chem.*, **37**, 1527 (1998).
44. I. Sóvágó: *Biocoordination Chemistry in Metal Complexes of Peptides and Derivatives* (ed.: K. Burger), Ellis Horwood, Chichester, p. 135-184, (1990).
45. R.B. Martin: *Fed. Proc. (USA)*, **20**, 54 (1961).
46. H.C. Freeman: *Crystal structures of metal peptide complexes*, In *Advances in Protein Chemistry*, **22**, Academic Press, New York (1967).
47. R. Sheppard: *Amino acids, peptides and proteins*, Royal Society of Chemistry *Specialist Periodical Reports*, London, **1**. (1969), **18**. (1987).
48. H.C. Freeman: *Metal complexes of amino acids and peptides in Inorganic Biochemistry*, **1**, Chap. 4. Elsevier, Amsterdam (1973).
49. R.B. Martin: *Metal ions in Biological Systems*, **1**, 129 (1974).
50. H. Sigel and R.B. Martin: *Chem. Rev.*, **82**, 385 (1982).
51. R.W. Hay and K.B. Nolan: in *Specialist Periodical Report*, **19**, 290 (1987).
52. T. Kiss, I. Sóvágó and A. Gergely: *J. Pure Appl. Chem.* **63**, 597 (1991).
53. H. Sigel, R. Griesser and B. Prijs: *Z. Naturforsch. (B)*, **27**, 353 (1972).
54. M.K. Kim and A.E. Martell: *Biochemistry*, **3**, 1169 (1964).
55. M.K. Kim and A.E. Martell: *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 914 (1966).
56. A. Kaneda and A.E. Martell: *J. Coord. Chem.*, **4**, 159 (1975).
57. A. Gergely and I. Nagypál: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 104 (1977).
58. E. Farkas and T. Kiss: *Polyhedron*, **8**, 2463 (1989).
59. M. Sheinblatt and E.D. Becker: *J. Biol. Chem.*, **242**, 3159 (1967).
60. H. Kozłowski: *Chem. Phys. Letters*, **46**, 519 (1977).
61. H. Dobbie and W.O. Kermack: *Biochem. J.*, **59**, 257 (1955).
62. M.K. Kim and A.E. Martell: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 872 (1969).
63. M.T. Barnet, H.C. Freeman, D.A. Buckingham, I. Nan Hsu and D. van der Helm: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1523 (1970).
64. R.B. Martin, M. Chamberlin and J.T. Edsall: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 495 (1960).
65. M.K. Kim and A.E. Martell: *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 5138 (1967).
66. G. Davies, K. Kustin and R.F. Pasternack: *Inorg. Chem.*, **8**, 1535 (1969).
67. T.F. Dorogatti and E.J. Billo: *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **37**, 1515 (1975).
68. A. Kaneda and A.E. Martell: *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 1586. (1977).
69. G. Brookes and L.D. Pettit: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2106 (1975).
70. H.C. Freeman and J.M. Guss: *Acta Cryst. B*, **34**, 2451 (1978).

71. R.B. Martin: in *Metal Ions in Biological Systems* (Ed.: H. Sigel), **23**, pp. 123-164. Dekker, New York (1988).
72. H.C. Freeman, J.M. Guss and R.L. Sinclair: *Acta Cryst. B* **34** 2459 (1978).
73. D.W. Margerum and G.R. Duker: *Metal Ions in Biological Systems*, **1**, 158 (1974)
74. D.L. Rabenstein and S. Libich: *Inorg. Chem.*, **11**, 2960 (1972).
75. B. Decock-Le Reverend, F. Liman, C. Livera, L.D. Pettit, S.I. Pyburn and H. Kozłowski: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 887 (1988).
76. I. Sóvágó, E. Farkas, Cs. Bertalan, A. Lebkiri, T. Kowalik-Jankowska and H. Kozłowski: *J. Inorg Biochem.*, **51**, 715 (1993).
77. A. Gergely and E. Farkas: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 381 (1982)
78. J.-F. Galey, B. Decock Le-Reverand, A. Lebkiri, L.D. Pettit, S.I. Pyburn and H. Kozłowski: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2281 (1991).
79. H. Kozłowski, A. Lebkiri, Ch.O. Onindo and L.D. Pettit: *Polyhedron*, **14**, 211 (1995).
80. I. Sóvágó, T. Kiss and A. Gergely: *Inorg. Chim. Acta*, **93**, L53 (1984).
81. I. Sóvágó, B. Radoska, I. Schön and O. Nyéki: *Polyhedron*, **9** 825 (1990).
82. I. Sóvágó, C. Bertalan, L. Göbl, I. Schön and O. Nyéki: *J. Inorg. Biochem.*, **55**, 67 (1994).
83. B. Decock Le-Reverand, L. Andrianarijaona, C. Livera, L.D. Pettit, I. Steel and H. Kozłowski: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2221 (1986).
84. J.-F. Galey, H. Kozłowski and L.D. Pettit: *J. Inorg. Biochem.*, **44**, 149 (1991).
85. L.D. Pettit, S. Pyburn, H. Kozłowski, B. Decock Le-Reverand and F. Liman: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1471 (1989).
86. B. Bóka, A. Myari, I. Sóvágó and N. Hadjiliadis: *J. Inorg. Biochem.*, **98**, 113 (2004).
87. G. Malandrinos, M. Louloudi, Y. Deliginannakis and N. Hadjiliadis: *Inorg. Chem.*, **40**, 4588 (2001).
88. T. Kowalik-Jankowska, M. Jasionowski and L. Lankiewicz: *J. Inorg Biochem.*, **76**, 63 (1999).
89. D. Sanna, Cs.G. Ágoston, G. Micera and I. Sóvágó, *Polyhedron*, **20**, 3079 (2001).
90. Cs. G. Ágoston, Zs. Miskolczy, Z. Nagy and I. Sóvágó: *Polyhedron*, **22**, 2607 (2003).
91. J.E. Folk and J.S. Finlayson: *Adv. Protein Chem.*, **31**, 1 (1977).
92. J.L. Strominger and M. Ghuysen: *Science*, **156**, 213 (1967).
93. J.-M. Ghuysen, J.L. Strominger, D.J. Tipper: *Compr. Biochem.*, **26A**, 53 (1968).
94. P.G. Daniele, E. Prenesti, and G. Ostacoli: *J. Inorg. Biochem.*, 61, (1996).
95. D.N.C. Drey and J.S. Fruton: *Biochemistry*, **4**, 1 (1965).
96. I. Sóvágó, K. Várnagy and K. Ösz: *Comments Inorg. Chem.*, **2**, 149 (2002).
97. Zs. Likó and H. Süli-Vargha: *Tetrahedron Lett.*, **34**, 1673 (1993).
98. K. Várnagy, I. Sóvágó, W. Goll, H. Süli-Vargha, G. Micera and D. Sanna: *J. Inorg. Chim. Acta*, **283**, 233 (1998).
99. K. Ösz, K. Várnagy, H. Süli-Vargha, D. Sanna, G. Micera and I. Sóvágó: *J. Inorg. Chim. Acta*, **339**, 373 (2002).
100. N. Camougrand, M. Rigoulet: *Resp. Physiol.*, **128**, 393 (2001)
101. L. Hayflick: *Az öregedés*, Budapest, Magyar Könyvklub (1995)
102. K. Brown: *Scientific American Presents*, **11(2)**, 39 (2000).
103. M.S. Lah, M.M. Dixon, K.A. Patridge, W.C. Stallings, J.A. Fee, M.L. Ludwig: *Biochemistry*, **34**, 1646 (1995).
104. R.A. Edwards, H.M. Baker, M.M. Whittaker, J.W. Whittaker, G.B. Jameson, E.N. Baker: *J. Biol. Inorg. Chem.*, **3**, 161 (1998).
105. M.L. Ludwig, A.L. Metzger, K.A. Patridge and W.C. Stallings: *J. Mol. Biol.*, **219**, 335 (1991).
106. M.W. Smith and R.F. Doolittle: *J. Mol. Evol.* **34**, 175 (1992)

107. T.A. Jacson, J. Xie, E. Yikilmaz, A-F. Miller and T.C. Brunold: *J. Am.Chem. Soc.*, **124**, 10833 (2002).
108. H.D. Youn, E.J. Kim, J. H. Roe, Y.C. Hah and S.O. Kang: *Biochem. J.*, **318** (Pt. 3), 889-896 (1996).
109. H.D. Youn, H. Youn, J.W. Lee, Y.I. Yim, J.K. Lee, Y.C. Hah, and S.O.Kang: *Arch. Biochem. Biophys.*, **334**, 341-348 (1996).
110. E.-J. Kim, H.-P Kim, Y.C. Hah, and J.H. Roe: *Eur. J. Biochem.*, **241**, 178 (1996)
111. B. Palenik, B. Brahamsha, F.W. Larimer, M. Land, L. Hauser, P. Chain, J. Lamerdin, W. Regala, E.E Allen, J. McCarren, I. Paulsen, A. Dufresne, F. Partensky, E.A.Webb, J. Waterbury: *Nature*, **424**, 1037 (2003).
112. J.A. Tainer, E.D. Getzoff, J.S. Richardson, D.C. Richardson: *Nature*, **306**, 284 (1983).
113. K. Djinovic-Carugo, A. Battistoni, M. Carri, F. Polticelli, A. Desideri, G. Rotilio, A. Coda, K. Wilson and M. Bolognesi: *Acta Cryst.*, **D52**, 176 (1996).
114. J.A. Tainer, E.D. Getzoff, K.M. Beem, K.S. Richardson and D.C. Richardson: *J. Mol. Biol.*, **160**, 181 (1982).
115. Y. Kitagawa, N. Tanaka, Y. Hata, M. Kusunoki, G.-P. Lee, Y. Katsube, K. Asada, S. Aibara and Y. Morita: *J. Biochem.*, **109**, 477 (1991).
116. D. Bordo, A.Pesce, M. Bolognesi, M.E. Falconi and A. Desideri: in *Handbook of metalloproteins*; John Wiley: Chischester, p. 128-1300 (2001).
117. J.S. Valentine, L.M. Ellerby, J.A. Graden, C.R. Nishida and E.B. Gralla: in *Bioinorganic Chemistry* (ed.: D.P. Kessissoglou) Kluwer Academic Publishers, Netherland, **99**, 77-91 (1995).
118. L.M. Ellerby, D.E. Cabelli, J.A. Graden and J.S. Valentine: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 6556 (1996).
119. P.J. Hart, M.M. Balbirnie, N.L. Ogihara, A.M. Nersissian, M.S. Weiss, J.S. Valentine and D. Eisenberg: *Biochemistry*, **38**, 2167 (1999).
120. S. Kubota and J.-T. Yang: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81** 3283 (1984).
121. R.P.P. Bonomo, E. Conte, G. Impellizzeri, G. Pappalardo, R. Purrello and E. Rizzarelli: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 3093 (1996).
122. J. Muller, K. Felix, C. Maichle, E. Lengfelder, J. Sttible and U. Weser: *Inorg. Chim. Acta*, **233**, 11 (1995).
123. Q.-H. Luo, Q. Lu, A.-B. Dai and L.-G. Huang: *J. Inorg. Biochem.*, **51** 655 (1993).
124. C.-M. Liu, R.-G. Xiong, X.-Z. You and Y.-J. Liu: *Polyhedron*, **15** 4565 (1996).
125. C.-M. Liu, R.-G. Xiong and X.-Z. You: *Polyhedron*, **16** 119 (1997).
126. R.G. Bhirde and T.S. Srivastava: *Inorg. Chim. Acta*, **179**, 125 (1991).
127. J. Casanova, G. Alzuet, J. Bo and O. Carugo: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2239 (1996).
128. G. Kolks, C.R. Frihart, H.N. Rabinowitz and S.J. Lippard: *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5720 (1976).
129. R.N. Patel, N. Singh, K.K. Shukla and V.L.N. Gundla: *Spectrochimica Acta Part A*; **61(8)**, 1893-1897 (2005).
130. R.N. Patel, N. Singh, K.K. Shukla, V.L.N. Gundla and U.K. Chauhan: *J. Inorg Biochem.*, **99**, 651 (2005).
131. J.-L. Pierre, P. Chautemps, S. Refaif, C. Beguin, A. E. Marzouki, G. Serratrice, E. Saint-Aman and P. Rey, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 1965 (1995).
132. Z.-W. Mao, M.-Q. Chen, X.-S. Tan, J. Liu and W.-X. Tang: *Inorg. Chem.*, **34**, 2889 (1995).
133. D. Li, S. Li, D. Yang, J. Yu, J. Huang, Y. Li, and W. Tang: *Inorg. Chem.*, **42**, 6071 (2003).
134. S. Li, D. Li, D. Yang, Y. Li, J. Huang, K. Yub and W. Tang: *Chem. Commun.*, 880 (2003).
135. J.Cabral, M.F.Cabral, M. McCann, S.M. Nelson: *Inorg. Chim. Acta*, **86**, L15 (1984).

136. C.A. Salata, M.T. Youinou and C.J. Burrows: *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 9278 (1989).
137. C.A. Salata, M.T. Youinou and C.J. Burrows: *Inorg. Chem.*, **30**, 3454 (1991).
138. H. Ohtsu, Y. Shimazaki, A. Odani, O. Yamauchi, W. Mori, S. Itoh and S. Fukuzumi: *Chem. Commun.*, 2393 (1999).
139. H. Ohtsu, Y. Shimazaki, A. Odani, O. Yamauchi, W. Mori, S. Itoh, and S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 5733 (2000).
140. G. Tabbi, W. L. Driessen, J. Reedijk, R.P. Bonomo, N. Veldman and A.L. Spek: *Inorg.*, **36**, 1168 (1997).
141. C.-L. O'Young, J.C. Dewan, H.R. Lilienthal, S.J. Lippard: *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 7291 (1978).
142. P. K. Coughlin and S. J. Lippard: *Inorg. Chem.*, **23**, 1446 (1984).
143. M. Sato, M. Ikeda and J. Nakaya: *Inorg. Chim. Acta*, **93**, L61 (1984).
144. Z. Durackova, M.A. Mendiola, M.T. Sevilla and A. Valent: *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **48**, 109 (1999).
145. D.P. Riley: *Chem. Rev.*, **99**, 2573 (1999).
146. A.G. Raso, J.J. Fiol, B. Adrover, P. Tauler, A. Pons, I. Mata, E. Espinosa and E. Molins: *Polyhedron*, **22**, 3255 (2003).
147. A.L. Abuhijleh: *J. Inorg. Biochem.*, **68**, 167 (1997).
148. A.R. Manyak, C.B. Murphy and A.B. Martell: *Arch. Biochem. Biophys.*, **59**, 373 (1955).
149. A. Myari, G. Malandrinos, Y. Deligiannakis, J.C. Plakatouras, N. Hadjiliadis, Z. Nagy and I. Sóvágó: *J. Inorg. Biochem.*, **85**, 253 (2001).
150. D. Sanna, G. Micera, Cs. Kállay, V. Rigó and I. Sóvágó: *Dalton Trans.*, 2702 (2004).
151. Bodanszky: *Peptide Chemistry*, A Practical Textbook, Springer-Verlag (1993).
152. R. B. Merrifield: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2149 (1963).
153. E. Kaiser, R. L. Colosco, C.D., Bossinger, P.I. Cook: *Anal. Biochem.*, **34**, 595 (1970).
154. I. Smith: *Chromatographic and electrophoretic techniques.*, **I**. Chromatography, Interscience Publishers, New York (1960).
155. L. Zékány and I. Nagypál: *Computation Methods for the Determination of Formation Constants* (ed.: D.J. Legget, Plenum Press, New York) p. 291 (1985).
156. P. Gans, A. Sabatini and A. Vacca: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1196 (1985).
157. Eriksson, G.: *Anal. Chim. Acta*, **112**, 375 (1979).
158. G. Gran: *Acta Chem. Scand.*, **4**, 559 (1950).
159. H.M. Irving, M.C. Miles and L.D. Pettit: *Anal. Chim. Acta*, **38**, 475 (1967).
160. H. Kozlowski and G. Micera: *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids* (eds.: G. Berthon, Marcel Dekker Inc., New York), **Vol. 1**, p. 566 (1995).
161. D. Nguyen, R. Seyer, A. Heitz and B. Castro: *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1025 (1985).
162. L.D. Pettit, J.E. Gregor and H. Kozlowski: *Perspectives on Bioinorganic Chemistry* (eds.: R.W. Hay, J.R. Dilworth and K.B. Nolan), JAI Press, London, **1** (1991).
163. E. Billo: *J. Inorg. Nucl. Chem. Lett.*, **10**, 613 (1974).
164. C.R. Cantor and P.R. Schimmel: *Biophysical Chemistry*, **2**, Chapter 8 (1980).
165. R. B. Martin, J.M. Tsangaris and J.W. Chang: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 821 (1968).
166. E.W. Wilson Jr. and R.B. Martin: *Inorg. Chem.*, **9**, 528 (1970).
167. J.M. Tsangaris and R.B. Martin: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 4255 (1970).
168. J.W. Chang and R.B. Martin: *J. Phys. Chem.*, **73** (1969).
169. R.L. Belford, N.D. Chasteen, H. So and R.E. Tapscott: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 4675 (1969).
170. B. Noszál: in *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, (ed.: K. Burger) Ellis Horwood, Chichester, New York, p. 18-55 (1990).
171. I. Sóvágó, D. Sanna, A. Dessì, K. Várnagy and G. Micera: *J. Inorg. Biochem.*, **63**, 99 (1996).

172. K. Várnagy, B. Bóka, I. Sóvágó, D. Sanna, P. Marras and G. Micera: *Inorg. Chim. Acta*, **275-276**, 440 (1998).
173. A. Gergely and I. Nagypál: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1109 (1977).
174. G. Bryce and F. Gurd: *J. Biol. Chem.*, **241**, 1439 (1966).
175. J.M. Tsangaris and R.B. Martin: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 4255 (1970).
176. E.W. Wilson Jr. and R.B. Martin: *Inorg. Chem.*, **10**, 1197 (1971).
177. I. Sóvágó, T. Kiss and A. Gergely: *Pure Appl. Chem.*, **65**, 1029 (1993).
178. Molnár Katalin: Diplomamunka (1996).
179. M. Branca, G. Micera, T. Kiss and M. Sinibaldi: *J. Chem. Res.*, 392 (1990).
180. H. Sigel, R. Caraco and B. Prijs: *Inorg. Chem.*, **13**, 462 (1974).
181. I. Sóvágó and A. Gergely: *Inorg. Chim. Acta*, **37**, 233 (1979).
182. H. Sigel, B. Prijs and R.B. Martin: *Inorg. Chim. Acta*, **56**, 45 (1981).
183. A. Gergely, I. Sóvágó, I. Nagypál and R. Király: *Inorg. Chim. Acta*, **6**, 435 (1972).
184. Sóvágó, B. Harmann, A. Gergely: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 235 (1986).
185. K. Várnagy, H. Kozłowski, I. Sóvágó, T. Kowalik-Jankowska, M. Kruszynski and J. Zboinska: *J. Inorg. Biochem.*, **34**, 83 (1988).
186. Cs.G. Ágoston, K. Várnagy, A. Bényei, D. Sanna, G. Micera and I. Sóvágó: *Polyhedron*, **19**, 1849 (2000).
187. F. Dallavalle, G. Folesani, E. Leporati and L.H. Abdel-Rahman: *J. Coord. Chem.*, **42**, 189 (1997).
188. W. Kittl and B. Rode: *Inorg. Chim. Acta*, **63**, 47 (1982).
189. K. Ősz, K. Várnagy, H. Süli-Vargha, D. Sanna, G. Micera and I. Sóvágó: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2009 (2003).
190. I. Sóvágó, E. Farkas and A. Gergely: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2169 (1982).
191. K. Várnagy, I. Sóvágó, K. Ágoston, Zs. Likó, H. Süli-Vargha, D. Sanna and G. Micera: *J. Inorg. Biochem.*, **81**, 35 (2000).
192. B. Noszál, Z. Szakács: *J. Phys. Chem. B*, **107**, 5074 (2003).
193. M. Casolaro, M. Chelli, M. Ginanneschi, F. Laschi, L. Messori, M. Muniz-Miranda, A.M. Papini, T. Kowalik-Jankowska and H. Kozłowski: *J. Inorg. Biochem.*, **89**, 181 (2002).
194. M. Casolaro, M. Chelli, M. Ginanneschi, F. Laschi, M. Muniz-Miranda, A.M. Papini, G.Sbrana: *Spectrochim. Acta A*, **55**, 1675 (1999).
195. B. Gyurcsik, I. Vosekalna, E. Larsen: *Acta Chem. Scand.*, **51**, 49 (1997)
196. D. Sanna, Cs.G. Ágoston, I. Sóvágó and G. Micera: *Polyhedron*, **20**, 937 (2001)
197. M. Bezer, L.D. Pettit, I. Steel, M. Bataille, S. Djemil and H. Kozłowski: *J. Inorg. Biochem.*, **20**, 13 (1984)
198. G. Formicka-Kozłowska, H. Kozłowski, I.Z. Siemion, K. Sobczyk and E. Nawrocka, *J. Inorg. Biochem.*, **15**, 201 (1981)
199. H. Kozłowski, M. Bezer, L.D.Pettit, M. Bataille and B. Hecquet, *J. Inorg. Biochem.*, **18**, 231 (1983)
200. G. Formicka-Kozłowska, D. Konopinska, H. Kozłowski and B. Decock-Le-Reverend: *Inorg. Chim. Acta*, **78**, L47 (1983)
201. M. Bataille, G. Formicka-Kozłowska, H. Kozłowski, L.D. Pettit and I. Steel: *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 231 (1984).
202. L.D. Pettit, I. Steel, G. Formicka-Kozłowska, H. Kozłowski, T. Tatarowski and M. Bataille: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 535 (1985).
203. M. Łuczowski, H. Kozłowski, M. Stawikowski, K. Rolka, E. Gaggelli, D. Valensin and G. Valensin: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2269 (2002).

8. FÜGGELÉK TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapját képző közlemények

1. Csilla Kállay, Katalin Várnagy, Imre Sóvágó, Daniele Sanna and Giovanni Micera
Potentiometric and spectroscopic studies on the transition metal complexes of GlyLys(Gly) and Asp- ϵ -Lys
J. Chem. Soc., Dalton Trans. (2002) 92.
2. Katalin Várnagy, Katalin Ösz, Csilla Kállay and Imre Sóvágó
The effect of side chain donor groups on the coordination ability of the bis(imidazol-2-yl) ligands
Prog. Coord. Bioinorg. Chem., **6** (2003) 95.
3. Csilla Kállay, Manuela Cattari, Daniele Sanna, Katalin Várnagy, Helga Süli-Vargha, Imre Sóvágó and Giovanni Micera
Copper(II) complexes of amino acid derivatives of bis(imidazol-2-yl)methyl residue
New J. Chem., **28** (2004) 727.
4. Katalin Ösz, Gábor Lente, Csilla Kállay
New protonation microequilibrium treatment in the case of some amino acid and peptide derivatives containing bis(imidazolyl)methyl group
J. Phys. Chem. B, **109** (2005) 1039-1047.
5. Csilla Kállay, Imre Sóvágó, Katalin Várnagy, Daniele Sanna and Manuela Cattari
Transition metal complexes of oligopeptides containing aspartic and/or glutamic acid residues
J. Inorg. Biochem. **99** (2005) 1514–1525.

Az értekezésben részletesen nem tárgyalt közlemény

6. Daniele Sanna, Giovanni Micera, Csilla Kállay, Viktória Rigó and Imre Sóvágó
Copper(II) complexes of N-terminal protected tri- and tetrapeptides containing histidine residues
J. Chem. Soc., Dalton Trans. (2004) 2702.

Előadások

1. Kállay Csilla
Aszparaginsavat és lizint tartalmazó peptidok átmenetifém-komplexei
XXV. OTDK, Kémiai és Vegyipari Szekció, Koordinációs Kémiai Alszekció, 2001. április 10-12., Gödöllő.
2. Várnagy Katalin, Ósz Katalin, Kállay Csilla, Sóvágó Imre és Süliné Vargha Helga
Oldalláncbéli donorcsoportok hatása a bisz(imidazolil) származékok komplexképző sajátságaira
XXXVII. Komplexkémiai Kollokvium, 2002. május 29-31., Mátraháza.
3. Kállay Csilla és Várnagy Katalin
Oldalláncban karboxilcsoportot tartalmazó aminosavak bisz(2-imidazolil)-metil-származékainak átmenetifém-komplexei
XXV. Kémiai Előadói Napok, 2002. október 28-30., Szeged.
4. Katalin Várnagy, Katalin Ósz, Csilla Kállay and Imre Sóvágó
The effect of side chain donor groups on the coordination ability of the bis(imidazol-2-yl) ligands
19th International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, 2003. június 2-6., Smolenice, Szlovákia.
5. Kállay Csilla, Sóvágó Imre és Várnagy Katalin
Aszparaginsav- és/vagy glumaminsav-tartalmú oligopeptidek átmenetifém-komplexei
XXXIX. Komplexkémiai Kollokvium, 2004. május 26-28., Agárd-Gárdony.
6. Katalin Várnagy, Katalin Ósz, Csilla Kállay and Imre Sóvágó
Coordination chemistry of amino acid and peptide derivatives containing bis(imidazol-2-yl)methyl residue
XXXVIth International Conference on Coordination Chemistry, 2004. július 18-23., Merida, Mexikó.
7. Imre Sóvágó, Katalin Ósz, Zoltán Nagy, Csilla Kállay, Viktória Rigó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Giuseppe Pappalardo and Enrico Rizzarelli
Copper(II) complexes of peptides of histidine. Models of the binding sites of the enzyme CuZn-SOD and prion proteins
7th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2004. augusztus 29-szeptember 2., Garmisch-Partenkirchen, Németország (Book of Abstracts, p. 49).

8. Rigó Viktória, Kállay Csilla és Sóvágó Imre
A Cu,Zn – SOD enzim aktív centrumának modellezésére alkalmas hisztidintartalmú peptidok Cu(II)komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata
Fiatal kárpátaljai magyar kutatók a természettudományi kutatásban, 2004. október 30., Beregszász, Ukrajna (Abstract könyv, 32. old.).
9. Rigó Viktória, Kállay Csilla és Sóvágó Imre
A Cu,Zn – SOD enzim aktív centrumának modellezésére alkalmas hisztidintartalmú peptidok Cu(II)komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata
X. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2004. november 12-14., Kolozsvár, Románia (Abstract könyv, 259. old.).
10. Várnagy Katalin, Ösz Katalin, Kállay Csilla és Süli-Vargha Helga
Bis(imidazol-2-il) csoportot tartalmazó aminosav- és peptidszármazékok komplexképző sajátosságai
XL. Komplexkémiái Kollokvium, 2005. május 18-20., Dobogókő.
11. Csilla Kállay, Katalin Várnagy, Imre Sóvágó, Gerasimos Malandrinos and Nick Hadjiliadis
Copper(II) complexes of pentapeptides related to the active site of Cu,Zn-Superoxide dismutase
20th International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, 2005. június 5-10., Smolenice, Szlovákia (Book of Abstracts, p. 54).

Nemzetközi konferenciákon bemutatott posztterek

1. Imre Sóvágó, Csilla Kállay, Katalin Várnagy, Giovanni Micera and Daniele Sanna
Transition metal complexes of oligopeptides containing ϵ -amide bond
10th International Conference on Bioinorganic Chemistry, 2001. augusztus 26-31., Firenze, Olaszország
J. Inorg. Biochem., **2001**, 86, 439.
2. Katalin Várnagy, Katalin Ösz, Csilla Kállay, Imre Sóvágó, Helga Süli-Vargha, Giovanni Micera and Daniele Sanna
The effects of side chain donor groups on the complexation of amino acid and peptide derivatives containing bis(imidazol-2-yl) group
XXXIth International Conference on Coordination Chemistry, 2002. július 21-26., Heidelberg, Németország (Book of Abstracts p. 366).
3. Csilla Kállay, Katalin Várnagy, Helga Süli-Vargha, Daniele Sanna and Giovanni Micera
The effect of carboxylate group on the complexation of amino acid derivatives of bis(imidazol-2-yl) group

28th *International Conference on Solution Chemistry*, 2003. augusztus 23-28., Debrecen (Book of Abstracts, p. 208).

4. Csilla Kállay, Katalin Várnagy, Helga Süli-Vargha, Daniele Sanna and Giovanni Micera

The effect of carboxylate group on the complexation of amino acid derivatives of bis(imidazol-2-yl) group

IXth International Symposium on Inorganic Biochemistry, 2003. szeptember 4-7., Szklarska Poręba, Lengyelország (Book of Abstracts, p. 56).

5. Csilla Kállay, Katalin Várnagy, Helga Süli-Vargha, Daniele Sanna and Giovanni Micera

The effect of carboxylate group on the complexation of amino acid derivatives of bis(imidazol-2-yl) group

COST D20 Mid-term Evaluation Meeting, 2003. szeptember 12-14., Triest, Olaszország (Book of Abstracts, p. 83).

6. Csilla Kállay, Manuela Cattari, Daniele Sanna, Imre Sóvágó, Katalin Várnagy and Giovanni Micera

Transition metal complexes of oligopeptides containing aspartic and/or glutamic acid residues

7th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2004. augusztus 29-szeptember 2., Garmisch-Partenkirchen, Németország (Book of Abstracts, p. 197).

7. Katalin Ósz, Gábor Lente and Csilla Kállay

New method of calculating protonation microequilibrium constants and its use for some bis(imidazolyl)methyl derivatives

7th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2004. augusztus 29-szeptember 2., Garmisch-Partenkirchen, Németország (Book of Abstracts, p. 265).

8. Katalin Várnagy, Katalin Ósz, Csilla Kállay, Olga Szilágyi, Manuele Cattari, Daniele Sanna, Imre Sóvágó and Giovanni Micera

Coordination chemistry of amino acid and peptide derivatives containing bis(imidazol-2-yl)methyl residue

7th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 2004. augusztus 29-szeptember 2., Garmisch-Partenkirchen, Németország (Book of Abstracts, p. 347).

9. Katalin Várnagy, Csilla Kállay and Daniele Sanna

Solution equilibria of copper(II) complexes of ligands containing aspartic acid

29th International Conference on Solution Chemistry, 2005. augusztus 21-25., Portorož, Slovenia (Book of Abstracts, p. 200).

10. Katalin Várnagy, Csilla Kállay and Daniele Sanna

Solution equilibria of copper(II) complexes of ligands containing aspartic acid

Xth International Symposium on Bioinorganic Chemistry, 2005. szeptember 20-25., Szklarska Poręba, Lengyelország (Book of Abstracts, p. 108).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Őszintén köszönöm témavezetőmnek, *Dr. Várnagy Katalin* egyetemi docensnek a munkám során nyújtott sokrétű, önzetlen segítségét, végtelen türelmét és megértését.

Köszönetemet szeretném kifejezni *Dr. Sóvágó Imre* egyetemi tanárnak szakmai és emberi támogatásáért, hogy mindvégig figyelemmel kísérte és segítette munkámat.

Köszönettel tartozom *Dr. Farkas Etelka* egyetemi tanárnak és *Dr. Buglyó Péter* egyetemi adjunktusnak, akik sok szakmai kérdésemre választ adtak.

Köszönöm *Hüse Ilona* és *Dr. Gönczy Árpádné* vegyésztechnikusoknak a gyakorlati tanácsaikat és a mérések során nyújtott segítségüket.

Szeretnék köszönetet mondani:

- *Süliné Dr. Vargha Helgának* és munkatársainak (ELTE-MTA Peptidkémiai Kutatócsoport) a bisz(imidazol-2-il)-metil-csoportot tartalmazó ligandumok szintéziséért.
- *Prof. Giovanni Micerának* és *Dr. Daniele Sannának* (Department of Chemistry, University of Sassari, Olaszország) az ESR spektrumok felvételéért és kiértékeléséért, valamint hogy lehetővé tették, hogy az ERASMUS program keretében laboratóriumukban megismerkedhessek ezzel a mérési technikával.
- *Prof. Nick Hadjiladisnak* (Department of Chemistry, University of Ioannina, Görögország), hogy lehetővé tette számomra, hogy doktori munkám egy részét – a Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumát modellező peptidek szintézisét – a Marie Curie program keretében kutatócsoportjában végezzem el.
- *Dr. Gerasimos Malandrinonak* és *Alexandra Myarinak* (Department of Chemistry, University of Ioannina, Görögország), hogy bevezettek a peptidszintézis rejtelseibe.
- *Prof. Antus Sándornak* és *Dr. Kurtán Tibornak* a cirkuláris dikroizmus méréseknél nyújtott segítségükért.
- *Dr. Lente Gábornak* a deprotonálódási mikroállandók meghatározásánál végzett munkájáért.

Köszönettel tartozom a *Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport* minden tagjának a munkám során adott tanácsaikért, segítségükért és biztatásukért, valamint azért, hogy a munkám elvégzéséhez baráti légkört biztosítottak.

Külön is szeretnék köszönetet mondani *Dr. Nagy Zoltánnak* és *Dr. Ósz Katalinnak* igen sokrétű segítségükért, hogy bármikor, bármilyen kéréssel fordulhattam hozzájuk.

Hálával tartozom családomnak támogatásukért és türelmükért.

OLDALLÁNCBAN KARBOXIL- ÉS IMIDAZOLILCSOPORTOT
TARTALMAZÓ AMINOSAV- ÉS PEPTIDSZÁRMAZÉKOK
ÁTMENETIFÉM-KOMPLEXEI

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a kémia tudományban

Írta: Kállay Csilla okleveles vegyész

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

Témavezető: Dr. Várnagy Katalin

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.

A doktori szigorlat időpontja: 2005.....

Az értekezés bírálói:

Dr.
Dr.
Dr.

A bírálóbizottság:

elnök: Dr.
tagok: Dr.
Dr.
Dr.
Dr.

Az értekezés védésének időpontja: 2006.....