



**KELÁTKÉPZŐ DONORCSOPORTOT  
TARTALMAZÓ PEPTIDSZÁRMAZÉKOK  
ÁTMENETIFÉM-KOMPLEXEI**

Doktori (PhD) értekezés

**(TRANSITION METAL COMPLEXES OF PEPTIDE  
DERIVATIVES CONTAINING CHELATING SIDE CHAINS)**

*Ősz Katalin*

Témavezető: *Dr. Sóvágó Imre* egyetemi tanár

Debreceni Egyetem

Debrecen, 2003

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem TTK Kémia Doktori Iskola Koordinációs Kémia programja keretében készítettem 1999 – 2002 között és ezúton benyújtom a Debreceni Egyetem TTK doktori (PhD) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2003. április 25.

Ósz Katalin

Tanúsítom, hogy Ósz Katalin doktorjelölt 1999 – 2002 között a fent megnevezett Doktori Iskola Koordinációs Kémia programjának keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2003. április 25.

Dr. Sóvágó Imre  
egyetemi tanár

**KELÁTKÉPZŐ DONORCSOPORTOT TARTALMAZÓ  
PEPTIDSZÁRMAZÉKOK ÁTMENETIFÉM-KOMPLEXEI**

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

Írta: Ósz Katalin okleveles vegyész

Készült a Debreceni Egyetem kémia doktori programja  
(koordinációs kémia alprogramja) keretében

Témavezető: Dr. Sóvágó Imre egyetemi tanár

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Dr. ....  
tagok: Dr. ....  
Dr. ....

A doktori szigorlat időpontja: 200... ..

Az értekezés bírálói:

Dr. ....  
Dr. ....  
Dr. ....

A bírálóbizottság:

elnök: Dr. ....  
tagok: Dr. ....  
Dr. ....  
Dr. ....  
Dr. ....

Az értekezés védésének időpontja: 200... ..

## Köszönetnyilvánítás:

Mielőtt az értekezés alapját képező tudományos eredményeket ismertetném, szeretnék köszönetet mondani mindazoknak akik segítettek a kutatásban és ezen értekezés elkészítésében.

Mindenekelőtt szeretném megköszönni témavezetőmnek, *Dr. Sóvágó Imrének* a rengeteg szakmai és emberi támogatását ez alatt a három év alatt. Nemcsak tudásával, tapasztalatával, hanem türelmével, nyitottságával is segítette munkám minden lépését.

Szeretném megköszönni *Dr. Várnagy Katalinnak* a segítségét, aki TDK- és diplomamunkám ideje alatt témavezetőm volt, és PhD hallgató koromban is mindig figyelemmel kísérte és segítette munkámat; aki elsőként vezetett be a kémiai kutatás rejtelmeibe, megszerettette velem ezt a szakmát és rengeteg mindenre megtanított.

Szeretnék köszönetet mondani:

- ☉ *Süliné Dr. Vargha Helgának, Lennert Lídiának és Likó Zsuzsannának*, akik az általunk vizsgált valamennyi peptidszármazék szintézisét végezték,
- ☉ *Dr. Kurtán Tibornak* és *Dr. Antus Sándornak* a cirkuláris dikroizmus méréseknél nyújtott segítségükért,
- ☉ *Dr. Daniele Sannanak* és *Prof. Giovanni Miceranak* az ESR spektroszkópiás mérésekben nyújtott segítségért, valamint hogy lehetővé tették hogy egy három hónapos *ERASMUS* ösztöndíj keretében laboratóriumukban én is megismerkedhessek ezen technika mérési és kiértékelési módszereivel,
- ☉ *Dr. Kéki Sándornak* a MALDI-TOF-MS mérésekért,
- ☉ *Dr. Kövér Katalinnak, Dr. Bányai Istvánnak* és *Dr. Tóth Imrének* az NMR mérésekben, illetve az NMR technikával végzett mágneses momentum méréseknél nyújtott elméleti és gyakorlati segítségükért,
- ☉ *Zékány Lászlónak* a számítógépes programok, illesztési eljárások alkalmazásánál, illetve az új számolási módszerek kifejlesztéséhez nyújtott pótolhatatlan segítségéért,
- ☉ kutatócsoportunk minden tagjának: *Dr. Farkas Etelkának* és *Dr. Buglyó Péternek*, akikhez – bár nem voltak témavezetőim – minden kérdéssel fordulhattam; és azoknak akik hallgatóként velem dolgoztak, akikkel együtt tanultuk a kémiai laborban való munka fortélyait, és akik maguk is rengeteg segítséget nyújtottak tapasztalataik megosztásával és a laboratóriumban is kellemes, baráti környezet teremtésével: *Dr. Ágoston Csaba Gábornak, Balogh Edinának, Bátka Dávidnak, Bóka Beátának, Dr. Csóka Hajnalkának, Deák Júliának, Dr. Enyedy Éva Annának, Gerlei Veronikának, Kállay Csillának, Dr. Kiss Erzsébetnek, Lénárt Krisztinának, Magyar Emmának, Magyar Anikónak, Nagy Eszter Mártának, Pataki Zoltánnak, Szabó Juditnak, Szabó Juliannának* és *Szilágyi Olgának*. Külön is szeretnék köszönetet mondani *Nagy Zoltánnak* és *Dr. Fábrián Istvánnak*, akik mindemellett a dolgozat elkészítéséhez is rengeteg technikai segítséget adtak.
- ☉ Köszönöm technikusainknak, *Hüse Ilonának* és *Dr. Gönczy Árpádnének* gyakorlati segítségüket, tanácsaikat, sokéves tapasztalatuk velem való megosztását.

És végül szeretnék köszönetet mondani családomnak, akik mindig mellettem voltak és vannak: férjemnek, *Dr. Lente Gábornak*, szüleimnek, *Biró Ilona Máriának* és *Ősz Gusztávnak*, valamint testvéreimnek, *Ilonának, Gusztávnak* és *Gábornak*.

## Tartalomjegyzék

<b>1. Bevezetés</b> .....	<b>1</b>
1.1. Célkitűzések.....	4
<b>2. Irodalmi előzmények</b> .....	<b>5</b>
2.1. Peptidek sav-bázis és komplexkéimiai viselkedése.....	5
2.1.1. Nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó aminosavak és peptidek.....	5
Réz(II)komplexek.....	8
Nikkel(II)komplexek.....	9
Cink(II)komplexek.....	10
2.1.1.1. Oldalláncban lévő, nemkoordinálódó csoportok hatása a koordinációra.....	10
2.1.2. Hisztidin aminosav és hisztidint tartalmazó peptidek komplexkéimája.....	12
Réz(II)komplexek.....	13
Nikkel(II)- és cink(II)komplexek.....	16
2.1.2.1. A pirrol-típusú nitrogén deprotonálódását befolyásoló tényezők.....	16
2.2. Bisz(2-imidazolil)-metil-származékok sav-bázis és komplexkéimiai viselkedése.....	19
2.3. Bisz(2-piridil)-származékok sav-bázis és komplexkéimiai viselkedése.....	22
2.4. Egyéb, imidazol- és/vagy piridingyűrűket tartalmazó származékok komplexkéimiai viselkedése.....	24
2.5. Szuperoxid-diszmutáz (SOD) enzimmodellek.....	27
<b>3. Kísérleti körülmények, vizsgálati módszerek</b> .....	<b>31</b>
3.1. pH-potenciometria.....	31
Az oldategyensúlyi számítások elméleti alapjai.....	32
3.2. UV-látható spektrofotometria.....	33
Réz(II)komplexek.....	33
Nikkel(II)komplexek.....	35
3.3. Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia.....	36
3.4. <sup>1</sup> H-NMR spektroszkópia.....	38
3.5. Mágneses momentum mérések.....	39
3.6. ESR spektroszkópia.....	40
3.7. Tömegspektrometria (MALDI-TOF-MS).....	42
Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation (MALDI).....	42
Time of Flight (TOF).....	43
<b>4. Felhasznált vegyszerek, vizsgált ligandumok</b> .....	<b>44</b>
<b>5. Kísérleti eredmények és értékelésük</b> .....	<b>46</b>
5.1. Bisz(2-imidazolil)-metil- és bisz(2-piridil)-metil kelátképző csoportot tartalmazó aminosavszármazékok.....	46
5.1.1. A ligandumok sav-bázis sajátosságai.....	46
5.1.2. A bisz(2-piridil)-metil-amin aminosavszármazékainak komplexkéimiai viselkedése.....	52
5.1.2.1. Nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-piridil)-metil-származék (Gly-BPMA) réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexei.....	53
Réz(II)komplexek.....	54
Nikkel(II)komplexek.....	56
Cink(II)komplexek.....	58

5.1.2.2. Erősen koordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-piridil)-metil-származék (His-BPMA) réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexei .....	60
Réz(II)–His-BPMA rendszer .....	63
Nikkel(II)–His-BPMA rendszer.....	65
Cink(II)–His-BPMA rendszer.....	67
5.1.3. A bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosavszármazékainak komplexkémiai viselkedése .....	68
5.1.3.1. Oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-származékok (Gly-BIMA és Phe-BIMA) réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexei ...	68
Réz(II)komplexek .....	69
Nikkel(II)komplexek.....	72
Cink(II)komplexek.....	73
5.1.3.2. Erősen koordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-származék (His-BIMA).....	74
Réz(II)–His-BIMA rendszer .....	75
Nikkel(II)–His-BIMA rendszer.....	80
Cink(II)–His-BIMA rendszer.....	81
5.2. Bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó peptidszármazékok .....	82
5.2.1. A ligandumok sav-bázis sajátságai .....	82
5.2.2. Oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó peptidszármazékok (Phe-Gly-BIMA, Leu-Gly-BIMA, Gly-Leu-BIMA, Ala-Pro-BIMA, Ala-Phe-Gly-BIMA) átmenetifém-komplexei .....	83
5.2.2.1. Prolint nem tartalmazó dipeptidszármazékok (Phe-Gly-BIMA, Leu-Gly-BIMA, Gly-Leu-BIMA) átmenetifém-komplexei .....	85
Réz(II)komplexek .....	85
Nikkel(II)- és cink(II)komplexei.....	93
5.2.2.2. Prolint tartalmazó dipeptidszármazék (Ala-Pro-BIMA) réz(II)komplexei .....	96
5.2.2.3. Oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó tripeptidszármazék (Ala-Phe-Gly-BIMA) átmenetifém-komplexei.....	97
Réz(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszer .....	97
Nikkel(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszer.....	100
5.2.3. Oldalláncban erősen koordinálódó (hisztidil-) donorcsoportot tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-dipeptidszármazékok (Phe-His-BIMA, His-Phe-BIMA) réz(II)-komplexei .....	101
5.2.3.1. N-terminális hisztidint tartalmazó származék (His-Phe-BIMA) réz(II)komplexei .....	102
5.2.3.2. Második helyen hisztidint tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-származék (Phe-His-BIMA) réz(II)komplexei .....	104
<b>6.1. Összefoglalás .....</b>	<b>107</b>
<b>6.2. Summary .....</b>	<b>109</b>
<b>7. Hivatkozott irodalmak jegyzéke.....</b>	<b>116</b>

## 1. Bevezetés

Különböző fémionok fontos szerepet játszanak az élő szervezetek szerves molekuláinak szintézisében és szállításában, illetve biológiai rendszerek sav-bázis- és redoxifolyamatainak a katalizálásában. Az egyik legfontosabb fémmegekötőhelyet a proteinek képezik. Ezek találhatóak meg a metalloenzimekben is, ahol a fémionok a polipeptidlánc speciális aminosavjaihoz (pl. a hisztidin aminosav imidazolil-oldalláncához) kötődnek. Metalloenzimeknél a fémion lehet csupán az enzim harmadlagos szerkezetét stabilizáló passzív tényező, azonban igen gyakran aktív szerepet is játszik a katalízis folyamatában. Részt vehet a szubsztrát kötésében vagy a reakció intermedierjeinek a stabilizálásában. Emellett a fémiont tartalmazó enzimeknek egy jelentős csoportja redoxifolyamatokat katalizál, amelyekben a fémionnak alapvető szerepe van.

A hisztidil-oldallánc irányából vizsgálva a metalloenzimek aktív centrumát, a hisztidin kétféle szerepet játszhat: egyrészt a fémiont koordinálja az imidazolnitrogénjén keresztül. Ez a fajta koordináció minden, aktív centrumban hisztidint tartalmazó metalloenzim esetében kimutatható. Általában 2–4 imidazolil-oldallánc köti ilyen módon a fémiont az aktív centrumban. A másik lehetséges kapcsolódási mód sokkal ritkább, ehhez ugyanis az imidazolil-oldallánc pirrol-N(1)H-csoportjának deprotonálódása és koordinálódása szükséges fiziológiás körülmények között. Ebben az esetben a hisztidin hídligandumként köti össze a két fémcentrumot, mint pl. a réz(II)- és cink(II)iont tartalmazó Cu-Zn-szuperoxid-diszmutázok (SOD) esetében.

A hisztidin szinte valamennyi létfontosságú *3d* átmenetifém (Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn) számára fontos kötési hely, de a legstabilisabb komplexek az utolsó három elem, azaz a  $3d^{8-10}$  átmenetifémek ionjaival alakulnak ki<sup>[1, 2]</sup>.

Ezen fémionok közül a réz a növény- és állatvilágban egyaránt elterjedt, és redoxireakciói számos biológiai oxidációs folyamatban játszanak szerepet. Az élő szervezetben a réz éppen az erős komplexképző sajátossága miatt többnyire fehérjékhez kötött formában (rézproteinekben) fordul elő. A biológiai szempontból aktív rézproteineket három fő típusba lehet sorolni<sup>[3]</sup>:

– *1. típusú* vagy *“kék”-rézproteinek*<sup>[4]</sup> azok a proteinek, amelyek egyetlen rezet tartalmaznak egy erősen torzult, [2·N(imidazol), S(tiol), S(tioéter)]-donoratomok által meghatározott koordinációs környezetben. Ez a réz(II)ionra jellemző síknégyszeges torzult oktaédes (4N-donoratom) és a réz(I)ionra jellemző tetraédes (4S-donoratom) koordináció közötti átmenetet jelenti. Ezek a metalloenzimek főleg redoxireakciókat katalizálnak. Ilyen enzim pl. a növényekben

előforduló lakkáz és aszkorbinsav-oxidáz, valamint a emlősökben megtalálható ceruloplazmin.

- A 2. típusú rézproteinekben szabályos monomer réz(II)komplexekre jellemző torzult oktaédes koordináció valósul meg, erős ekvatoriális és igen gyenge axiális kölcsönhatásokkal. Ebbe a típusba tartoznak a fentebb már említett szuperoxid-diszmutázok.
- A 3. típusú rézproteinek két réz(I)iont tartalmaznak kb. 360 pm távolságra. Ezekben a metalloenzimekben a réz a fehérjéhez hisztidil-oldalláncokon keresztül kapcsolódik. Ezen enzimek az oxigénmolekula szállításában és aktiválásában vesznek részt, mint pl. a puhatestűekben előforduló hemocianin.

Újabban egy 4. típust is javasolnak, ami egy három réz(II)ionból álló egységet jelöl. Az imidazolnitrogén a 3. és 4. típus esetén is fontos kötési hely.

Szintén nem sorolható az első három csoportba a citokróm-c oxidáz, melyben a kétféle rezet  $Cu_A$ - és  $Cu_B$ -ként jelölik. Az első (valószínűleg egy dimer) a mitokondrium membránján kívül helyezkedik el, míg a másik egy vasatommal csatolva a membránon belül található.

A nikkell biológiai szerepe egészen 1975-ig ismeretlen volt, amikor is az ureáz enzim nikkeltartalmát egyértelműen azonosították. (Magát a “jack bean urease” enzimet korábban is ismerték már, sőt ez volt az első enzim, amit kb. 50 évvel ezelőtt kristályos formában előállítottak; azonban akkor még úgy gondolták, hogy nem tartalmaz fémet.) Az ureázok számos baktériumban és növényben megtalálhatók, és a karbamid hidrolízisét katalizálják. A különböző módszerekkel végzett vizsgálatok (spektrofotometria, röntgendiffrakció, EXAFS, ESR, mágneses cirkuláris dikroizmus mérések) azt mutatták, hogy az ureáz enzimek aktív centrumában két nikkell(II)ion található, melyek karboxilátcsoporton keresztül kapcsolódnak<sup>[5]</sup>. Az enzim aktív centrumában az egyik nikkell(II)iont ezenkívül két hisztidil-oldallánc koordinálja, míg a negyedik kötési helyen a karbamid szubsztrát koordinálódik. A másik nikkell(II)ion trigonális bipiramis szerkezetű, és szintén két hisztidinhez kötődik<sup>[6]</sup>.

Nikkelliont tartalmazó metalloenzimek emellett a baktériumokban előforduló [NiFe]- és [NiFeSe]-hidrogenázok, melyek az oxigén és a hidrogén vízzé való alakulását katalizálják. Ezen enzimekben a nikkell koordinációs száma 5 vagy 6, és kén-, nitrogén- és oxigén donoratomok által vegyesen koordinált. Az oxidációs állapot a redoxifolyamatok során +3, +2 és +1 között változik.

Ezekhez hasonlóan a szénmonoxid-dehidrogenáz enzim is tartalmaz vasat a nikkell mellett, és a szénmonoxid széndioxiddá való oxidációját katalizálja. Emellett kis spinszámú, síknégyszetes torzult nikkell(II)ion található a metil-koenzim M redukciójában, mely a széndioxid metánná való konverziójában vesz részt<sup>[7-9]</sup>.

Nikkell(II)- mellett réz(II)iont tartalmaznak az “ATCUN motif” (Amino Terminal Cu(II)-, Ni(II)-binding) modellek, melyben a ligandum bármilyen, szabad N-



terminális aminosoprotot és harmadik helyen hisztidint tartalmazó peptid lehet<sup>[10]</sup>. A korábbi vizsgálatok azt állapították meg, hogy a különféle állatokból és az emberből izolált szérum albumin ugyanezt a jellegzetes N-terminális X-Y-His- szekvenciát tartalmazza (ahol az X és Y aminosavban nincs koordinálódó oldallánc). Az albumin a vérplazmában legnagyobb mennyiségben előforduló fehérje. Az egyik legfontosabb feladata különböző kismolekulák és ionok szállítása, beleértve a szervezetben előforduló fémionokat is. A réz(II)- és nikkell(II)ion is főleg albuminhoz kötött formában szállítódik. Ezen peptidek alkalmasak emellett a DNS-lánc specifikus hasítására, azaz mesterséges restikációs endonukleázok. Ezeket az endonukleázokat alkalmazzák a DNS-lánc szekvenciájának feltérképezésére, illetve a hibás DNS-szekvencia kivágására.

A cink biológiai szempontból az egyik legfontosabb fémion, az élet szinte minden formájához nélkülözhetetlen. A cink(II)ion metalloenzimekben is sokkal elterjedtebb központi ion, mint a réz(II)- vagy nikkell(II)ion. Azok az enzimek, amelyek karbonsavészterek, amidok, peptidek vagy foszfátok hidrolízisében vesznek részt, majdnem mindig cink(II)iont tartalmaznak az aktív centrumban. Cink(II)iont tartalmazó enzim pl. a szénsavanhidráz (az első cinktartalmú enzim, amit 1940-ben fedeztek fel), a karboxipeptidáz (mely az emésztési folyamatban a fehérjék C-terminális peptidkötését hasítja), a termolizin, alkohol-dehidrogenáz, egyes szuperoxid-diszmutázok és az elasztáz. Ezen enzimekben is a peptidláncban található hisztidin aminosavak imidazolil-oldalláncai a szerkezeti (harmadlagos szerkezet kialakításában résztvevő) és katalitikus (aktív centrumban lévő) fémionok fő kötőhelyei.

A cink egy újabban felfedezett szerepe azokhoz a fehérjékhez kapcsolódik, amelyek a DNS bázisszekvenciájának a felismerésében játszanak szerepet, a DNS replikációja során a genetikai információ átadását szabályozzák. Ezek az úgynevezett "cink ujjak" (zinc fingers) 9–10 cink(II)iont tartalmaznak tetraédes koordinációban. Ezekben az enzimekben szintén fontos koordinációs hely az imidazolnitrogén; leggyakrabban [2·N(imidazol), 2·S]-koordináció valósul meg<sup>[11]</sup>.

## 1.1. Célkritizések

Az imidazolnitrogén előzőekben bemutatott, enzimekben betöltött alapvető szerepe miatt a különböző poliimidazol-vegyületek igen jó enzimmodellek lehetnek. Vizsgálataink célja az volt, hogy egy, a korábbi irodalmi adatok alapján a metalloenzimek aktív centrumának a modellezésére alkalmas kelátképző ligandum, a bisz(2-imidazolil)-metil-amin (BIMA) különböző aminosav- és peptid-származékainak réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)ionnal való komplexképzését tanulmányozzuk. Célul tűztük ki a komplexkémiai rendszerek oldategyensúlyi szempontból való jellemzését és a kialakuló komplexek szerkezetvizsgálatát.

Mivel a vizsgált, ligandumként a bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosav- és peptidszármazékait tartalmazó rendszerek igen összetett képet mutattak – jelentős részben az imidazolcsoportok két-két nitrogén donoratomjának tulajdoníthatóan – a vizsgálatokat kiegészítettük a bisz(2-imidazolil)-metil-származékoknál egyszerűbb modellrendszer, az aromás gyűrűként egy nitrogén donoratomot tartalmazó bisz(2-piridil)-metil-származékok komplexkémiai vizsgálatával.

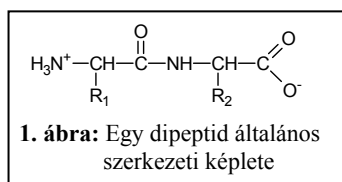
Ilyen szintetikus modellvegyületek tanulmányozása révén fontos előrelépést tehetünk a metalloenzimek hatásmechanizmusának megértése terén<sup>[12]</sup>. A különféle oligopeptid-származékokkal képzett fémkomplexek vizsgálata elősegíti a fémionok és proteinek közötti kölcsönhatás megértését. Ezek a kismolekulák alkalmasak lehetnek a metalloproteinek aktív centrumának a modellezésére, illetve – ezen molekulák fémionhoz való speciális, igen erős kötődését kihasználva – metalloenzimek szelektív gátlására is<sup>[13]</sup>.

## 2. Irodalmi előzmények

### 2.1. Peptidek sav-bázis és komplexkéimiai viselkedése

Az általunk tanulmányozott ligandumok az egyik szempontból aminosav-, illetve peptidszármazékoknak tekinthetők, ezért szükséges röviden áttekinteni az aminosavak, illetve peptidek koordinációs kémiáját. A koordinációs kémia utóbbi 50 évben tapasztalható fejlődésének az eredményeként ma már jelentős mennyiségű információ áll rendelkezésre a fémion–protein kölcsönhatások jellegéről, így néhány általános törvényszerűséget is sikerült megállapítani.

Jól ismert, hogy az aminosavak különböző átmenetifém-ionokkal stabilis bisz- vagy triszkomplexeket képeznek. Ezen komplexekben a fémion az  $\alpha$ -amino- és a karboxilátcsoporthoz koordinálódik, stabilis öttagú kelátot képezve. Ez az alapvető koordinációs mód módosulhat, ha az aminosav oldallánca is tartalmaz valamilyen koordinálódásra hajlamos – pl. hisztidin – donorcsoportot.



Di-, tri- és oligopeptidek esetén az amino- és a karboxilcsoport már túlságosan távol helyezkedik el egymástól, így nem tud öttagú kelátgyűrű képződni a két terminális helyzetű csoporton keresztül. Azonban az átmenetifém-ionok egy része (pl.: arany(III)-, palládium(II)-, réz(II)-, nikkell(II)- és néhány esetben a cink(II)ion) különféle peptidek esetében képes elősegíteni az amidnitrogén deprotonálódását. Így ezen fémionok számára már a dipeptidekben is minimum négy potenciális donoratomb található: karboniloxigén, karboxilát oxigén, aminonitrogén és amidnitrogén. Utóbbi három donoratomb stabilis, csatolt kelátszerkezetet alkot, és ezek együttes koordinálódásával kialakul a peptidszerű koordináció a fémion körül. Emellett peptidek esetében is lehetnek egyéb kötőhelyek az oldalláncban, és ez nagyon változatos összetételű fémion–peptid komplexek kialakulását teszi lehetővé.

#### 2.1.1. Nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó aminosavak és peptidek

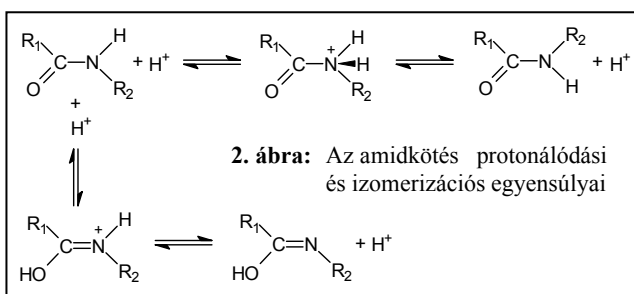
Minden dipeptid minimum három, egymástól elkülönülő funkcióscsoportot tartalmaz: terminális aminocsoportot ( $-\text{NH}_2$ ), terminális karboxilátcsoporthoz ( $-\text{COO}^-$ ) és amidcsoporthoz (azaz peptidcsoporthoz,  $-\text{CONH}-$ ). Kettőnél nagyobb tagszámú oligopeptidek esetében is ugyanezek a funkcióscsoportok jelennek meg azzal a különbséggel, hogy a terminális csoportok messzebb kerülnek egymástól és több (egy  $n$  aminosavegységet tartalmazó oligopeptidlánc esetében  $(n-1)$ ) amidcsoporthoz található a molekulában. Ezeknek az oligopeptideknek a sav-bázis sajátosságait tanulmányozva azt találták, hogy ha az oldalláncban nincs valamilyen funkcióscsoport, akkor az oligopeptidnek csak két savi disszociációs állandója van a mérhető pH-tartományban ( $0 < \text{pH} < 14$ )<sup>[14-17]</sup>.

**1. táblázat:** Glicin aminosav és glicint tartalmazó peptidok savi disszociációs állandói (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,1 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

Ligandum	pK <sub>2</sub> (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	pK <sub>1</sub> (-COOH)
Gly <sup>[16]</sup>	9,60	2,37
Gly-Gly <sup>[14, 17]</sup>	8,13	3,21
Gly-Gly-Gly <sup>[15, 17]</sup>	7,96	3,27
Gly-Gly-Gly-Gly <sup>[15, 17]</sup>	7,97	3,24

Az 1. táblázat adataiból látszik, hogy az amino- és a karboxilcsoport deprotonálódási lépése jól elkülönül az aminosavak és a peptidok esetében. A két csoport pK-ja közötti különbség az aminosavaknál a legnagyobb, ugyanis a peptidkötés csökkenti mind az aminocsoport bázicitását, mind a karboxilcsoport savasságát. A tri- és tetraglicin pK-értékei közti hasonlóság alapján újabb glicinegységek peptidszerű kapcsolódása már nem lenne jelentős hatással a peptid két pK-értékére.

Az amidcsoport két lehetséges fém- vagy protonmegkötő donoratomot, karboniloxigént és amidnitrogént tartalmaz. Azonban az aminocsoportban még nemkötő elektrópárt tartalmazó nitrogén elveszíti a bázicitását, amikor amidcsoportot alakít ki, mivel az amidcsoportban a karbonilcsoport C=O π-kötése a CON atomokon delokalizálódik, aminek következtében a C–N kötés részben kettőskötés jellegűvé válik. Emiatt a peptidkötés széles pH-tartományban semleges, és csak nagyon bázikus vagy savas oldatokban képes igen gyenge savként vagy bázisként viselkedni. Ez a tartomány potenciometriásan már nem mérhető. Szintén a delokalizáció miatt a kialakult peptidkötés planáris szerkezetű.



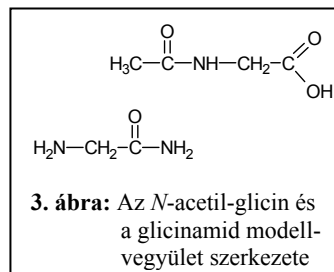
Erős sav hatására azonban a peptidkötés képes protonálódni. Először M. Liler vizsgálta NMR módszerrel a proton helyzetét, és azt találta, hogy az legnagyobb százalékban a nitrogéne helyezkedik el<sup>[18]</sup>. Ezzel szemben R. B.

Martin a protoncseresebességeket vizsgálva azt állapította meg, hogy az amidok híg savas oldatban elsősorban az oxigénjükön protonálódnak. *N*-metil-acetamid esetében az O- és N-protonált részecskék molaránya nagyobb, mint 10<sup>6</sup>. Ezen protonálódási lépéseken keresztül a molekula savkatalizált cisz-transz izomerizációja is lejátszódik (2. ábra)<sup>[19, 20]</sup>. Ezek a folyamatok azonban csak igen savas közegben mennek végbe, így az amidcsoport semlegesnek tekinthető.

Az amidcsoport neutralitása miatt a peptidokban a terminális amino- és karboxilátcsoport a legfontosabb fémmegekötőhely. Annak a valószínűségét azonban, hogy a két terminális csoport ugyanahhoz a fémionhoz koordinálódhasson, a két csoport egymástól való nagy távolsága gyakorlatilag elhanyagolhatóvá teszi. Az

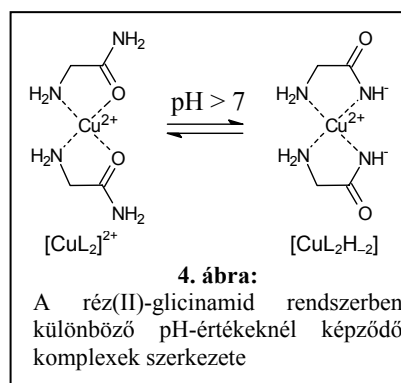
amino- és a karboxilátcsoport így egymástól független kötőhelyei a fémionoknak, és a kölcsönhatások erőssége nagyban függ a fémion kémiai jellegétől.

Az *N*-acetyl-glicin és a glicinamid a két legegyszerűbb vegyület a peptidek C-, illetve N-terminális végének a modellezéséhez. Ezen kismolekulák komplexkémiai sajátságait vizsgálva azt tapasztalták, hogy az *N*-acetyl-glicin egyszerű karboxilátként koordinálódik a fémionokhoz<sup>[21, 22]</sup>. Ez a viszonylag gyenge kötés nem képes megakadályozni semleges pH-jú vizes oldatban a fémhidroxid csapadék leválását. Az amidcsoport kelátképző helyzetben van ugyan a karboxilátcsoportéhoz képest, de ennek a koordinációja csak az amidnitrogén deprotonálódása után mehetne végbe. Az amidcsoport azonban kis bázicitású, deprotonálódását csak az *N*-acetyl-hisztidin vegyesligandumú komplexekben sikerült korábban kimutatni, ahol a gyenge karboxilát horgonycsoport mellett egy erősebb hisztidincsoport is található<sup>[23]</sup>.



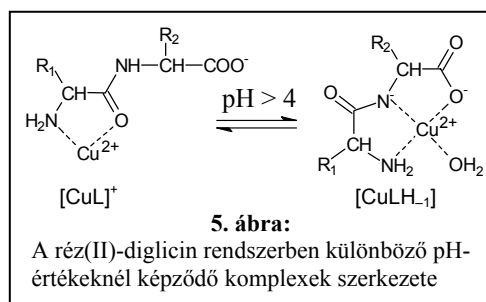
A monodentát koordinálódási lehetőség következtében a peptidek terminális karboxilátcsoportja gyenge fémmegkötőhely, így szerepe csak a komplexképződés irányításában lehet. Ugyanezeket mutatja a glicinamid komplexkémiai viselkedése is<sup>[23]</sup>: a koordináció savas pH-n a terminális aminos csoporton kezdődik. Azonban a glicinamid öttagú kelátot képezhet nemcsak az amidnitrogén, hanem a karboniloxigén koordinálódásával is (míg az *N*-acetyl-glicin esetében a karboniloxigén keresztül csak gyengébb, hattagú kelát alakulhatott volna ki). Azt, hogy ezek közül a koordinációs módok közül melyik valósul meg, az

határozza meg hogy az amidnitrogén az adott körülmények között deprotonálódhat-e, és így lehetővé válik-e a peptidszerű (amino- és amidnitrogén keresztül) koordináció. A karboniloxigén keresztül kialakuló kötés ( $[\text{CuL}_2]^{2+}$  komplex, 4. ábra) az aminosavak koordinálódására hasonlít. Az aminosavkomplexek azonban töltés nélküliek, és így stabilitási állandójuk valamivel nagyobb, mint az amino-karbonil



koordinációjú glicinamid- vagy peptidkomplexeké, és jóval nagyobb, mint az *N*-acetyl-glicinnel vagy N-terminálisan védett peptidekkel kialakuló karboxilátkomplexeké. A karboxilátkomplexekhez viszonyított stabilitásnövekedés glicinamid esetén lehetővé teszi a fémion oldatban maradását gyengén bázikus közegben is, ahol már az amidnitrogén deprotonálódhat és koordinálódhat a fémionhoz. Ebben az esetben a két terminális aminos csoport és a két deprotonált amidnitrogén képes telíteni a réz(II) koordinációs szféráját ( $[\text{CuL}_2\text{H}_2]$  komplex; 4. ábra, 7. oldal).

Dipeptidek esetében ugyanígy kialakulhat a peptidszerű koordináció. A réz(II)–diglicin rendszerben képződő  $[\text{CuLH}_{-1}]$  összetételű komplex (5. ábra) két öttagú kelátgyűrűt is tartalmaz, ami a komplex megnövekedett stabilitásához és az amidsoport  $pK$ -jának a csökkenéséhez ( $pK = 4,23$ ) vezet<sup>[24]</sup>.



Összegzésképpen megállapíthatjuk, hogy az oligopeptidek terminális aminosocportja az átmenetifém-ionok elsődleges koordinálódási helye. Savas pH-tartományban ( $\text{pH} < 4$ ) az aminonitrogénen és a szomszédos peptidsoport karboniloxigénjén keresztül közepes stabilitású, öttagú kelátszerkezet képződhet. Ezt a szerkezetet az aminosavkomplexekénél kisebb stabilitási állandóval ugyan, de minden vizsgált fémion esetében sikerült kimutatni. Lúgos közegben azonban csak az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása képes megakadályozni a fémion hidrolízisét. Ezt a deprotonálódási folyamatot csak néhány fémion képes indukálni. A legfontosabb ilyen fémion a palládium(II)-, platina(II)-, réz(II)-, nikkel(II)- és arany(III)ion. Ezek a fémionok az amidnitrogén deprotonálódását a fiziológias pH-tartományba vagy akár az alá is képesek leszorítani.

### Réz(II)komplexek:

A réz(II)ion oligopeptidekkel elsősorban 1:1 összetételű, tetragonális térszerkezetű komplexeket alkot. A réz(II)–diglicin rendszerben<sup>[14, 24–28]</sup> savas tartományban csak egyféle,  $[\text{CuL}]^+$  összetételű komplex alakul ki az aminonitrogénen és a karboniloxigénen keresztüli koordinálódással (lásd: 5. ábra). Azonban 4-es pH felett az amidnitrogén deprotonálódik és kialakul a peptidszerű koordináció. Az így képződött  $[\text{CuLH}_{-1}]$  összetételű komplexnek van egy szabad koordinációs helye, ahová a pH-tól és a fémion/ligandum aránytól függően<sup>[24, 27, 29]</sup> deprotonált ligandum, vízmolekula vagy  $\text{OH}^-$ -ion kötődhet. Biszkomplexek esetében a második ligandum axiális-ekvatoriális helyzetben kötődik az N-terminális amino- és karbonilsoportján keresztül. Ekkor nem történik meg a második ligandum amidnitrogénjének a deprotonálódása, és ez gyengébb kötődést eredményez. Az így kialakuló koordinációs mód nem képes megakadályozni  $\text{pH} = 9$  körül különböző vegyes hidroxokomplexek kialakulását. Erre utal az abszorpciós spektrumban megfigyelhető gyenge vörös eltolódás és a redoxipotenciál csökkenése is<sup>[30]</sup>.

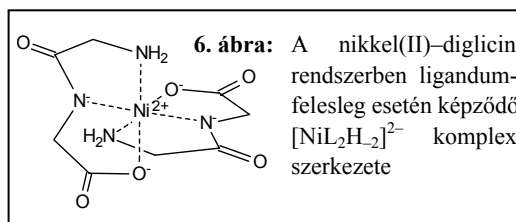
A réz(II)–di-, tri- és tetraglicin rendszerekben nagy (akár ezerszeres) ligandum-felesleg esetén végzett – főleg ESR spektroszkópiás – mérések még többféle biszkomplex jelenlétét mutatták ki: savas pH-n  $[2 \cdot \text{COO}^-]$ -koordináció, míg semleges és gyengén lúgos körülmények között diglicinnel  $[(\text{NH}_2, \text{CO})(\text{COO}^-)]$ - és  $[(\text{NH}_2, \text{N}^-, \text{COO}^-)(\text{COO}^-)]$ -koordináció, tri- és tetrapeptidek esetében pedig

[2·(NH<sub>2</sub>, N<sup>-</sup>)]- és [(NH<sub>2</sub>, N<sup>-</sup>, CO)(NH<sub>2</sub>, CO)]-koordináció valósul meg, ez utóbbi a négy nitrogén donoratom ekvatoriális síkban való koordinálódásával<sup>[31]</sup>.

Tri- és tetraglicin esetén<sup>[15, 17, 25, 32]</sup> szintén végbemegy réz(II)ionnal az amidnitrogének deprotonálódása, és így a terminális aminocsoport mellett az amidnitrogének telítik a réz(II)ion koordinációs szféráját. Az egymást követő amidnitrogén deprotonálódási lépések p*K*-értéke növekszik, de sokkal kisebb, mint a szabad ligandumé (ami potenciometriás módszerrel nem is mérhető, általában 14–15-ös pH körül van). Az amidnitrogén deprotonálódását nemcsak a potenciometriás adatok, hanem a kalorimetriás, spektrofotometriás, ESR spektroszkópiás és röntgen-diffrakciós mérések eredményei is egyértelműen alátámasztják<sup>[26, 32–36]</sup>. Valamennyi, az előbbieken leírt szerkezet kialakulásánál azonban jelentős szerepe van a szabad terminális aminocsoportnak, mely horgonycsoportként elősegíti a kötések kialakulását már savas pH-tartományban is. Ezzel szemben N-terminálisan védett aminosavak és peptidek (pl. *N*-acetyl-aminosavak és -peptidek) esetén a ligandum csak a karboxilát-csoportján keresztül, egyfogú ligandumként tud koordinálódni<sup>[22]</sup>. Ha ezek a molekulák tartalmaznak erősen koordinálódó tiol-, foszfo- és imidazolcsoportot, ezen csoportok az aminocsoporthoz hasonló horgonydonor szerepet játszhatnak, azaz szintén elősegítik pl. az amidnitrogén(ek) deprotonálódását és koordinálódását<sup>[37–39]</sup>.

### Nikkel(II)komplexek:

Gyengén lúgos közegben a nikkel(II)ion is képes indukálni az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását<sup>[40–43]</sup>. A keletkező komplexek sztöchiometriája és szerkezete azonban



eltér a réz(II)komplexekétől. A nikkel(II)–diglicin rendszerben mind a potenciometriás, mind a spektrofotometriás adatok alapján biszkomplexek képződnek, és pH = 10 körül már mindkét kapcsolódó ligandum amidnitrogénje deprotonálódott és koordinálódott. Az itt jelen lévő [NiL<sub>2</sub>H<sub>1</sub>]<sup>-</sup> és [NiL<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>2-</sup> összetételű komplexek (6. ábra) oktaédres szerkezetűek és paramágneses tulajdonságúak. A röntgen-diffrakciós vizsgálatok is kimutatták a hatos koordinációjú nikkel(II)komplex jelenlétét az oldatfázisban<sup>[44]</sup>. Ezzel szemben a nikkel(II)–triglicin és a nikkel(II)–tetraglicin rendszerben síknégyszetes, diamágneses, intenzív sárga színű komplex kialakulása jellemző. A potenciometriás adatok alapján pH = 8–9 körül a ligandum már triglicin esetében két, tetraglicinnél három extra protont (amid-protont) veszített. Az amidnitrogének deprotonálódásának p*K*-értékei nem állapíthatók meg pontosan, a deprotonálódási lépések kooperatív módon mennek végbe (azaz a [NiLH<sub>1</sub>]<sup>-</sup> összetételű komplex koncentrációja minden fémion/ligandum aránynál és minden pH-nál elhanyagolható) a geometriaváltás miatt<sup>[45]</sup>. A [NiLH<sub>2</sub>]<sup>-</sup> (L = triglicinnél), illetve [NiLH<sub>3</sub>]<sup>2-</sup> (L = tetraglicinnél) komplexek síknégyszetes geometriájúak, tehát

hasonlóak a réz(II)–tri- és tetraglicin komplexekhez, de itt nincs axiális helyzetben fémion–ligandum kölcsönhatás. A feltételezett koordinációt igazolja a röntgendiffrakciós kristályszerkezet<sup>[46]</sup>, az abszorpciós spektrum és az NMR vizsgálatok eredménye is<sup>[32, 41, 43]</sup>. Az oligopeptidek nikkell(II)komplexeinek másik fontos jellemzője a különböző deprotonált formák egymásba való lassú átalakulása. A kinetikai inertség, és ezzel együtt a potenciometriás mérés nehézsége növekszik a deprotonált peptidcsoportok számának a növekedésével.

### **Cink(II)komplexek:**

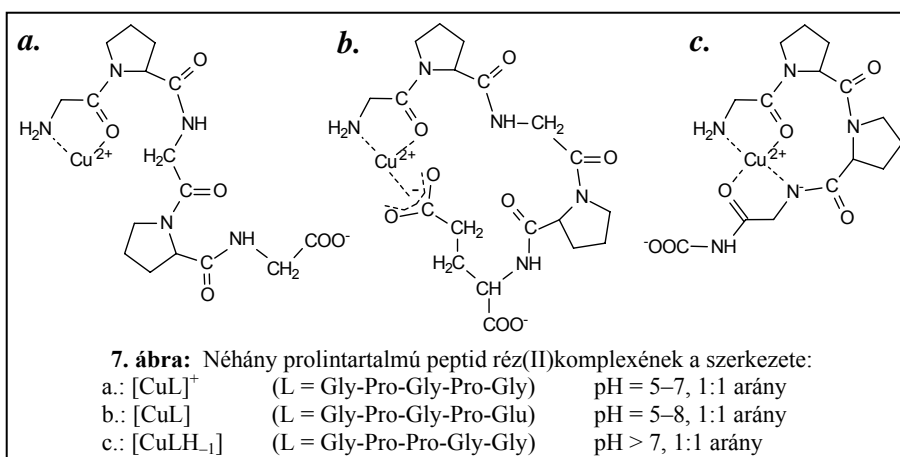
Savas és gyengén bázikus oldatban még a cink(II)–peptid rendszerek is vizsgálhatók csapadék leválása nélkül<sup>[47]</sup>. pH > 5 esetén kelátgyűrű képződik a terminális aminocsoporton és a szomszédos karbonilcsoporton keresztül. Bár a peptidmolekulák koordinálni tudják a cink(II)iont, egyszerű (oldalláncban donorcsoportot nem tartalmazó) dipeptidek esetén a cink nem képes elősegíteni az amidnitrogének deprotonálódását.

#### **2.1.1.1. Oldalláncban lévő, nemkoordinálódó csoportok hatása a koordinációra**

Az aromás fenilalanin-, tirozin- vagy triptofán-oldallánc kialakuló komplexek stabilitását többféleképpen befolyásolhatja: közvetlen elektrosztatikus kölcsönhatáson keresztül, aromás gyűrűk között fellépő stacking kölcsönhatással, valamint hidrofób kölcsönhatáson keresztül. Ezeket a kölcsönhatásokat vizsgálták már mind aminosavak, mind peptidok esetében<sup>[48–52]</sup>. Általánosságban megállapították, hogy ezen oldalláncoknak csak igen gyenge hatása van a komplexképződésre, és minél hosszabb a peptidlánc, annál kisebb ezen kölcsönhatásoknak a stabilitási állandóra gyakorolt szerepe.

A prolin az egyetlen olyan, természetes peptidokban és fehérjékben megtalálható aminosav, amely szekunder aminocsoportot tartalmaz; azaz ha a prolin a peptid N-terminális végén helyezkedik el, akkor a primer aminocsoporthoz hasonlóan horgonycsoportként viselkedik. Azonban láncközi helyzetben – amikor a prolin szekunder aminocsoportjával és egy tetszőleges, szomszédos aminosav karboxilcsoportjával alakul ki a peptidkötés – a kötés nem tartalmaz amino-NH-csoportot, így nem is mehet végbe annak deprotonálódása és koordinálódása. Azaz a peptidláncban lévő prolin megállítja a peptidokban bizonyos fémion hatására bekövetkező lépcsőzetes amid-deprotonálódást és -koordinálódást (7/a. ábra)<sup>[53]</sup>.





A prolin másik, koordinációs tulajdonságokra gyakorolt hatása, hogy úgynevezett "break-point", azaz a peptidláncban a prolinnál egy törés van, igen merev szerkezettel. A prolintartalmú peptid komplexekben gyakran alakulnak ki makrokelát szerkezetek, melyekben a peptidnek az aminóvége és egy távolabbi csoport koordinálódik. Ez a távoli donorcsoport lehet a peptidnek egy oldallánca (7/b. ábra) – akár olyan oldallánc is, ami a prolint nem tartalmazó peptidnek esetében nem vesz részt a koordinációban, mint pl. a tirozin fenolátcsoportja, – vagy a főláncban található amidcsoport (7/c. ábra). Ezen szerkezetek kialakulásához szükséges, hogy a távolabbi koordinálódó csoport elég messze – legalább 14 kötési, azaz négy aminosavnyi távolságra – legyen a peptid aminóvégén kialakuló amino-karbonil koordinációtól. Ha ez a feltétel nem teljesül, akkor dimer szerkezet képződik ugyanezekkel a koordinációs módokkal. Azon peptidnek a komplexei, melyek nem a második, hanem a harmadik helyen tartalmazzák a prolint, sokkal stabilisabbak, ezen rendszerekben ugyanis az aminóvégén az amino-karbonil koordinációnál erősebb amino-amid koordináció alakulhat ki. Ebben az esetben is kialakulhat makrokelát, ha megfelelő pozícióban található a peptidben egy másik koordinálódó donorcsoport is. Különösen nagy stabilitásúak az X-Pro-Pro-Y-Z szerkezetű pentapeptid (X, Y és Z tetszőleges, prolintól különböző, erősen koordinálódó oldalláncot nem tartalmazó aminosavak) makrokelát-komplexei, ahol a két egymást követő prolin-egység merev szerkezete a koordinálódó donorcsoportot a fémionhoz igen közel hozza, ezáltal növelve az stabilitási állandó entrópia-tényezőjét (7/c. ábra).

Egyedül a Gly-Pro-Gly-Pro-Gly pentapeptid esetében nem találtak makrokelát-képződést. Ezzel a ligandummal csak amino-karbonil koordinációjú mono- és bisz-komplexeket sikerült kimutatni. Azonban ha a peptidláncban ötödik pozícióban koordinálódó oldalláncú aminosav található (Gly-Pro-Gly-Pro-X), akkor a második és negyedik helyen lévő prolin elősegíti annak koordinálódását (7/b. ábra), még akkor is, ha az különben koordinálódásra nem igazán hajlamos (pl. az arginin guanidinium-csoportja).

## 2.1.2. Hisztidin aminosav és hisztidintartalmú peptidok komplexkémiája

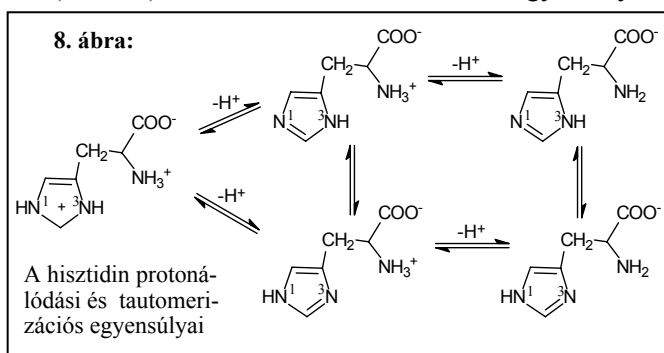
A hisztidint tartalmazó peptidre kapott  $pK$ -értékekből (2. táblázat) láthatjuk, hogy a különböző csoportok  $pK$ -ját bizonyos mértékben befolyásolja a hisztidinnek a peptidláncon belül elfoglalt helye.

**2. táblázat:** Hisztidin aminosav és hisztidint tartalmazó peptidok savi disszociációs állandói (mérés körülmények:  $T = 298 \text{ K}$ ;  $I = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ )

Ligandum	$pK_3(-\text{NH}_3^+)$	$pK_2(\text{imidazol-NH})$	$pK_1(-\text{COOH})$
His <sup>[54]</sup>	9,09	6,02	1,7
Gly-His <sup>[37]</sup>	8,22	6,77	2,51
His-Gly <sup>[37]</sup>	7,59	5,94	2,96
His-Gly-Gly <sup>[55]*</sup>	7,62	5,52	3,17
Gly-His-Gly <sup>[56]</sup>	7,98	6,35	2,72
Gly-Gly-His <sup>[56]</sup>	7,96	6,64	2,92

mérés körülmények:  $T = 294 \text{ K}$ ,  $I = 0$

Itt is – hasonlóan mint az egyszerű peptideknél – megfigyelhető az amid-csoportnak azon hatása, mely szerint csökkenti mind az aminos csoport bázicitását, mind a karboxilcsoport savasságát. Az aminos csoport bázicitása az N-terminális végükön hisztidint tartalmazó peptidre esetében a legkisebb, míg a C-terminális hisztidinszármazékoknál ehhez képest valamivel nagyobb, de még mindig a hisztidin amino- $pK$ -ja alatti érték. A peptidkötés az imidazolcsoport  $pK$ -jára is hatással van: az imidazol-NH-ra jellemző  $pK$ -érték nő, ha a hisztidin aminosav aminos csoportjához egy másik aminosav a C-terminális végével kapcsolódik, és ugyan kisebb mértékben, de csökken, ha ez a kapcsolódás a hisztidin karboxilcsoportjával történik. A hisztidin oldalláncnak a másik, már a protonálódási folyamatokban is megmutatkozó sajátossága a tautomer szerkezetek egymás melletti jelenléte, azaz hogy mind az N(1)- ("pirrol-típusú"), mind az N(3)-as ("piridin-típusú") nitrogénjén bekövetkezhet a protonálódás vagy a fémion koordinálódása (8. ábra)<sup>1</sup>. Ezeket a tautomerizációs egyensúlyokat <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-, <sup>14</sup>N- és <sup>15</sup>N-NMR spektroszkópia segítségével lehet nyomon követni. Valamennyi vizsgálat azt mutatta, hogy semleges pH-n az N(1)H izomer a stabilisabb, sőt szilárd fázisban már csak ez fordul elő<sup>[57]</sup>.

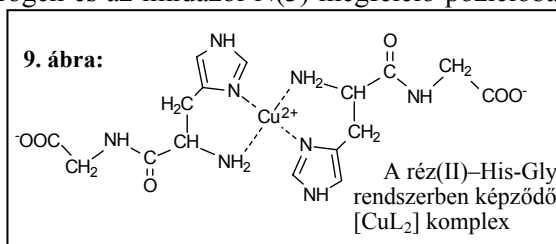


<sup>1</sup> Egyes irodalmakban az N(1) és N(3) jelölés helyett  $N^{\tau}$  és  $N^{\pi}$ , illetve  $\epsilon N$  és  $\delta N$  szerepel.

A hisztidil-oldalláncnak nemcsak a sav-bázis tulajdonságokban, hanem a komplexképző sajátságokban is jelentős szerepe van. Az imidazolnitrogén képes versengeni az aminosav egyéb kötőhelyeivel, és jelentősen növeli a komplex stabilitását. A hatás itt is nagyban függ az imidazolrésznek a peptidláncon belül elfoglalt helyétől<sup>[22]</sup>. Általánosan megállapítható, hogy egy imidazolil-oldalláncot C-terminális részen tartalmazó dipeptid amidnitrogénjének a deprotonálódását elősegíti az oldallánc fémionnal való kölcsönhatása. Oligopeptidekben ugyanígy a nem N-terminális helyen lévő oldallánc elősegíti az előtte lévő amidnitrogén deprotonálódását. Ezzel szemben az N-terminális részen levő oldallánc erős koordinálódása a fémionhoz gátolhatja, vagy akár meg is akadályozhatja a deprotonálódást<sup>[37, 58]</sup>.

### Réz(II)komplexek:

Az irodalomban megjelent adatok alapján az N- és C-terminális hisztidintartalmú dipeptidek koordinációs kémiája eltérő. A réz(II)–His–Gly rendszerben képződő komplexek összetétele és szerkezete a fémion/ligandum aránytól függ. Az N-terminális hisztidinszármazéknál az aminonitrogén és az imidazol-N(3) megfelelő pozícióban van ahhoz, hogy hattagú kelátgyűrűt alakítson ki. Ligandumfelesleg esetén az amidnitrogén deprotonálódása nem tud lejátszódni, és hisztaminszerű koordinációval stabilis  $[\text{CuL}_2]$  biszkomplex alakul ki (9. ábra)<sup>[37]</sup>.



1:1 fémion/ligandum arány esetén a réz(II)ion koordinációs szférája telítetlen, ami lehetővé teszi az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását. pH = 6 körül a diglicinnél is megfigyelhető koordinációs mód alakul ki: a ligandum az aminonitrogéne, amidnitrogéne és karboniloxigéne keresztül kötődik a központi fémionhoz. A réz(II)ion negyedik koordinációs helyét egy másik  $[\text{CuLH}_1]$  egység imidazolil-oldallánca foglalja el, és így dimer szerkezet képződik. A deprotonált komplex képződése hidroxohidas szerkezettel is értelmezhető lenne<sup>[59]</sup>, de további potenciometriás és spektrofotometriás vizsgálatok<sup>[60–63]</sup> az amidnitrogén deprotonálódását támasztották alá. Ha a hisztidin aminosav C-terminális végéhez egy hosszú, nemkoordinálódó oldallánc kapcsolódik, amely sztérikusan nehezíti a dimerizációt, monomer/dimer egyensúly alakul ki az oldatban<sup>[64]</sup>.

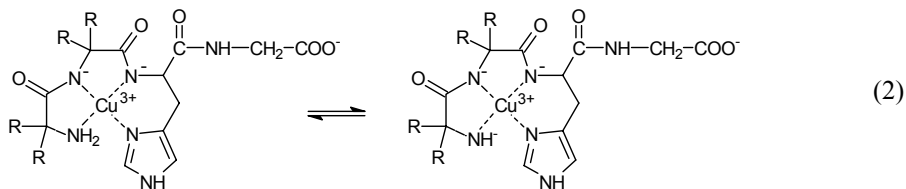
A réz(II)–Gly–His rendszer esetében sztérikus okok kizárják a hisztaminszerű koordinációt, így megvan a lehetőség egy háromnitrogénes,  $[\text{CuLH}_1]$  összetételű komplex kialakulására a terminális aminonitrogén, deprotonált amidnitrogén és az imidazol-N(3) donoratombokon keresztül. Ezt a fajta kötést először Martin és Edsall írta le<sup>[65]</sup> és bizonyította potenciometriás és spektrofotometriás mérésekkel. Ugyanezt a fajta szerkezetet igazolták mások potenciometriás, spektrofotometriás és röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatai is<sup>[37, 59, 61, 66–68]</sup>. (Megjegyezendő, hogy egy

másik koordinációs módot is kimutattak ugyanebben a rendszerben, amelynél a ligandum az amino- és amidnitrogénjén, valamint a hisztidinrész karboxilátogénjén keresztül koordinálódik<sup>[69]</sup>.) A  $[\text{CuLH}_1]$  összetételű komplexben a fémionnak van még egy szabad koordinációs helye, amely képes egy másik Gly-His ligandumhoz koordinálódni. A második ligandum monodentát ligandumként kötődik a terminális aminonitrogénnel vagy az imidazol-N(3)-nitrogénnel keresztül. Ugyanezt a koordinációs módot találták más, C-terminális helyzetben hisztidin aminosavat tartalmazó dipeptidek esetében is<sup>[37, 66]</sup>.

A C-terminálisan hisztidint tartalmazó tripeptideket, illetve harmadik helyen hisztidint tartalmazó peptideket is igen széles körben vizsgálták, mivel ezen vegyületek jó modelljei az emberi szérum albuminnak (lásd: "ATCUN motív" modellek, 3. oldal)<sup>[56, 70–73]</sup>. A réz(II)–Gly-Gly-His rendszer viselkedése a két amidnitrogén lépcsőzetes deprotonálódásával írható le. Lúgos pH-tartományban nagy stabilitású  $[\text{CuLH}_2]^-$  összetételű komplex képződik a terminális aminocsoport, két deprotonált amidnitrogén és a hisztidin-öldallác koordinálódásával. Ugyanígy összetételű komplex alakul ki a réz(II)–Gly-Gly-His-*N*-metilamid<sup>[71]</sup>, valamint a réz(II)–Gly-Gly-hisztamin<sup>[72]</sup> rendszerben is.

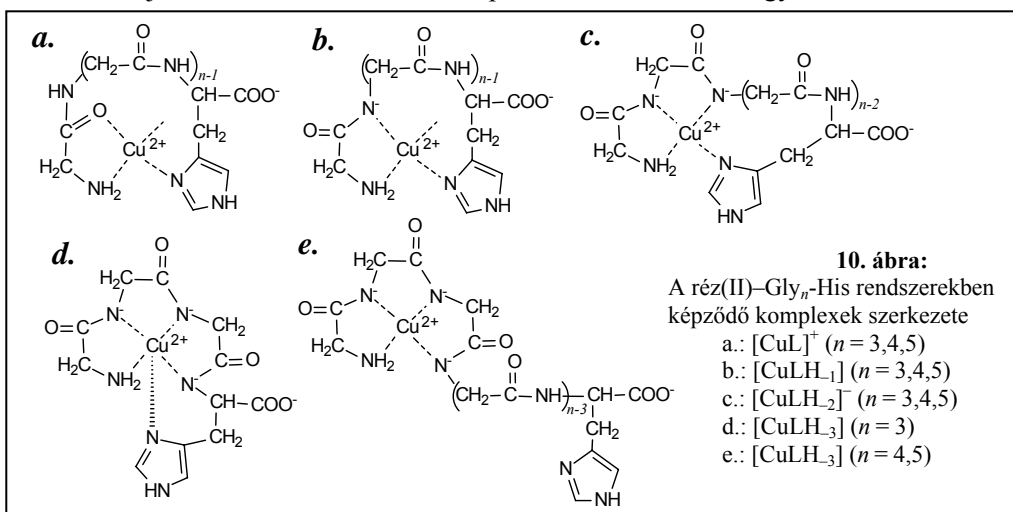
A C-terminális végükön nem védett ligandumok fémkomplexei esetében  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektroszkópiával, valamint UV-látható spektrofotometriával emellett az [N(amino), N(amid), N(amid)]-koordináció mellett kimutatható volt a karboxilát-csoport fémionhoz való gyenge kötődése is. Ezzel összhangban van az is, hogy a röntgendiffrakciós szerkezet szerint a szérum albumin N-terminális vége flexibilis, így könnyebb a donortomok elhelyezkedése a fémcentrum körül<sup>[74]</sup>.

A harmadik helyen hisztidint tartalmazó peptideknek nemcsak réz(II)ionnal, hanem réz(III)ionnal is vizsgálták a komplexképzését<sup>[75, 76]</sup>. Réz(III)ionnal a réz(II)ionnal azonos szerkezetű komplex alakul ki a rendszerben. A  $\text{Cu}^{\text{III}}(\text{LH}_2)$  komplex bomlása két úton játszódik le: egyrészt redoxireakcióban a réz(III)ion réz(II)ionná redukálódik ((1) egyenlet), másrészt a réz(III)ion nagyobb, 9-es pH-n képes deprotonálni a koordinált  $-\text{NH}_2$  (amin-) csoportot is (lásd: (2) egyenlet).



A redoxipotenciál értéke ( $\epsilon^0$ ) jóval kisebb a hisztidint nem tartalmazó peptidkomplexekben (pl. a  $[\text{Cu}^{\text{III,II}}(\text{Gly}_4)\text{H}_3]$  komplexben, ahol az aminocsoport és három deprotonált amidnitrogén koordinálódik,  $\epsilon^0 = 0,630 \text{ V}$ ), mint a hisztidint

tartalmazó  $[\text{Cu}^{\text{III,II}}(\text{Gly-Gly-His-Gly})\text{H}_2]$  komplexnél ( $\varepsilon^0 = 0,978 \text{ V}$ ); azaz a hisztidin koordinációjának a következtében a komplex redoxi-bomlása is gyorsabb<sup>[77]</sup>.



Ha a hisztidin aminosav a peptidláncban az N-terminális résztől még távolabb helyezkedik el, akkor a komplexképzés ettől összetettebb képet mutat. Ezen rendszerekben is az amidnitrogének lépcsőzetes deprotonálódását mutatták ki az aminovég felől, azonban ha van a réz(II)ionnak szabad koordinációs helye, valamint a hisztidincsoport megfelelő helyzetben van, akkor ezen csoport koordinálódása is bekövetkezik axiális vagy ekvatoriális pozícióban, makrokelát kialakításán keresztül (10/a., b. és c. ábra)<sup>[78]</sup>. Ezen szerkezetek kialakulásához valamennyi esetben szükséges a szabad terminális aminos csoport mint horgonycsoport jelenléte. Azonban hasonló horgonycsoportként működhet a C-terminális hisztidin<sup>[79, 80]</sup>, sőt a közbenső helyzetben elhelyezkedő hisztidin is<sup>[81]</sup>. A *Z*-His, *Z*-His-Gly, *Z*-Gly-His és *Z*-Gly-Gly-His ligandumok (melyeknél a *Z* védőcsoport *N*-acetilcsoport) réz(II)komplexeiben a hisztidin-N(3)-nitrogénen és a vele kelátképző helyzetben lévő amidnitrogénen keresztüli koordináció valósul meg.

Tanulmányoztak olyan rendszereket is, melyekben az aminos csoport védett, ugyanakkor több hisztidil-oldallánc is található a peptidben. A réz(II)–Ac-His-Gly-His-Gly rendszer pH-metriás és spektroszkópiás (IR, Raman, ESR, abszorpciós és CD spektroszkópiás) vizsgálata azt mutatta, hogy itt mindkét imidazolil-oldallánc képes horgonycsoportként viselkedni. Míg kisebb pH-n egynitrogén koordináció valósul meg az imidazolnitrogén és a karboxilát oxigén koordinálódásával, addig nagyobb pH-értékeknél két-, három- és négynitrogén koordináció alakul ki, azaz 1–2 imidazolcsoport és 1–3 deprotonált amidnitrogén, és – ha van még a fémionnak szabad ekvatoriális koordinációs helye – a karboxilát csoport koordinálódik. Sem kétmagvú, sem biszkomplexek nem képződnek a rendszerben<sup>[82]</sup>.

Szintén nem tartalmaznak szabad terminális aminos csoportot (illetve terminális karboxilcsoportot sem) az úgynevezett ciklopeptidek. Ezen ligandumoknak igen

merev szerkezete van, ami miatt a peptidgyűrű hosszának a változtatásával jelentős stabilitásváltozást érhetünk el. Réz(II)ionra a ciklo-(Gly-His)<sub>4</sub> és a ciklo-(Gly-His-Gly)<sub>2</sub> peptid bizonyult szelektívnek. Ezek réz(II)komplexeinek vizsgálata<sup>[83]</sup> azt mutatta, hogy a fő komplexben a két hisztidint tartalmazó hexapeptid (ciklo-(Gly-His-Gly)<sub>2</sub>) a hisztidil-oldalláncokon és a velük kélátképző helyzetben lévő amid-nitrogéneken keresztül, míg a négy-hisztidines oktapeptid (ciklo-(Gly-His)<sub>4</sub>) a négy imidazolnitrogénjén koordinálódik.

### **Nikkel(II)- és cink(II)komplexek:**

A hisztidin aminosavat tartalmazó peptidek a rézen kívül más átmenetifémionokkal is könnyen komplexet képeznek. Ezen komplexek szerkezetét is jelentősen befolyásolja az imidazolil-oldallánc peptiden belül elfoglalt helye.

A His-Gly ligandum amidnitrogénjének a deprotonálódása csak bizonyos fémion/ligandum arányoknál mehet végbe. Ez azzal magyarázható, hogy elegendő ligandum esetén hisztaminszerű koordinációval [ML<sub>2</sub>] összetételű biszkomplex képződik. Ez a komplex elég stabilis ahhoz, hogy megakadályozza a peptidcsoportnak a fémion koordinációs szférájába kerülését és deprotonálódását.

Ezzel szemben a Gly-His ligandumot tartalmazó rendszerekben [MLH<sub>1</sub>]<sup>2-</sup> összetételű komplex képződik – hasonlóan, mint réz(II)ionnal – ahol a terminális aminonitrogén, deprotonált amidnitrogén és imidazol-N(3) donoratomokon keresztül megy végbe a koordináció<sup>[37, 58, 84]</sup>. Ezen komplex kialakulása még nem telíti a nikkelvagy cink(II)ion koordinációs szféráját, így a fémion/ligandum aránytól és a pH-tól függően egy második ligandum vagy hidroxidion léphet be a szabad helyekre.

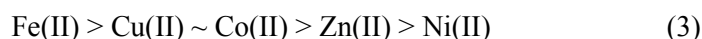
#### **2.1.2.1. A pirrol-típusú nitrogén deprotonálódását befolyásoló tényezők**

A hisztidintartalmú peptidek fontos sajátossága, hogy az imidazolgyűrű pirrol-típusú nitrogénje deprotonálódhat és koordinálódhat. Ennek a folyamatnak a lejárását számos tényező befolyásolja. A szabad ligandumban a pirrol-N(1)H-csoport nagyon gyenge sav ( $pK > 14$ ), így általában nem vesz részt a koordinációban<sup>[85]</sup>. Az imidazol-N(3) és a fémion közti kölcsönhatás azonban elősegítheti a pirrol-N(1)H deprotonálódását<sup>[86]</sup>. Korábban már történtek ilyen jellegű vizsgálatok réz(II)-, nikkelvagy cink(II)-hisztidin, illetve -hisztamin törzs- és vegyesligandumú komplexeire vonatkozóan<sup>[87, 88]</sup>. Ennek során megállapították, hogy a nikkelvagy cink(II)ion a pirrol-N(1)H ionizációját nem befolyásolja lényegesen a szabad ligandumhoz képest. Ezzel szemben a réz(II)iont és hisztidin-dipeptideket tartalmazó rendszerekben lejárásodik a pirrol-deprotonálódás, de a pirrol-N(1)H  $pK$ -ja itt is jelentősen függ a komplex kötőmódjától. A legalacsonyabb értéket ( $pK \sim 10,5$ ) a réz(II)-Gly-His rendszerben kapták. Ebben az esetben a deprotonálódást a *d-d* átmenet jellegzetes kék eltolódása kíséri. Morris és Martin<sup>[84]</sup> kimutatta, hogy a [CuLH<sub>1</sub>] egységekből [Cu<sub>4</sub>L<sub>4</sub>H<sub>8</sub>]<sup>4+</sup> tetramerek képződnek (11. ábra), hacsak ez térbelileg nem

akadályozott (mint pl. a Pro-His esetében, ahol a prolin aminosav nagyméretű oldallánca és merev szerkezete miatt nem alakul ki a tetramer<sup>[89]</sup>).

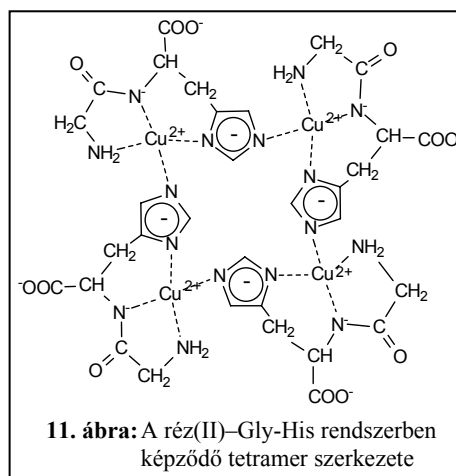
A réz(II)–His–Gly rendszerben képződő  $[\text{CuL}_2]$  összetételű komplexben (9. ábra, 13. oldal) 11-nél nagyobb  $pK$ -érték jellemzi az imidazol-N(1)H deprotonálódását. Ebben a komplexben az imidazolgyűrű nemcsak hídligandumként szerepel, hanem egy kelátgyűrű része is<sup>[37]</sup>, így lejátszódhat a pirrol-deprotonálódás. Ezzel szemben az olyan dimer komplexekben, ahol az imidazol csak hídligandumként szerepel, a pH növelésével hidrolízis játszódik le.

Bogges és Martin<sup>[90]</sup> ezen eredmények mellett arra is rámutatott, hogy imidazolszármazékok esetén egyéb fémionok is hatékonyak a pirrol-deprotonálódás indukálásában. A  $3d$  átmenetifém-ionok az ionizációt az alábbi sorrendben segítik elő:



Korábban szintén Morris és Martin állapította meg, hogy a Gly-His dipeptiddel képződő  $[\text{MLH}_2]$  összetételű, egymagvú, háromnitrogénes [amino-, amid-, imidazol-N(3)] koordinációjú komplexek réz(II)-, nikkell(II)- és palládium(II)ion esetén 9–10-es pH körül nagyobb aggregátumokat alkotnak, melyekben a deprotonálódott pirrol-nitrogének kötődnek hídcsoportként a fémionok szabad koordinációs helyeihez<sup>[84]</sup>. Későbbi vizsgálatok ugyanilyen viselkedést mutattak ki arany(III)ionnal is<sup>[91]</sup>. (Sőt, az arany(III)ion elektronszívó képessége olyannyira erős, hogy nemcsak a pirrol-N(1)H-t, hanem a koordinált  $-\text{NH}_2$  csoportot is képes deprotonálni, hasonlóan a réz(III)ionhoz ((2) egyenlet, 14. oldal). Ezek közül az aggregátumok közül sztérikusan a legkedvezményezettebb egy ciklikus  $[\text{M}_4\text{L}_4\text{H}_8]^{4-}$  tetramer képződése, hasonló szerkezettel mint réz(II)ion esetében (11. ábra). Általánosságban, ha a pirrolnitrogén sztérikus okokból közel kerül egy fémionhoz, akkor ez elősegíti a deprotonálódást és a koordinálódást.

A palládium(II) mellett a hozzá koordinációs kémiai szempontból igen hasonló platina(II)ion esetében NMR spektroszkópia alkalmazásával szintén kimutatták a pirrolnitrogén deprotonálódását<sup>[92, 93]</sup>, azonban nem a csupasz fémionokkal, hanem az egy szabad koordinációs helyet tartalmazó  $[\text{M}^{\text{II}}(\text{dien})]^{2+}$  ( $\text{M} = \text{Pd}$  vagy  $\text{Pt}$ ; dien = dietilén-triamin),  $[\text{M}^{\text{II}}(\text{trpy})]^{2+}$  (trpy = terpiridin), *cisz*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}^{\text{II}}(1\text{-MeU})]^+$  (1-MeU = 1-metil-uracil), *cisz*- $[(\text{NH}_3)_2\text{Pt}^{\text{II}}(1\text{-MeC})]^{2+}$  (1-MeC = 1-metil-citozin) és *transz*- $[(\text{NH}_2\text{CH}_3)_2\text{Pt}^{\text{II}}(1\text{-MeC})]^{2+}$  komplexekkel. Ezen fémkomplexek tanulmányozásának a platina–His-peptid



kölcsönhatásnak a megértésében van jelentős szerepe<sup>[93, 94]</sup>. A vizsgálatok azt mutatták, hogy egyszerű ligandumokkal (hisztidin, *N*-acetyl-hisztidin), 1:1 komplex/ligandum arányánál<sup>[93]</sup> megfigyelhető az imidazolgyűrű N(1)- és N(3)-as nitrogéneken keresztüli koordinációja, illetve a karboxilátcsoport egyfogú ligandumként való kötődése is. Bizonyos esetekben (pl. a  $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{dien})]^{2+}$ -His rendszerben) egyfogú aminokoordinációt is kimutattak. Az N(1)-M és N(3)-M izomereket HPLC-technikával sikerült elválasztani. Ezen izomerek arányát – főleg platina(II)komplexek esetében – nem termodinamikai, hanem kinetikai tényezők határozzák meg. Emellett a deprotonálódás  $pK$ -ja jelentősen függ a hisztidinnek a peptidláncon belül elfoglalt helyétől, ha az imidazolgyűrűt tartalmazó ligandum egy hosszabb peptidlánc<sup>[92]</sup>: amennyiben a hisztidin az N-terminális végen helyezkedik el, akkor a  $[\text{Pd}^{\text{II}}(\text{dien})]^{2+}$  komplex hatására már erősen savas pH-n deprotonálódik a pirrolnitrogén. Ha azonban a hisztidin a C-terminális végen található, csak semleges vagy gyengén lúgos közegben alakul ki az imidazolhidas szerkezet a két  $\text{Pd}^{\text{II}}(\text{dien})$  egység között.  $[\text{Pt}^{\text{II}}(\text{dien})(\text{D}_2\text{O})]^{2+}$  esetében hasonló komplexek alakulnak ki, de még lúgosabb pH-n és még nagyobb  $[\text{Pd}^{\text{II}}(\text{dien})(\text{D}_2\text{O})]^{2+}$  felesleg mellett.

A palládium(II)-Gly-Gly-His rendszerben nem megy végbe a pirrolnitrogén deprotonálódása, azonban az arany(III)-Gly-Gly-His rendszerben képződő  $[\text{Au}^{\text{III}}\text{LH}_2]$  komplexben igen<sup>[95]</sup>, mégpedig a más, +2 és +3 oxidációs állapotú fémionokkal kapott értékekhez képest (pl.: akva-kobalamin(Co(III))+imidazol rendszer:  $pK_{\text{pirrol}} = 9,6$ <sup>[96]</sup>; pentaammin-ruténium(III)+imidazol:  $pK_{\text{pirrol}} = 8,9$ <sup>[97]</sup>; pentaammin-ruténium(III)+hisztidin:  $pK_{\text{pirrol}} = 8,7$ <sup>[98]</sup>; metil-higany(II)+imidazol:  $pK_{\text{pirrol}} = 9,6$ <sup>[99]</sup>) könnyebben, 8,63-as pH-n. Eddig ez a legkisebb, hisztidinre található pirrol-deprotonálódási  $pK$ . A pirrol-deprotonálódást itt is az imidazolnitrogén fémionhoz való koordinálódása segíti elő.

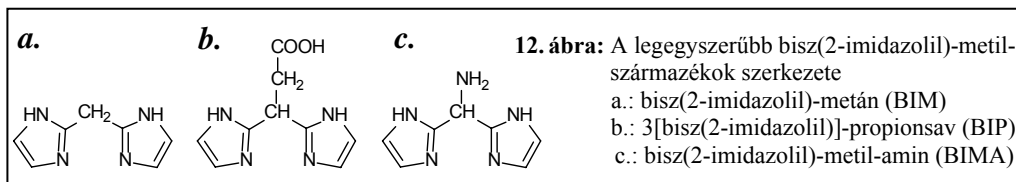
A hisztidin és a hisztamin pirrol-típusú N(1)H-jének a deprotonálódását szintén elősegíti a vegyesligandumú komplexek képződése<sup>[86]</sup>, azonban ezen rendszerekben a deprotonálódás csak réz(II)ionnal volt kimutatható. A hisztidin és hisztamin mellett "B"-ligandumként használt glicin, etiléndiamin, 2,2'-dipiridil és 4,5-dihidroxibenzén-1,3-diszulfonát (tiron) vizsgálata azt az eredményt adta, hogy a "B"-ligandum szerepe egyrészt a kedvező, semleges töltés kialakítása; másrészt a "B"-ligandum donor-atomjai és a réz(II)ion közötti töltésátviteli folyamatok is befolyásolják a pirrol-deprotonálódást. A deprotonálódás szempontjából az a kedvező, ha a "B"-ligandum csökkenti a réz(II)ionon az elektronsűrűséget, mint ahogy ez a 2,2'-dipiridil esetében megvalósul a viszontkoordináció következtében.



## 2.2. Bisz(2-imidazolil)-metil-származékok sav-bázis és komplexkémiai viselkedése

Metalloenzimekben a hisztidin aminosav imidazolil-oldallánca gyakran a fémionok kötődési helye. Ezen enzimek aktív centrumában a fehérjemolekula háromdimenziós szerkezete az imidazolgyűrűket olyan közeli helyzetbe hozza, hogy azok képesek egyazon fémionhoz koordinálódni. Így ezeknek az enzimeknek jó modelljei lehetnek azok az egyszerű bisz(imidazolil)-származékok, amelyekben a két imidazolgyűrűt alifás szénlánc köti össze<sup>[100]</sup>. A korábbi vizsgálatok<sup>[101]</sup> azt mutatták, hogy ezen enzimek aktív centrumának a modellezéséhez az összekötő alifás láncnak vagy valóban egy hosszú, legalább öt szénatomból álló szénláncnak kell lennie (mint ahogy az enzim proteinjében is lineárisan távol esnek egymástól a kötésben résztvevő hisztidin aminosavak), vagy csak egyetlen  $-\text{CH}_2-$  egységnek kell lennie a két imidazolcsoport között. Ebben az esetben van ugyanis lehetőség a fémionnal stabilis, hattagú kelátgyűrű képződésére.

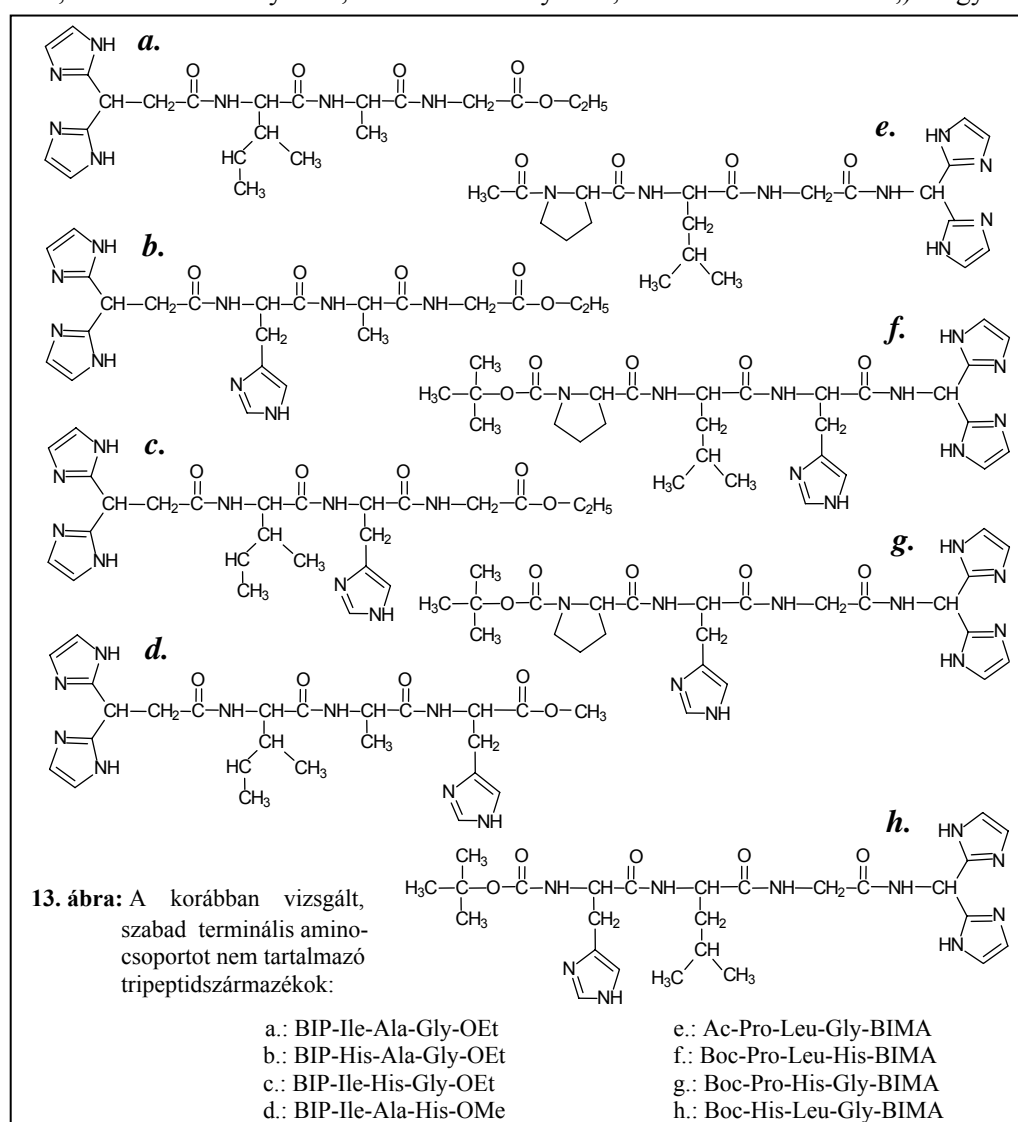
Korábban az *MTA Peptidkémiai Kutatócsoportjában* cinkproteázok szelektív gátlására előállított bisz(2-imidazolil)-metil fémmegekötő csoportot tartalmazó peptidszármazékok 3d átmenetifém-komplexeit vizsgálták a *KLTE Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén*<sup>[100, 102]</sup>. Ezen vizsgálatok első lépése az egyszerűbb bisz(2-imidazolil)-metil-származékok réz(II)- és cink(II)ionnal való komplexképzésének tisztázása volt. Három ilyen alapvegyület szintézise, és ezek réz(II)-, illetve cink(II)komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálata történt meg<sup>[100, 103–105]</sup>: a bisz(2-imidazolil)-metáné (BIM), bisz(2-imidazolil)-metil-aminé (BIMA) és 3[bisz(2-imidazolil)]-propionsavé (BIP) (12. ábra).



A bisz(2-imidazolil)-metil-amin és a 3[bisz(2-imidazolil)]-propionsav szabad amino-, illetve karboxilcsoportja lehetővé teszi, hogy hozzájuk peptidkötéssel C- vagy N-terminálisan aminosavat vagy akár egy hosszabb peptidláncot kapcsoljunk<sup>[100, 103]</sup>. Ha valamely metalloenzim szelektív gátlását akarjuk elérni, akkor ehhez a fémiont jól koordinálni képes bisz(2-imidazolil)-metil-csoporthoz olyan vegyületrészt (pl. az előbb említett peptidláncot) kell kapcsolni, amely modellezi az enzim által hasítható szubsztrátot, vagy annak hasadó kötés körüli környezetét. Ezen elképzelés alapján próbálták kifejleszteni az emlős kollagenáz enzim – egy, a -Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly-kollagén szekvenciát hasító, aktív centrumában cink(II)iont tartalmazó metalloenzim – szelektív inhibitorát<sup>[100, 102]</sup>.

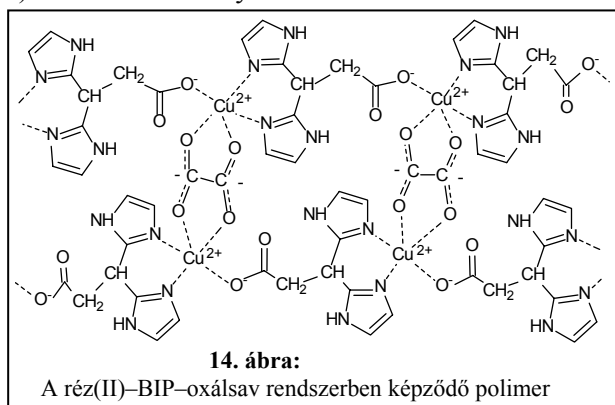
A bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó ligandumok átmenetifém-komplexeinek eddigi vizsgálatai<sup>[104, 106–108]</sup> egyrészt azt mutatják, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport igen jó fémmegkötő sajátságú kétfogú ligandum. Ez az imidazolgyűrűk erős  $\pi$ -akceptor sajátságával és a hattagú, stabilis kelátszerkezet kialakulásával magyarázható. Ezzel a bisz(2-imidazolil)-metil koordinációs móddal mono- és biszkomplexek képződését sikerült kimutatni. Triszkomplexek a legkisebb térkitöltésű ligandum, a bisz(2-imidazolil)-metán esetében sem képződtek, még a szabályos oktaédes geometriájú – így a réz(II)ionnál bisz- és triszkomplexek képzésére hajlamosabb – nikkel(II)ionnal sem.

A szabad terminális aminosocsoportot nem tartalmazó alapvegyületek (BIM és BIP; 12. ábra), valamint az N-terminális aminosocsoportot nem tartalmazó (BIP-Ile-Ala-Gly-OEt, BIP-His-Ala-Gly-OEt, BIP-Ile-His-Gly-OEt, BIP-Ile-Ala-His-OMe,) vagy N-



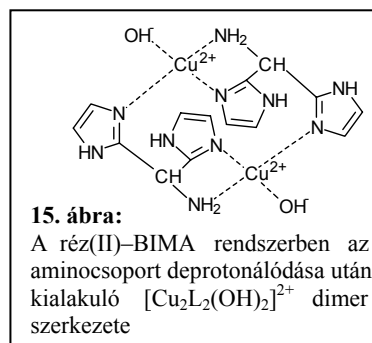
terminális végükön védett (Ac-Pro-Leu-Gly-BIMA, Boc-Pro-Leu-His-BIMA, Boc-Pro-His-Gly-BIMA, Boc-His-Leu-Gly-BIMA) peptidszármazékok (13. ábra) réz(II)- és cink(II)ionnal történő komplexképzését tanulmányozva<sup>[100, 102, 109]</sup> azt találták, hogy a fémionokhoz a teljes vizsgálható pH-tartományban a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportok koordinálódnak, stabilis mono- és biszkomplexeket képezve. A karboxilátcsoport csak a hidrogénhídkötések kialakításában játszik szerepet<sup>[110]</sup>. Peptidek esetében – mint azt korábban láttuk – a réz(II)ion számára az amidnitrogén is fontos koordinálódási hely, azonban ehhez szükség van egy vele kelátképző helyzetben lévő horgonycsoport, pl. aminocsoport jelenlétére<sup>[22, 111]</sup>, mely ezen ligandumokban nem található meg. Ennek megfelelően ezen tripeptidszármazékok esetében nem mutatták ki az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását. A bisz(2-imidazolil)-metil koordinációs módú komplexek szerkezetét egy karboxilátcsoport vagy egy, a peptidszekvenciában lévő hisztidin aminosav imidazolcsoportja nem képes lényegesen befolyásolni, ezek a donorcsoportok csak gyengébb, ekvatoriális vagy axiális koordinációra képesek. Azonban a komplexek stabilitására ez a gyengébb koordináció is hatással van: makrokelát alakul ki, ezáltal nő a képződő komplexek stabilitása. Ennek a tridentát koordinációnak a megvalósulása akkor kedvezményezett, ha a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport a tripeptid N-terminális végén található (13/b.–d. ábra). Abban az esetben, ha a tripeptid a C-terminális végén tartalmazza a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot, annál nagyobb a komplex stabilitása, minél távolabb helyezkedik el a kelátképző rész és a hisztidil-oldallánc, ugyanis ebben az esetben sztérikusan kevésbé akadályozott a makrokelát képződés (13/h. ábra). A réz(II)–Boc-His-Leu-Gly-BIMA rendszerben kialakuló

$[\text{CuL}]^{2+}$  komplexben már egyértelműen nem axiális, hanem ekvatoriális imidazol-koordináció valósul meg. A viszonylag gyenge karboxilát-koordináció szintén elegendő ahhoz, hogy pl. a réz(II)–BIP–oxálsav vegyesligandumú rendszerben egy “létra-szerű” polimer szerkezetet alakítson ki (14. ábra)<sup>[112]</sup>.



A vizsgálatok másrészt azt mutatták, hogy a koordinációs módot egy szabad terminális aminocsoport<sup>[100, 102, 113]</sup> vagy alkoholos hidroxilcsoport<sup>[114]</sup> jelenléte alapvetően megváltoztatja. Ebben az esetben ugyanis deprotonálódása után az aminosav vagy hidroxilcsoport képes versengeni a bisz(2-imidazolil)-metil-csoporttal a réz(II)ion körüli erősebb, ekvatoriális kötőhelyekért, és kiszorítani azt a koordinációs szférából. Ekkor azonban szabadabbá válik egy imidazolcsoport, mely abban az esetben, ha a fémionnak nem telített a koordinációs szférája, lehetőséget teremt dimer vagy

más oligomer szerkezetek kialakulására (15. ábra). Ezeknek az imidazolesoporton mint hídcsoponton keresztül kialakuló dimer, illetve oligomer szerkezeteknek a jelenléte megnehezíti a réz(II)iont tartalmazó rendszerek oldategyensúlyi vizsgálatát: pH-metriásan nem különböztethetőek meg a monomer és dimer/polimer szerkezetek, a spektroszkópiai módszerek közül pedig az ESR – mely réz(II) komplexek esetében az egyik leginformatívabb vizsgálati módszer lehet – a dimerekben kialakuló spin-spin csatolás és így a fémion paramágneses jellegének csökkenése miatt nem ad információt a koordinálódó donoratomok minőségére.

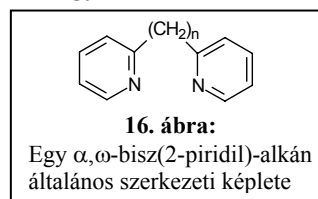


Nikkel(II)- és cink(II)ionnal hasonló összetételű, de kisebb stabilitási állandójú komplexeket lehet kimutatni: a nikkell(II)- és cink(II)ion gyengébb koordinálódási képességének megfelelően a komplexek csak nagyobb pH-n kezdenek el kialakulni, és a komplexképződés így cink(II)ion esetében már átfedhet a hidrolízissel is. A komplexeknek ez a stabilitáscsökkenése megfelel az Irving-Williams sornak ((4) egyenlet)<sup>[115]</sup>:

$$\lg\beta_{[\text{CuL}]} > \lg\beta_{[\text{NiL}]} > \lg\beta_{[\text{ZnL}]} \quad (4)$$

### 2.3. Bisz(2-piridil)-származékok sav-bázis és komplexkémiai viselkedése

Ha összehasonlítjuk különböző  $\alpha, \omega$ -bisz(2-piridil)-alkánok és a piridin protonálódási állandó értékeit (3. táblázat), azt láthatjuk, hogy a bisz(2-piridil)-metil-csoportot tartalmazó vegyületekben kisebb pH-értéknél játszódik le a piridinnitrogének deprotonálódása. A két protonált aromás nitrogén közeli helyzete ugyanis szterikus és elektrosztatikusan egyaránt kedvezőtlen, így az aromás gyűrűk kölcsönhatása csökkenti az egyik piridinnitrogén  $pK$ -ját, elősegíti annak deprotonálódását.



**3. táblázat:**  $\alpha, \omega$ -bisz(2-piridil)-alkánok savi disszociációs állandói (mérési körülmények:  $T = 298 \text{ K}$ ;  $I = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ KNO}_3$ )

n	0	1	2	3	4	5	6	piridin
$pK_1$	—	2,69	3,99	4,80	5,27	5,45	5,61	5,31
$pK_2$	4,49	5,18	5,80	6,15	6,25	6,33	6,38	—

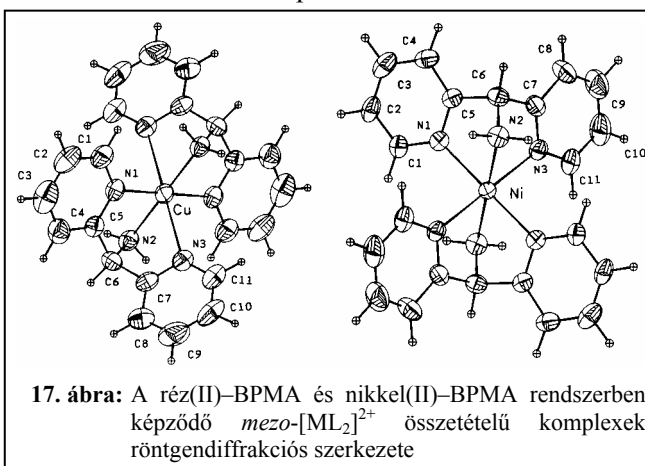
A különböző bisz(2-piridil)-alkánok, köztük a bisz(2-piridil)-metán (BPM;  $n = 1$ , 16. ábra) fémkomplexeinek a vizsgálatát – a sav-bázis sajátosságokhoz hasonlóan – H. Bühler és G. Anderegg végezte el<sup>[101]</sup>. Ennek során megállapították, hogy itt is stabilis

mono-, illetve biszkomplexek képződnek két vagy négy piridincsoport koordinálódásával. Ezen komplexek stabilitása az Irving-Williams féle sornak megfelelően ((4) egyenlet, 22. oldal) réz(II) > nikkel(II) > cink(II)komplex irányban csökken. Cink(II)ionnal kisebb mennyiségben egy egyetlen piridinnitrogéne keresztüli koordinációjú monokomplex képződését is sikerült kimutatniuk.

Később a réz(II)–BPM rendszerben kialakuló  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  összetételű komplex röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata<sup>[116]</sup> is alátámasztotta a bisz(2-piridil)-metil koordinációs módot: a komplexben a négy aromás nitrogénatom koordinálódik a réz(II)ion ekvatoriális koordinációs síkjában.

Hosszabb szénlánc esetén ( $n > 2$ , 16. ábra)<sup>[101]</sup> azt találták, hogy a réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexek stabilitása gyakorlatilag már nem függ a szénlánc hosszától, és jóval kisebb mint az  $\alpha, \alpha'$ -dipiridil és a bisz(2-piridil)-metán esetében volt. Biszkomplexek ezekben a rendszerekben már nem is képződtek.

A röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint a bisz(2-imidazolil)-metil-aminnal analóg szerkezetű bisz(2-piridil)-metil-amin (BPMA) semleges pH-értéknél mind a réz(II)-, mind a nikkel(II)-ionhoz háromfogú ligandumként koordinálódik a három nitrogénatomján keresztül (17. ábra)<sup>[117]</sup>. A fémion/ligandum aránytól függően stabilis



mono-, illetve biszkomplexek képződnek oktaéderez geometriával. Ez a szerkezet azonban oldatfázisban csak nikkel(II)ionnal stabilis, a  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  komplex axiális piridincsoportja vizes oldatban kiszorul a koordinációs szférából. Az ezen rendszerben kialakuló komplexeknek a stabilitása valamivel kisebb, mint a réz(II)–BIMA és nikkel(II)–BIMA rendszerben képződő, azonos összetételű biszkomplexeké. A BIMA komplexeihez képesti csökkent stabilitást a piridinnitrogének imidazolnitrogénekétől kisebb bázicitása (BIMA:  $pK_{A1} < 1,5$ ,  $pK_{A2} = 4,07$ ; BPMA:  $pK_{A1} < 1,5$ ,  $pK_{A2} \approx 1,7$ ; lásd később, 5. táblázat, 46. oldal), és ezzel együtt gyengébb koordinálódási képessége okozza.

## 2.4. Egyéb, imidazol- és/vagy piridingyűrűket tartalmazó származékok komplexkémiai viselkedése

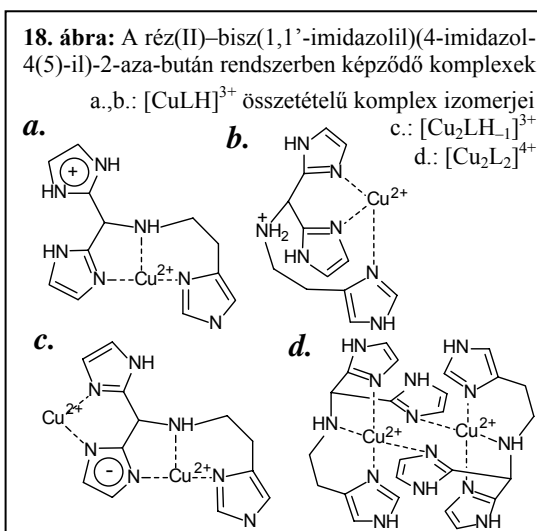
Több korábban vizsgált, kettő vagy több aromás (imidazol- vagy piridin-) gyűrűt tartalmazó vegyület bizonyult hatékony enzimmodellnek. Ezen vegyületek koordinációs kémiai sajátosságait emiatt igen széles körben vizsgálták. Azonban ezen vizsgálatok nagy részében csak egy adott komplex szerkezetét és enzimaktivitását tanulmányozták, és csak kevés esetben történtek vizsgálatok a pH függvényében, a komplexek stabilitására.

Kapinos, Sigel és munkatársaik különböző, sztérikusan kevésbé vagy jobban gátolt imidazolszármazékokat összehasonlítva azt találták, hogy egy adott fémion (M) esetében lineáris összefüggés van a  $\lg K_{ML}^M$  és a  $pK_{HL}^H$  értékek között<sup>[118, 119]</sup>. Ha azonban a  $\lg K_{ML}^M$  érték nagyobb a vártnál, azaz a komplex stabilisabb, ez egy újabb koordinálódó donorcsoport jelenlétét mutatja az ML komplexben. A vizsgálatok emellett azt is igazolták, hogy imidazol- (illetve piridin-) donorok esetében az öttagú kelátszerkezetnél nagyobb stabilitással bír a hattagú kelát.

A molekulában az imidazolnitrogénnel kelátképző helyzetben lévő acetátcsoport szintén jelentősen megnöveli a komplex stabilitását a csak imidazolcsoportot tartalmazó ligandumhoz képest<sup>[120]</sup>, sőt ezen származékok esetében egy újabb stabilitás-növelő szerepet tulajdonítanak a vegyes donorcsoportok kapcsolódásának. (Ez a fajta vegyes koordinációs mód metalloproteinekben is igen elterjedt.) Egyrészt ezen vegyes koordinációban résztvevő csoportok kémiai minőségét, másrészt a koordinálódó donoratomok távolságát változtatva más-más fémionra lesz szelektív a ligandum<sup>[121]</sup>.

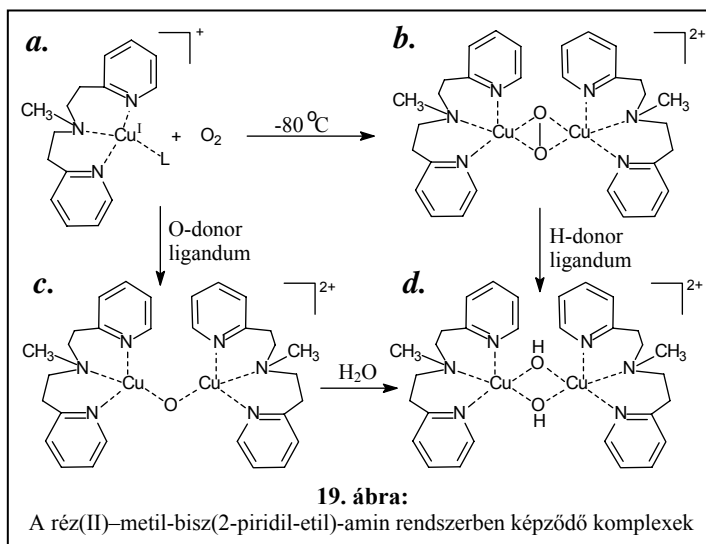
Ha a molekula több aromás gyűrűt is tartalmaz, akkor ezeket különböző csoportok kapcsolhatják össze: tetszőleges hosszúságú alifás szénhidrogénlánc (ide tartoznak az előző fejezetben bemutatott bisz(2-imidazolil)-metil- és bisz(2-piridil)-származékok

is), aminilén- (–NH–) és nitrilcsoport (–N≡), foszfincsoport (–P<) vagy peptidkötés (–CONH–). Ez utóbbi négy, heteroatomot tartalmazó összekötő lánc donoratomjai újabb koordinálódó donorcsoportot jelenthetnek. Ezen csoportok közül a nitrogént tartalmazók alakítják ki a legerősebb kölcsönhatást réz(II)ionnal. A különböző donorcsoportok egymáshoz viszonyított helyzetük szerint kelátként vagy makrociklusként kapcsolódhatnak egy vagy – dimereket, polimereket, többmagú



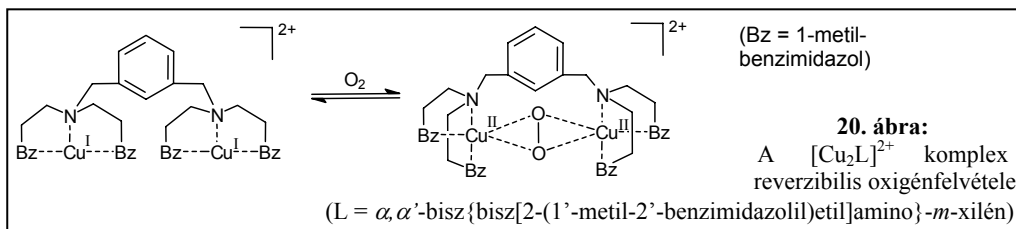
komplexeket alkotva – több fémcentrumhoz, azon-ban a fő fémmegkötő csoportok továbbra is az aromás nitrogének maradnak<sup>[122–125]</sup>. Ezen imidazolcsoportokat tartalmazó ligandumok igen jó szelektivitást mutatnak réz(II)ionra. A 18/d. ábrán lévő  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplex esetében többféle ellen-aniont ( $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{CuBr}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ) tartalmazó egykristályt előállítottak<sup>[126]</sup>. A röntgen-diffrakciós adatok azt mutatták, hogy az axiális helyzetben lévő ellenion donorerősségének a növekedésével nő a réz(II)–réz(II) távolság, valamint a két, egy adott réz(II)ionhoz koordinálódó donorcsoportok által alkotott síknégyzet egymástól való távolsága a komplexben. Ezen szerkezetek kialakulását az imidazolcsoporton vagy az aromás gyűrűket összekötő csoporton lévő, nagy térkitöltésű, nemkoordinálódó oldalláncok (pl. fenilcsoport) nem akadályozzák meg. Ezekben a komplexekben az ESR-, elektrokémiai és geometriai paraméterek az 1. típusú azaz “kék”-rézproteinekre jellemző értéket mutatják, azonban kén-koordináció nélkül<sup>[114]</sup>.

Olyan ligandumok esetében, melyek nagy térkitöltésűk és erős donoratombjaik révén megakadályozzák a fémion hidrolízisét, azonban nem telítik a fém koordinációs szféráját, nagyobb pH-n vegyes hidroxokomplex alakul ki<sup>[127]</sup> (19/d. ábra). Ezen komplex szerkezetét a röntgendiffrakciós vizsgálat mellett az IR spektrumban található  $\nu_{(\text{O}-\text{H})}$  vegyértékrezgés, valamint a dihidroxohídnak tulajdonítható erős antiferromágneses csatolás szintén alátámasztja. Nemvizes rendszerekben azonban a komplex  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{O}_2]^{2+}$  formában (19/b. ábra) van jelen. Az ilyen jellegű komplexek jó modelljei azon metalloenzimek aktív centrumának, melyekben az  $\text{O}_2$  molekula aktiválása és raktározása történik az (5) egyenlet alapján.



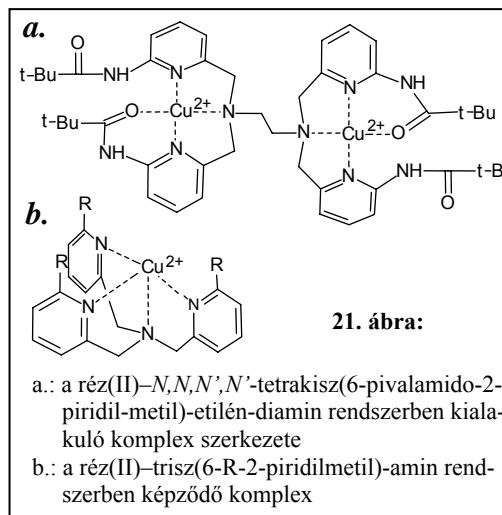
ion. Ezen két rézcentrumot összekötheti maga a ligandum is<sup>[129]</sup> (20. ábra, 26. oldal). Ebben az esetben még intenzívebb az enzimikus hatás.

Ha ezekben a komplexekben a piridincsoportot imidazolcsoporttal helyettesítjük, akkor a réz(I)komplexek reaktivitása nő, azonban az  $\text{O}_2$ -hez való affinitásuk lecsökken<sup>[128]</sup>. Ezen komplexekről általánosságban megállapítható, hogy mindegyikben található két, egyenként három N-donorcsoport által koordinált réz(I)-

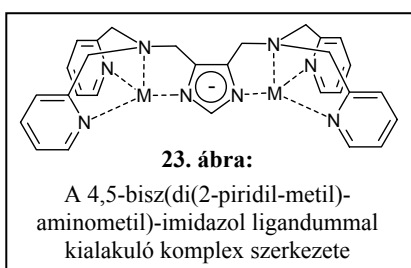
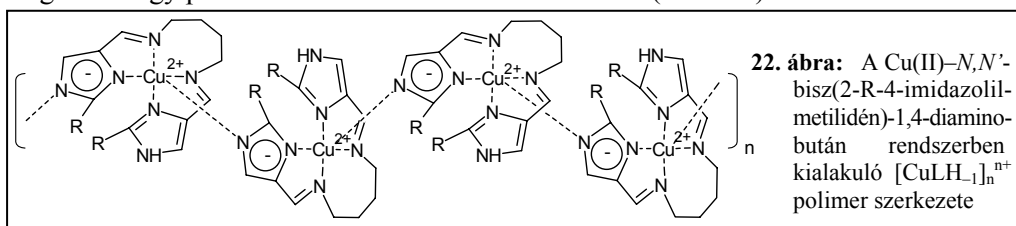


Ezen, fémionként két-két koordinálódó aromás nitrogént és egy aminnitrogént tartalmazó ligandumok esetében a réznek van még egy szabad koordinációs helye, amit nemcsak az  $O_2$  molekula, hanem a ligandumon (általában az aromás gyűrűn) lévő, koordinálódásra hajlamos egyéb donorcsoport is elfoglalhat (mint pl. a 21/a. ábrán látható komplexben a karbonilcsoport).

A tercier aminok nitrilcsoportja azonban akár három, aromás gyűrűket is tartalmazó láncot is összeköthet. Megfelelő térbeli elhelyezkedés esetén a három aromás nitrogén és az aminnitrogén koordinálódik a fémionhoz (21/b. ábra)<sup>[130]</sup>. Ezen komplexekben az aromás gyűrűn lévő –R csoportok szerepe a koordináció szterikus gátlása vagy hidrogénkötéseken keresztül a szerkezet stabilizálása<sup>[131]</sup>.



Hasonlóképpen stabilizálja a szerkezetet, ha egy vagy több piridingyűrűt imidazolgyűrűvel helyettesítünk<sup>[132, 133]</sup>. Az N-helyzetben nem szubsztituált imidazolgyűrűk mellett töményebb oldatban és nagyobb pH-n hidrcsoportként oligomer vagy polimer szerkezeteket is kialakíthatnak (22. ábra)<sup>[134–136]</sup>.

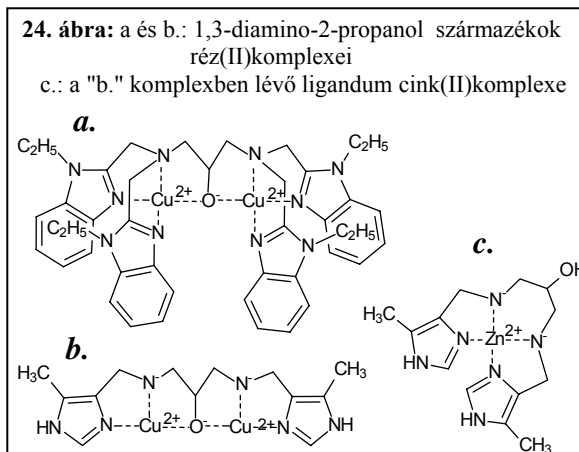


Az egy-egy fémiont koordinálni képes ligandum-részleteket összekötő csoport nem csak egy koordinálódásra nem képes lánc lehet (20. és 21/a. ábra), hanem több donorcsoportot tartalmazó származék, pl. imidazolgyűrű is (23. ábra). Ezen komplexekben – ha a ligandum térbeli szerkezete közel hozza egymáshoz a koordinált fémiont (mely általában réz(II)-, nikkell(II)- vagy cink(II)ion<sup>[137, 138]</sup>) és az összekötő



imidazol-gyűrű nitrogénjét – szintén bekövetkezik ez utóbbi deprotonálódása és koordinálódása, azaz itt is a szuperoxid-diszmutáz (SOD) enzimével analóg szerkezet és katalitikus aktivitás alakul ki<sup>[132]</sup>.

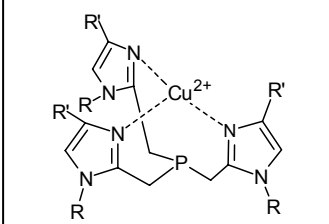
Hasonló hidrácsoport szerepet tölthet be deprotonálódása után az alkoholos hidroxilcsoport is (24/a. és b. ábra)<sup>[139, 140]</sup>. Ezen komplexek hemocianin modellek. Azonban a hidroxilcsoport deprotonálására is csak bizonyos fémionok képesek. A deprotonálódást elősegíteni nem képes fémionokkal (pl. cink(II)) a hidroxilcsoport nem vesz részt a koordinációban (24/c. ábra).



Az aromás csoportokat összekötheti peptidkötés is. Ezen ligandumok esetében – hasonlóan mint az egyszerű peptideknél – bizonyos fémionok elősegítik az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását<sup>[141]</sup>.

Az imidazol- és/vagy piridingyűrűket tartalmazó ligandum nem csak aminoszármazék, hanem foszfin-származék is lehet. Ekkor a koordinációban csak az aromás nitrogének vesznek részt, a foszforatom nem (25. ábra). Ezen komplexeknek reverzibilis oxigén-szállító és -tároló szerepük van, azaz hemocianin modellek<sup>[142, 143]</sup>, másrészt szénsavanhidráz aktivitással is rendelkeznek<sup>[144]</sup>.

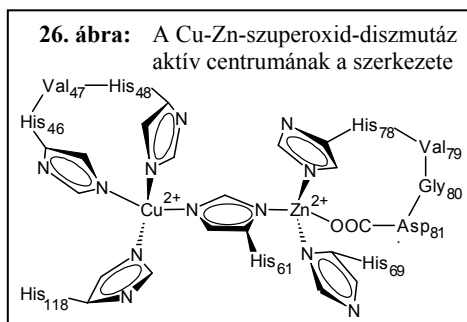
**25. ábra:** A réz(II)–tris(1-R-imidazolil)-foszfin rendszerben kialakuló [CuL] komplex



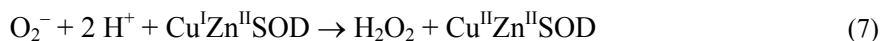
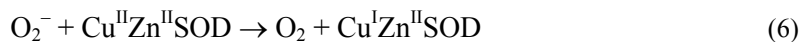
## 2.5. Szuperoxid-diszmutáz (SOD) enzimmodellek

A sejtekben vannak olyan enzimek (pl. szuperoxid-diszmutázok, kataláz és peroxidáz) amelyek a szervezet öregedéséért felelős káros szabad gyököket megsemmisítik. A szuperoxid-diszmutáz szintje ennek megfelelően magasabb a hosszabb élettartamú állatokban, mint a rövidebb ideig élőkben. A legmagasabb szintet az emberben mérték. Azok az alacsonyabbrendű állatok (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*), amelyek extra mennyiségben tartalmazzák bizonyos sejtjeikben a szuperoxid-diszmutázt, kb. 40%-kal tovább élnek a kontroll-állatoknál<sup>[145]</sup>.

A SOD enzimek általában két fémiont tartalmaznak, de a leggyakoribb a réz(II)- és cink(II)iont tartalmazó Cu-Zn-SOD. Ezen enzim aktív centrumában a két fémiont egy imidazolhíd köti össze (26. ábra)<sup>[146]</sup>. A két fémion távolsága 6,2 Å. A természetes enzimben ez az imidazolhíd csak 4–4,5-es pH alatt bomlik el. A réz(II)ion körül tetragonális piramisos, míg a cink(II)ionnal tetraédes geometria valósul meg. A réz körüli geometria azonban torzul, ha a réz(II)ion réz(I)ionná redukálódik, vagy ha a réz(II)ionhoz az ötödik koordinációs helyet elfoglaló vízmolekula helyett erősterű ligandum (pl. OH<sup>-</sup>, CN<sup>-</sup>) koordinálódik<sup>[147]</sup>.



Az enzimnek a réz körüli része a katalitikus aktív centrum, ahol a következő reakciók játszódnak le:



A SOD enzim működésével foglalkozó közlemények egy csoportja a kétféle koordinációs környezetben lévő fémcentrumot jellemzi oldategyensúlyi szempontból, pH-potenciometriásan, spektrofotometriásan és NMR spektroszkópiásan<sup>[148]</sup>. Ezek a vizsgálatok azt mutatták, hogy önmagában a két fémion körüli peptidszekvencia nem elegendő a pirrolnitrogén deprotonálódásához. A peptidmolekula többi részének az a szerepe, hogy a két fémiont elég közel hozza egymáshoz az imidazolhíd kialakulásához. A réz(II)–His–Val–His rendszerben semleges pH-n négy-nitrogénes, “Gly–Gly–His–szerű” koordináció valósul meg az aminocsoporton, a két deprotonált amidnitrogénen és a hisztidincsoporton keresztül. A cink(II)–His–Val–Gly–Asp rendszer esetében pedig hisztaminszerű koordinációval mono- és biszkomplekx alakulnak ki.

A modellek egy újabb csoportjában a hangsúly a két fémiont hídként összekötő imidazolgyűrűn van, azaz olyan komplexeket próbálnak előállítani, melyekben ez a hídszerkezet valósul meg viszonylag széles pH-tartományban, mely tartományban a természetes enzim is működik. A legtöbb ilyen jellegű komplexben mindkét fémion réz(II), így a komplexek  $[\text{Cu}_2\text{L}_n(\text{imidazol H}_{-1})]$  ( $n = 1, 2$ ) általános képlettel jellemezhetők. Ezen komplexek ESR spektruma gyenge réz–réz kölcsönhatást mutat a természetes enzimben lévő jóval erősebb kölcsönhatással szemben, ami annak a következménye, hogy az imidazol itt nem az L ligandumban található<sup>[149]</sup>. A legegyszerűbb ilyen komplexekben az L ligandum valamilyen dipeptid<sup>[149]</sup>. Számos olyan közlemény is született azonban, melyben az L ligandum valamilyen makrociklus vagy makrobiciklus<sup>[150–155]</sup>. Ezen makrociklusos ligandumok komplexében a

réz(II)ion körül négy (27/a. ábra, 30. oldal) vagy öt donoratom helyezkedik el tetragonális, illetve trigonális-bipiramisos vagy tetragonális-piramisos geometriával. Ez utóbbi megfelel a természetes enzimben található geometriai elrendeződésnek, és ennek megfelelően az ilyen geometriával rendelkező modellvegyületek esetén találták a legnagyobb SOD-aktivitást. Ugyanakkor a makrociklusos ligandumoknál általában szélesebb pH-tartományban volt stabilis a komplex, mint az egyszerű makrociklusok esetében.

Az összekötő imidazolgyűrűt tartalmazhatja a ligandum is, azaz az előző fejezetben bemutatott több imidazol- és/vagy piridingyűrűt tartalmazó ligandumok is potenciális SOD-modellek. Ezen ligandumokkal két réz(II)iont tartalmazó homodinukleáris, valamint réz(II)- és cink(II)iont tartalmazó heterodinukleáris komplexeket is előállítottak. A vizsgálatok itt is azt mutatták, hogy a komplex annál nagyobb SOD-aktivitással rendelkezik, minél jobban hasonlít a szerkezete a természetes szuperoxid-diszmutázéhoz. Ezen enzimmodellek hatása összemérhető, sőt meg is haladhatja a természetes enzimét<sup>[132]</sup>.

Még nagyobb stabilitású heterodinukleáris komplexeket állíthatunk elő olyan ligandumokkal, melyek szerkezete aszimmetrikus, azaz különböző lesz a kialakuló komplexben a réz(II)- és cink(II)ion koordinációs szférája<sup>[133]</sup>.

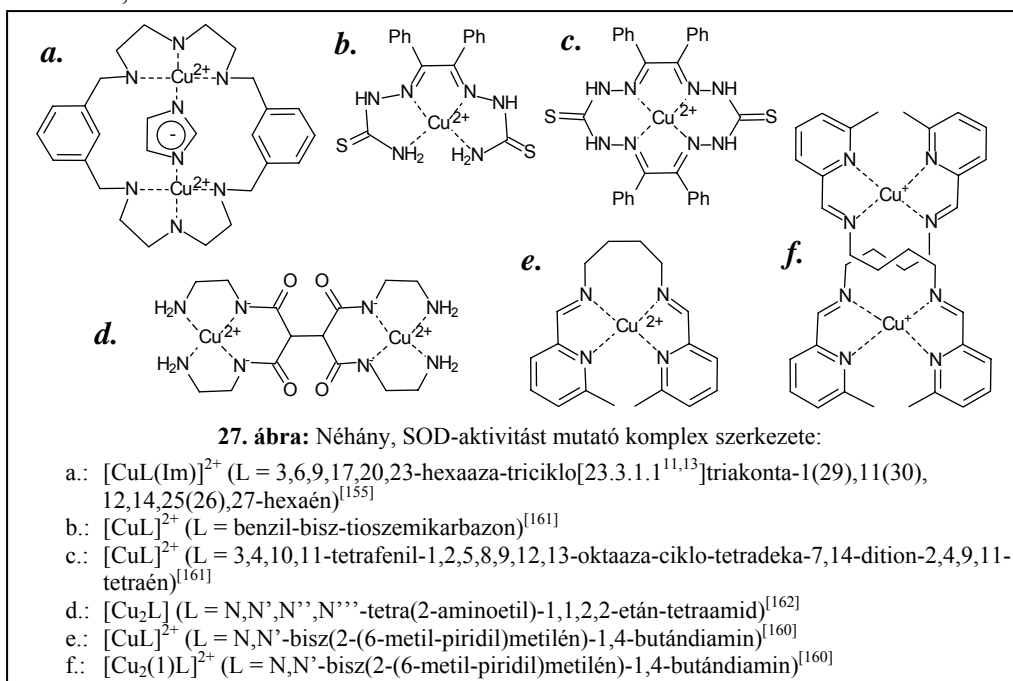
A SOD enzim modelljei sokszor olyan, réz(II)- vagy réz(I)iont tartalmazó komplexek, melyeknek a szerkezete egyáltalán nem hasonlít az enzim szerkezetéhez, azonban szintén bontják a szuperoxid-gyökiont. Még az egyszerű dipeptid-réz(II) [CuL] komplexek is rendelkeznek gyenge SOD aktivitással (az Ala-Ile, Ala-Thr, Ala-Tyr, Ala-Val és Ala-Phe dipeptidek közül az Ala-Phe bizonyult a leghatékonyabbnak)<sup>[156]</sup>. Hasonlóképpen katalitikus aktivitást mutat a réz(II)-Ac-His-Gly-His-Gly rendszerben kialakuló [CuLH<sub>2</sub>] összetételű komplex, melyben a két hisztidil-oldallánc horgonycsoportként viselkedik, és pH = 7 körül már lejátszódik az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása<sup>[82]</sup>.

A korábbi vizsgálatok alapján a SOD enzimnek szintén jó modelljei az olyan Schiff-bázis tulajdonságú ligandumok, melyek N-donoratomokat tartalmaznak (27/b.–f. ábra)<sup>[146, 157–160]</sup>. Az ilyen jellegű vegyületek közül vizsgáltak azonos koordinálódó donorcsoportokat tartalmazó láncszerzetű, valamint makrociklusos ligandumokat is (27/b. és c. ábra). Ezen ligandumok komplexeinek SOD-aktivitását összehasonlítva azt találták, hogy a makrociklusos ligandumok komplexei sokkal aktívabbak<sup>[161]</sup>.

Hasonlóképpen jó SOD-aktivitást mutatnak különféle, piridingyűrűket tartalmazó ligandumok komplexei. Különböző poli-piridilamin ligandumokat összehasonlítva azt tapasztalták, hogy ha a ligandumon olyan csoport található, mely lehetővé teszi hidrogénkötés kialakulását, akkor nő a komplex SOD-aktivitása. A hidrogénkötés kialakítására alkalmas csoport ugyanolyan szerepet játszik a katalízisben, mint a természetes enzim Arg<sub>141</sub> egysége, azaz segíti a szuperoxid-gyökionion kapcsolódását a réz(II)ionhoz. Másrészt a természetes SOD-enzimével megegyező, azaz ötös

koordinációjú komplexek szintén aktívabbak, mint a négyes koordinációs számúak, azaz a réz(II)ion körüli torzult geometria szintén fontos a katalitikus aktivitás szempontjából. Ugyancsak hatékonyabbnak bizonyultak a kétmagvú komplexek az egymagvúakhoz képest. Ez egyrészt a geometria torzulásával, másrészt az O<sub>2</sub> kötődés és az elektrontranszfer folyamatok elősegítésével magyarázható<sup>[131]</sup>.

Vizsgáltak olyan komplexeket is, melyek dimer szerkezetűek ugyan, de nem imidazolhíd, hanem viszonylag merev szerkezetű lánc köti össze a két fémiont koordináló csoportot (27/d. ábra). Ezen komplex esetén is jelentős enzimatis hatást találtak, és a kinetikai vizsgálatok alapján ugyanazt a reakciómechanizmust lehetett felállítani, mint a SOD enzimre<sup>[162]</sup>.



Ezen SOD-aktivitással bíró komplexek gyógyszerként való alkalmazásához a komplexet rendszerint valamilyen polimer hordozóhoz, pl. polietilén-glikolhoz (PEG) kötik, mely által növelhető a készítménynek a szervezetben való tartózkodási ideje, az oldhatósága és a stabilitása, ugyanis a polimer megakadályozza a fehérje aggregálódását. Ezáltal a polimer hordozó növeli a gyógyszer hatékonyságát<sup>[163]</sup>.

### 3. Kísérleti körülmények, vizsgálati módszerek

#### 3.1. pH-potenciometria

Potenciometriás módszerrel határoztuk meg a ligandumok protonálódási állandóit és a réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplekek stabilitási állandóit. A méréseket pHM 84 (Radiometer) digitális pH-mérővel és 6.0234.100 (Metrohm) kombinált üvegelektóddal végeztük. A pontosan ismert ( $\sim 0,2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) koncentrációjú, karbonátmentes (karbonáttartalom  $< 0,2 \%$ ) KOH-oldatot Dosimat 715 (Metrohm) automata bürettával adagoltuk.

Valamennyi, általunk vizsgált rendszert vizes oldatban tanulmányoztuk. A pH-mérőt minden méréssorozat előtt kétpontos kalibrációval, a vízionszorzat ( $pK_w = 13,756$  a saját mérési körülményeink között) és  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát oldat [melynek pH-ja 298 K ( $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ) hőmérsékleten  $4,005\text{--}4,008$ ] segítségével kalibráltuk. Emellett minden titrálás előtt  $0,050 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát oldattal puffereltük (egypontos kalibráció). Az állandó hőmérsékletet ultratermosztáttal, a levegő kizárását, valamint a kevertetést pedig katalitikusan tisztított argongáz átbuborékolásával biztosítottuk.

A minták térfogata  $1,50\text{--}10,00 \text{ cm}^3$  között változott, a rendelkezésünkre álló ligandum mennyiségétől függően. A ligandumok kezdeti teljes koncentrációja a mintákban  $4\cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  volt. A ligandumok koncentrációját beméréssel vagy – ahol pontos tömegmérésre nem volt lehetőség a ligandum viszkózus, olajos állaga vagy higroszkópos tulajdonsága miatt – a potenciometriás titrálási görbe ekvivalenciapontjai alapján, számítógépes program segítségével határoztuk meg.

A fémion/ligandum arányt 1:3 és 2:1 között változtattuk. A titrálások során fellépő térfogatnövekedést a kiértékelésre használt számítógépes program figyelembe vette. A minták állandó ionerősségét ( $0,20 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) megfelelő mennyiségű,  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentrációjú KCl-oldatnak a titrálendő oldathoz való hozzáadásával biztosítottuk. Ez az ionerősség jó pontossággal megegyezik a KOH titrálóoldat 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 diffúziós potenciál kiküszöbölésére és a mért pH-értékből a hidrogénion-koncentráció ( $[\text{H}^+]$ ;  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) számolására az Irving és munkatársai által javasolt módszert<sup>[105]</sup> alkalmaztuk.

A potenciometriás mérések kiértékelését számítógépes program segítségével végeztük el. A ligandumok protonálódási állandóit és a komponensek (L és H) teljes koncentrációját SUPERQUAD programmal<sup>[164]</sup> határoztuk meg. A komplexek stabilitási állandóit PSEQUAD program segítségével<sup>[165]</sup> számoltuk, mely Sayce és Perrin SCOGS nevű programjának Zékány László és Nagypál István által továbbfejlesztett változata.

## Az oldategyensúlyi számítások elméleti alapjai:

Az egyensúlyi rendszerekre felírható a tömeghatás törvénye:

$$(8) \quad \begin{aligned} C_1 &= \sum_{j=1}^n \alpha_{j1} \cdot [S_j] = \sum_{j=1}^n \alpha_{j1} \cdot \beta_j \cdot \prod_{i=1}^k [c_i]^{\alpha_{ji}} \\ &\vdots \\ C_k &= \sum_{j=1}^n \alpha_{jk} \cdot [S_j] = \sum_{j=1}^n \alpha_{jk} \cdot \beta_j \cdot \prod_{i=1}^k [c_i]^{\alpha_{ji}} \end{aligned}$$

aholn: a rendszerben lévő molekulafajták száma (beleértve a komponenseket is)

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

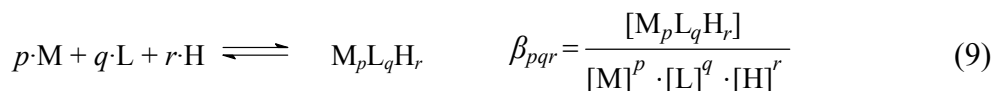
k: a rendszerben lévő komponensek száma. Az általunk vizsgált rendszerekben 2 (pK meghatározás), 3 (törzsrendszerek) vagy 4 (vegyes ligandumú rendszerek) komponens fordul elő. Ezek a komponensek az oxóniumion (vagy hidrogénion, H), a ligandum(ok) teljesen deprotonált formája (L, vagy L' és L'') és a fémion (M).

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

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

$\beta_j$ : a különféle molekulafajták bruttó stabilitási állandója (stabilitási szorzata; lásd (9) egyenlet). A komponensek stabilitási állandója mindig egységnyi.

A ligandum protonálódási állandói és a komplexek stabilitási állandói a következő általános egyensúlyi összefüggéssel jellemezhetők:



Oldószerként vizet tartalmazó rendszerekben – melyeket mi is tanulmányoztunk – a hidroxidion sztöchiometriai száma hidrogénre  $-1$ , az összes többi komponensre  $0$ . Ebből következően a hidroxidion képződési állandója megegyezik a vízionszorozattal ( $K_w = [H^+] \cdot [OH^-]$ ), melynek értéke a mi mérési körülményeink között (298 K,  $I = 0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ KCl}$ )  $pK_w = 13,756$ . Ennek a figyelembe vétele szükségessé válik a titrálás lúgos tartományában.

A PSEQUAD program képes ugyanazon rendszer különböző fémion/ligandum arányoknál és különböző teljes koncentrációknál kapott mérési adatait, valamint különböző módszerekkel (pH-potenciometria, UV-látható spektrofotometria, CD és NMR spektroszkópia) kapott adatokat együtt kiértékelni.

A kapott stabilitási állandó értékek ( $\beta_j$ ) alapján a rendszerre jellemző koncentrációeloszlási görbéket SED és CED program<sup>[166]</sup> segítségével szerkesztettük meg, melynek Windows alatt futó változata a MEDUSA. A fémiont is tartalmazó – három- vagy négykomponensű – rendszerek esetében csak azoknak a részecskéknek a mólórt vagy molszázalék [% (n/n)] szerinti eloszlását tüntettük fel, melyekben a fémion sztöchiometriai száma ( $\alpha_{ji}$ )  $0$ -tól különböző. A mólórtet, illetve a molszázalék értékeket állandó fémion/ligandum arány esetében a pH, vagy állandó pH-érték mellett a fémion/ligandum arány függvényében ábráztuk.

### 3.2. UV-látható spektrofotometria

Spektrális vizsgálatokat réz(II)- és nikkell(II)komplexek esetében végeztünk, 250–800, illetve 190–1100 nm-es hullámhossztartományban. A spektrumokat Hewlett Packard HP 8453 típusú egysugaras fotométeren, 1,000 cm-es küvettában vettük fel különböző fémion/ligandum arányoknál, általában a potenciometriás számolási eredmények alapján megszerkesztett eloszlásgörbék maximumainak megfelelő pH-értékeken. A fémkomplexek spektrumának vizsgálatához szükség volt a ligandum spektrumának a felvételére is, mivel ezen ligandumoknak van elnyelési sávja a közeli UV-tartományban.

A kapott spektrumok elemzését egyrészt a gyártó cég által biztosított kezelő- és kiértékelő szoftverrel végeztük, másrészt itt is végeztünk számolásokat a PSEQUAD program<sup>[165]</sup> segítségével is. Ez utóbbi módon az egyes komplexek spektrumát külön-külön meg tudtuk adni.

**Réz(II)komplexek**<sup>[167]</sup> ( $d^9$  elektronszerkezet):

A réz(II)komplexek spektroszkópiái sajátságait különösen sokan vizsgálták már, így rengeteg irodalmi adat áll rendelkezésünkre. Ennek ellenére általános törvényszerűségeket nehéz levonni a koordinációs módok sokfélesége, a spektrumot befolyásoló számos tényező miatt.

**4. táblázat:** Réz(II)komplexek látható abszorpciós spektroszkópiás paramétereinek a függése a koordinált nitrogének számától

Koordinált nitrogének száma	$\lambda_{\max}$ [nm]	$\epsilon_{\max}$ [ $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]
1	680–730	30–60
2	620–670	40–120
3	540–590	100–150
4	500–530	120–200

A tetragonálisan torzult oktaéderes szerkezetű komplexekben gyenge és erős terű ligandumokkal különbözőképpen ugyan, de mindkét esetben négyfelé hasad az energiadiagram (a  $d^9$  elektronok energiaszintje oktaéderes térben kétfelé hasad a ligandum krisrálytérerősségének 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, nevezetesen:  $d_{xz}(d_{yz}) \rightarrow d_{x^2-y^2}$ ;  $d_{xy} \rightarrow d_{x^2-y^2}$ ;  $d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2}$ . Ezek az átmenetek gyakran összeolvadnak egyetlen sávzá, és az energiájuk, illetve az intenzitásuk erősen függ attól, hogy a ligandumnak hány donoratoma koordinálódott a fémionhoz (lásd: 4. táblázat)<sup>[168]</sup>.

Ezen kívül a  $\lambda_{\max}$  értékeket befolyásolja a komplex pontos geometriája és a donoratomok kémiai minősége is. Először Billo<sup>[169]</sup> alkotott meg egy empirikus összefüggést a réz(II)komplexek várható abszorpciós maximumáról. Megállapította, hogy jelentős hatásuk csak az ekvatoriális síkban lévő koordinálódó donoratomoknak

van a hullámszám ( $\nu[\text{cm}^{-1}]$ ) értékekre, valamint hogy az egyes donoratomokhoz rendelhető hatás additív. A lehetséges donorcsoportokat különböző típusokba sorolta, úgymint peptidnitrogén (azaz töltéssel rendelkező nitrogén-donoratom), aminos-nitrogén, piridin/imidazolnitrogén, karboxiláttoxigén, víz, karboniloxigén és hidroxidion. A donoratomok kémiai minőségének a hatását később Sigel és Martin<sup>[22]</sup>, valamint Pettit és munkatársai<sup>[168]</sup> vizsgálták, már jóval nagyobb számú komplex spektroszkópiai adatainak a figyelembe vételével. Egy újabb munkában Prenesti és munkatársai<sup>[170]</sup> a (10)–(12) egyenletekben szereplő együtthatókat tovább pontosították, valamint megadták az egyes együtthatókra számolható hibákat is. Emellett az egyenleteikbe az alkoholos hidroxilcsoport koordinálódásának a hatását is tanulmányozták az egyéb oxigéndonorokhoz képest. Glicintartalmú peptidekre<sup>[169]</sup>:

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

Egyéb aminosavakat is tartalmazó származékok esetében<sup>[22]</sup>:

$$\lambda_{\max} = \frac{10^3}{0,294(\text{CO}/\text{H}_2\text{O}) + 0,346(\text{COO}^-) + 0,460(\text{NH}_2) + 0,494(\text{N}=\text{O}) + 0,434(\text{N}(\text{Im}))} \quad (11)$$

Sokkal kényelmesebben alkalmazható az előző két egyenlet, ha csak azokat a koordinációs helyeket vesszük figyelembe, ahol a  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{OH}^-$  vagy karbonil-oxigén más koordinálódó csoportokkal van helyettesítve<sup>[168]</sup>:

$$\lambda_{\max} = \frac{10^3}{1,18 + 0,052(\text{COO}^-) + 0,166(\text{NH}_2) + 0,200(\text{N}=\text{O}) + 0,140(\text{N}(\text{Im}))} \quad (12)$$

(A (10)–(12) egyenletekben "CO" jelöli a karbonil-, "H<sub>2</sub>O" a víz-, "COO<sup>-</sup>" a karboxiláttoxigén, "NH<sub>2</sub>" az aminos-, "N=" az amid- és "N(Im)" az imidazolnitrogén ekvatoriális koordinációját.)

Azaz a vizes oldatban jelenlévő  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  ion négy ekvatoriális vízmolekulájának oxigén- vagy nitrogéndonorokkal történő szubsztitúciója az abszorpciós maximumot a rövidebb hullámhosszak felé tolja el. Ez az effektus különösen nitrogéndonoroknál jelentős. A kvantitatív összefüggés megadását az nehezíti, hogy az effektus nagysága a donoratom kémiai természetén kívül függ a kelátgyűrű méretétől, valamint a ligandumhoz kapcsolódó, de a koordinációban részt nem vevő szubsztituensektől is. Ezeket a hatásokat figyelmen kívül hagyva a (10)–(12) közelítő egyenletek 2%, azaz  $\pm 10$ – $12$  nm pontossággal adják meg a várható  $\lambda_{\max}$  értékét. Emellett ezek az összefüggések nem alkalmazhatóak abban az esetben, ha kelátképződés van az egyik axiális pozícióval. Az axiális koordináció ugyanis a  $\lambda_{\max}$  értékeinek kismértékű eltolódását eredményezi a nagyobb hullámhosszak felé (vörös eltolódás).



### Nikkel(II)komplexek<sup>[167]</sup> ( $d^8$ elektronszerkezet):

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

A 6-os koordinációs számú, oktaéderes geometriájú komplexeknek a közeli infravörös, a látható és a közeli ultraibolya tartományban három spinmegengedett  $d-d$  átmenete van, de mindhárom elég gyenge ( $\epsilon_{\max} < 30 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Ezek az átmenetek a Laporte-szabály értelmében szigorúan véve tiltottak, de a ligandumok hatására felhasadt  $d$ -pályák között már lehetségessé válnak. Ezen átmenetek hullámhossztartományai:  $\lambda_1 = 1430\text{--}770 \text{ nm}$  ( ${}^3A_2 \rightarrow {}^3T_2$  termék közötti átmenet);  $\lambda_2 = 910\text{--}500 \text{ nm}$  ( ${}^3A_2 \rightarrow {}^3T_1(F)$  átmenet);  $\lambda_3 = 520\text{--}370 \text{ nm}$  ( ${}^3A_2 \rightarrow {}^3T_1(P)$  átmenet). Ezek mellett a sávok mellett létezik egy még kisebb intenzitású, spintiltott ( ${}^3A_2 \rightarrow {}^1E$ ) átmenet is, amely általában csak vállként jelenik meg valamelyik csúcson. Növeli a  $d-d$  átmenetek intenzitását, hogy a fémion  $d$ -pályái és a ligandum  $p$ -pályái még erősen ionos ligandumok esetén is némileg keverednek, így a  $d-d$  átmenetek bizonyos mértékig  $d-p$  átmenet jellegűek. Ugyancsak növeli a  $d-d$  átmenetek intenzitását, ha a komplex szimmetriájában valamilyen torzulás következik be (Jahn-Teller hatás). Emellett a komplex geometriájának tetragonális torzulása a középső,  $\lambda_2$  sáv felhasadását eredményezheti.

Szabályos oktaéderes komplexek esetében, ahol mind a három átmenethez tartozó sáv látható, az Orgel-diagram megszerkesztésével vagy a komplexhez tartozó Racah-paraméterek (10Dq és B) számolásával kaphatunk információt:

$$v_1 = 1/\lambda_1 = 10Dq \quad (13)$$

$$v_2 = 1/\lambda_2 = 7,5 \cdot B + 15 \cdot Dq - 0,5 \cdot (225 \cdot B^2 + 100 \cdot Dq^2 - 180 \cdot Dq \cdot B)^{1/2} \quad (14)$$

$$v_3 = 1/\lambda_3 = 7,5 \cdot B + 15 \cdot Dq + 0,5 \cdot (225 \cdot B^2 + 100 \cdot Dq^2 - 180 \cdot Dq \cdot B)^{1/2} \quad (15)$$

A 4-es koordinációs számú, tetraéderes komplexek elnyelése már sokkal intenzívebb ( $\epsilon_{\max} = 10^2\text{--}10^3 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). A látható sáv hullámhossz-tartománya 500–900 nm. 4-es koordinációs számmal gyakran képződnek diamágneses sajátságú, síknégyszetes geometriájú komplexek is, különösen erős terű ligandumokkal való kölcsönhatásban (pl. amidnitrogént tartalmazó peptidekkel). Ezek könnyen alakulnak ki más geometriájú komplexekből. Az ilyen szerkezetű komplexek 400–550 nm körül adnak egy elég intenzív sávot ( $\epsilon_{\max} = 50\text{--}500 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Egy második, még intenzívebb sáv található 430 nm alatt, amely gyakran töltésátviteli eredetű. Mivel ezek a komplexek diamágneses sajátságúak (vagyis a nyolc  $d$ -elektronjuk párosítva helyezkedik el a négy alacsonyabb energiájú  $d$ -pályán), így vizsgálhatók NMR spektroszkópiával is.

### 3.3. Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia<sup>[171]</sup>

Optikai forgatóképességet (vagy cirkuláris kettőtörést<sup>2</sup>) mutatnak azok a molekulák, melyek polarizálhatóságuk anizotrópiája miatt a jobbra, illetve a balra cirkulárisan polarizált fényre nézve különböző törésmutatójúak. Ha egy ilyen közegen síkban polarizált fényt bocsátunk át, a fény polarizációs síkja elfordul. Az  $[\alpha]$  elfordulás mértéke a törésmutatón kívül függ az oldószertől és a hőmérséklettől, valamint a mérés hullámhosszától. A hullámhossz függvényében felvehetjük az ORD- (optikai forgatóképességi diszperzió-) görbéket.

Az optikailag aktív anyagokban a jobbra és a balra cirkulárisan polarizált sugárzás nemcsak különböző törésmutatóval, hanem különböző abszorpciós koefficienssel is jellemezhető. Ennek következtében a kilépő sugárzás elliptikusan polarizált lesz. A síkban polarizált fény két összetevőjének különböző abszorpcióját cirkuláris dikroizmusnak<sup>3</sup>, vagy felfedezőjéről Cotton-effektusnak nevezik. A kétféle fénysugár abszorpciójának különbségét ( $\Delta\varepsilon = \varepsilon_{\text{bal}} - \varepsilon_{\text{jobb}}$ ) a hullámhossz ( $\lambda$ ) függvényében ábrázolva megkapjuk a cirkuláris dikroizmus görbét. A CD görbe maximumai, illetve minimumai az elektrongerjesztési abszorpciós spektrum maximuma helyén, illetve ahhoz igen közel jelentkeznek, és viszonylag keskeny Gauss-görbék, ellentétben az elektrongerjesztési spektrummal.

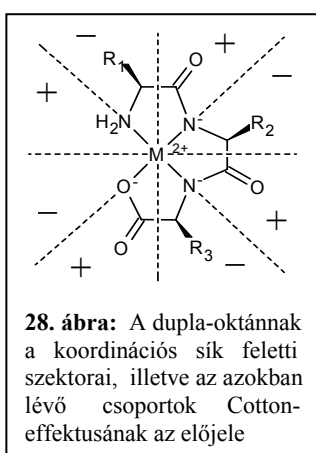
Optikailag aktívak az úgynevezett diszimmetrikus molekulák, azaz amelyek másodrendű szimmetriaelemet (tükörsíkot ( $\sigma$ ), inverziós centrumot ( $i$ ) vagy tükrözéscsfordatást ( $S$ )) nem tartalmaznak. A fémkomplexek optikai aktivitása a komplex molekula aszimmetriájától vagy a ligandum saját – a komplexképződés előtt is meglevő – aszimmetriájától származhat. A komplex molekula optikai aktivitását okozhatja a központi atom aszimmetriája vagy a komplexképződés hatására a ligandum donoratomján kialakuló aszimmetria (pl. Meisenheimer-komplex). A koordináció hatására nem csak egy donoratom, hanem egy egész ligandum is aszimmetrikussá válhat, ami szintén a komplex optikai aktivitását eredményezi. Ha a komplex optikai aktivitása a komplexképződés alatt alakul ki, vagyis a ligandum maga optikailag inaktív volt, akkor a komplexképződéssel a két enantiomer racém elegyét kapjuk, melyekhez ellentétes előjelű, azonos nagyságú Cotton-effektus tartozik, amik így kioltják egymást. Ezeket az enantiomerpárokat csak kinetikailag inert komplexek esetében lehet elválasztani és vizsgálni.

---

<sup>2</sup> A "kettőtörés" szó kétféle törést jelent. Ha nem áll előtte a "cirkuláris" jelző, akkor olyan anyagokra (kristályokra) vonatkozik, amelyek törésmutatója attól függ, hogy milyen irányból érkezik a rajtuk áthaladó fénysugár.

<sup>3</sup> A "dikroizmus" szó kétféle elnyelést ("kétszínűséget") jelent. Ha nem áll előtte a "cirkuláris" jelző, akkor a síkban poláros fényre vonatkozik: egyszerű dikroizmusról beszélünk akkor, ha egy anyag két, egymásra merőleges síkban lineárisan poláros fényt eltérő mértékben nyel el. Az erős dikroizmust mutató anyagok polárszűrőnek alkalmasak.

A cirkuláris dikroizmus spektroszkópia réz(II)-, nikkel(II)- és palládium(II)-peptid-komplexek szerkezetének a felderítésében széles körben használt módszer<sup>[167, 172]</sup>. Az egyszerű di- és tripeptidkomplexekkel kapcsolatban számos irodalmi adat áll rendelkezésünkre<sup>[173-177]</sup>. Az ezekből levonható legfontosabb következtetéseket Sigel és Martin foglalta össze<sup>[22]</sup>. Tripeptidek esetén erősen koordinálódó oldallánc hiányában valamennyi rendszerben nagy stabilitású,  $[MLH_2]^-$  összetételű, tetragonális komplexek alakultak ki a terminális aminocsoporton, két deprotonált amidnitrogénon és a karboxiláttoxigénon keresztül (lásd: 2.1.1. fejezet, 5. oldaltól). Ha a ligandum nem tartalmaz egyéb koordinálódó donorcsoportot, akkor ezen komplexek CD spektruma jól értelmezhető az ún. dupla-oktán- (vagy hexadekán)-szabállyal: Ezen szabály szerint a komplex koordinációs síkja feletti és alatti teret 8-8 szektorra lehet osztani



**28. ábra:** A dupla-oktánnak a koordinációs sík feletti szektorai, illetve az azokban lévő csoportok Cotton-effektusának az előjele

oly módon, hogy két sík átmegy a fémion koordinációs kötése által meghatározott egyeneseken és merőleges a koordinációs síkra, míg a másik kettő ezekkel  $45^\circ$ -os szöveget zár be és szintén merőleges a koordinációs síkra. Az ezen szektorokban lévő optikailag aktív csoportok Cotton-effektusának az előjele minden komplex esetén megegyezik (28. ábra), és két szomszédos szektorban az előjel mindig ellentétes. Mivel az  $[MLH_2]^-$  komplexben a koordinált tripeptid mindhárom oldallánca ( $-R_1$ ,  $-R_2$  és  $-R_3$ ) a 16 részre osztott tér negatív előjelű tartományába esik, így ezen komplexek  $d-d$  átmeneteire mindig negatív Cotton-effektus jellemző. Az  $[MLH_2]^-$  komplex Cotton-effektusának a nagyságára érvényes az additivitási szabály, azaz ha a tripeptidben tetszőleges helyzetben nemkoordinálódó oldalláncok ( $-R$ ) találhatóak, akkor a komplex várható CD spektruma a (16) egyenlet alapján számolható:

$$\Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Y-Z} = \Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Gly-Gly} + \Delta\epsilon_{\lambda}^{Gly-Y-Gly} + \Delta\epsilon_{\lambda}^{Gly-Gly-Z} \quad (16)$$

ahol  $\Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Y-Z}$  : az X-Y-Z tripeptid  $[MLH_2]^-$  összetételű komplexének egy adott ( $\lambda$ ) hullámhossznál mért Cotton-effektusa.

A másik fontos megállapítás, hogy a komplexben különböző helyzetben lévő ( $R_1$ ,  $R_2$  vagy  $R_3$ ), de azonos kémiai minőségű, optikailag aktív csoportok különböző nagyságú Cotton-effektust eredményeznek a következő sorrend szerint:

$$\Delta\epsilon_{\lambda}^{Gly-X-Gly} > \Delta\epsilon_{\lambda}^{Gly-Gly-X} > \Delta\epsilon_{\lambda}^{X-Gly-Gly} \quad (17)$$

Ez azzal magyarázható, hogy a központi fémionhoz mint kromofor csoporthoz kapcsolódó különböző donorcsoportok nem azonos hatásfokkal továbbítják a tripeptid  $-R$  oldalláncai által hordozott királis információt: a koordinálódó amidnitrogén esetében a leghatékonyabb ez a folyamat, ennél gyengébb a peptidkötésen ( $CON^-$ ) keresztül, még gyengébb a karboxiláttoxigénon, és a legkevésbé hatékony az

aminonitrogénen keresztül. Emellett minél távolabb van egy kiralitáscentrum a kromofor csoporttól, annál gyengébb efféktust eredményez.

A CD méréseket a *Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén* végeztük *Dr. Kurtán Tibor* és *Prof. Antus Sándor* közreműködésével. A spektrumokat JASCO-810 spektrométeren, szobahőmérsékletű vizes oldatokban vettük fel különböző pH-értékeken, illetve fémion/ligandum arányoknál. 0,1 és 1 cm-es úthosszúságú kuvettákat használtunk. Az oldatok koncentrációját úgy állítottuk be, hogy az abszorbancia 0,6–1,0 között legyen.

A kapott CD spektrumok elemzését egyrészt a gyártó cég által biztosított kezelő- és kiértékelő szoftverrel végeztük, másrészt itt is végeztünk számolásokat a PSEQUAD program<sup>[165]</sup> segítségével is. Ez utóbbi módon az egyes komplexek spektrumát külön-külön meg tudtuk adni abban az esetben is, ha az semmilyen fémion/ligandum arány és pH esetén nem volt 100%-ban jelen a rendszerben<sup>[178]</sup>.

### 3.4. <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópia

Valamennyi ligandum esetén készült <sup>1</sup>H-NMR spektrum, egyrészt a ligandum azonosítása, másrészt a tisztaságának az ellenőrzése céljából. Emellett azon ligandumok esetében, ahol a makroszkópikus stabilitási állandók egymáshoz közeli értékek, a pH függvényében végzett NMR mérések alapján lehetőség van a protonálódási mikroállandók és az izomerizációs állandók számolására is<sup>[179]</sup>, azaz megadhatjuk, hogy egy adott ligandum-protonáltság esetén a proton melyik csoporton hány százalékos valószínűséggel helyezkedik el, és mennyi az egyes csoportok jellemző protonálódási állandó értéke.

Cink(II)komplexek esetében a részecskék szerkezetének a felderítésére nem alkalmas a spektrofotometria és CD spektroszkópia, mivel ezeknek a komplexeknek a látható tartományban nincs fényelnyelése. Ezen módszer helyett itt számításba jöhet az NMR spektroszkópia, melyben az egyes atomokat (az általunk is alkalmazott <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópia esetén a hidrogént) tartalmazó csoportokra jellemző jelek spektrumban való megjelenéséből és kémiai eltolódás ( $\delta$ ) értékéből, valamint a jelek felhasadásából következtethetünk a ligandum különböző csoportjainak protonáltságára, illetve fémionhoz való koordinálódására.

A szilárd ligandumokat 99,8 %-os izotóptisztaságú D<sub>2</sub>O-ban oldottuk fel, és a fém sókat is szilárd formában adtuk a rendszerhez. Az oldatok pH-ját DCI- és NaOD-oldatok segítségével állítottuk be a kívánt értékre. A <sup>1</sup>H-NMR spektrumokat BRUKER AM360-as típusú NMR spektrométerrel vettük fel, standardként TSP-t (TSP = nátrium-3-trimetil-szilil-propánszulfonát) használva ( $\delta_{\text{TSP}} = 0$  ppm). A kapott spektrumokat az NMR spektrométer saját szoftverjével, illetve az 1D-WinNMR nevű, Windows alatt futó program segítségével értékeltük.

### 3.5. Mágneses momentum mérések

A réz(I) ( $d^{10}$ ) és a ferromágnesesen csatolt réz(II) diamágneses, míg a réz(II) ( $d^9$ ) paramágneses viselkedésű. Ezért a réz(II)ionnál ferromágneses csatolásra (spin-spin kicserélődésre) következtethetünk mágneses mérések alapján. Az Evans-módszer alapján<sup>[180, 181]</sup> oldatfázisban, NMR készülékkel tanulmányozhatók a mágneses tulajdonságok. Az eljárás lényege, hogy egy diamágneses és egy paramágneses környezetben lévő indikátor proton (jelen esetben az oldatokban levő 2–2 % tercierbutanol metilprotonjainak) kémiai eltolódása különböző: a paramágnesesebb környezetben lévő protonok jele nagyobb frekvenciáknál jelentkezik. Az oldott anyag mágneses szuszceptibilitását ( $\chi$  [ $\text{m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$ ]) a következő, (18) egyenlet adja meg:

$$\chi = \frac{C_1 \cdot \Delta f}{f \cdot m} + \chi_0 + \frac{\chi_0 (\rho_0 - \rho_s)}{m} \quad (18)$$

ahol  $\Delta f$ : a frekvenciakülönbség a két metilproton jel között  
 $f$ : az a frekvencia, amelyen a protonfrekvenciát mérjük  
 $m$ : az oldat tömegkoncentrációja [ $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$  vagy  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ]  
 $\chi_0$ : az összehasonlító oldat molszuszeptibilitása  
 $\rho_0$  és  $\rho_s$ : az oldószer és a vizsgált oldat sűrűsége

(Az egyenletben szereplő  $C_1$  állandó értéke a különböző irodalmakban nem egységes.) Erősen paramágneses oldatok, pl. átmenetifém-komplexek esetében a (18) egyenlet utolsó két tagja elhanyagolható.

Paramágneses anyagoknál a molszuszeptibilitás ( $\chi_M$  [ $\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ]) értéke:

$$\chi_M = \frac{\chi \cdot 10^{-3} \cdot m}{c} = \frac{\mu_{\text{eff}}^2 \cdot N \cdot \mu_0 \cdot \mu_B^2}{3kT} \quad (19)$$

ahol  $c$ : az oldat molkoncentrációja (molaritása [ $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ])  
 $\mu_{\text{eff}}$ : a Bohr-magnetonban kifejezett mágneses momentum [B.M.]  
 $N$ : Avogadro-állandó ( $= 6,02214 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ )  
 $\mu_0$ : a vákuum permeabilitása ( $= 1,2566370 \cdot 10^{-6} \text{ J} \cdot \text{s}^2 \cdot \text{C}^{-2} \cdot \text{m}^{-1}$ )  
 $\mu_B$ : Bohr-magneton ( $= 9,27400899 \cdot 10^{-24} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$ )  
 $k$ : Boltzmann-állandó ( $= 1,38066 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$ )  
 $T$ : az abszolút hőmérséklet [K]

Az előző, (18) és (19) egyenleteket összevonva a mágneses momentum értéke:

$$\mu_{\text{eff}} = \sqrt{\frac{C_1 \cdot 3kT}{10^3 \cdot N \cdot \mu_0 \cdot \mu_B^2 \cdot f}} \cdot \sqrt{\frac{\Delta f}{c}} = C \cdot \sqrt{\frac{\Delta f}{c}} \quad (20)$$

A mágneses momentum ismeretében számolható az egy réz(II) centrumra jutó átlagos párosítatlan elektronok száma ( $N$ ) a (21) összefüggés segítségével:

$$\mu_{\text{eff}} = \sqrt{N \cdot (N+2)} \quad (21)$$

A kísérleti megvalósítás úgy történt, hogy a diamágneses réz(II) komplexet is tartalmazó oldatot egy normál NMR-csőbe, az összehasonlító oldatot (2 % tercierbutanol tartalmú  $\text{D}_2\text{O}$ -oldat) egy kapillárisba tettük, a kapillárist helyeztük az NMR-cső belsejébe és így vettük fel a minta  $^1\text{H}$ -NMR spektrumát. A kísérleti körülmények

megegyeznek a  $^1\text{H-NMR}$  spektroszkópiánál leírtakkal (38. oldal). Egy ismert mágneses momentumú minta spektrumát mérve meghatározhatjuk a  $C$  állandó értékét a saját mérési körülményeink között.

### 3.6. ESR spektroszkópia

Az elektronspin-rezonancia spektroszkópia fontos vizsgálati módszer olyan molekulák és ionok tanulmányozására, melyek párosítatlan elektront tartalmaznak, azaz paramágneses sajátságúak. Ilyenek a szerves szabad gyökök, egyes átmenetifém-komplexek, tripllett állapotú gerjesztett diamágneses molekulák vagy pl. a  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$  és  $\text{ClO}_2$  molekula. Külső mágneses tér jelenlétében ezeknek a molekuláknak a mágneses momentumai beállnak a tér irányába (ezt az irányt nevezzük általában  $Z$  iránynak), a térhez képest parallel vagy antiparallel módon. Ezen két beállítás arányát a Boltzmann-eloszlás adja meg ((22) egyenlet):

$$\frac{N_{\text{antiparallel}}}{N_{\text{parallel}}} = e^{-\Delta E/k} \quad (22)$$

Egy  $H$  indukciójú mágneses térben az elektronspin lehetséges energiaszintjei:

$$E_{m_s} = g_e \cdot \mu_B \cdot m_s \cdot H \quad (23)$$

ahol  $g_e$ : az elektron  $g$ -tényezője (= 2,00232)

$\mu_B$ : Bohr-magneton (=  $9,27401 \cdot 10^{-24} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$ )

$m_s$ : az elektron spinkvantumszáma

A (23) egyenlet értelmében a tér növelésével a parallel beállású elektron ( $m_s = +1/2$ ) energiája növekszik, az antiparallelé ( $m_s = -1/2$ ) csökken, az energiaszintek távolsága pedig  $\Delta E = g_e \cdot \mu_B \cdot H$ . Az NMR spektroszkópiához hasonló módon a spinhez kapcsolódó mágneses momentum a lokális mágneses térrel lép kölcsönhatásba, azaz a rezonancia feltétele:

$$h \cdot \nu = g_e \cdot \mu_B \cdot H_{\text{lokális}} = g_e \cdot \mu_B \cdot H \quad (24)$$

ahol  $h$ : a Planck-állandó (=  $6,625 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}^{-1}$ )

$\nu$ : a besugárzás frekvenciája

Ha teljesül a rezonanciafeltétel, erőteljes sugárzáselnyelés következik be. Az ESR spektroszkópiában azt mérjük, hogy milyen mágneses térenél jön létre rezonancia a részecskék és az alkalmazott monokromatikus sugárzás között. Körülbelül 0,3 T indukciójú mágneses tér esetén a rezonanciához mintegy 10 GHz ( $10^{10} \text{ Hz}$ ) frekvenciájú és 3 cm hullámhosszú elektromágneses tér szükséges, azaz ezen állapotok közötti energiaátmenet a mikrohullámú tartományba esik. A  $g$ -tényező és a  $g_e$  érték közötti eltérés attól függ, hogy az alkalmazott tér milyen lokális elektronáramokat indukál a vizsgált komplexben, így az eltérés értéke információt szolgáltat az elektronszerkezetről.

Az ESR spektrumok legfontosabb sajátsága a hiperfinom szerkezet, vagyis az egyedi spektrumvonalak felhasadása komponensekre. A felhasadás oka a magok

mágneses momentumától származó mágneses tér hatása a párosítatlan elektronok mágneses momentumára. Általánosságban megállapíthatjuk, hogy egy I spinű mag a spektrumban  $(2I + 1)$  számú, azonos intenzitású vonalból álló finomszerkezetet hoz létre. A réz(II)ionra  $I = 3/2$ , azaz réz(II)komplexek esetén 4 vonalból áll a hiperfinom szerkezet. A hiperfinom kölcsönhatásnak két tényezője van:

- *dipólus-dipólus kölcsönhatás*: Olyan esetben lép fel, ha az elektron nem közelíti meg túlságosan a magot (pl. *p*-elektronok), s így az általa érzékelt tér olyan, mintha pontszerű dipólustól származna. A kölcsönhatás anizotróp, azaz nagysága és előjele függ a paraméneses centrumnak az alkalmazott térhez képesti orientációjától. Ezért ezt a kölcsönhatást csak szilárd, álló mintákban mérhetjük.
- *Fermi-féle kontakt kölcsönhatás*: Akkor lép fel, amikor a pontszerű dipólus-közelítés nem alkalmazható (pl. gömbszimmetrikus eloszlású *s*-elektronok esetén). A kontakt kölcsönhatás izotróp, független a gyök orientációjától.

Több vizsgálat mutatta korábban, hogy az ESR spektroszkópia igen jól használható spektroszkópai módszer réz(II)–peptid rendszerek vizsgálatára<sup>[182, 183]</sup>. Az ESR spektrumok hiperfinom szerkezete a komplexek kis szerkezetbeli különbségeinek a megállapítására is alkalmas<sup>[31]</sup>. A komplexre jellemző ESR spektrális paramétereket a spektrum alapján a következő, (25) és (26) összefüggések segítségével számoltuk:

$$g_{\parallel} = g_{\parallel}^0 \cdot \frac{H_0}{H_{\parallel}} \quad (25)$$

$$A_{\parallel} [\text{cm}^{-1}] = \frac{g_{\parallel} \cdot \mu_B \cdot a_{\parallel}}{h \cdot c} \quad (26)$$

ahol  $H_{\parallel}$ : a mintában mért mágneses térerő [Gauss]

$H_0$ : a standardra kapott mágneses térerő [Gauss]

$a_{\parallel}$ : parallel csatolási állandó [Gauss]

$c$ : a fénysebesség  $(= 2,99792458 \cdot 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1})$

Méréseinknél standardként difenil-pikril-hidrazint használtunk, melyre  $g_{\parallel}^0 = 2,0028$ . Az ESR spektrumok spektrális paramétereiből ( $A_{\parallel}$  és  $g_{\parallel}$ ), már ismert szerkezetű komplexek paramétereivel való összehasonlítás alapján a fémion körül kialakuló koordinációs módra, a koordinálódó atomok kémiai minőségére és a geometria torzulására lehet következtetni. Az ESR spektroszkópiában viszonylag keskenyebb csúcsok vannak, így több komplex együttes jelenléte esetén is lehetséges az egyes komplexek paramétereinek a számítása. Emellett az ESR spektrumuk intenzitásából monomer szerkezetek esetén a mőtörtjük is jól becsülhető.

Az ESR spektrumok párhuzamos tartományának a kiszélesedéséből, és az úgynevezett “X-band” tartományban található 7 jel megjelenéséből dimer vagy más oligomer szerkezetek jelenlétére lehet következtetni<sup>[184]</sup>. Dimer szerkezetek estében az ESR spektrum ( $g_{\perp}$  és  $D[\text{cm}^{-1}]$ ) alapján, a merőleges tartományból lehetőség van a réz–réz távolság ( $R_{\text{Cu-Cu}}$ ) számolására is a Stevens egyenlet segítségével<sup>[185]</sup>:

$$R_{\text{Cu-Cu}} = \sqrt[3]{\frac{0,325 \cdot g_{\perp}^2}{D} \cdot |1 - (3 \cdot \cos^2 \Theta)|} \quad (27)$$

A (27) egyenletben szereplő  $\Theta$  szög azt mutatja, hogy milyen szöget zár be egymással a réz(II)ionok koordinációs síkjára merőleges egyenes és a két fémion összekötő egyenes. Mivel erre a szögre egyéb mérésekből információ nem áll rendelkezésünkre, így ezt a szöveget a számolásoknál 0-nak vettük.

A réz(II)komplexek ESR méréseit Olaszországban végeztük *Dr. Daniele Sanna* és *Prof. Giovanni Micera* (Department of Chemistry, University of Sassari, Italy) közreműködésével. A spektrumokat Varian E-9 spektrométeren térpásztázó üzemmódban (9,15 GHz), etilén-glikol hozzáadása után 120 K hőmérsékletűre lefagyasztott mintákban vettük fel. Így a  $g$  tényező anizotróp jellegéből kifolyólag elkülöníthetők a párhuzamos és a merőleges tartományban kapott jelek. A mintákban a réz(II)ion koncentrációja  $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  volt. A mérésekhez tiszta  $^{63}\text{Cu}$  izotópot használtunk.

### 3.7. Tömegspektrometria (MALDI-TOF-MS)

Többszörös réz(II)komplexek vizsgálatára az eddig leírt spektroszkópiai módszerek csak korlátozottan alkalmasak, mivel itt egy molekulán belül is többféle kémiai környezetben lévő fémionok találhatóak. A pH-metriából számolható, egy ligandumra eső extra deprotonálódási lépések száma és a diamágneses (többszörös) komplexek abszorpciós spektruma alapján szintén nem lehet mindig megmondani, hogy a deprotonálódás a ligandumon (amid- vagy pirrolnitrogén deprotonálódás) vagy a fémionhoz koordinálódó vízmolekulán ment-e végbe (hidrolízis). Ennek az eldöntésében jelentős segítséget nyújt, ha ismerjük a komplex pontos molekulatömegét, melynek mérésére alkalmas módszernek bizonyult a MALDI-TOF-MS módszer. Emellett – a komplex fragmentálódását, hasadását vizsgálva – szerkezeti információ is nyerhető<sup>[186]</sup>.

#### "Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation" (MALDI):

Tömegspektroszkópiás méréseknél az első feladat a vizsgálni kívánt molekula ionos formába hozása. Erre (az "Electrospray Ionisation" (EI) mellett) a legkíméletesebb módszer a MALDI<sup>[187, 188]</sup>. Mindkét módszert széles körben alkalmazzák peptidok és proteinek, valamint fémkomplexeik vizsgálatára<sup>[189]</sup>.

A MALDI technikánál a komplexet egy megfelelő mátrixszal keverjük össze, mely elnyeli a gerjesztéshez használt lézersugarat, az energiáját átadja a vizsgált komplexnek és ezáltal ionizálja azt. Mátrixként olyan anyagot kell választani, melynek az alkalmazhatósági körülményei megegyeznek a komplex képződési körülményeivel, ugyanakkor nem szorítja ki a vizsgált ligandumot a fémion koordinációs szférájából és a komplexszel semmiféle reakcióba nem lép. Az alkalmazott mátrixok ezen sav-bázis



és komplexkémiai viselkedését korábbi irodalmi adatok alapján ellenőriztük. Két mátrix felelt meg ezen kritériumoknak, a 2,5-dihidroxi-benzoészav<sup>[190–192]</sup> és a 2-amino-5-nitro-piridin.

### "Time of Flight" (TOF):

Tömegspektrometriában a gerjesztés (ionizáció) során képződő ionokat az alapján választjuk el, hogy egy állandó feszültséget kapcsolva egy térre, azon a molekulák a tömeg/töltés ( $m/Z$ ) hányadosuk alapján különböző idő alatt érnek keresztül. A tömegspektrometriában használható detektoroknak az a célja, hogy ezt a tömeg/töltés szeparációt minél érzékenyebbé tegyék. Ehhez egyrészt a feszültségkülönbség pontos értéken tartására van szükség, másrészt arra hogy minél hosszabb út álljon a molekulák rendelkezésére a tömegspektrométer és a detektor között. Ezt az úthosszt a tényleges távolság megnövelése nélkül lehet növelni iontükrök alkalmazásával.

A réz(II)komplexekre kapott MALDI-TOF-MS mérések kiértékelésénél szem előtt kell tartani azt az irodalomban többek által leírt megfigyelés, miszerint a réz(II)ion legtöbbször (bár nem minden esetben<sup>[193]</sup>) csak réz(I)ionná való redukálódása után képes repülni. Ezt nemcsak komplexek esetében, illetve nemcsak réz(II)ionnal tapasztalták, hanem különböző fémion-polimer adduktok esetében is. Ezen polimerek vizsgálatához mindig szükséges valamilyen fémion, mely legtöbbször alkálifémion, ezüst(I) vagy réz(II) szokott lenni, ritkábban palládium(II), króm(II)-vagy cink(II)ion. +3 töltésű ionok esetében egyáltalán nem kaptak spektrumot, míg a +2 töltésű ionok estében (még az ilyen redoxitulajdonságokat egyébként nem mutató cink(II)ionnal is) az M(II)ion M(I)ionná való redukálódását tapasztalták MALDI körülmények között<sup>[194, 195]</sup>. Ez a redukció megváltoztatja az addukt vagy a komplex töltését (egy réz(II)ion réz(I)ionná történő redukciója 1 egységgel csökkenti a töltést), amit pozitív üzemmódban való detektálás esetén egy  $H^+$ - vagy alkálifémion kompenzál. Emellett a réz(II) síknégyzetesen torzult oktaédes geometriájú közepes vagy erős Lewis-sav, mely a nitrogén- és oxigéndonor ligandumokat kedveli, szemben a réz(I)ionnal, mely tetraédes geometriájú gyenge Lewis-sav, és a kén-, valamint foszfor-donorokat kedveli; így a redukció végbementével jelentősen változhat a komplexek stabilitása az oldatfázishoz képest.

A másik fontos megfigyelés az volt, hogy polimerek esetében is az átmenetifémionok adtak intenzívebb csúcsot a polimerekkel csak elektrosztatikus kölcsönhatást kialakító alkálifémionokkal szemben<sup>[196]</sup>. Emellett megfelelő, koordinálódásra alkalmas fémionokkal meghatározhatjuk a koordinálódó donorcsoportok számát is a polimerben<sup>[197]</sup>.

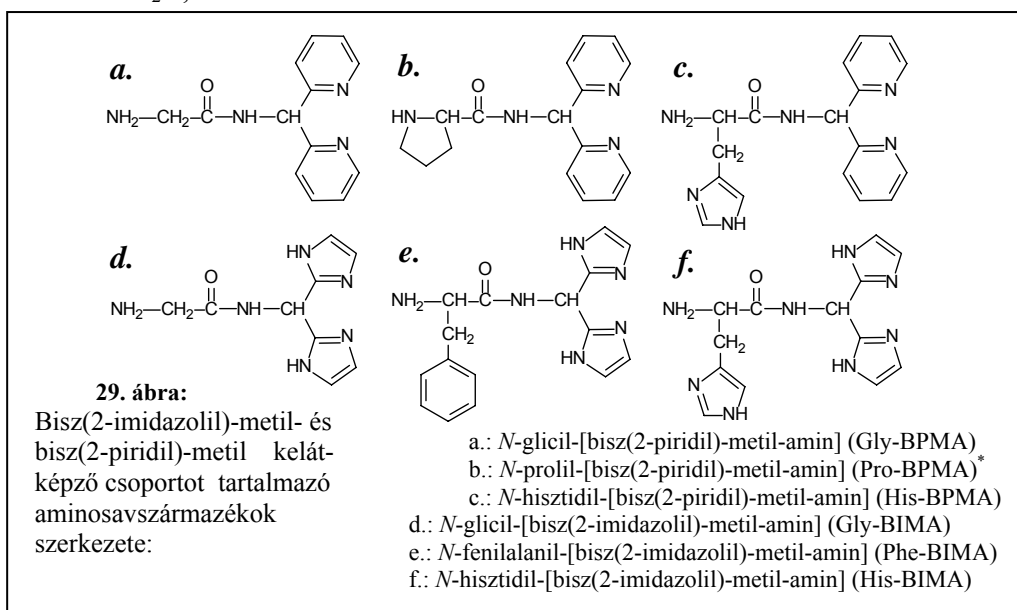
Szintén korábbi vizsgálatok azt állapították meg, hogy a MALDI elég kíméletes ionizációs módszer ahhoz, hogy a fémkomplexek a gerjesztés során ne bomoljanak el. A mérések szerint pl. a Förster és munkatársai által vizsgált, cink(II)–Bz-His-Gly-His-NH<sub>2</sub> rendszerben kialakuló dimer szerkezetű komplex is kimutatható ezzel a

módszerrel<sup>[198]</sup>. Azonban a fő molekulaion mellett általában megtalálhatjuk a fragmenseket is. Átmenetifém-ionok (vas(II), kobalt(II), nikkel(II), réz(II), cink(II)) hisztidinnel alkotott  $[MLH_1]^+$  komplexeire végzett szisztematikus vizsgálatok azt mutatták, hogy legkönnyebben a karboxilátcsoport lép ki a komplexből. Az ezt követő lépésben  $NH_3$ ,  $CH_2=NH$ ,  $HCN$  vagy redukált fémion hasad le<sup>[199]</sup>.

A méréseket a *Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén* végezte *Dr. Kéki Sándor* BRUKER Biflex III. tömegspektrométeren, LS nitrogén-lézer alkalmazásával ( $\lambda = 337 \text{ nm}$ ).

#### 4. Felhasznált vegyszerek, vizsgált ligandumok

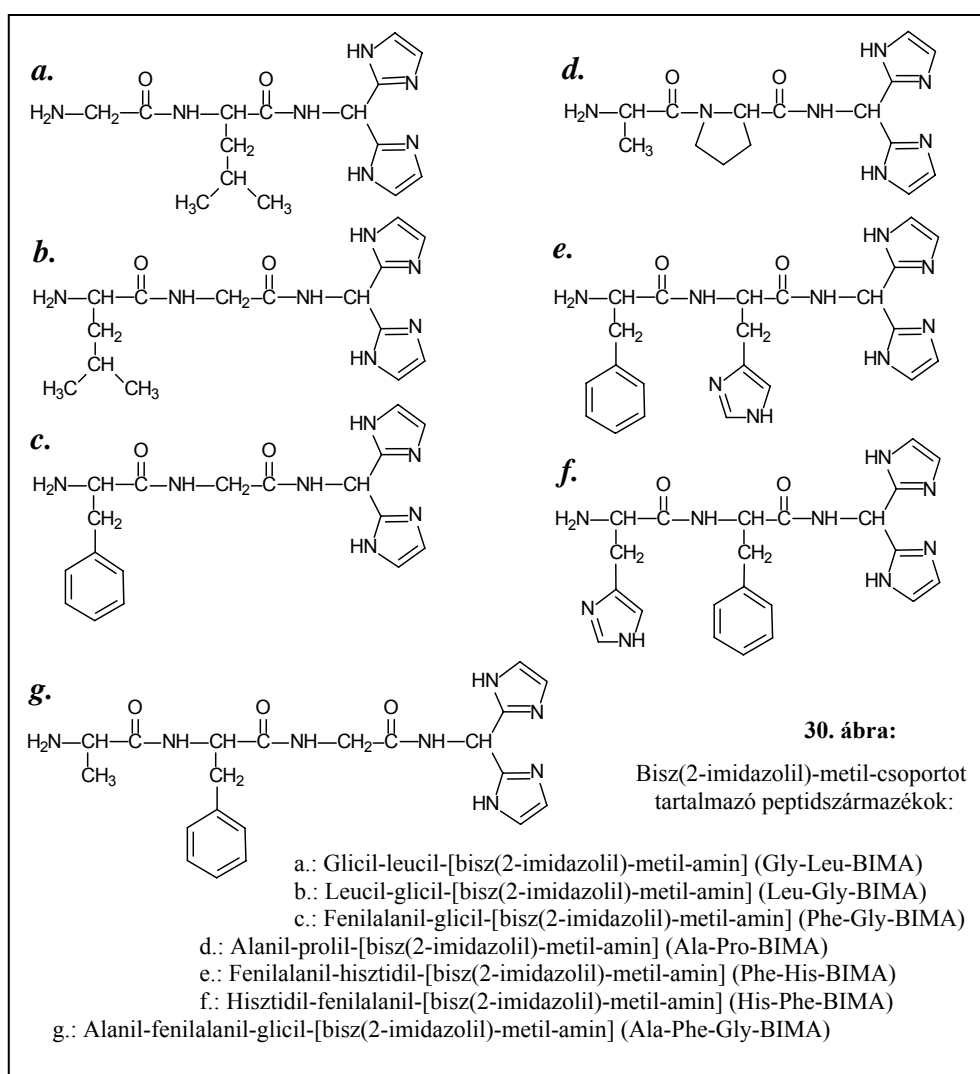
A  $CuCl_2$ ,  $NiCl_2$ ,  $ZnCl_2$ ,  $Zn(NO_3)_2$  és  $KOH$ -oldatokat a.l.t. minőségű, Reanal cég által gyártott vegyszerekből készítettük, a pontos fémion-koncentrációt gravimetriásan oxinát formában, a sav- és lúgkoncentrációt pH-potenciometriásan határoztuk meg. A  $^1H$ -NMR vizsgálatokhoz 99,8%-os izotóptisztaságú, az ISOTEC Inc. cég által előállított  $D_2O$ ,  $DCl$  és  $NaOD$ -oldatot használtunk.



\* A Pro-BPMA ligandummal kapott eredmények nem képezik ezen dolgozat témáját. Ezen ligandum vizsgálatát korábban végezték el Kutatócsoportunkban, azonban az általam vizsgált származékokkal való szerkezeti hasonlóság miatt a ligandum képletét itt tüntetem fel.

Valamennyi, általunk vizsgált ligandumot (29. és 30. ábra; 44. és 45. oldal) az *MTA Peptidkémiai Kutatócsoportjában*, illetve az *ELTE Szerves Kémiai Tanszékén* állították elő *Süliné Vargha Helga*, *Lennert Lídia* és *Likó Zsuzsanna*. Az alapvegyületek (BIM, BIMA, BIP<sup>[104, 106, 107, 200, 201]</sup> és BPMA<sup>[202, 203]</sup>) előállítását korábban közölték már az irodalomban. Az aminosav- és peptidszármazékok szintéziséhez szilárd- és oldatfázisú kapcsolási eljárásokat (azidos kapcsolás, savkloridos kapcsolás, vegyes anhidrides kapcsolás, karbodiimides kapcsolás, aktív észteres kapcsolás) alkalmaztak<sup>[100, 103, 104, 113]</sup>.

A vizsgált ligandumok azonosítására és tisztaságának az ellenőrzésére HPLC-t, NMR spektroszkópiát, VRK-t, olvadáspontmeghatározást, valamint pH-potenciometriát használtunk.



## 5. Kísérleti eredmények és értékelésük

### 5.1. Bisz(2-imidazolil)-metil- és bisz(2-piridil)-metil kelátképző csoportot tartalmazó aminosavszármazékok

#### 5.1.1. A ligandumok sav-bázis sajátságai

5. táblázat: Az általunk vizsgált aminosavszármazékok és néhány összehasonlító vegyület savi disszociációs állandói (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

ligandum	pK(-COOH)	pK <sub>1</sub> (piridin)	pK <sub>2</sub> (piridin)	pK <sub>1</sub> (imidazol)	pK <sub>2</sub> (imidazol)	pK(hisztidin)	pK(-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
Gly-BIMA	—	—	—	3,22(2)	5,51(1)	—	7,95(1)
Phe-BIMA	—	—	—	3,09(1)	5,28(1)	—	7,17(1)
His-BIMA*	—	—	—	2,61(4)	4,53(2)	5,81(2)	7,28(1)
Gly-BPMA	—	< 1,5	3,34(1)	—	—	—	7,91(5)
Pro-BPMA <sup>[113]</sup>	—	< 1,5	3,19	—	—	—	8,59
His-BPMA	—	< 1,5	2,91(2)	—	—	5,43(1)	7,31(1)
imidazol <sup>[204]</sup>	—	—	—	—	7,03	—	—
BIM	—	—	—	4,74(1)	6,92(1)	—	—
BIP	2,75(4)	—	—	4,62(2)	6,97(1)	—	—
BIMA	—	—	—	< 1,5	4,07(1)	—	6,47(1)
piridin <sup>[101]</sup>	—	—	5,31	—	—	—	—
BPM <sup>[101]</sup>	—	2,69	5,18	—	—	—	—
BPMA <sup>[117]</sup>	—	< 1,5	1,7	—	—	—	7,32
izopropil-amin <sup>[205]</sup>	—	—	—	—	—	—	10,62
izo-valeriánsav <sup>[206]</sup>	4,78	—	—	—	—	—	—
His-Gly <sup>[37]</sup>	2,96	—	—	—	—	5,94	7,59

\* A pK-értékek nem rendelkeznek egyértelműen egy-egy csoporthoz; lásd később, a protonálódási mikroállandók számolásánál (49. oldaltól).

A protonálódási állandó értékek azt mutatják, hogy mind a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot, mind a bisz(2-piridil)-metil-csoportot tartalmazó vegyületekben kisebb pH-értéknél játszódik le az imidazolnitrogének, illetve a piridinnitrogének deprotonálódása, mint a szabad imidazolban és piridinben. A két protonált aromás nitrogén közeli helyzete ugyanis szterikusan és elektrosztatikusan egyaránt kedvezőtlen, így az aromás gyűrűk kölcsönhatása csökkenti az egyik imidazol-, illetve piridinnitrogén pK-ját, elősegíti annak deprotonálódását. A vizsgált ligandumok imidazol- és piridincsoportjainak pK-ját ezen kívül a metincsoporton lévő szubsztituensek is befolyásolhatják elektronszívó vagy elektronszállító hatásuk révén. A BIMA esetén az aminocsoport elektronszívó hatása az, ami a pK-értékek további csökkenéséhez vezet. A karboxilcsoportnak ilyen hatása nincs, így a BIP esetében az imidazolnitrogénekre kapott protonálódási állandók értéke jól egyezik a BIM-nél mért

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

A BIMA és BIP esetében az amino-, illetve karboxilcsoport  $pK$ -ja jó egyezést mutat egy hasonló kémiai környezetben levő amino- és karboxilcsoport (pl. His-Gly)  $pK$ -jával. Az aromás gyűrű helyén metilcsoportot tartalmazó karbonsav-, illetve aminoszármazékhoz (izo-valeriánsav, illetve izopropil-amin) viszonyított  $pK$ -csökkenést a két aromás gyűrű elektronszívó hatása okozza.

Az aminosavszármazékokban található aminocsoport, illetve a His-BIMA és His-BPMA hisztidinnitrogénjének  $pK$ -ja jó közelítéssel megegyezik egy hasonló kémiai környezetben lévő amino-, illetve imidazolcsoport  $pK$ -jával (His-Gly).

Annak a megadására, hogy melyik csoport protonálódásához melyik  $pK$ -érték tartozik, a hasonló molekulák irodalmi adataival való összehasonlítás mellett  $^1H$ -NMR méréseket is végeztünk. A vizsgált ligandumok esetében a különböző protonálódásra hajlamos donorcsoportok  $pK$ -i általában eléggé különbözőek voltak, így a legtöbb esetben egy-egy  $pK$ -érték döntő hányadban egy-egy donorcsoporthoz volt rendelhető, ahogy azt a 6. táblázat (48. oldal) adatai is mutatják.

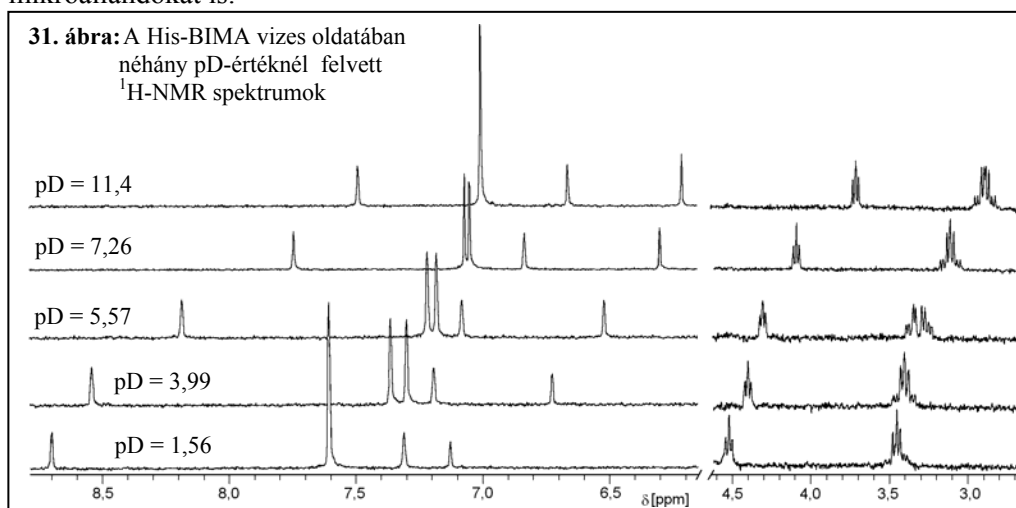
A BIP (ligandum szerkezete: 12/b. ábra, 19. oldal)  $-CH-$  és  $-CH_2-$  proton-jeleinek a felhasadását, azaz a spektrum finomszerkezetét a kétféle hidrogén ( $AB_2$  spinrendszer) egymással való csatolása okozza. A spin-spin csatolási állandó értéke  $J=7,56$  Hz. A Gly-BPMA ligandum (29/a. ábra, 44. oldal) esetében még összetettebb jelet kaptunk az aromás protonokra (lásd később, 43/a–c. ábra, 59. oldal). A piridinyűrű mind a négy hidrogénje különböző környezetben van, így négy külön jelet ad. Ezek a jelek a csatolások miatt dublett, illetve triplett szerkezetűek. (A táblázatokban a továbbiakban csak a jelek középértékét tüntetjük fel, a csatolási állandókat nem.) A bisz(2-imidazolil)-metil-származékok esetében az ezen csoportokhoz tartozó aromás protonok ekvivalensek, így valamennyi ligandumnál egyetlen jelet adnak.

A 6. táblázat adataiból látszik, hogy pl. a BIP ligandumnál a pH növelésével először a karboxilcsoport deprotonálódik, aminek az aromás imidazol-jelekre gyakorlatilag nincs hatása, és ezután megy végbe a két imidazolcsoport lépcsőzetes deprotonálódása (a  $-CH-$  és  $-CH_2-$  hidrogének kémiai eltolódására mindkét donorcsoport deprotonálódásának hatása van). Hasonlóképpen a Gly-BIMA és Gly-BPMA esetében (29/a. és d. ábra, 44. oldal) a imidazol-, illetve piridincsoportok deprotonálódását az aromás jeleken és a  $-CH-$  protonokon, míg az aminocsoport nagyobb pH-n végbe-menő deprotonálódását ( $[HL]^+ \rightarrow [L]$ ) az aminocsoport melletti  $-CH_2-$  csoportok jelen követhetjük, mely már elég távol található a bisz(2-imidazolil)-, illetve bisz(2-piridil)-résztől ahhoz, hogy szelektív indikátora legyen az aminocsoport deprotonálódásának.

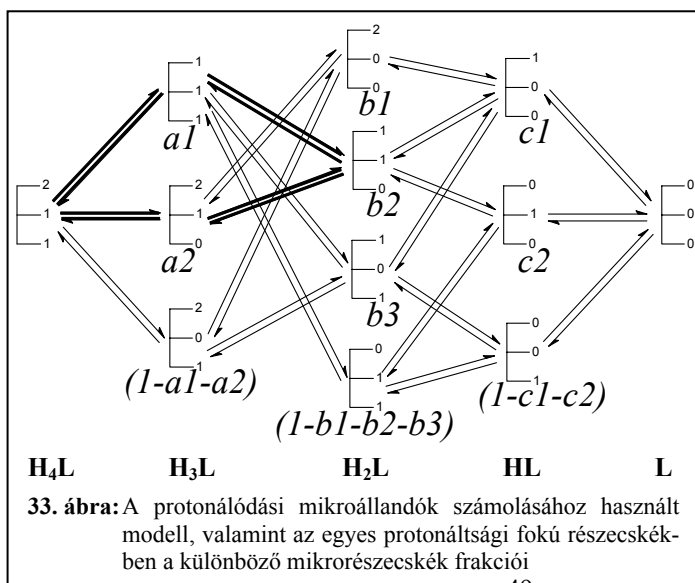
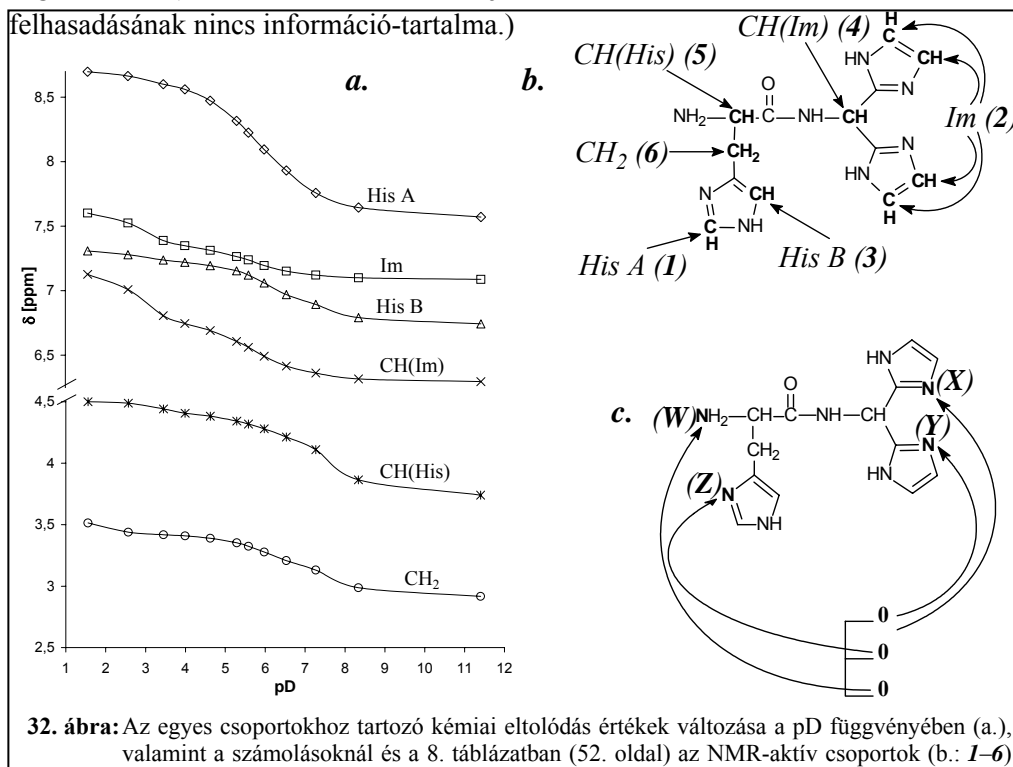
**6. táblázat:** Néhány vizsgált ligandum vizes oldatában a különböző protonáltsági fokú részecskékre PSEQUAD programmal számolt  $^1\text{H-NMR}$  spektrumok kémiai eltolódás ( $\delta[\text{ppm}]$ ) értékei

BIP				
részecske:	$[\text{H}_3\text{L}]^{2+}$	$[\text{H}_2\text{L}]^+$	$[\text{HL}]$	$[\text{L}]^-$
aromás protonok	7,478	7,482	7,272	7,023
-CH-	5,559	5,442	5,095	beleolvad a vízjelbe
	5,540	5,421	5,074	
	5,520	5,401	5,052	
-CH <sub>2</sub> -	3,556	3,328	3,146	3,032
	3,536	3,307	3,125	3,011
Gly-BIMA				
részecske:	$[\text{H}_3\text{L}]^{3+}$	$[\text{H}_2\text{L}]^{2+}$	$[\text{HL}]^+$	$[\text{L}]$
aromás protonok	7,593	7,352	7,112	7,104
-CH-	7,166	6,795	6,422	6,371
-CH <sub>2</sub> -	4,020	3,998	3,982	3,445
Gly-BPMA				
részecske:	$[\text{H}_3\text{L}]^{3+}$	$[\text{H}_2\text{L}]^{2+}$	$[\text{HL}]^+$	$[\text{L}]$
piridin-6H	pK < 1,5, így 2-es pH-n is elhanyagolható a mennyisége (10 % alatt)	8,668	8,480	8,477
piridin-4H		8,346	7,893	7,895
piridin-3H		7,870	7,460	7,462
piridin-5H		7,808	7,404	7,400
-CH-		6,697	6,274	6,244
-CH <sub>2</sub> -	4,001	3,998	3,474	

A protonálódási folyamatok kismértékű átfedése ( $\text{p}K_2(\text{imidazol})$  és  $\text{p}K(-\text{NH}_3^+)$  között) már a Gly-BIMA és Phe-BIMA esetében is megfigyelhető, azonban főleg a His-BIMA ligandum esetében már egyáltalán nem különül el a három imidazolesoport  $\text{p}K$ -ja, így itt  $^1\text{H-NMR}$  mérések segítségével meghatároztuk a protonálódási mikroállandókat is.

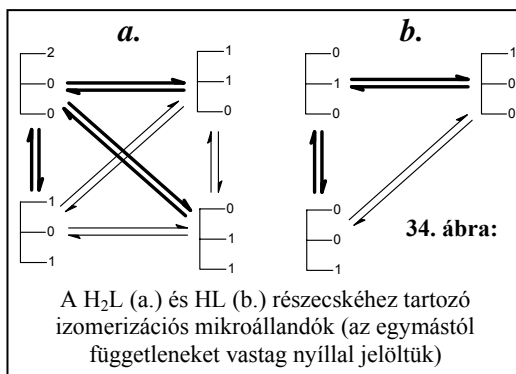


A His-BIMA esetén – az irodalomban található legtöbb mikroállandó számolással ellentétben<sup>[179]</sup> – nem tekinthetjük a ligandum egyes részleteit egymástól függetlennek. A molekula viszonylag kis méretű, így bármely részén bekövetkező protonálódás vagy deprotonálódás különböző mértékben ugyan, de hatással lehet valamennyi csoport kémiai eltolódására. A protonálódási mikroállandók számolását ezt figyelembe véve végeztük el. (A számolásnál az NMR jelek



A His-BIMA deprotonálásánál összesen 20 db. protonálódási mikroállandót lehet felírni (lásd: 33. ábra). Ezek közül nem mind független, lehet találni kör-egyensúlyokat a rendszerben (pl. a vastaggal jelölt négy egyensúly, ahol ha hármát ismerünk, a negyediket ki lehet számolni az előző háromból). Ezeket is figyelembe véve, a rendszert

összesen 11 egymástól független egyensúlyi állandóval lehet jellemezni. Fel lehet emellett írni az egy adott protonáltsági fokú részecskékhez tartozó izomerizációs egyensúlyokat is (a H<sub>2</sub>L és HL részecskéjét mutatja pl. a 34. ábra). Ezekből összesen 2+3+2 = 7 egymástól független van. Ha ezekhez hozzáadjuk a négy p*K*-értéket, akkor így is tizenegy állandó kell a rendszer teljes egyensúlyi leírásához. (A vizes oldatban mért p*K*-értékhez 0,4-et hozzáadva kaptuk a D<sub>2</sub>O-ban jellemző p*K*-értékeket<sup>[207]</sup>.)



A számolásnál a mikroállandók helyett az egyes protonáltsági fokú részecskékben a különböző helyen protonált formák frakcióját használtuk (a frakciókat a 33. ábra mutatja; a teljesen protonált, illetve deprotonált H<sub>4</sub>L és L részecskéknél csak egyféle forma van).

Az NMR mérésekből összesen hatféle proton kémiai eltolódásának a változását lehet követni (31. és 32/a.–b. ábra, 48. és 49. oldal). A 32. ábra szerint pl. az aminocsoport protonálódásának a HisA csoport NMR kémiai eltolódására gyakorolt hatását *WI*-gyel jelöljük ( $0 \leq WI \leq 1$ ).

Az izomerizációs egyensúlyok függetlenek a pH-tól, így a PSEQUAD program segítségével, a makroszkópikus p*K*-értékek ismeretében kiszámolható a különböző protonáltsági fokú makrorészecskék (H<sub>4</sub>L – L) NMR spektruma. Ezeket a spektrumokat először normalizáltuk: a teljesen deprotonált részecskére (L) a normalizált NMR eltolódás 0, a teljesen protonáltra (H<sub>4</sub>L) 1, a többire 0 és 1 közötti érték, lineárisan átszámolva.

**7. táblázat:** A PSEQUAD program segítségével a különböző makrorészecskékre számolt, valamint a normalizált NMR spektrumok kémiai eltolódásai

	NMR kémiai eltolódások ( $\delta$ [ppm])					Normalizált kémiai eltolódás		
	L	HL	H <sub>2</sub> L	H <sub>3</sub> L	H <sub>4</sub> L	HL	H <sub>2</sub> L	H <sub>3</sub> L
HisA	7,586	7,828	8,232	8,587	8,698	0,217	0,581	0,901
Im	7,092	7,112	7,245	7,331	7,605	0,039	0,298	0,467
HisB	6,752	6,912	7,147	7,209	7,308	0,287	0,710	0,822
CH(Im)	6,301	6,352	6,573	6,722	7,129	0,061	0,328	0,509
CH(His)	3,760	4,213	4,319	4,408	4,508	0,606	0,748	0,866
CH <sub>2</sub>	2,929	3,176	3,341	3,402	3,494	0,438	0,729	0,837

Egy adott protonálódási helyen végbemenő protonálódás/deprotonálódás a kezdeti feltételezésünk szerint minden proton kémiai eltolódására hatással van. Összesen négyféle protonálódás van a rendszerben: az imidazolok 1. és 2. protonálódása, az aromás hisztidin-nitrogén, valamint az aminocsoport protonálódása.



Feltételezzük, hogy egy adott deprotonálódás egy adott csoport kémiai eltolódását mindig ugyanolyan mértékben változtatja meg. Emiatt ha négyféle mikrorészecske (az egy és két imidazolprotonot tartalmazó, valamint a csak aromás hisztidin-nirtogéne és a csak aminocsoporton protonált ligandum) NMR spektrumát ismerjük, bármelyik másik részecske spektruma kiszámolható ezek lineáris kombinációjaként. Tehát négy ismeretlen NMR spektrumunk van, és mivel részecsként hat NMR jelet tudunk mérni, ez  $6 \cdot 4 = 24$  ismeretlen kémiai eltolódást jelent. Ha ehhez hozzávesszük a hét kiszámítandó izomerizációs mikroállandót,  $7 + 24 = 31$  ismeretlenünk van.

Az NMR mérésekből ismerjük az L, HL, H<sub>2</sub>L, H<sub>3</sub>L és H<sub>4</sub>L makrorészecskék NMR spektrumát. Ebből L a viszonyítási alap a normalizálásnál, azaz marad 4 ismert spektrum, ami 24 jelet, 24 mért adatot jelent. Mivel 31 ismeretlen van, legalább 7 feltételezést kell tenni az ismeretlenek értékére, hogy meg lehessen oldani az egyenletrendszert. Ezek a következők voltak:

- X1** = 0 (azaz az első imidazol deprotonálódása/protonálódása nincs hatással a HisA protonok kémiai eltolódására)
- X3** = 0 (azaz az első imidazol deprotonálódása/protonálódása nincs hatással a HisB protonok kémiai eltolódására)
- Y1** = 0 (azaz a második imidazol deprotonálódása/protonálódása nincs hatással a HisA protonok kémiai eltolódására)
- Y3** = 0 (azaz a második imidazol deprotonálódása/protonálódása nincs hatással a HisB protonok kémiai eltolódására)
- Z2** = 0 (azaz a hisztidin deprotonálódása/protonálódása nincs hatással az aromás imidazol-protonok (Im) kémiai eltolódására)
- Z4** = 0 (azaz a hisztidin deprotonálódása/protonálódása nincs hatással a CH(Im) protonok kémiai eltolódására)
- W2** = 0 (azaz az aminocsoport deprotonálódása/protonálódása nincs hatással az aromás imidazol-protonok (Im) kémiai eltolódására)
- W4** = 0 (azaz az aminocsoport deprotonálódása/protonálódása nincs hatással a CH(Im) protonok kémiai eltolódására)

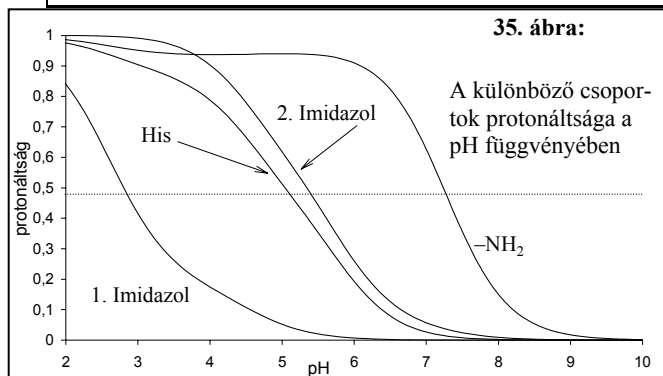
Valamint:

$$\begin{aligned} \mathbf{X1} + \mathbf{Y1} + \mathbf{Z1} + \mathbf{W1} &= 1,000 \\ &\vdots \\ \mathbf{X6} + \mathbf{Y6} + \mathbf{Z6} + \mathbf{W6} &= 1,000 \end{aligned} \tag{28}$$

Ezeket figyelembe véve kiszámítottuk a különböző mikrorészecskék NMR spektrumát, valamint a protonálódási és izomerizációs mikroállandó értékeket. Ezeket foglalja össze a 8. táblázat (52. oldal). A kapott eredmények és az ezek alapján szerkesztett 35. ábra (52. oldal) azt mutatja, hogy az első deprotonálódás H<sub>4</sub>L → H<sub>3</sub>L részecskék között szinte kizárólag a imidazolcsoporton megy végbe; hasonlóképpen a HL részecskében 93,5%-ban az aminocsoporton található a proton. A H<sub>2</sub>L részecske esetében ezzel szemben az aminocsoport mellett a másik proton kb. 50–50% valószínűséggel helyezkedik el az imidazolcsoporton és a hisztidincsoporton.

8. táblázat: A His-BIMA vizes oldatában <sup>1</sup>H-NMR méréssel meghatározott protonálódási mikroállandók és a különböző protonáltsági fokokhoz tartozó izomer szerkezetek frakciói

Frakciók (33. ábra, 49. oldal)	Izomerizációs állandók	Protonálódási mikroállandók [mol·dm <sup>-3</sup> ]
$a1=0,810$	$K(\text{izo})_{210}^{111} = 11,9$	$\text{pk}(\text{H})_{211}^{111} = 2,70$
$a2=0,068$	$K(\text{izo})_{201}^{111} = 6,64$	$\text{pk}(\text{H})_{211}^{210} = 3,78$
$1-a1-a2=0,122$	$K(\text{izo})_{210}^{201} = 1,79$	$\text{pk}(\text{H})_{211}^{201} = 3,52$
		$\text{pk}(\text{H})_{200}^{100} = 5,16$
$b1=0,012$	$K(\text{izo})_{200}^{101} = 43,4$	$\text{pk}(\text{H})_{201}^{200} = 5,50$
$b2=0,043$	$K(\text{izo})_{200}^{110} = 3,58$	$\text{pk}(\text{H})_{210}^{200} = 5,28$
$b3=0,521$	$K(\text{izo})_{200}^{101} = 35,3$	$\text{pk}(\text{H})_{111}^{110} = 5,80$
$1-b1-b2-b3=0,424$	$K(\text{izo})_{110}^{101} = 12,1$	$\text{pk}(\text{H})_{210}^{110} = 4,73$
	$K(\text{izo})_{110}^{011} = 9,86$	$\text{pk}(\text{H})_{101}^{101} = 4,72$
$c1=0,053$	$K(\text{izo})_{011}^{101} = 1,23$	$\text{pk}(\text{H})_{201}^{101} = 3,86$
$c2=0,012$	$K(\text{izo})_{010}^{100} = 4,41$	$\text{pk}(\text{H})_{111}^{011} = 4,81$
$1-c1-c2=0,935$	$K(\text{izo})_{010}^{001} = 77,9$	$\text{pk}(\text{H})_{100}^{000} = 6,00$
	$K(\text{izo})_{100}^{001} = 17,6$	$\text{pk}(\text{H})_{010}^{000} = 5,36$
		$\text{pk}(\text{H})_{001}^{000} = 7,25$



A táblázat jelölései:

$$K(\text{izo})_{\text{def}}^{\text{abc}} = \frac{[(\text{abc})]}{[(\text{def})]}$$

$$a + b + c = d + e + f$$

$$k(\text{H})_{\delta\epsilon\phi}^{\alpha\beta\chi} = \frac{[(\alpha\beta\chi)] \cdot [\text{H}^+]}{[(\delta\epsilon\phi)]}$$

$$\alpha + \beta + \chi + 1 = \delta + \epsilon + \phi$$

### 5.1.2. A bisz(2-piridil)-metil-amin aminosavszármazékainak komplexkémiai viselkedése

Két bisz(2-piridil)-metil kelátképző csoportot tartalmazó aminosavszármazék, a Gly-BPMA és a His-BPMA (lásd: 29/a. és c. ábra, 44. oldal) komplexkémiai vizsgálatát végeztük el réz(II), nikkel(II) és cink(II)ionnal. Mindkét származék esetében az egyik fontos koordinációs mód a bisz(2-piridil)-metil-koordináció, mellyel a korábbi eredmények alapján mono- és biszkomplexek képződését vártuk. Emellett mindkét származékban található szabad terminális aminocsoport, mely elősegítheti a vele kelátképző helyzetben lévő amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását. A hisztidinszármazék esetében mindezek mellett hisztaminszerű koordináció is kialakulhat a ligandum hisztidin aminosav felőli végével, valamint a hisztidil-oldalláncon keresztül lehetőség van dimer vagy más oligomer szerkezetek képződésére.

**5.1.2.1. Nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó  
bisz(2-piridil)-metil-származék (Gly-BPMA)  
réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexei**

Az *N*-glicil-bisz(2-piridil)-metil-aminnal (Gly-BPMA; 29/a. ábra, 44. oldal) azonos donorcsoportokat tartalmazó *N*-prolil-bisz(2-piridil)-metil amin (Pro-BPMA; 29/b. ábra) esetében – melyet korábban szintén Kutatócsoportunkban vizsgáltak – mindhárom, általunk is vizsgált fémionra találhatók irodalmi adatok<sup>[102, 113]</sup>. Ezen rendszerekben szintén pH-potenciometriás és spektrofotometriás mérések történtek, így elvégezhetjük a kétféle ligandumot tartalmazó rendszerek komplexkémiai viselkedésének az összehasonlítását. A Gly-BPMA-t és a Pro-BPMA ligandumot tartalmazó rendszerekre kapott stabilitási szorzatokat foglalja össze a 9. táblázat.

**9. táblázat:** A Gly-BPMA és a Pro-BPMA<sup>[113]</sup> réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

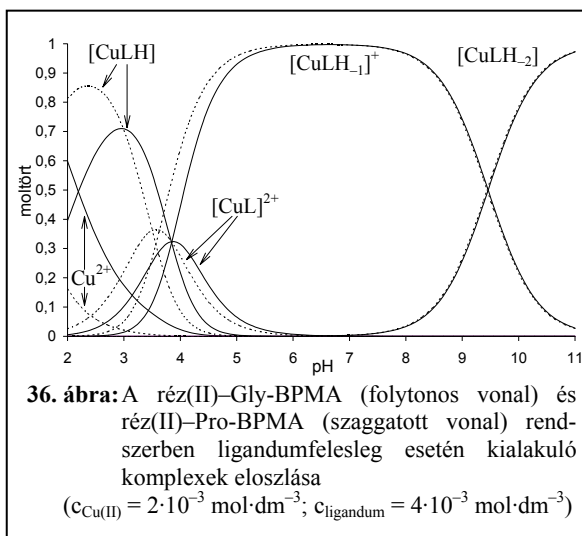
komplex összetétele	Cu(II)–		Ni(II)–		Zn(II)–	
	Gly-BPMA	Pro-BPMA	Gly-BPMA	Pro-BPMA	Gly-BPMA	Pro-BPMA
[ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	—	—	21,21(1)	—	—	—
[ML <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	—	—	15,88(5)	—	—	—
[ML <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	—	—	9,46(4)	9,66	6,66(7)	—
[ML <sub>2</sub> H <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	—	—	—	—	-0,7(1)	-0,50
[ML <sub>2</sub> H <sub>-2</sub> ]	—	—	-5,03	-5,00	-9,12(7)	-8,59
[MLH] <sup>3+</sup>	11,96(8)	13,21	10,97(5)	11,85	—	—
[ML] <sup>2+</sup>	8,12(5)	9,71	—	5,30	—	—
[MLH <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	4,27(6)	6,08	-1,46(2)	-1,02	-3,23(1)	-2,68
[MLH <sub>-2</sub> ]	-5,19(7)	-3,36	-11,17(3)	—	-11,94(1)	—
$pK_{ML_2H_2}^{ML_2H_2}$	—	—	5,33	—	—	—
$pK_{ML_2}^{ML_2H}$	—	—	6,42	—	—	—
$pK_{ML_2H_{-1}}^{ML_2}$	—	—	—	—	7,36	—
$pK_{ML_2H_{-2}}^{ML_2H_{-1}}$	—	—	—	—	8,42	8,09
$pK_{ML}^{MLH}$	3,84	3,50	—	6,55	—	—
$pK_{MLH_{-1}}^{ML}$	3,85	3,63	—	6,32	—	—
$pK_{MLH_2}^{MLH_{-1}}$	9,46	9,44	9,71	—	8,71	—
$\lg(K_1/K_2)_{MLH}$	—	—	0,73	—	—	—

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

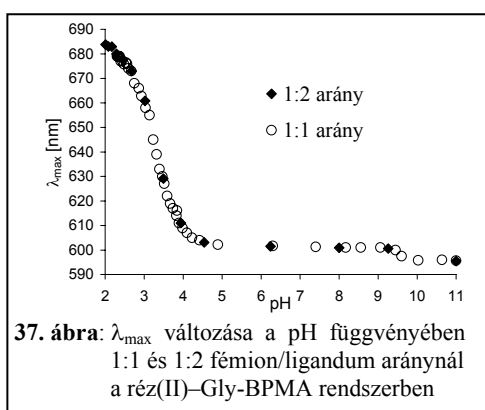
$$pK_{ML_2H}^{ML_2H_2} = \lg \beta(ML_2H_2) - \lg \beta(ML_2H)$$

### Réz(II)komplexek:

A réz(II)–Gly-BPMA (és hasonlóan a réz(II)–Pro-BPMA) rendszerben a pH-metriás adatok alapján mindössze négy komplex lépcsőzetes képződése számolható (36. ábra). Biszkomplexek a réz(II)–BPM (BPM = bisz(2-piridil)-metán) és réz(II)–BPMA (BPMA = bisz(2-piridil)-metil-amin) rendszerrel ellentétben itt nem képződnek. A fotometriás és ESR spektroszkópiás adatok szintén a



biszkomplexek hiányát mutatják: a spektrumok pH szerinti változása azonos 1:1 és 1:2 fémion/ligandum aránynál (lásd: 37. ábra). Biszkomplexek esetén a két aránynál felvett spektrumok paramétereinek (pl.  $\lambda_{\text{max}}$ ) el kellene térniük a koordinált nitrogének

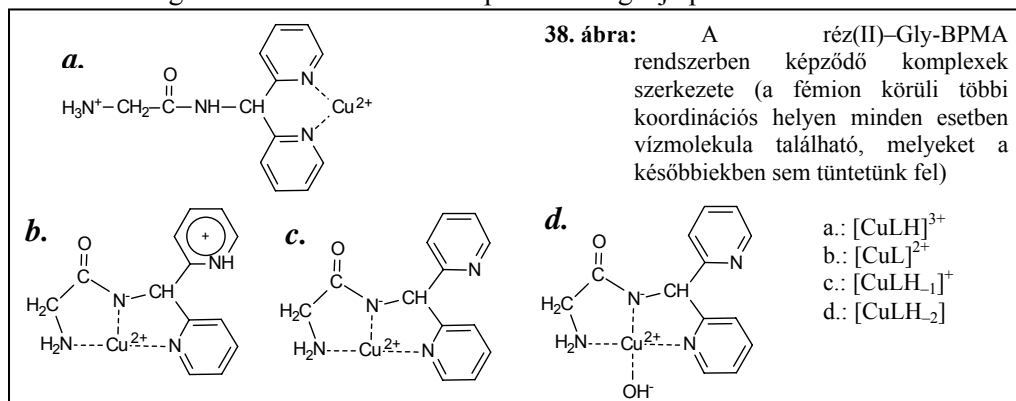


eltérő számának megfelelően<sup>[167]</sup>. Ezen spektroszkópiás adatok viszont savas pH-értékeknél – ahol lehetőség lenne a biszkomplexek kialakulására – egyértelműen két nitrogéne keresztül koordinációt mutatnak, így alátámasztják a potenciometriás mérések alapján számolt modellt. A biszkomplexek hiányát a piridincsoport viszonylag kis fémmegkötő képessége mellett a aminosavrésztől származó szterikus gátlás okozza.

A koordináció savas pH-tartományban minden fémion/ligandum aránynál a két piridingyűrűn kezdődik,  $[\text{CuLH}]^{3+}$  összetételű komplex (38/a. ábra, 55. oldal) képződésén keresztül. Ebben a komplexben az amino-nitrogén még protonált formában van.

Nagyobb pH-n kis mennyiségben egy  $[\text{CuL}]^{2+}$  összetételű komplex (38/b. ábra) alakul ki. Ez a maximum 30% körüli mennyiség, valamint az ebben a pH-tartományban képződő komplexek hasonló ESR-spektruma miatt az ESR spektroszkópia nem elég érzékeny ahhoz, hogy a  $[\text{CuL}]^{2+}$  komplexet kimutassuk. Ebben a komplexben a sztöchiometria alapján bisz(2-piridil)-metil- vagy – mivel a ligandum tartalmaz szabad terminális aminosocsoportot, azaz végbemehet az amidnitrogén deprotonálódása is –  $[\text{N}(\text{amino}), \text{N}(\text{amid}), \text{N}(\text{piridin})]$ -koordináció lehetséges. A bisz(2-piridil)-metil-koordináció nem valószínű, mert az aminosocsoportnak

ezen a pH-n még protonálnak kellene lennie (a szabad ligandumban az aminos csoport deprotonálódása csak pH = 8 körül játszódik le). Az aminos csoport axiális koordinációja, azaz makrokelát kialakulása (ami csökkenthetné az aminos pK-t) szintén nem következhet be, mivel a bisz(2-piridil)-metil-részt és az aminos csoportot összekötő lánc túl rövid a két csoport egyazon réz(II)ionhoz való koordinációjához. (Ugyanezt az eredményt kaptuk később valamennyi bisz(2-piridil)-metil-, illetve bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó aminosavszármazék esetén.) A peptidszerű koordináció kialakulását igazolta az abszorpciós spektrumok PSEQUAD programmal<sup>[165]</sup> történő felbontása is. A program segítségével a több pH-n és -fémion/ligandum aránynál mért spektrumokból, a pH-metriásan meghatározott stabilitási állandók ismeretében számolható volt a rendszerben képződő valamennyi komplex önálló spektruma (10. táblázat). (Az ilyen számolásoknak akkor van jelentősége, ha nincs olyan fémion/ligandum arány, illetve pH, ahol a komplex közel 100%-ban képződik.) Ezek az adatok a  $[\text{CuL}]^{2+}$  komplexre egyértelműen háromnitrogénes koordinációt mutatnak, miközben a ligandum nemkoordinálódó piridinnitrogénje protonált.

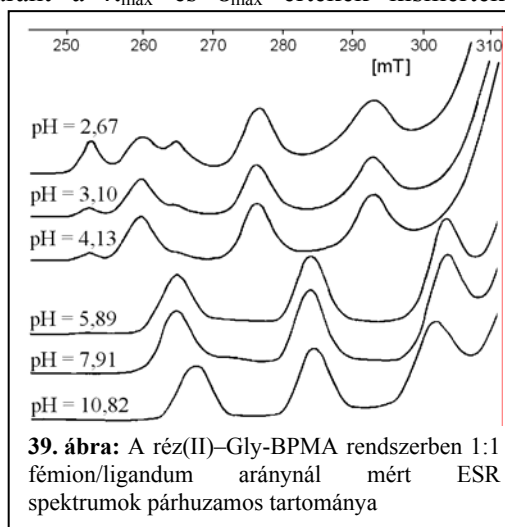


**10. táblázat:** A réz(II)–Gly–BPMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek PSEQUAD programmal számolt abszorpciós ( $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]/\epsilon_{\text{max}}[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ ), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel} \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) paraméterei

Komplex összetétele	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
$[\text{CuLH}]^{3+}$	682(65)	2,295(172)
$[\text{CuL}]^{2+}$	610(154)	2,225(197)
$[\text{CuLH}_1]^+$	602(133)	2,225(197)
$[\text{CuLH}_2]$	595(116)	2,225(174)

pH = 3 körül már az aminos csoport mellett az amidnitrogén is deprotonálódott és koordinálódott, így alakítva ki a háromnitrogénes [N(amino), N(amid), N(piridin)]-koordinációt a fémion körül. A teljes fiziológiás pH-tartományban ez a koordinációs mód (a későbbiekben peptidszerű koordináció) az uralkodó ( $[\text{CuL}]^{2+} \equiv [\text{Cu}(\text{LH}_1)\text{H}]^{2+}$ ,  $[\text{Cu}(\text{LH}_1)]^+$  és  $[\text{CuLH}_2] \equiv [\text{Cu}(\text{LH}_1)\text{OH}]$  összetételű komplex). Ez utóbbi, pH = 9 fölött kialakuló komplex vegyes hidroxokomplex (38/d. ábra), melyben a réz(II)ion körüli negyedik, ekvatoriális koordinációs helyen lévő vízmolekula

deprotonálódik. A ligandum nemkoordinálódó piridinnitrogénjének, valamint a vízmolekulának a deprotonálódása egyaránt a  $\lambda_{\max}$  és  $\epsilon_{\max}$  értékek kismértékű csökkenését okozza az abszorpciós spektrumban. Az ESR spektrumban – mely csak a fémionhoz koordinálódó csoportokon végbemenő változásra érzékeny, a ligandum távolabbi részére nem – a  $[\text{CuLH}_2]$  összetételű komplexben figyelhető meg az  $A_{\parallel}$  érték csökkenése, azaz egy erős donorligandum (pl.  $\text{OH}^-$  ion) belépése az ekvatoriális koordinációs síkba. Ezt a hatást aminosavak és peptidok réz(II)ionnal alkotott vegyes hidroxokomplexeinél korábban is kimutatták már<sup>[30, 31]</sup>.



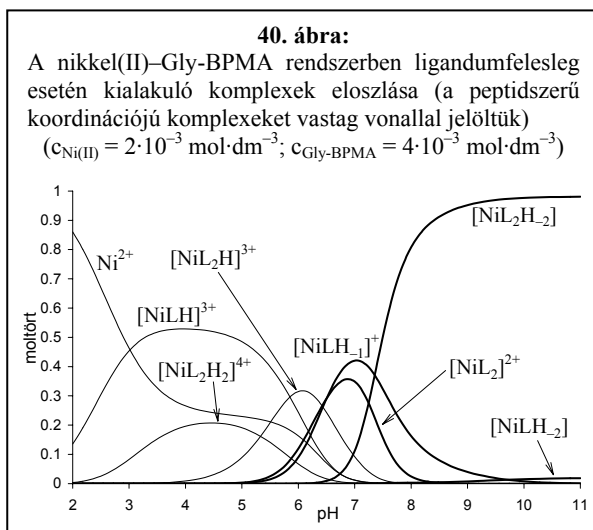
A peptidszerű koordináció kialakulásával az egyik piridincsoport kiszorul a koordinációs szférából. Azonban ez a piridingyűrű – gyengébb fémmegkötőhely lévén – más donorcsoport segítségével nem alkalmas hidrcsoportnak, így nem segíti elő dimer vagy polimer szerkezetek kialakulását. Az abszorpciós spektrumok mellett az ESR spektroszkópiás mérések is igazolják a dimerek hiányát, ugyanis a dimer vagy oligomer szerkezetek ESR-csendesek a közel kerülő rézcentrumok spin-kicserélődési kölcsönhatása miatt, így a spektrumok intenzitásának csökkennie kellene, amit nem tapasztaltunk. (A réz(II)–Pro-BPMA rendszerben<sup>[102, 113]</sup> ehhez hasonlóan szintén csak monokomplexekeket mutattak ki (9. táblázat, 53. oldal), a réz(II)–Gly-BPMA rendszerben képződő komplexekével azonos koordinációs móddal.) A komplexben lévő szabad piridincsoport deprotonálódása – akárcsak a szabad ligandum esetében (5. táblázat, 46. oldal) – a glicinszármazéknál egy kicsit nagyobb pH-értéknél megy végbe.

A koordinált vízmolekula deprotonálódása a Gly-BPMA és Pro-BPMA  $[\text{CuLH}_1]^+$  komplexe esetében gyakorlatilag azonos  $pK$ -értékkel játszódik le.

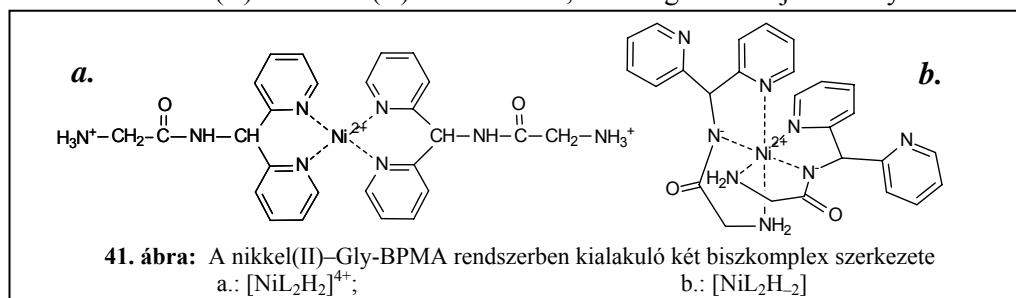
### Nikkel(II)komplexek:

A nikkel(II)–Gly-BPMA rendszerben végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy itt savas pH-tartományban jóval kisebb mértékű az  $[\text{NiLH}]^{3+}$  összetételű komplex képződése, mint a  $[\text{CuLH}]^{3+}$  összetételű komplexé volt. A piridingyűrű az Irving-Williams sornak megfelelően ((4) egyenlet, 22. oldal) gyengébben koordinálódik a nikkel(II)ionhoz mint a réz(II)ionhoz.

A másik fontos különbség a korábbi rendszerekhez képest, hogy míg a réz(II)–Gly-BPMA, valamint a nikkel(II)–Pro-BPMA rendszerben csak protonált

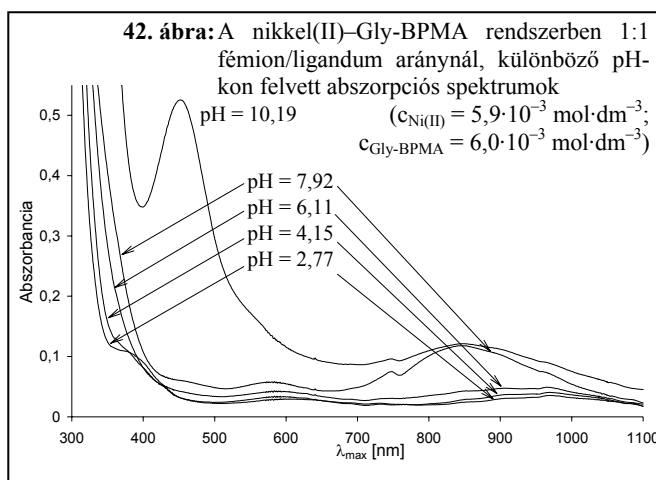


képződése, a második ligandum koordinálódása. A nikkell(II)–Pro-BPMA rendszerben ezt a folyamatot a prolin-rész nagyobb térkitöltése, míg a réz(II)–Gly-BPMA rendszerben a réz(II)ion nikkell(II)ionétól eltérő, torzult geometriája akadályozza.



A pH növelésével a nikkell(II)–Gly-BPMA rendszerben is bekövetkezik az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása már viszonylag kis, 6-os pH-n (lásd: 40. ábra). A 6-os pH felett kialakuló komplexek összetétele jelentősen függ a fémion/ligandum aránytól.

Ligandumfelesleg esetén különféle összetételű oktaédes biszkomplexek, pH = 10 körül pedig  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]$  sztöchiometriájú (41/b. ábra), szintén oktaédes komplex a meghatározó, melyben a nikkell(II)-ionhoz két ligandum kapcsolódik peptidszerű koordinációval. Ellenben 1:1



monokomplexek alakultak ki (9. táblázat, 53. oldal), a nikkell(II)–Gly-BPMA rendszerben protonált biszkomplexek ( $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{4+}$ , illetve  $[\text{NiL}_2\text{H}]^{3+}$ ) képződését is sikerült kimutatnunk. Ezek azonban 1:2 fémion/ligandum aránynál is csak viszonylag kis mennyiségben képződnek. A  $\lg(K_1/K_2)$  érték (9. táblázat) közel megegyezik a statisztikusan számolható értékkel, ami arra utal, hogy nem különösebben kedvezményezett, de nem is gátolt a biszkomplexek

fémion/ligandum arányánál elsősorban monokomplexek keletkeznek. Az itt domináló  $[\text{NiLH}]^{3+}$ ,  $[\text{NiL}]^{2+}$  és  $[\text{NiLH}_1]^+$  összetételű részecskék a fotometriás adatok alapján egyértelműen oktaédes geometriájúak.  $\text{pH} > 10$  értékeknél azonban ( $[\text{NiLH}_2]$  összetételű komplex) egy töltésátviteli sáv jelenik meg  $\lambda_{\text{max}} = 452 \text{ nm}$ -nél az oktaédes sávok mellett, viszonylag kis látszólagos moláris abszorbanciával ( $\epsilon_{452\text{nm}} = 98,9$ ), ami oktaédes-síknégyszetes egyensúlyra utal. Hasonló spektrális változást tapasztaltak korábban a nikkell(II)–Pro-BPMA rendszerben<sup>[102, 113]</sup>. Ez a fajta geometriaváltás nikkell(II)ion különféle nitrogén-donorokkal alkotott komplexeinél elég gyakori.

### Cink(II)komplexek:

A cink(II)–Gly-BPMA rendszer viselkedése ugyancsak hasonlít az irodalomból ismert cink(II)–Pro-BPMA rendszerhez<sup>[102, 113]</sup>, illetve semleges és lúgos tartományban a nikkell(II)–Gly-BPMA rendszerhez is. A számolási eredmények és a titrálási görbék alapján savas tartományban ( $\text{pH} < 5,5$ ) pH-metriásan nem mutatható ki kölcsönhatás a bisz(2-piridil)-metil-résszel. A kötés kialakulása a pH-metria alapján nem zárható ki, de – az NMR spektroszkópiás mérések alapján – csak a ligandum deprotonálódása után történik meg a koordináció, ezért az nem okoz mérhető pH-effektust. Az NMR spektroszkópia  $\text{pD} = 3,95$ -nél (ahol a ligandum  $\text{pK}$ -értékei alapján már mindkét piridinesort deprotonált) a cink(II)ion gyenge koordinálódását mutatta a piridinyűrűkhöz (11. táblázat): az aromás protonok kémiai eltolódás értéke kismértékben csökkent az azonos pH-n számolt szabad ligandum-jelhez képest, míg a CH- és CH<sub>2</sub>- csoportok jelére nincs jelentős hatással a cink(II)ion koordinálódása.

**11. táblázat:** A Gly-BPMA vizes oldatában és a cink(II)–Gly-BPMA rendszerben felvett <sup>1</sup>H-NMR spektrumok kémiai eltolódás ( $\delta[\text{ppm}]$ ) értékei (mérési körülmények:  $T = 298 \text{ K}$ ; cink(II)–Gly-BPMA rendszer:  $c_{\text{Gly-BPMA}} = 1,049 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Zn(II)}} = 9,79 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ )

pD = részecske	Szabad ligandum*			Zn(II)–Gly-BPMA rendszer		
	3,95	7,85	9,40	3,95 $[\text{ZnLH}]^{3+}$	7,85 $[\text{ZnLH}_1]^+$	9,40 $[\text{ZnLH}_2]$
aromás hidrogének	8,515	8,478	8,477	8,537	8,468	8,431; 8,365 A jelek nehezen azonosíthatóak
	7,977	7,894	7,895	8,020	7,863	
	7,536	7,461	7,462	7,582	7,530	
	7,479	7,402	7,400	7,535	7,399	
–CH–	6,352	6,260	6,245	6,395	5,977	6,131; 5,856
–CH <sub>2</sub> –	3,999	3,754	3,491	3,998	3,272	3,338; 3,247

\*PSEQUAD program segítségével, adott pD-értékekre számolt kémiai eltolódás értékek

A pH növelésével végbemegy az amidnitrogén deprotonálódása. Oktaédes geometriájú,  $[\text{ZnL}_2\text{H}_1]^+$  és  $[\text{ZnL}_2\text{H}_2]$  összetételű biszkomplexek (1:2 fémion/ligandum arány), illetve  $[\text{ZnLH}_1]^+$  komplex képződése (1:1 fémion/ligandum arány)

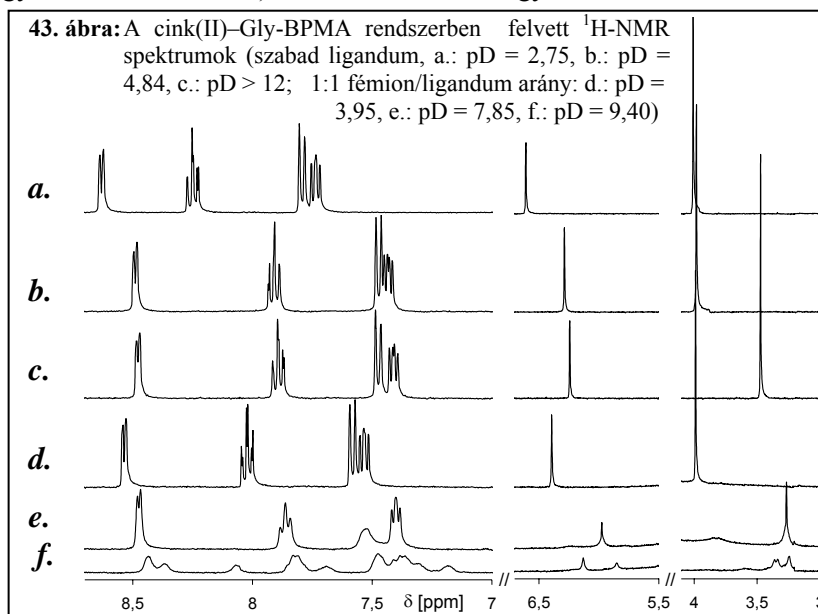


számolható. A bisz(2-piridil)-metil-csoport tehát képes itt is horgonycsoportként viselkedve elősegíteni az amidnitrogén deprotonálódását és a peptidszerű koordináció kialakulását. A korábbi irodalmi adatok alapján erre cink(II)ion esetén csak a C-terminális végükön hisztidin aminosavat tartalmazó peptidek voltak képesek<sup>[58, 65, 84]</sup>.

Az amidnitrogén deprotonálódását szintén <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópia segítségével sikerült bizonyítanunk: ha valamelyik NMR-aktív csoporttól egy kötési távolságban H<sup>+</sup> (szabad ligandum) vagy cink(II)ion (cink(II)–Gly-BPMA rendszer) koordinálódik, akkor ennek a csoportnak a kémiai eltolódás (δ[ppm]) értéke nő a teljesen deprotonált ligandum jeléhez képest (melyet pD > 12-nél vettünk fel és majdnem megegyezik a szabad ligandumban pD = 9,40 értékre számolt spektrummal: δ<sub>aromás</sub> = 8,477; 7,895; 7,462; 7,400; δ<sub>-CH-</sub> = 6,244; δ<sub>-CH<sub>2</sub>-</sub> = 3,474). Az amidnitrogén deprotonálódását és a cink(II)ion peptidszerű koordinálódását legjobban az amidcsoport melletti CH-csoport jelének a változása mutatja: 1:1 fémion/ligandum arány esetén pD = 7,85-nél, ahol a számolt stabilitási állandók alapján a [ZnLH<sub>1</sub>]<sup>+</sup> összetételű komplex kb. 70 %-ban van jelen, megfigyelhető a CH-csoport kémiai eltolódás értékének a csökkenése mind a deprotonált ligandumhoz, mind a 7,85 pD-értéken számolható ligandum-spektrumhoz képest (11. táblázat és 43/e. ábra).

pH = 9 felett [ZnLH<sub>2</sub>] összetételű vegyes hidroxokomplex képződése számolható, és 11-es pH-ig nem történik meg a cink(II)hidroxid csapadék leválása. pD = 9,4-nél az NMR-jelek felhasadása is a vegyes hidroxokomplex képződését mutatja. Ezen vegyes hidroxokomplexben a cink(II)ion oktaéderes geometriája miatt a hidroxidion a három nitrogén donortom által meghatározott koordinációs síkban vagy erre merőlegesen helyezkedhet el. (A peptidkötés merev szerkezete miatt a nitrogének és a fémion egy síkban található.) A hidroxidion vagy a vízmolekula a li-

gandum szabad piridinnitrogén-jével hidrogénkötést alakít ki, ami a cseresebesség lassulását, és így a két izomerre jellemző, csoportonként két-két jel megjelenését eredményezi (43/f. ábra).



### 5.1.2.2. Erősen koordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-piridil)-metil-származék (His-BPMA) réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexei

Az előző ligandumhoz képest a His-BPMA egy újabb nitrogéndonor oldalláncot, hisztidincsoportot tartalmaz. Savas pH-tartományban így a két piridingyűrű mellett az imidazol-N(3)-nitrogéne és aminocsoporton keresztül, azaz hisztaminszerű koordináció is szerepet kaphat a komplexképzésben. A kétféle, savas pH-tartományban is effektív koordinációs helynek köszönhetően vegyes koordinációjú biszkomplexek kialakulása is feltételezhető a rendszerekben.

**12. táblázat:** A réz(II)- és nikkel(II)-bisz(2-piridil)-metán(L')-hisztamin(L'') rendszerben képződő különböző protonáltsági fokú ligandumok és a komplexek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

Törzskomplexek	Cu(II)- BPM	Ni(II)-	Cu(II)- hisztamin <sup>[86]</sup>	Ni(II)-
[HL] <sup>+</sup>	5,11(1)	—	9,85	—
[H <sub>2</sub> L] <sup>2+</sup>	7,72(3)	—	15,99	—
[ML <sub>3</sub> ] <sup>2+</sup>	—	—	—	15,13
[ML <sub>2</sub> H] <sup>2+</sup>	—	11,79(2)	—	—
[ML <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	11,61(1)	9,32(3)	16,06	11,93
[MLH] <sup>3+</sup>	—	—	—	11,56
[ML] <sup>2+</sup>	6,67(1)	4,72(2)	9,58	6,85
[MLH <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	0,10(2)	-3,66(2)	1,2	—
[M <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	—	—	7,0	—
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>ML</sub>	1,73	0,12	3,10	1,77
Vegyes rendszerek	Cu(II)- BPM(L')-hisztamin(L'')			Ni(II)-
[ML'L''] <sup>2+</sup>	14,59(1)	—	11,09(8)	—
[ML'L''H <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	5,27(1)	—	1,29(9)	—
[ML'L''H <sub>-2</sub> ]	-5,83(1)	—	—	—
[ML' <sub>2</sub> L''] <sup>2+</sup>	—	—	14,29(7)	—
[ML'L'' <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	—	—	15,72(9)	—
Δlgβ <sub>ML'L''</sub>	0,45	—	0,16	—
ΔlgK	1,66	—	0,48	—

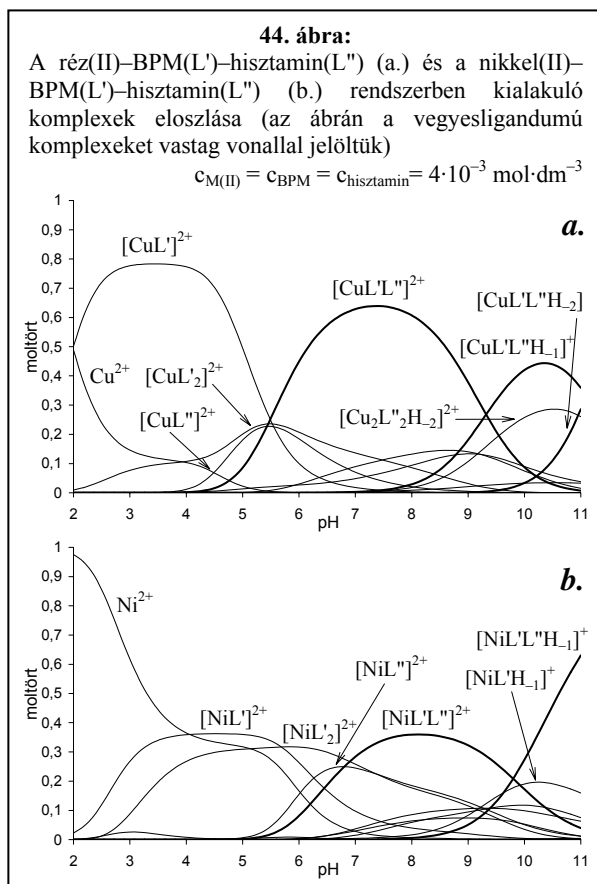
$$\lg(K_1/K_2)_{ML} = \lg K(ML) - \lg K(ML_2) = 2 \cdot \lg \beta(ML) - \lg \beta(ML_2)$$

$$\Delta \lg \beta_{ML'L''} = \lg \beta_{ML'L''}^{\text{mért}} - \lg \beta_{ML'L''}^{\text{számolt}} = \lg \beta_{ML'L''}^{\text{mért}} - 0,5(\lg \beta_{ML'_2} + \lg \beta_{ML''_2} + \lg 4)$$

$$\Delta \lg K = \lg K_M^{ML'} - \lg K_{ML}^{ML'L''} = \lg K_M^{ML'} - \lg K_{ML}^{ML'L''}$$

A vegyes ligandumú komplexekre vonatkozó korábbi irodalmi adatok<sup>[208, 209]</sup> azt mutatják, hogy ez a vegyes koordinációs mód mindhárom, általunk vizsgált átmeneti-fém-ionnal kedvezményezettebb, mint az azonos donorcsoportok (jelen esetben a négy

piridinnitrogén) koordinálódása egyazon fémionhoz. Ahhoz, hogy ezen koordinációs módok egymás melletti kialakulását tanulmányozzuk, réz(II)- és nikkel(II)ionnal vegyes ligandumú rendszerek vizsgálatát is elvégeztük. Az ezekből kapott stabilitási állandó értékeket a 12. táblázat foglalja össze. Ezen állandókból és a belőlük szerkesztett eloszlási görbékből (44. ábra) is látható, hogy savas pH-tartományban a bisz(2-piridil)-metil-koordináció az uralkodó. A hisztaminszerű koordináció réz(II)ionnal 5-ös pH felett, míg nikkel(II)ionnal csak 6-os pH felett jelenik meg.



A  $\Delta \lg \beta_{ML'L''}$  és  $\Delta \lg K$  értékek a réz(II)ionnal mutatnak jelentősebb mértékű vegyesligandumú komplexképződést. Azaz itt is érvényesül az a korábbi, irodalomból ismert megállapítás, miszerint a vegyesligandumú komplexek stabilitása annál nagyobb, minél nagyobb a törzskomplexek  $\lg(K_1/K_2)$  hányadosa közötti különbség<sup>[86, 208]</sup>. A bisz(2-piridil)-metil- és hisztaminszerű koordinációt tartalmazó  $[ML'L'']^{2+}$  komplex réz(II)ion esetén 5 – 10 pH-tartományban uralkodó, míg nikkel(II)ion esetében csak 6,5-ös pH felett jelenik meg, párhuzamosan a  $[NiL'_2]^{2+}$  és  $[NiL''_2]^{2+}$  bisz-komplexekkel.

Lúgos pH-tartományban  $[ML'L''H_1]^+$  (M = Cu és Ni) és  $[CuL'L''H_2]$  komplex alakul ki. A  $[CuL'L''H_1]^+$  komplexben a törzskomplexek szerkezete alapján bisz(2-piridil)-metil és [N(amino),N(amid)]-koordináció ( $[CuL'(L''H_1)]^+$ ), míg a többi komplexnél az egyik koordinált vízmolekula deprotonálódása valószínűsíthető ( $[NiL'L''(OH)]^+$ , illetve  $[CuL'(L''H_1)(OH)]$ ).

A vegyes (bisz(2-piridil)-metil- és hisztaminszerű) koordinációs módokon kívül a ligandum két végén lévő két független, stabilis hattagú kelát kialakítására alkalmas koordinációs hely lehetővé teszi azt is, hogy egy ligandumhoz két fémion koordinálódhasson, azaz itt már jelentősége van a fémfölség esetén végzett méréseknek is. Emellett ligandumhidas szerkezettel többmagvú komplexek kialakulására nyílik alkalom.

A Gly-BPMA-hoz hasonlóan ennél a ligandumnál is lehetőség van az amidnitrogén deprotonálódásával háromnitrogénes, [N(amino), N(amid), N(piridin)]-koordináció kialakítására. Ahogy a korábbi vizsgálatok mutatták, az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása már  $\text{pH} < 4$ -nél elkezdődik, azaz ez utóbbi folyamat meg is akadályozhatja a hisztaminszerű- vagy vegyes koordinációjú biszkomplexek képződését.

A peptidszerű koordináció kialakulásával a koordinációs szférából kiszoruló piridincsoport a Gly-BPMA-hoz hasonlóan nem, de a piridincsoportnál erősebb fémmegkötő képességű szabad hisztidil-oldallánc lehetőséget teremt dimer vagy más oligomer szerkezetek kialakulására.

Ezen általános ismertetés után lássuk az általunk vizsgált három átmenetifém-ion *N*-hisztidil-bisz(2-piridil)-metil-aminnal alkotott komplexeinek stabilitási állandó értékeit (13. táblázat).

**13. táblázat:** A His-BPMA réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények:  $T = 298 \text{ K}$ ;  $I = 0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ KCl}$ )

komplex összetétele	Cu(II)	Ni(II)	Zn(II)
$[\text{ML}_2\text{H}_4]^{6+}$	—	31,0(1)	—
$[\text{ML}_2\text{H}_3]^{5+}$	—	—	25,62(3)
$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{4+}$	—	23,12(4)	20,82(2)
$[\text{ML}_2]^{2+}$	—	12,64(4)	9,98(1)
$[\text{ML}_2\text{H}_2]$	—	-4,84(6)	—
$[\text{MLH}_2]^{4+}$	—	15,7(1)	—
$[\text{MLH}]^{3+}$	14,64(1)	—	—
$[\text{ML}]^{2+}$	10,36(1)	7,16(3)	4,75(3)
$[\text{MLH}_1]^+$	—	—	-2,33(8)
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	12,58(3)	3,92(7)	—
$[\text{MLH}_2]$	-4,47(2)	—	—
$\text{p}K_{\text{ML}_2\text{H}_2}^{\text{ML}_2\text{H}_3}$	—	—	4,80
$\text{p}K_{\text{ML}_2}^{\text{ML}_2\text{H}_2}$	—	5,24	5,42
$\text{p}K_{\text{ML}}^{\text{MLH}}$	4,28	—	—
$\text{p}K_{\text{MLH}_1}^{\text{ML}}$	—	—	7,08
$\lg(K_1/K_2)_{\text{MLH}_2}$	—	0,40	—
$\lg(K_1/K_2)_{\text{ML}}$	—	1,68	—

$$\lg(K_1/K_2)_{\text{MLH}_2} = \lg K(\text{MLH}_2) - \lg K(\text{ML}_2\text{H}_4) = 2 \cdot \lg \beta(\text{MLH}_2) - \lg \beta(\text{ML}_2\text{H}_4)$$

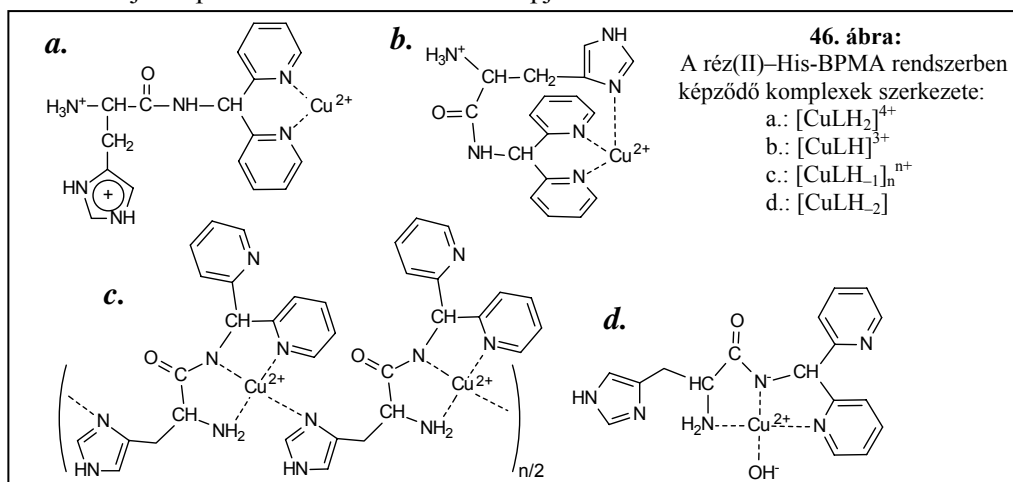
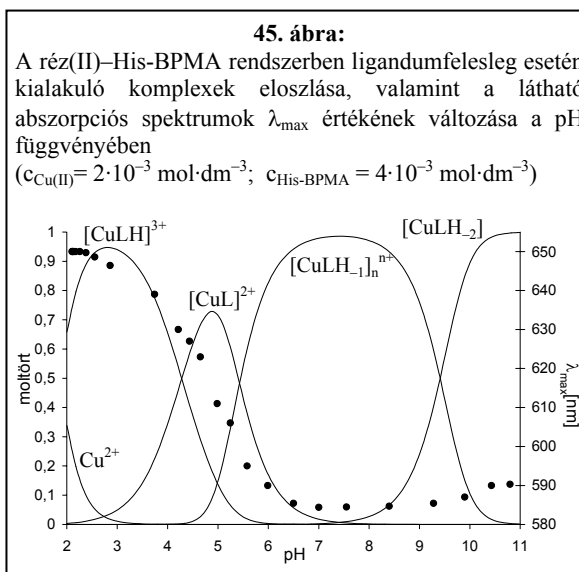
$$\lg(K_1/K_2)_{\text{ML}} = \lg K(\text{ML}) - \lg K(\text{ML}_2) = 2 \cdot \lg \beta(\text{ML}) - \lg \beta(\text{ML}_2)$$

### Réz(II)–His-BPMA rendszer:

A réz(II)–His-BPMA rendszer a lehetséges koordinációs módokhoz képest sokkal egyszerűbb viselkedést mutat (lásd: 45. ábra).

A potenciometriás mérések alapján sem kétmagvú komplexek, sem vegyes koordinációjú bisz-komplexek képződését nem lehetett számolni. Biszkomplexek még ligandumfelesleg esetén sem feltételezhetőek ebben a rendszerben, ezek ugyanis már a lényegesen kisebb térkitöltésű

ligandumot tartalmazó réz(II)–Gly-BPMA rendszerben sem képződtek, itt pedig a His-BPMA nagyobb mérete miatt még erősebb a két ligandum egyazon fémionhoz való koordinálódását akadályozó szterikus gátlás. A spektrofotometriás és ESR spektroszkópiás adatok szintén a biszkomplexek hiányát mutatják: a spektrumok pH szerinti változása (hasonlóan a réz(II)–Gly-BPMA rendszerrel tapasztaltakhoz) itt is azonos 1:1 és 1:2 fémion/ligandum aránynál. A spektroszkópiai paraméterek (14. táblázat, 64. oldal) savas pH-értékeknél is – ahol lehetőség lenne a biszkomplexek kialakulására – egyértelműen két nitrogénon keresztüli koordinációt mutatnak, így alátámasztják a potenciometriás mérések alapján feltételezett szerkezeteket.



Az ESR spektrumok alapján erősen savas körülmények között ( $\text{pH} < 1,5$ ) egy tisztán bisz(2-piridil)-metil-koordinációjú,  $[\text{CuLH}_2]^{4+}$  összetételű komplexet is ki lehet mutatni (46/a. ábra), amire azonban stabilitási állandót nem tudtunk meghatározni a komplex nagy stabilitása miatt. A pH-potenciometria alapján már 2-es pH-ra kialakul

a  $[\text{CuLH}]^{3+}$  sztöchiometriájú komplex (46/b. ábra). A spektroszkópiás adatok alapján ebben a komplexben a bisz(2-piridil)-metil-koordináció mellett már a deprotonált hisztidil-oldallánc gyenge kötődése is kimutatható. Az ebben a rendszerben képződő  $[\text{CuLH}_2]^{4+}$  vagy a réz(II)–Gly-BPMA rendszerben kialakuló  $[\text{CuLH}]^{3+}$  komplexre kapott  $g_{\parallel}$  és  $\lambda_{\text{max}}$  paraméterekhez képesti csökkenés mellett erre utal az is, hogy a hisztidincsoport  $pK$ -ja a komplexben jóval kisebb ( $pK_{\text{CuLH}_2}^{\text{CuLH}} < 1,5$ ) mint a szabad ligandumban ( $pK(\text{hisztidin}) = 5,43$ ; lásd: 5. táblázat, 46. oldal). A hisztidincsoportnak a már 2-es pH-n bekövetkező koordinációja miatt nincs lehetőség hisztaminszerű koordináció kialakulására és ezzel vegyes koordinációjú biszkomplexek, illetve kétmagvú komplexek képződésére. A korábban leírt, vegyesligandumú réz(II)–BPM–hisztamin rendszerre kapott eredmények szintén összhangban vannak ezen tapasztalatokkal. A vegyes rendszerekben is a bisz(2-piridil)-metil-koordináció volt az uralkodó savas pH-n, míg az egyéb koordinációs módok (hisztaminszerű koordináció, amino-amid koordináció és vegyes hisztamin–BPM koordináció) csak 5-ös pH felett jelennek meg. A réz(II)–Gly-BPMA rendszer vizsgálata alapján azonban az [N(amino), N(amid), N(piridin)]-koordináció már 4-es pH-nál kialakul, így nincs lehetőség hisztaminszerű és vegyes koordinációjú biszkomplexek képződésére.

**14. táblázat:** A réz(II)–His-BPMA rendszerben képződő, különböző összetételű komplexek PSEQUAD programmal számolt abszorpciós ( $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]$ ;  $\epsilon_{\text{max}}[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ ), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}$ ;  $A_{\parallel} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$ ) paraméterei

Komplex összetétele	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
$[\text{CuLH}_2]^{4+}$	—	2,284(177)
$[\text{CuLH}]^{3+}$	645(82)	2,278(172)
$[\text{CuL}]^{2+}$	611(115)	2,220(187)
$[\text{CuLH}_{-1}]_n^{n+}$	585(140)	ESR csendes
$[\text{CuLH}_2]$	590(133)	2,213(175)

Ezen tridentát koordinációs mód kialakulása után a réz(II)–His-BPMA rendszerben – a réz(II)–Gly-BPMA rendszerénél tapasztaltakhoz hasonlóan – a koordinációs szférából kiszoruló, gyengébb fémmegkötő képességű piridincsoport nem képes dimer szerkezetek kialakítására, azonban a hisztidin aminosav imidazolil-oldallánca már elég erősnek bizonyult ahhoz, hogy hídcsoportként elősegítse dimer vagy más oligomer szerkezetek kialakulását ( $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  vagy  $[\text{Cu}_n\text{L}_n\text{H}_{-n}]^{n+}$  összetételű komplex, 46/c. ábra). Ebben a 5,5–9 pH-tartományban az ESR vizsgálatok is egyértelműen dimerek vagy más oligomerek képződését mutatták: 5,5-ös pH felett a párhuzamos tartományban lévő ESR-jelek kiszélesednek majd eltűnnek. Ezt az okozza, hogy a dimerek vagy oligomerek esetében a réz(II)ionok egymáshoz közel kerülnek, így köztük részleges spinkicsereplődés megy végbe. Ekkor a réz(II) elveszíti paramágneses jellegét, ESR inaktívvá válik. Ugyanebben a pH-tartományban az abszorpciós spektrumban a réz(II)–Gly-BPMA rendszer  $[\text{CuLH}_{-1}]^+$  összetételű komplexéhez képest (melyre  $\lambda_{\text{max}} = 602 \text{ nm}$ ; lásd: 10. táblázat, 55. oldal) kék eltolódás

következik be ( $\lambda_{\max} = 585 \text{ nm}$ ; 14. táblázat, 64. oldal), ami alapján a réz(II)ion körüli nitrogének száma nem három (mint ahogy az a Gly-BPMA-val volt) hanem négy. Ez szintén az oligomer szerkezet kialakulását támasztja alá. Az előbbieken leírt ligandumhidras komplex azonban nem elég stabilis ahhoz, hogy nagyobb pH-n megakadályozza a hidrolízist. A titrálás lúgos tartományában  $[\text{CuLH}_2]$  összetételű vegyes hidroxokomplex képződését mutattuk ki a rendszerben.

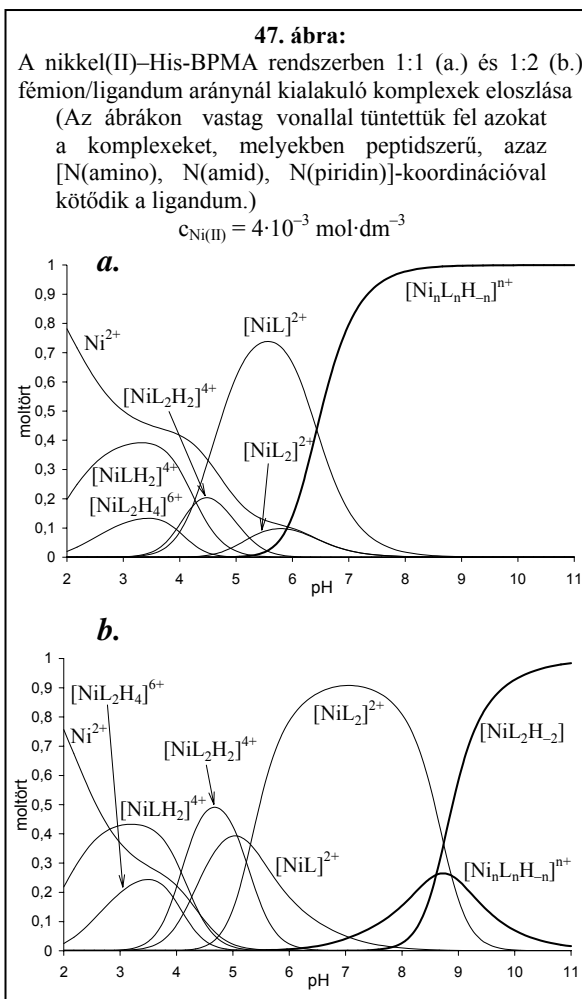
2:1 fémion/ligandum arányú pH-metriás és spektrofotometriás méréseket is végeztünk annak eldöntésére, hogy képes-e a ligandum egynél több réz(II)ion megkötésére, azonban a vizsgálható pH-tartományban ( $\text{pH} < 6,5$ ) ismét csak 1:1 komplexek képződtek, majd 6,5-ös pH felett a komplexben nem kötött réz(II)ion hidrolízise, csapadékleválás ment végbe.

### Nikkel(II)–His-BPMA rendszer:

A réz(II)ionhoz hasonlóan nikkel(II)ionnal is a bisz(2-piridil)-metil részen kezdődik el a koordináció, bár valamivel nagyobb pH-n mint réz(II) esetében. (Míg a

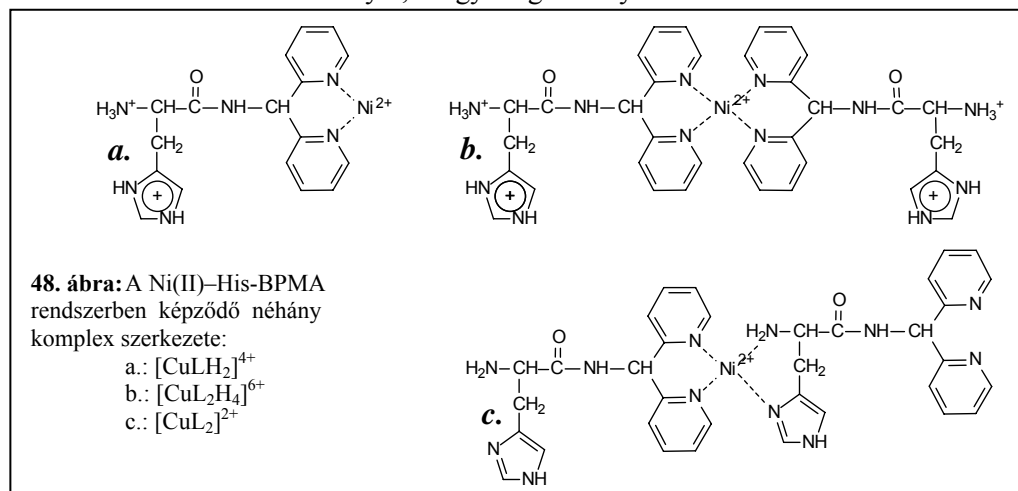
réz(II)–His-BPMA rendszerben 1:1 fém-ion/ligandum aránynál, 2-es pH-n 65 %-os volt a komplexképződés, addig ez a nikkel(II)ionnal ligandumfelesleg esetén is mindössze 25 %.) A nikkel(II)ionra jellemző szabályos oktaédes geometria miatt azonban itt már a monokomplexek mellett kis mennyiségben bisz(2-piridil)-metil-koordinációjú  $[\text{NiL}_2\text{H}_4]^{6+}$  komplex, nagyobb pH-n pedig vegyes koordinációjú  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{4+}$  és  $[\text{NiL}_2]^{2+}$  biszkomplexek is kialakulnak. Ez utóbbiak képződését a nikkel(II)–bisz(2-piridil)-metán–hisztamin vegyes rendszer esetében kapott eredményekkel erősítettük meg (lásd: 44/b. ábra, 61. oldal), mely azt mutatta, hogy a  $[\text{NiL}'\text{L}"]^{2+}$  vegyes koordinációjú komplex 6-os pH felett alakul ki.

Ebben a rendszerben a biszkomplexek képződése miatt az



amidnitrogén deprotonálódása és a peptidszerű koordináció kialakulása csak nagyobb pH-nál tud végbemenni, mint réz(II)ionnal, illetve mint a nikkell(II)–Gly-BPMA és nikkell(II)–Pro-BPMA<sup>[102, 113]</sup> rendszerben. A két ligandumot tartalmazó, vegyes koordinációjú részecskék ugyanis elég nagy stabilitásúak ahhoz, hogy gátolják a peptidcsoportnak a fémion koordinációs szférájába való kerülését és deprotonálódását. Ez a hatás főleg ligandumfelesleg esetén jelentős, így 1:2 fémion/ligandum aránynál a deprotonálódás csak 8-as pH fölött képes lejátszódni. Az UV-látható spektrofotometriás vizsgálatok egyértelműen azt mutatják, hogy a  $[\text{NiL}_2]^{2+}$  összetételű részecskénél még nem peptidszerűen koordinálódik a ligandum. A viszonylag kis 10Dq érték ( $10Dq < 11000$ ) ionos jellegű környezetet mutat a nikkell(II)ion körül, szemben a peptid-koordinációra jellemző, kovalensebb környezettel. (Racah-féle paraméterek számolását lásd: 35. oldal, (13)–(15) egyenlet. A rendszerben a komplexek  $\lambda_3$ , és bizonyos esetekben  $\lambda_2$  abszorpciós maximumának a ligandumsávokkal való átfedése miatt a B értékeket nem tudtuk számolni.)

A 8-as pH felett, ligandumfelesleg esetén kialakuló  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]$  komplex szerkezete megegyezik a nikkell(II)–Gly-BPMA rendszerben kialakuló, azonos összetételű komplex szerkezetével (lásd: 41/b. ábra, 57. oldal), azaz mindkét ligandum az amino-, amid- és piridincsoportján keresztül koordinálódik, elfoglalva ezzel a nikkell(II)ion körüli összes koordinációs helyet, és így megakadályozva a hidrolízist.



A ligandumfeleslegnél végzett mérésekkel szemben 1:1 fémion/ligandum aránynál már pH = 6-nál megkezdődik az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása. Ugyanezt a fémion/ligandum aránytól függő koordinációs mód váltást találták korábban a nikkell(II)–His-Gly rendszerben is<sup>[58]</sup>, ahol – a mi rendszerünkhöz hasonlóan – a ligandum stabilis hisztaminszerű koordinációja akadályozza ligandumfelesleg esetén a peptidszerű koordináció kialakulását. Az 1:1 fémion/ligandum aránynál 6-os pH felett uralkodó, peptidszerű koordinációjú, 1:1

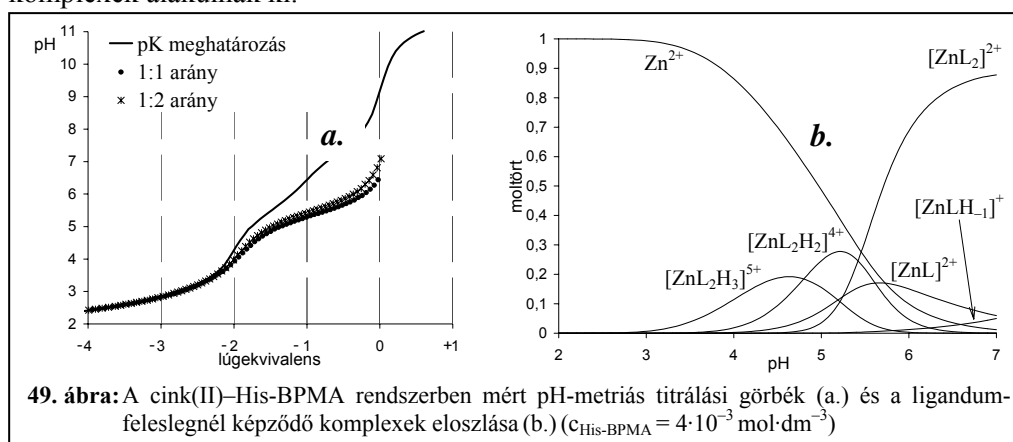


sztoichiometriájú komplexre a réz(II)–His-BPMA rendszerrel való analógia alapján itt is dimer, illetve polimer szerkezetet ( $[\text{Ni}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  vagy  $[\text{Ni}_n\text{L}_n\text{H}_n]^{n+}$ ) feltételezünk.

A spektrofotometriás vizsgálatok alapján a rendszerben képződő valamennyi komplexben oktaédes elrendeződés valósul meg a nikkel(II)ion körül.

### Cink(II)–His-BPMA rendszer:

A cink(II)ion esetében – az Irving-Williams sornak megfelelően ((4) egyenlet, 22. oldal) – a komplexképződés még nagyobb pH-n kezdődik el, mint ahogy azt a réz(II)- és nikkel(II)ionnál tapasztaltuk (pH = 5-nél még csak a cink(II)ion kb. 50 %-a van komplexben, lásd 49/b. ábra), és ebben a rendszerben jóval kisebb stabilitású komplexek alakulnak ki.



A képződő biszkomplexekben itt is bisz(2-piridil)-metil-, illetve vegyes (bisz(2-piridil)-metil- és hisztaminszerű) koordináció feltételezhető. Amiatt, hogy a komplexképződés csak 4-es pH felett indul el, nem is lehetett teljesen protonált  $[\text{ZnL}_2\text{H}_4]^{6+}$  biszkomplexet számolni a rendszerben.

A viszonylag kis stabilitású, így kisebb mennyiségben kialakuló biszkomplexek ligandumfelesleg esetén sem képesek megakadályozni a cink(II)ion hidrolízisét (ahogy arra sem a bisz(2-piridil)-metán, sem a hisztamin nem képes), azonban az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását – ami a cink(II)–Gly-BPMA rendszerben megvédte a fémiont a hidrolízistől – gátolják. A 7-es pH körül kialakuló,  $[\text{ZnLH}_1]^+ \equiv [\text{ZnL}(\text{OH})]^+$  összetételű komplexben így már nem a ligandum amidnitrogénje deprotonálódik, hanem az egyik koordinált vízmolekula, azaz vegyes hidroxokomplex kialakulásán keresztül már itt elkezdődik a hidrolízis. Ennek következtében a rendszerben pH = 8 fölött csapadék válik ki, ami miatt további oldategyensúlyi méréseket nem lehetett végezni. A vizsgálható pH-tartományban tehát nem következik be az amidnitrogén deprotonálódása, nem alakul ki peptidszerű koordináció a cink(II)ion körül.

### 5.1.3. A bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosavszármazékainak komplexkémiai viselkedése

Ezen ligandumokban (lásd: Gly-BIMA, Phe-BIMA, His-BIMA; 29/d.–f. ábra, 44. oldal) a bisz(2-piridil)-metil-csoport helyén erősebb fémmegkötő képességű bisz(2-imidazolil)-metil-csoport található. Ez a szerkezetbeli módosítás – mint a későbbiekben bemutatjuk – jelentősen befolyásolja a komplexkémiai viselkedést. Ugyanakkor a bisz(2-piridil)-metil-származékok koordinációs kémiájának az ismerete fontos segítséget nyújtott ezeknek a bonyolultabb rendszereknek a komplexkémiai jellemzéséhez.

#### 5.1.3.1. Oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-származékok (Gly-BIMA és Phe-BIMA) réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexei

15. táblázat: A Gly-BIMA<sup>[102, 113]</sup> és a Phe-BIMA réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérés körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

komplex összetétele	Cu(II)–		Ni(II)–		Zn(II)–	
	Gly-BIMA	Phe-BIMA	Gly-BIMA	Phe-BIMA	Gly-BIMA	Phe-BIMA
[ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	31,64	28,89(8)	27,82(3)	26,04(1)	24,04	22,60(4)
[ML <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	—	—	21,51(7)	20,33(4)	17,17	—
[ML <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	18,97	—	13,47(8)	13,70(4)	10,28	—
[ML <sub>2</sub> H <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	11,12	—	4,7(1)	5,90(7)	—	—
[MLH] <sup>3+</sup>	17,11	15,44(8)	14,21(4)	13,48(1)	12,40	11,78(1)
[MLH <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	—	—	—	0,01(4)	—	—
[M <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-2</sub> ] <sup>2+</sup>	18,43	14,9(1)	2,71(6)	—	0,40	—
[MLH <sub>-2</sub> ]	-0,92	-2,41(8)	-7,71(3)	—	—	—
$pK_{ML_2H_2}^{ML_2H_2}$	—	—	6,31	5,71	6,87	—
$pK_{ML_2}^{ML_2H}$	—	—	8,04	6,63	6,89	—
$pK_{ML_2H_{-1}}^{ML_2}$	7,85	—	8,77	7,80	—	—
$\lg(K_1/K_2)_{MLH}$	2,58	1,99	0,60	0,92	0,76	0,96

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

A réz(II)–Gly-BIMA és cink(II)–Gly-BIMA rendszert korábban vizsgálták már kutatócsoportunkban<sup>[102, 113]</sup>, így ezen eredményeket csak a nikkell(II)ionra vonatkozó vizsgálatokkal kellett kiegészíteni.

A komplexek összetételét és a rájuk vonatkozó stabilitási állandó értékeket összevetve (15. táblázat adatai) megállapíthatjuk, hogy egy adott fémion esetében a két ligandum, a Gly-BIMA és a Phe-BIMA koordinációs kémiai viselkedése igen hasonló, azaz a nagy térkitöltésű, de koordinációra nem alkalmas fenilalanil-oldalláncnak csak kisebb, sztérikus szerepe van, és az alapvető koordinációs módokat nem befolyásolja. Ugyanakkor a három vizsgált fém, a réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)ion különbözőkép-

pen viselkedik a ligandumokkal szemben. Ezért a továbbiakban az egy adott fémionra vonatkozó, Gly-BIMA-val és Phe-BIMA-val kapott eredményeket együtt tárgyaljuk.

### Réz(II)komplexek:

Mindhárom általunk vizsgált fémionnal, így a réz(II)–Gly-BIMA rendszerben is savas pH-tartományban a bisz(2-imidazolil)-metil-részen kezdődik a koordináció, protonált mono- és biszkomplexek kialakulásán keresztül ( $[\text{CuLH}]^{3+}$ , illetve  $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+}$ ). A spektroszkópiás paraméterek nagyon jó egyezést mutatnak a korábban a réz(II)–BIM, valamint réz(II)–BIMA rendszerben kapott, azonos szerkezetű mono- és biszkomplex spektrális paramétereivel (16. táblázat).

**16. táblázat:** A réz(II)–Gly-BIMA és –Phe-BIMA, valamint összehasonlításként a réz(II)–BIM és –BIMA<sup>[100]</sup> rendszerben képződő, különböző összetételű és koordinációs módú komplexek abszorpció ( $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]/\epsilon_{\text{max}}[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ ) és ESR spektroszkópiás ( $g_{\text{II}}/A_{\text{II}} \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) paramétereit.

komplex összetétele	Gly-BIMA		Phe-BIMA	
	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\text{II}}(A_{\text{II}})^*$	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\text{II}}(A_{\text{II}})^*$
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+}$	590(34)	2,236(201)	588(27)	2,235(192)
$[\text{CuL}_2]^{2+}$	kevés	2,220(180)	—	—
$[\text{CuLH}]^{3+}$	690(31)	2,299(175)	679(29)	2,303(166)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	595(91)	ESR csendes	588(99)	ESR csendes
$[\text{CuLH}_2]$	—	—	555(285)	2,221(171)
$[\text{CuLH}_2]_n$ {	kevés	$g_1=2,155$	—	—
		$g_2=2,108$		
		$g_3=2,048$		
Koordinációs mód	BIM		BIMA	
	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\text{II}}(A_{\text{II}})^*$	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\text{II}}(A_{\text{II}})^*$
$4 \cdot \text{N}(\text{imidazol})_{\text{ekvatoriális}}$	578(42)	2,237(199)	592(28)	2,239(198)
$2 \cdot \text{N}(\text{imidazol})_{\text{ekvatoriális}}$	680(34)	2,307(181)	—	2,303(176)

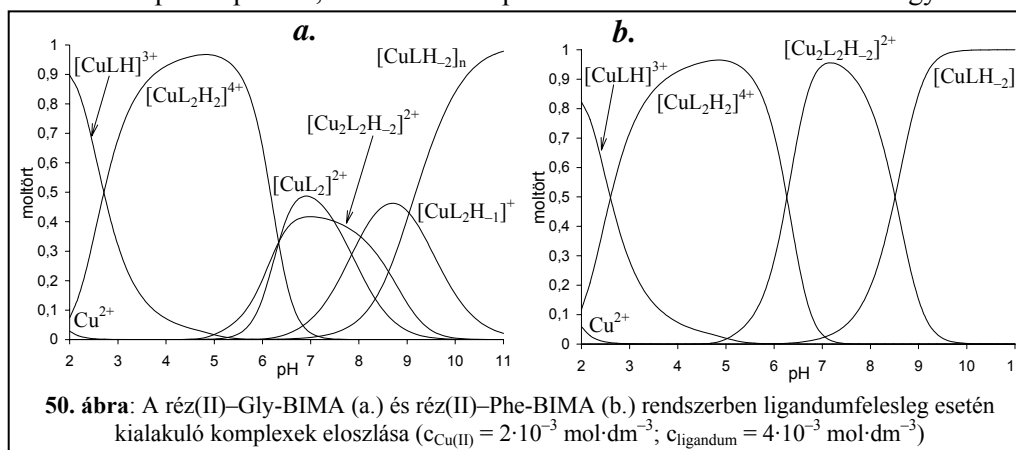
\* A réz(II)–Gly-BIMA, –BIM és –BIMA rendszerben a méréseket természetes rézizotóppal végezték, melyben az izotópok aránya:  $^{65}\text{Cu} = 69,17\%$  és  $^{63}\text{Cu} = 30,83\%$ ; míg a réz(II)–Phe-BIMA rendszerben  $^{63}\text{Cu}$  izotóppal dolgoztunk.

A bisz(2-imidazolil)-metil koordinációs módú mono- és biszkomplexek esetében végeztünk számolásokat a Billo<sup>[169]</sup>, Sigel és Martin<sup>[22]</sup>, valamint Pettit és munkatársai<sup>[168]</sup> által leírt (10)–(12) egyenletek alapján is (lásd: 34. oldal), ami a monokomplexre ( $[2 \cdot \text{N}(\text{Im}), 2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ -koordináció) 687 nm, a biszkompleyre ( $[4 \cdot \text{N}(\text{Im})]$ -koordináció) 576 nm  $\lambda_{\text{max}}$  értéket adott. Ez szintén jól egyezik az általunk mért abszorpció maximum értékekkel.

A réz(II)–Gly-BIMA (és –Phe-BIMA) rendszerben a  $[\text{CuLH}]^{3+}$  komplexre valamivel kisebb  $g_{\text{II}}$  és  $A_{\text{II}}$  értékeket kapunk, mint a réz(II)–BIM rendszerben kialakuló bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplex esetében. Ez a ligandumok karbonilcsoportjának gyenge axiális kölcsönhatására utalhat. A biszkomplex esetén azonban már nincs ilyen különbség a BIM-, Gly-BIMA- és Phe-BIMA komplexeinek ESR

paraméterei között, vagyis itt már csak a négy imidazolnitrogéne keresztül történik a koordináció. Ezt mutatja az ESR jelek szuperhiperfinom felhasadása is, azaz az öt vonal megjelenése, mely egyértelműen négy ekvivalens donortom (jelen esetben négy imidazolnitrogén) koordinálódására utal.

A réz(II)komplexekre számolt nagy  $\lg(K_1/K_2)$  érték azt mutatja, hogy a másik két fémionhoz képest itt kevésbé kedvezményezett a biszkomplexek képződése. Ez itt is – mint ahogy a bisz(2-piridil)-metil-származékoknál láttuk – a réz(II)ion oktaédes geometriájának tetragonális torzulásával magyarázható. Azt, hogy ebben a rendszerben – a bisz(2-piridil)-metil származékokkal ellentétben – kis mennyiségben kialakul az 1:2 komplex, a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport bisz(2-piridil)-metil-csoportnál nagyobb fémmegkötő képessége teszi lehetővé. Ez a réz(II)ionhoz való nagyobb affinitás nemcsak a biszkomplexek nagyobb mértékű kialakulását magyarázza, hanem azt is, hogy a bisz(2-piridil)-metil-származékokhoz képest itt már savasabb pH-értéknél megkezdődik a komplexképződés, azaz ezen komplexek stabilitási állandó értéke nagyobb.



A pH növelésével a réz(II)–Gly-BIMA és réz(II)–Phe-BIMA rendszerben bekövetkezik az amidnitrogén deprotonálódása, és a réz(II)ion körül kialakul a peptidszerű koordináció. Azonban éppen az imidazolcsoport piridincsoportnál nagyobb fémmegkötő képessége, azaz az aromás gyűrűkön keresztüli koordinációjú komplexek nagyobb stabilitása miatt ez a folyamat csak nagyobb pH-nál ( $\text{pH} > 5$ ; lásd 50. ábra) játszódik le, mint a réz(II)–Gly-BPMA rendszerben (ahol már  $\text{pH} = 3$ -nál megkezdődött az amid-deprotonálódás).

Az ekvimoláris oldatokban képződő, peptidszerű koordinációjú, 1:1 sztöchiometriájú komplexre az ESR mérések alapján mind a réz(II)–Gly-BIMA, mind a réz(II)–Phe-BIMA rendszerben dimer szerkezetet feltételezünk ( $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű komplex; 51/c. ábra, 71. oldal)<sup>[102, 113]</sup>. Az ESR spektrumban a  $\Delta M = 1$ -hez tartozó merőleges tartományban két-két éles csúcsot kapunk  $g \sim 2$  értéknél, amelyekből a Stevens egyenlet (lásd: 42. oldal, (27) egyenlet) segítségével mindkét komplexre számolható volt a réz–réz távolság (17. táblázat adatai, 71. oldal).

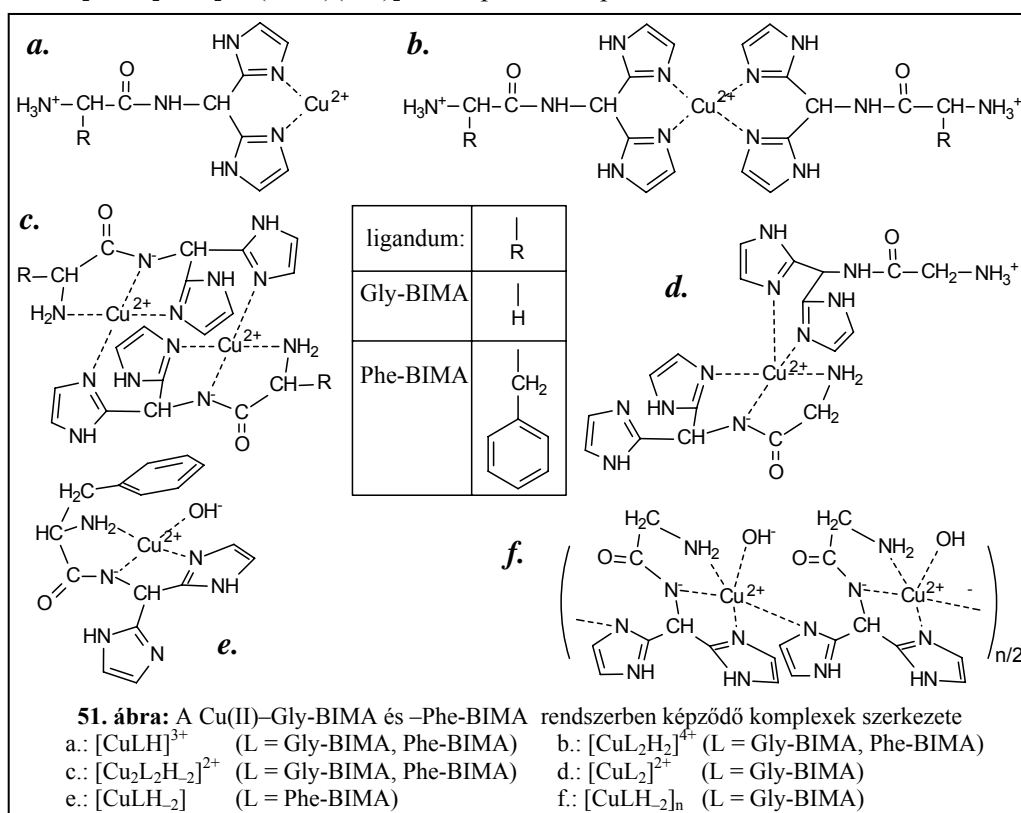
**17. táblázat:** A réz(II)–Gly-BIMA és –Phe-BIMA rendszerben képződő  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű komplexek ESR spektroszkópiás ( $g_{\perp}$  és  $D[\text{cm}^{-1}]$ ) paraméterei, és az ezekből számolható réz(II)–réz(II) távolság ( $R_{\text{Cu-Cu}}[\text{pm}]$ )

ligandum	$g_{\perp}$	$D[\text{cm}^{-1}]$	$R_{\text{Cu-Cu}}[\text{pm}]$
Gly-BIMA	2,056	0,044	390
Phe-BIMA	2,057	0,045	393

Ezek a réz–réz távolság értékek a két ligandum esetén igen hasonlóak, ami szintén a két komplex azonos szerkezetét igazolja; azaz a nagy térkitöltésű fenilalanil-oldalláncnak semmiféle szerepe nincs a dimer komplex szerkezetére.

A dimer komplexek spektrumának kis térerőhöz tartozó részén egy hét vonalból álló finomszerkezetet találtunk 1:2:3:4:3:2:1 intenzitásarányokkal (a hiperfinom csatolási állandó értéke 87 G), mely a  $\Delta M = 2$  átmenethez tartozik.

Az 1:1 fémion/ligandum aránnyal szemben ligandumfelesleg esetén jelentősen különbözik a két rendszer (50. ábra, 70. oldal): Gly-BIMA esetében a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  dimer mellett  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  és  $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^+$  összetételű komplexek alakulnak ki nagyobb pH-nál, melyekben az egyik ligandum szintén háromnitrogénes, peptidszerű koordinációval kapcsolódik, míg a másik mono- vagy bidentát módon, az egyik vagy mindkét imidazolnitrogénjén keresztül (utóbbi esetben a második imidazolcsoport az axiális koordinációs helyet foglalja el, lásd: 51/d. ábra). Erre a gyenge axiális koordinációra utal a  $[\text{CuL}_2]^{2+} \equiv [\text{Cu}(\text{LH}_1)(\text{LH})]^{2+}$  komplex ESR paramétereiben a kis  $A_{\parallel}$  érték.



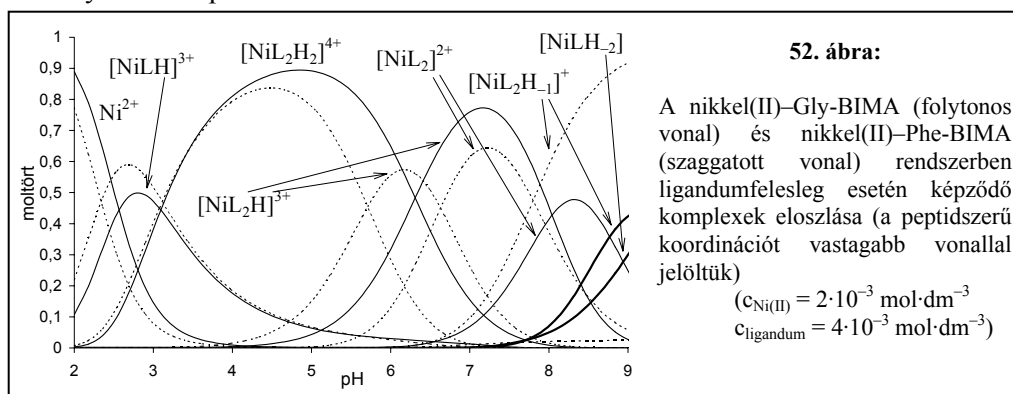
Ugyanekkor a réz(II)–Phe-BIMA rendszer esetében ebben a pH-tartományban biszkomplexek kialakulását sem a potenciometria, sem a spektroszkópiás módszerek nem mutatták. Valamennyi fémion/ligandum aránynál a dimer komplex az uralkodó fiziológiás és gyengén lúgos pH-n. A peptidkoordinációjú biszkomplexek hiányát itt valószínűleg a nagy térkitöltésű fenilalanil-oldallánc okozza.

8-as pH felett mindkét rendszerben egy újabb lúgfogyasztó folyamat játszódik le, mely a Gly-BIMA esetében – a spektrofotometriás és ESR spektroszkópiás adatok alapján – torzult geometriájú, ötös koordinációjú, valószínűleg imidazolhídon keresztül kialakuló polimer, míg a Phe-BIMA-nál monomer vegyes hidroxokomplex képződéséhez rendelhető. A monomer komplexre kapott ESR paraméterek megfelelnek egy dipeptid réz(II)ionnal alkotott vegyes hidroxokomplexének az ESR paramétereivel (pl. a réz(II)–Gly-Gly-NH<sub>2</sub> rendszerben a [CuLH<sub>3</sub>]<sup>-</sup> komplex ([N(amino), N(amid), NH<sup>-</sup>](OH<sup>-</sup>)]-koordináció) ESR paraméterei:  $g_{\parallel} = 2,219$ ,  $A_{\parallel} = 202 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ). A polimer szerkezet kialakulását itt a fenilalanil-oldallánc és a koordinált imidazolcsoport között kialakuló stacking kölcsönhatás akadályozza meg.

### Nikkel(II)komplexek:

Nikkel(II)ionnal szintén a bisz(2-imidazolil)-metil-részen kezdődik el a koordináció. Ez a koordinációs mód azonban – szemben a bisz(2-piridil)-metil koordinációs móddal – képes megkötni a nikkelt már savas pH-n is (52. ábra). 1:1 fémion/ligandum aránynál [NiLH]<sup>3+</sup> monokomplex, míg ligandumfelesleg esetén [NiL<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>, [NiL<sub>2</sub>H]<sup>3+</sup> és [NiL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> összetételű biszkomplexek alakulnak ki oktaédres geometriával. (Az UV-látható spektroszkópiás vizsgálatok ebben a rendszerben a [NiL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> komplexben is bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációt mutattak, szemben a nikkelt(II)–Gly-BPMA rendszerben tapasztaltakkal.)

A pH növelésével a nikkelt(II)–Gly-BPMA rendszerben az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása már viszonylag kis, 6-os pH-n bekövetkezik (lásd: 5.1.2.1. fejezet 40. ábra, 57. oldal). A nikkelt(II)–Gly-BIMA és nikkelt(II)–Phe-BIMA rendszerben azonban ez a folyamat csak nagyobb pH-n (pH > 8, illetve pH > 7) játszódik le, ugyanis a savas pH-n kialakuló, nagy stabilitású biszkomplexek jelenléte akadályozza a deprotonálódást.



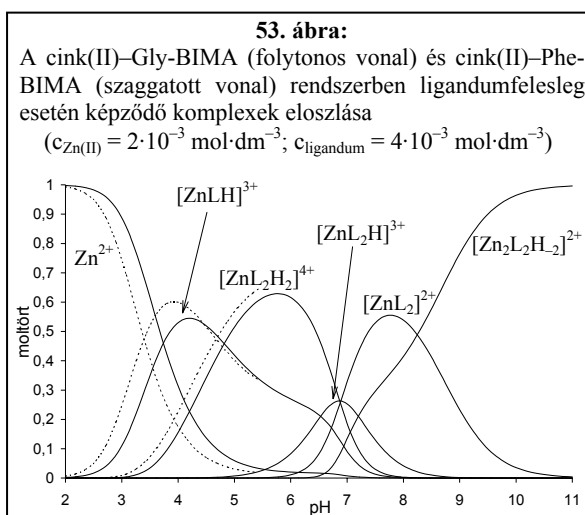
A nikkell(II)–Gly-BIMA és nikkell(II)–Phe-BIMA rendszerben sztérikus okok, valamint a nagy stabilitású bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú biszkomplexek ( $[\text{NiL}_2\text{H}_2]^{4+}$ ,  $[\text{NiL}_2\text{H}]^{3+}$  és  $[\text{NiL}_2]^{2+}$  összetételű komplexek) képződése miatt már ligandumfelesleg esetén sem alakul ki a két ligandum peptidszerű koordinációjával képződő  $[\text{NiL}_2\text{H}_2]$  részecske, amely a nikkell(II)–Gly-BPMA rendszerben 8-as pH felett uralkodó volt, és megakadályozta a hidrolízist. A titrálás lúgos tartományában, 8-as pH fölött  $[\text{NiLH}_2]$  összetételű vegyes hidroxokomplex képződése kezdődik el, majd 9-es pH-nál bekövetkezik a nikkell(II)ion hidrolízise, a rendszerből csapadék válik ki.

A nikkell(II)–Gly-BIMA rendszerben 1:1 fémion/ligandum aránynál felvett UV-látható spektrumokban 448 nm-nél megjelenik egy újabb sáv, melynek az intenzitása a  $[\text{NiLH}_2]$  összetételű komplex, azaz a peptidszerű koordináció kialakulásával párhuzamosan növekszik. Ezen sáv azt mutatja, hogy a peptidszerű koordinációs módnál itt is oktaéderes/síknégyszetes egyensúlyi geometria valósul meg a nikkell(II)ion körül, hasonlóan, mint a nikkell(II)–Gly-BPMA és nikkell(II)–Pro-BPMA rendszerben.

### Cink(II)komplexek:

A korábbi vizsgálatok megállapították, hogy a cink(II)ion is stabilis mono- és biszkomplexeket képez a bisz(2-imidazolil)-metánnal és annak szabad terminális aminocsoportot nem tartalmazó peptidszármazékaival<sup>[100, 102, 109]</sup>. A várakozásoknak megfelelően a cink(II)–Gly-BIMA és cink(II)–Phe-BIMA rendszerben is ezeknek a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplexeknek a jelenlétét mutattuk ki savas pH-tartományban ( $[\text{ZnLH}]^{3+}$  és  $[\text{ZnL}]^{2+}$ , illetve  $[\text{ZnL}_2\text{H}_2]^{4+}$  –  $[\text{ZnL}_2]^{2+}$  komplexek), melyekben 7,5-ös pH (az aminocsoport pK-ja) alatt az aminonitrogén protonált, 7,5-ös pH felett deprotonált. Ezen bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplexeknek a stabilitása az Irving-Williams sornak megfelelően (lásd: (4) egyenlet, 22. oldal) cink(II)ion esetében a legkisebb.

A pH növelésével, az aminos csoport deprotonálódásával párhuzamosan a cink(II)–Gly-BIMA rendszerben bekövetkezik egy extra lúgfogyasztó folyamat, ami az amidnitrogén deprotonálódásához és koordinálódásához rendelhető. Ez a bisz(2-piridil)-metil-koordinációhoz képest viszonylag nagyobb stabilitású bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplexek jelenléte miatt itt már csak nagyobb pH-nál megy végbe, mint ahogy azt pl. a cink(II)–Gly-BPMA rendszerben tapasztaltuk. A cink(II)–Gly-BIMA rendszerben kialakuló, peptidkoordinációjú komp-



lexre a rézzel való analógia alapján dimer szerkezetet feltételezünk ( $[\text{Zn}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$ ). Az a tény, hogy ebben a pH-tartományban – ahol a szabad cink(II)ion már hidrolizál – a ligandumot is tartalmazó oldatban még nem megy végbe a cink(II)ion hidrolízise, szintén a cink körüli telítettebb koordinációs szerkezetet, azaz a dimert valószínűsíti. A cink(II)–Gly-BIMA rendszerrel szemben azonban a Phe-BIMA ligandummal – ahol a dimer kialakulását a nagy térkitöltésű oldallánc is akadályozza – már egyáltalán nem jön létre ez a koordinációs mód, 6-os pH-nál a cink(II)ion hidrolízise, csapadékkiválás következik be.

### 5.1.3.2. Erősen koordinálódó donorcsoportot tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-származék (His-BIMA) komplexei

18. táblázat: A His-BIMA réz(II)-, nikkell(II)- és cink(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

komplex összetétele	Cu(II)	Ni(II)	Zn(II)
$[\text{ML}_2\text{H}_4]^{6+}$	37,20(5)	35,62(6)	—
$[\text{ML}_2\text{H}_3]^{5+}$	33,12(9)	31,63(7)	28,08(7)
$[\text{ML}_2\text{H}_2]^{4+}$	28,51(9)	26,79(7)	22,79(7)
$[\text{ML}_2\text{H}]^{3+}$	22,7(1)	20,8(1)	16,85(7)
$[\text{ML}_2]^{2+}$	16,2(1)	13,9(1)	9,97(7)
$[\text{ML}_2\text{H}_{-1}]^+$	8,8(1)	5,2(1)	—
$[\text{MLH}_2]^{4+}$	19,29(9)	18,42(1)	16,84(1)
$[\text{MLH}]^{3+}$	—	—	12,16(2)
$[\text{M}_2\text{L}_2]^{4+}$	25,68(4)	21,77(4)	—
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_{-1}]^{3+}$	19,7(1)	—	—
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	13,58(8)	—	—
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_3]^+$	5,5(2)	—	—
$[\text{M}_2\text{L}_2\text{H}_4]$	-3,5(1)	—	—
$[\text{ML}]^{2+}$	—	—	6,82(1)
$[\text{MLH}_{-1}]^+$	—	1,49(3)	-0,52(1)
$[\text{MLH}_2]$	—	-7,70(4)	—
$[\text{M}_2\text{L}]^{2+}$	15,36(4)	12,62(3)	—
$[\text{M}_3\text{L}_2\text{H}_4]^{2+}$	8,53(8)	—	—
$\text{p}K_{\text{ML}_2\text{H}_4}^{\text{ML}_2\text{H}_3}$	4,08	4,00	—
$\text{p}K_{\text{ML}_2\text{H}_2}^{\text{ML}_2\text{H}_3}$	4,61	4,84	5,29
$\text{p}K_{\text{ML}_2\text{H}}^{\text{ML}_2\text{H}_2}$	5,85	5,96	5,94
$\text{p}K_{\text{ML}_2}^{\text{ML}_2\text{H}}$	6,51	6,93	6,88
$\text{p}K_{\text{ML}_2\text{H}_{-1}}^{\text{ML}_2}$	7,34	8,70	—
$\lg(K_1/K_2)_{\text{MLH}_2}$	1,38	1,22	—

$$\lg(K_1/K_2)_{\text{MLH}_2} = \lg K(\text{MLH}_2) - \lg K(\text{ML}_2\text{H}_4) = 2 \cdot \lg \beta(\text{MLH}_4) - \lg \beta(\text{ML}_2\text{H}_4)$$



Az *N*-hisztidil-[bisz(2-imidazolil)-metil-amin] (lásd: 29/f. ábra, 44. oldal) egy újabb többfogú ligandum, mely számos koordinációs mód kialakítására lehet alkalmas. Ezek a koordinációs helyek hasonlóak, mint amiket a His-BPMA esetében láttunk, a két ligandum mindössze annyiban különbözik, hogy a molekulában a bisz(2-piridil)-metil kelátképző csoport helyett itt bisz(2-imidazolil)-metil-csoport található.

A három vizsgált fémionnal kialakulhat hattagú kelátszerkezeten keresztül, azaz bisz(2-imidazolil)-metil- és hisztaminszerű, valamint peptidszerű ([N(amino), N(amid), N(imidazol)]) koordináció (ez utóbbiban nem a hisztidinrész hanem a bisz(2-imidazolil)-metil-rész egyik imidazolja koordinálódik!) Ezen koordinációs módok itt is lehetőséget teremtenek biszkomplexek, ligandumhidas szerkezetek, illetve többmagvú komplexek kialakítására.

Dimer vagy polimer szerkezetek képzésére itt már nem csak a hisztidil-oldallánc (mint azt a His-BPMA esetében láttuk), hanem a bisz(2-imidazolil)-metil fémmegekötő csoport szabad imidazolcsoportja is lehetőséget teremt (Gly-BIMA-szerű koordinációval kialakuló dimer, lásd: 51/c. ábra, 71. oldal).

Emellett kétféle pirrol-típusú N(1)H is található a ligandumban, és mindkettő deprotonálódására lehetőség van megfelelő fémionnal, akár a pirrolnitrogén koordinálódásával, akár koordináció nélkül. Ezen deprotonálódás lejátszódása alkalmassá teszi a ligandumot a SOD enzim aktív centrumának a modellezésére, amennyiben ez a deprotonálódás fiziológiás pH-tartományban megy végbe.

### Réz(II)–His-BIMA rendszer:

A réz(II)–His-BIMA rendszerben az előbb leírt koordinációs módoknak megfelelően igen sokféle szerkezetű komplex alakul ki, ezért az eloszlásgörbéken nem csak a komplexek, hanem bizonyos koordinációs módok pH szerinti változását is ábrázoljuk.

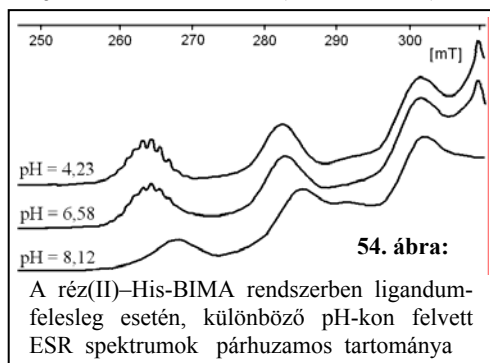
**19. táblázat:** A réz(II)–His-BIMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek abszorpciós ( $\lambda_{\max}$ [nm]/ $\epsilon_{\max}$ [dm<sup>3</sup>·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>]) és ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ [ $10^{-4}$  cm<sup>-1</sup>]) paraméterei (Az ESR méréseket tiszta <sup>63</sup>Cu izotóppal végeztük.)

Komplex összetétele	$\lambda_{\max}(\epsilon_{\max})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
[CuL <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>6+</sup> – [CuL <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	605(50)	2,234(197)
[CuL <sub>2</sub> H <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	585(95)	2,221(175)
[CuLH <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	683(32)	2,298(176)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	604(72)	széles jelek
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-2</sub> ] <sup>2+</sup>	592(111)	—
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-4</sub> ]	565(117)	—
[Cu <sub>2</sub> L] <sup>4+</sup>	692(37)	—
[Cu <sub>3</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-4</sub> ] <sup>2+</sup>	580(84)	—

A komplexképződés igen savas oldatban, már 2-es pH alatt elkezdődik. Az itt kialakuló komplexekben ([CuL<sub>2</sub>H<sub>4</sub>]<sup>6+</sup> – [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, illetve [CuLH<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>) a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport a fő koordinációs hely (56/a. ábra, 77. oldal). A

hisztaminszerű koordináció ugyanis a korábbi, réz(II)–hisztamin rendszerben végzett vizsgálatok alapján<sup>[86]</sup> csak 3-as pH felett válhat számottevővé. A bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációra utal a komplexek abszorpciós és ESR spektruma is (lásd: 19. táblázat; valamint a korábbi, 16. táblázat (69. oldal) adatai).

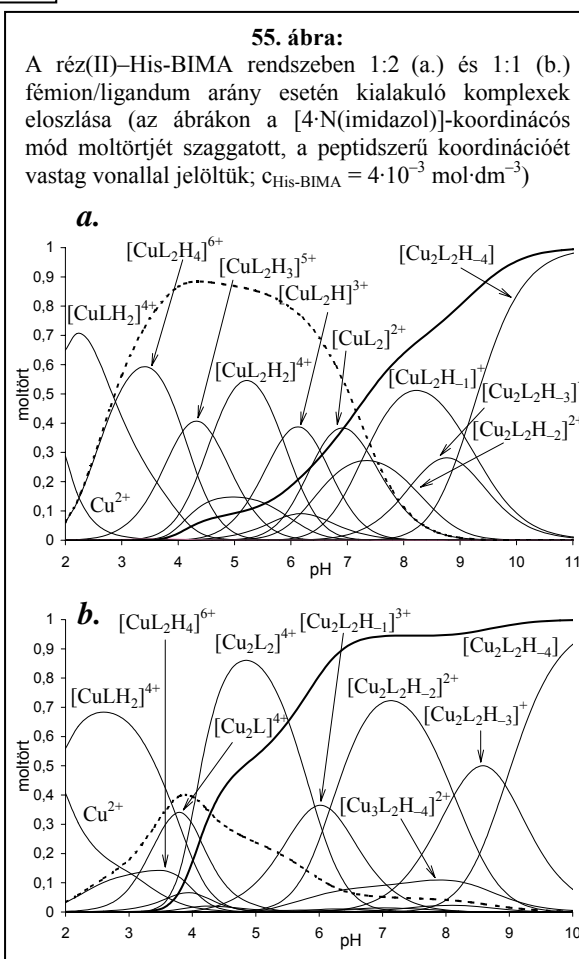
A  $[\text{CuL}_2\text{H}_4]^{6+}$  –  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  komplexeknek mind az ESR-, mind a látható abszorpciós spektruma megegyezik, azaz ligandumfelesleg esetén 3-as pH felett sem tudja kiszorítani a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációt a hisztaminszerű koordináció.



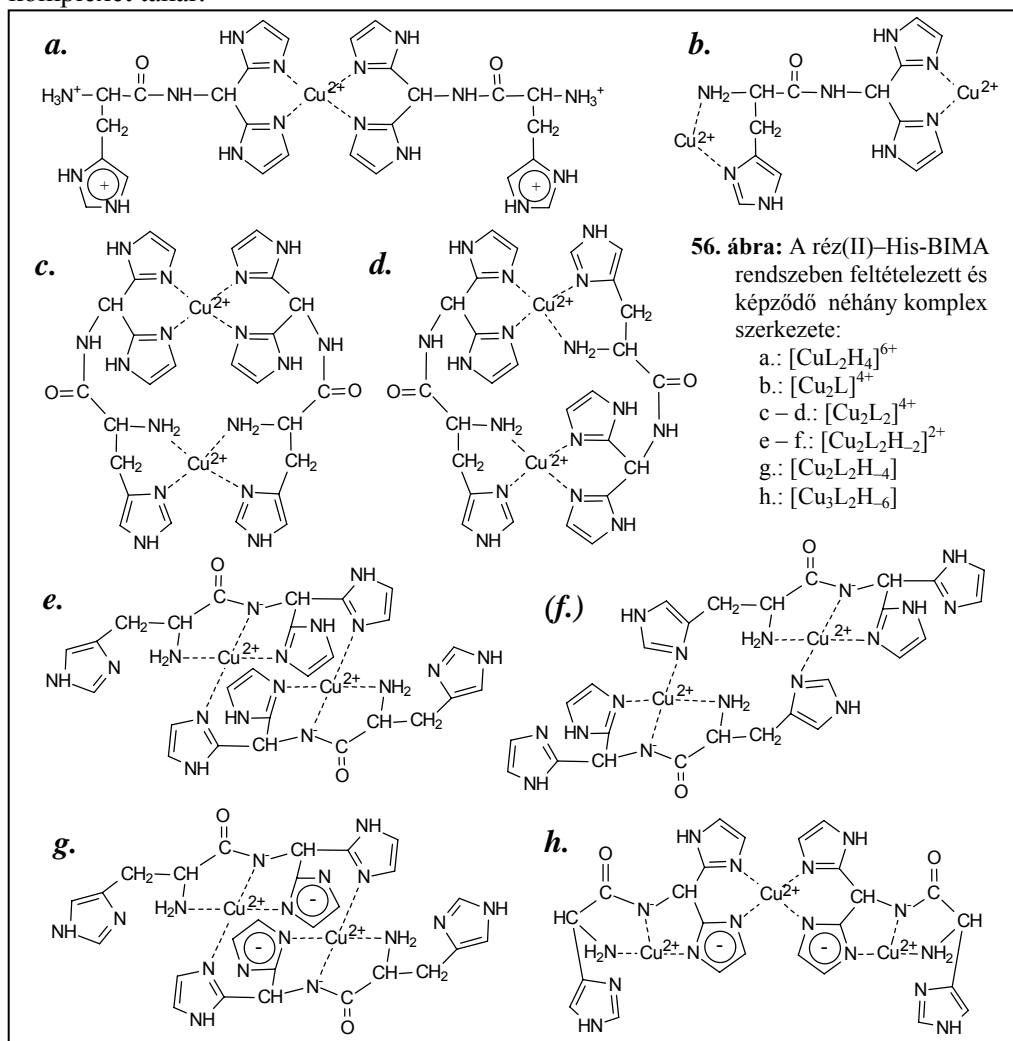
Egészen  $\text{pH} < 6,5$ -ig láthatjuk az ESR spektrumban a négy ekvivalens nitrogén koordinálódására utaló szuperhiperfinom ESR felhasadást is (54. ábra). Emellett a  $[\text{CuL}_2\text{H}_4]^{6+}$  komplex lépcsőzetes deprotonálásának  $\text{pK}$ -értékei megfelelnek a statisztikus értékeknek, ami szintén a nem-koordinálódó hisztidin-, illetve aminoszerek független deprotonálódását

mutatja ligandumfelesleg esetén.

Gyengén lúgos körülmények között, ligandumfelesleg esetén  $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^+$  összetételű biszkomplex képződik, mely az ESR alapján monomer szerkezetű. Ezen komplex képződése kék eltolódást okoz az abszorpciós spektrumban (19. táblázat), mely azt mutatja hogy nem vegyes hidroxokomplex képződés, hanem az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása játszódik le. A komplex feltételezett szerkezete itt is hasonló, mint a réz(II)–Gly-BIMA rendszerben kialakuló azonos összetételű komplexé volt, azaz az egyik ligandum peptidszerűen, míg a másik egy donoratomon keresztül az ekvatoriális vagy két donoratomon axiális-ekvatoriális pozícióban (lásd: korábbi 51/d. ábra, 71. oldal) koordinálódik.



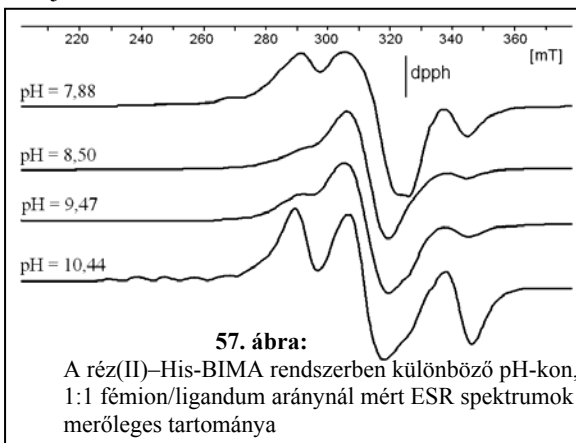
1:1 fémion/ligandum arányánál azonban a spektrális változások már sokkal többféle koordinációs mód jelenlétére utalnak. A  $[\text{CuLH}_2]^{4+}$  összetételű komplexben még bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció valósul meg, de  $\text{pH} = 4 - 7$  tartományban egy kiszélesedett ESR- és abszorpciós spektrumot kapunk, mely többféle koordinációs mód együttes jelenlétére utal. Azaz a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  sztöchiometria többféle szerkezetű komplexet takar.



Ezen izomerek egy részében a ligandum két végén lévő kelátképző csoport, a bisz(2-imidazolil)-metil- és a hisztamincsoport koordinálódik. Ezzel a koordinációs móddal szimmetrikus (56/c. ábra) és aszimmetrikus (56/d.) ligandumhidas dimerek képződhetnek. A réz(II)ion különböző nitrogéndonorokkal végzett korábbi vizsgálatai<sup>[209]</sup> azt mutatták, hogy a vegyes koordinációjú komplexek képződése kevésbé kedvezményezett, ha a rendszerben alifás és aromás nitrogéndonorok is vannak. Azaz a szimmetrikus szerkezetű ligandumhidas dimer képződése valószínűbb, és erre utal az ESR spektrumban látható superhiperfinom felhasadás is 1:1

fémion/ligandum arányánál.  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  összetétellel írható le ezek mellett a következő bekezdésben bemutatandó imidazolhidas, "Gly-BIMA-szerű" dimer komplex (56/e. ábra) hisztidincsoportján protonált formája is.

A réz(II)–His-BIMA rendszerben pH = 5 – 6 körül végbemegy az amidnitrogén deprotonálódása, és az ESR spektroszkópiás vizsgálatok alapján 1:1 fémion/ligandum arány esetében  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű, dimer szerkezetű, peptid-szerű koordinációjú komplex alakul ki, valamelyik imidazolcsoporton mint hidcsoporton keresztül. Ez a hidcsoport itt lehet a hisztidil-oldallánc imidazolcsoportja ("His-BPMA-szerű" dimer; 56/f. ábra) vagy a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport peptidszerű koordinációban részt nem vevő imidazolja ("Gly-BIMA-szerű" dimer; 56/e. ábra). A kétféle komplex szerkezetét modellezve azt találtuk, hogy a hisztidinhidas szerkezetben a réz–réz távolság közel kétszerese az imidazolhidas dimerének. Az ESR adatok alapján ugyanakkor itt is lehetőség volt a Stevens egyenlet (lásd: 42. oldal, (27) egyenlet) alapján a réz–réz távolság számolására (20. táblázat).



**20. táblázat:** A réz(II)–His-BIMA rendszerben képződő dimerek ESR spektroszkópiás ( $g_{\perp}/D[\text{cm}^{-1}]$ ) paraméterei, és az ezekből számolható réz(II)–réz(II) távolság ( $R_{\text{Cu}-\text{Cu}}[\text{pm}]$ )

komplex	$g_{\perp}$	$D[\text{cm}^{-1}]$	$R_{\text{Cu}-\text{Cu}}[\text{pm}]$
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	2,080	0,0449	397
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]$	2,055	0,048	384

A réz(II)–His-BIMA rendszerben képződő  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  dimerre 397 pm réz–réz távolságot kaptunk. Ugyanez az érték a réz(II)–Gly-BIMA rendszerben kialakuló dimerben 390 pm volt (lásd: 17. táblázat, 71. oldal), azaz az ebben a rendszerben képződő dimerben is a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport egyik imidazolcsoportja a hidcsoport. A kétmagvú komplexben a hisztidil-N(3)H még részben protonált lehet, azaz kisebb pH-n a rendszerben megtalálható ilyen koordinációs móddal a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_1]^{3+}$  és  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  összetételű komplex is. (A lépcsőzetes deprotonálódás  $pK$ -értékei:  $pK_{\text{Cu}_2\text{L}_2/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_1} = 5,93$ ;  $pK_{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_1/\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2} = 6,17$ .) A két  $pK$  különbsége kisebb, mint a statisztikai alapon számolható érték, ami arra utal, hogy az amidnitrogén és a nemkoordinálódó hisztidincsoport deprotonálódása egymással átfed. Az abszorpciós spektrum elnyelési maximumának a változása (pH = 4,79-nél  $\lambda_{\text{max}} = 620$  nm; pH = 7,88-nál  $\lambda_{\text{max}} = 592$  nm) szintén azt mutatja, hogy kisebb pH-értékeknél (pH = 4 – 6) a ligandumhidas, míg nagyobb pH-n az imidazolhidas "Gly-BIMA-szerű" dimerek dominálnak.

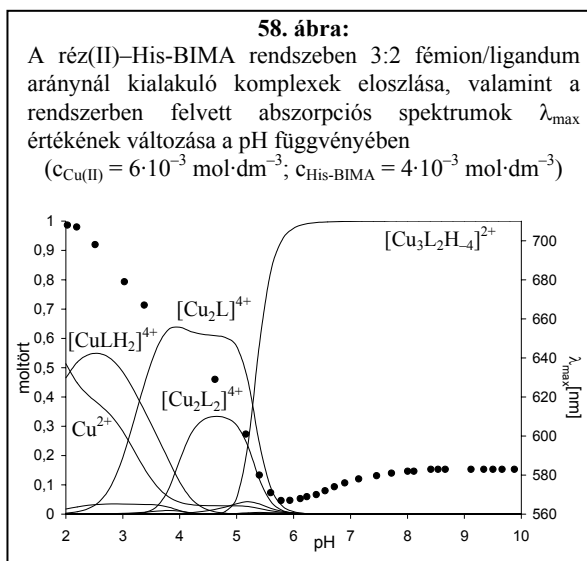
1:1 fémion/ligandum arányánál, lúgos pH-tartományban már jelentős eltérést okoz a ligandumban a hisztidil-oldallánc jelenléte. Gly-BIMA-val (és Phe-BIMA-val) lúgos pH-n vegyes hidroxokomplexek kialakulását mutattuk ki, míg His-BIMA esetében az újabb lúgfogyasztó folyamat kék eltolódást ( $\lambda_{\max}$  csökkenést) eredményez az abszorpciós spektrumban, mely kizárja a hidrolízis lehetőségét. Az abszorpciós maximum értékek kék eltolódása a korábbi irodalmi adatok alapján töltéssel rendelkező nitrogének koordinációját valószínűsíti<sup>[84]</sup>. Ezzel párhuzamosan az ESR spektrumban is egy újabb dimer részecske kialakulása detektálható 10-es pH felett. Az ESR adatok alapján számolható réz–réz távolság ebben a komplexben 384 pm, mely a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  komplexéhez hasonló koordinációs módot feltételez, azonban ebben a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]$  komplexben a két koordinálódott imidazolcsoport pirrol-típusú N(1)H-je deprotonált (56/g. ábra). Ilyen fémion-indukált deprotonálódást számos, hisztidintartalmú peptidkomplex esetében kimutattak már. Ezekben a komplexekben a deprotonálódás pK-ja 10 körül volt, míg a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  komplex deprotonálódása ennél kisebb,  $\text{p}K_{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2}^{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3} = 8,13$  és  $\text{p}K_{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3}^{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4} = 8,93$  értékekkel jellemezhető. Ennek a szerkezetnek a kialakulását segíti az is, hogy az így képződő  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_4]$  komplexnek nincs töltése. A másik fontos tényező ezen komplex kialakulásánál, hogy a spektrofotometriás vizsgálatok alapján a hisztidincsoport gyenge axiális koordinációja feltételezhető, mely megvédi a fémiont a hidrolízistől. Ennek a hiányában (mint ahogy azt a Gly-BIMA és Phe-BIMA ligandum esetében láttuk) 9-es pH körül vegyes hidroxokomplex képződés megy végbe.

Deprotonálódása után a pirrol-N(1)H egy újabb lehetséges donorcsoport, így fémion-felesleges méréseket is végeztünk annak megállapítására, hogy fémion koordinálódása esetén milyen pH-n megy végbe a deprotonálódás. Különböző mennyiségű fémion-felesleget tartalmazó mintákat pH-potenciometriásan és spektrofotometriásan titrálva azt kaptuk, hogy 1,5-szörös fémion-felesleget képes még megkötni a His-BIMA ligandum lúgos pH-n is (pH < 10). Ennél nagyobb réz(II)ion felesleg esetén a mintákban 7-es pH felett  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  csapadék vált ki. 8-as pH-n, illetve ligandumonként kétszeres lúgfelesleg (azaz amidnitrogén és pirrol-nitrogén deprotonálódás,  $[\text{Cu}_x\text{LH}_2]^{(2x-2)+}$  sztöchiometriájú komplexek (x lehet törtszám is)) esetén szintén végeztünk méréseket, melyek valamennyi esetben 3:2 fémion/ligandum arányánál mutattak töréspontot; azaz a titrálásokhoz hasonlóan a 3:2 összetételű komplex képződését mutatták.

3:2 fémion/ligandum arányánál, 6-os pH felett hárommagvú,  $[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_4]^{2+}$  összetételű komplex (56/h. ábra, 77. oldal) képződését lehetett számolni. Ehhez a komplexhez viszonylag széles abszorpciós maximum tartozik  $\lambda_{\max} = 583$  nm körüli értékkel, mely többféle környezetben lévő réz(II)ion jelenlétét mutatja. Az ESR spektrum kiszélesedik, azaz a fémionok között dipoláris kölcsönhatás van.

3:2 fémion/ligandum arányánál széles pH-tartományban uralkodó ez a hárommagvú komplex. A pH függvényében felvett abszorpciós spektrumokban 5,8 –

7,5-es pH-nál vörös eltolódást találtunk (pH = 5,78:  $\lambda_{\max} = 567\text{ nm}$ ; pH = 8,41:  $\lambda_{\max} = 583\text{ nm}$ ; lásd: 58. ábra), mely arra utal, hogy deprotonálódása után a hisztidincsoport axiálisan koordinálódik a réz(II)ionhoz, és ezáltal megakadályozza annak deprotonálódását. A pirrol-N(1)H deprotonálódása és koordinálódása fémion-felesleg esetén már szokatlanul kis, fiziológias pH-n lejátszódik, így ez a ligandum potenciális szuperoxid-diszmutáz modell lehet.



Fémion-felesleg esetén savas pH-n egy másik komplex is kialakul  $[\text{Cu}_2\text{L}]^{4+}$  összetétellel, melyben az egyik réz(II)ion a bisz(2-imidazolil)-metil-, a másik az amino- és hisztidincsoportokhoz koordinálódik egy-egy stabilis hattagú kelátgyűrűn keresztül (56/b. ábra).

### Nikkel(II)–His-BIMA rendszer:

Savas körülmények között a nikkell(II)–His-BIMA rendszerben 1:1 és 1:2 fémion/ligandum arányánál egyaránt a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú mono- és biszkomplexek az uralkodók. A  $[\text{NiL}_2\text{H}_4]^{6+}$  komplex deprotonálódásának  $pK$ -értékei megfelelnek a statisztikus értékeknek, mely azt mutatja, hogy a  $[\text{NiL}_2]^{2+}$  komplex képződését nem kíséri koordinációváltás. Ennek megfelelően a  $[\text{NiL}_2]^{2+}$  komplexek stabilitási állandó értékei igen hasonlóak a nikkell(II)–Gly-BIMA, –Phe-BIMA és –His-BIMA rendszerben ( $\lg\beta_{\text{L=Gly-BIMA}}^{\text{NiL}_2} = 13,47$ ;  $\lg\beta_{\text{L=Phe-BIMA}}^{\text{NiL}_2} = 13,70$ ;  $\lg\beta_{\text{L=His-BIMA}}^{\text{NiL}_2} = 13,9$ ; lásd 15. és 18. táblázat, 68., valamint 74. oldal).

A  $[\text{NiLH}_2]^{4+}$  komplex deprotonálódása 1:1 fémion/ligandum arányánál már nem lépcsőzetesen megy végbe,  $[\text{NiLH}]^{3+}$  részecskét nem tudtunk kimutatni. A hisztidin- és az aminocsoport kooperatív deprotonálódásának eredményeként  $[\text{Ni}_2\text{L}_2]^{4+}$  összetételű, a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexhez hasonló szerkezetű (lásd: 56/c–d. ábra, 77. oldal) ligandumhidas részecske alakul ki. A két fémmegkötő csoport között lévő lánc itt is túl rövid ahhoz, hogy a két csoport egyazon fémionhoz koordinálódjon és monomer komplex alakuljon ki. Ezzel összhangban van az is, hogy a rendszerben képződő valamennyi komplexben a nikkell(II)ion szabályos oktaédes geometriával jellemezhető. A bisz(2-imidazolil)-metil- és hisztamincsoport egyazon fémionhoz való koordinálódása a geometria torzulását eredményezné.

A pH további növelésével újabb lúgfogyasztó folyamat játszódik le, mely a  $[\text{NiLH}_1]^+$  és  $[\text{NiL}_2\text{HL}_1]^+$  komplex képződését írja le. A potenciometriás mérések

alapján nem lehet eldönteni, hogy amidnitrogén deprotonálódás vagy vegyes hidroxokomplex képződés játszódik-e le, de a korábbi irodalmi eredmények<sup>[37, 40, 42, 58, 84]</sup> az előbbi valószínűsítik.

**21. táblázat:** A nikkel(II)–His-BIMA rendszerben képződő oktaédes komplexek UV-látható spektrumaiból számolható Racah paraméterek

komplex	B[cm <sup>-1</sup> ]	10Dq[cm <sup>-1</sup> ]
[NiLH <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	950	10600
[Ni <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	1010	10630
[NiLH <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	700	11100
[NiLH <sub>-2</sub> ]	650	11500
[NiL <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>6+</sup> –[NiL <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	980	10650
[NiL <sub>2</sub> H <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	680	11400
[Ni <sub>2</sub> L] <sup>4+</sup>	980	10400

A 10Dq értékeket a (13) egyenlet (lásd: 35. oldal) alapján, míg a B[cm<sup>-1</sup>] paramétereket a λ<sub>2</sub> és a λ<sub>3</sub> érték felhasználásával számoltuk, a (14) és (15) egyenlet összeadásával kapott képlet segítségével; azaz: v<sub>2</sub> + v<sub>3</sub> = 15·B + 30·Dq

Az oktaédes komplexek spektrális paraméterei alapján számolhatók az úgynevezett Racah paraméterek (lásd: (13)–(15) egyenlet, 35. oldal), melyek jól jellemzik azt, hogy a fémion mennyire van kovalens, illetve ionos jellegű környezetben. Ezek a számolások (21. táblázat) a [NiLH<sub>-1</sub>]<sup>+</sup>, [NiLH<sub>-2</sub>] és [NiL<sub>2</sub>H<sub>-1</sub>]<sup>+</sup> komplexben a kovalens jelleg növekedését, azaz – a korábbi, irodalmi eredményekhez hasonlóan<sup>[37, 40, 42, 58, 84]</sup> – szintén az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását mutatják.

A nikkel(II)–His-BIMA rendszerben ligandumfelesleg esetén a nagy mennyiségben képződő biszkomplexek, 1:1 fémion/ligandum aránynál pedig a vegyes koordinációjú ligandumhidas dimerek akadályozzák az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását, azonban megakadályozni nem tudják. Így a deprotonálódás ugyan a nikkel(II)–His-BPMA rendszerhez képest nagyobb pH-n, de végbemegy.

Nikkel(II)ion felesleg esetén, 7-es pH alatt kialakul egy [Ni<sub>2</sub>L]<sup>4+</sup> összetételű komplex, melyben – hasonlóan, mint a [Cu<sub>2</sub>L]<sup>4+</sup> komplexben (56/b. ábra, 77. oldal) – a His-BIMA bisz(2-imidazolil)-metil- és hisztidin vége koordinál egy-egy fémiont, azonban ez a szerkezet nagyobb pH-n nem stabilis, 7,5-es pH felett vegyes hidroxokomplex képződés, csapadékkiválás következik be. 3:2 és 2:1 összetételű, deprotonált amid- és/vagy pirrolnitrogént tartalmazó komplexeket nem lehetett kimutatni a rendszerben.

### **Cink(II)–His-BIMA rendszer:**

A cink(II)–His-BIMA rendszerben a komplexképződés hasonló a nikkel(II)–His-BIMA rendszerhez. A bisz(2-imidazolil)-metil-csoport az elsődleges fémmegkötő, de a komplexek kisebb termodinamikai stabilitásának megfelelően a komplexképződés csak nagyobb pH-n indul el, ahol a ligandum hisztidincsoportja már deprotonált. Így a komplexképződésnek kezdetben nincs pH-effektusa, a teljesen protonált [ZnL<sub>2</sub>H<sub>4</sub>]<sup>6+</sup> biszkomplexet pH-metriásan nem lehetett kimutatni.

Semleges pH-n a  $[\text{ZnL}]^{2+}$  (vagy  $[\text{Zn}_2\text{L}_2]^{4+}$ ) komplex a fő részecske, melyben a His-BIMA kétfogú (vagy a  $[\text{Zn}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexben a nikkel(II)- és réz(II)-komplexekhez hasonlóan négyfogú) ligandumként koordinálódik.  $[\text{ZnL}]^{2+}$  komplex esetén a tridentát koordináció kevésbé valószínű, ekkor ugyanis a szerkezet eléggé feszült lenne, azonban sem a két-, sem a négyfogú koordináció alátámasztására nem áll rendelkezésünkre spektroszkópiai adat.

Ebben a rendszerben már a cink(II)ion jóval kisebb stabilitású komplexei és nagyobb hidrolízishajlama miatt egyik fémion/ligandum aránynál sem megy végbe az amidnitrogén deprotonálódása. A 8-as pH-nál kezdődő lúgfogyasztó folyamat a hidrolízishez rendelhető, melyet a telítetlen koordinációs szférájú  $[\text{ZnL}]^{2+}$  (vagy  $[\text{Zn}_2\text{L}_2]^{4+}$ ) komplex nem tud megakadályozni.

## 5.2. Bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó peptidszármazékok

### 5.2.1. A ligandumok sav-bázis sajátosságai

A ligandumok protonálódási állandó értékei (22. táblázat, 83. oldal) itt is közel vannak egy hasonló molekulában mérhető protonálódási állandó értékekhez (a ligandumok képlete a 45. oldalon található, 30/a–d., valamint g. ábra). A hisztidil-oldalláncot nem tartalmazó ligandumoknál a két imidazolcsoport  $pK$ -értéke a mérési hibán belül nem tér el egymástól a négy ligandum esetében ( $pK = 3,2$ , illetve  $5,6$ ). Az aminocsoportok  $pK$ -ját azonban a hozzá közeli aminosav-oldallánc befolyásolja. A glicinszármazékhoz képest a gyenge elektronküldő képességű alanin és leucin gyakorlatilag nem változtatja meg az aminocsoport  $pK$ -ját ( $7,8$ – $7,9$ ), míg az erősebb elektronszívó, és ugyanakkor nagy térkitöltésű fenilalanil- és/vagy hisztidil-oldallánc csökkenti azt, hasonlóképpen mint a bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosav-származékai (lásd: 5. táblázat, 46. oldal) vagy az X-Gly összetételű dipeptidek (22. táblázat, 83. oldal) esetében.

A dipeptidláncban lévő prolinnak már nagyobb hatása van a ligandum imidazolil- $pK$ -ira: azok csökkennek, azonban az aminocsoporté gyakorlatilag itt sem változik. Ugyanez a tendencia figyelhető meg, ha a prolin egy normál peptidláncban helyezkedik el. Az Ala-Pro-BIMA ligandum aminovégét modellező Ala-Pro dipeptid amino- $pK$ -ja nagyobb, mint az Ala-Gly vagy Gly-Gly dipeptideké, míg a Pro-His és a Gly-His aromás nitrogénjének  $pK$ -értékei megegyeznek (22. táblázat).

A peptidláncban hisztidint is tartalmazó ligandumok esetében az imidazolil- és a hisztidil- $pK$ -értékek részben átfedhetnek egymással, de közülük – más ligandumokkal való összehasonlítás alapján – a hisztidincsoport  $pK$ -ja a nagyobb. A peptidláncban lévő hisztidin elektronszívó sajátossága révén mind az imidazolil-, mind az amino- $pK$ -k csökkenését okozza. A hisztidincsoportok  $pK$ -ja, hasonlóan a hisztidint tartalmazó dipeptidekhez, az N-terminális hisztidinszármazék esetében kisebb.



**22. táblázat:** Az általunk vizsgált peptidszarmazékok és néhány összehasonlító vegyület savi disszociációs állandó értékei (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

Ligandum	pK(-COOH)	pK <sub>1</sub> (imidazol)	pK <sub>2</sub> (imidazol)	pK(hisztidin)	pK(-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
Gly-Leu-BIMA	—	3,17(2)	5,58(1)	—	7,92(1)
Leu-Gly-BIMA	—	3,18(3)	5,59(2)	—	7,76(1)
Phe-Gly-BIMA	—	3,19(4)	5,61(2)	—	7,33(1)
Ala-Phe-Gly-BIMA	—	3,20(1)	5,61(1)	—	7,78(1)
Ala-Pro-BIMA	—	2,97(5)	5,52(3)	—	8,11(1)
Phe-His-BIMA	—	2,83(1)	5,07(1)	6,31(1)	7,27(1)
His-Phe-BIMA	—	2,89(3)	4,84(3)	5,78(2)	7,35(1)
Gly-Gly <sup>[24]</sup>	3,17	—	—	—	8,13
Ala-Gly <sup>[24]</sup>	3,15	—	—	—	8,19
Leu-Gly <sup>*[210]</sup>	3,20	—	—	—	8,24
Gly-Leu <sup>[211]</sup>	3,16	—	—	—	8,18
Phe-Gly <sup>[212]</sup>	3,12	—	—	—	7,46
Ala-Pro <sup>*[210]</sup>	3,02	—	—	—	8,52
Pro-His <sup>**[87]</sup>	3,02	—	—	6,84	8,82
His-Gly <sup>[58]</sup>	2,93	—	—	5,95	7,58
Gly-His <sup>[58]</sup>	2,51	—	—	6,77	8,22
Gly-Gly-His <sup>[56]</sup>	2,92	—	—	6,64	7,96

\*T = 293 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl

\*\*T = 298 K; I = 0,1 mol·dm<sup>-3</sup> KNO<sub>3</sub>

### 5.2.2. Oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó peptidszarmazékok (Phe-Gly-BIMA, Leu-Gly-BIMA, Gly-Leu-BIMA, Ala-Pro-BIMA, Ala-Phe-Gly-BIMA) átmenetifém-komplexei

A korábbi fejezetekben láttuk, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil-amin aminosavszarmazékaiban a peptidnitrogén vagy a pirrol-típusú nitrogén deprotonálódását és/vagy koordinálódását leginkább a réz(II)ion segítette elő, így ezzel az egy fémionnal alakultak ki a legérdekesebb többmagvú szerkezetek. A későbbi vizsgálatok azt mutatták, hogy ugyanez érvényes a dipeptidszarmazékok esetében is (lásd: 23. táblázat, 84. oldal, valamint a későbbi, nikkell(II)- és cink(II)komplexeiket tartalmazó 26. táblázat, 94. oldal adatai), így ezen, oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportokat tartalmazó peptidszarmazékok komplexkémiai viselkedésének a tanulmányozásakor a réz(II)komplexeik vizsgálatára fektettük a fő hangsúlyt, és nikkell(II)-, valamint cink(II)ionnal csak néhány rendszer vizsgálatát végeztük el.

A réz(II)komplexeik stabilitási állandóit tartalmazó 23. táblázat adataiból az látszik, hogy a három, prolint nem tartalmazó dipeptidszarmazék (Gly-Leu-BIMA,

Leu-Gly-BIMA, Phe-Gly-BIMA, szerkezetet lásd: 30/a–c. ábra, 45. oldal) komplexképzése gyakorlatilag megegyezik, míg a prolin- (30/d. ábra), illetve a tripeptidszármazéké (30/g. ábra) ezektől eltérő, így ennek a két utóbbi ligandumnak a komplexkémiái sajátosságait az első hárométól külön tárgyaljuk.

**23. táblázat:** A hisztidint nem tartalmazó peptidszármazékok réz(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T= 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

komplex összetétele	Gly-Leu-BIMA	Leu-Gly-BIMA	Phe-Gly-BIMA	Ala-Pro-BIMA	Ala-Phe-Gly-BIMA
[CuL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	30,13(2)	30,02(3)	30,11(3)	32,17(4)	30,72(4)
[CuL <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	22,82(7)	22,95(9)	23,57(5)	25,4(2)	24,29(9)
[CuL <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	—	—	—	—	16,66(9)
[CuLH] <sup>3+</sup>	15,76(2)	15,77(2)	16,13(3)	17,45(5)	16,43(2)
[CuL] <sup>2+</sup>	—	—	—	13,14(2)	11,87(3)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	24,91(3)	24,62(5)	22,59(9)	—	—
[CuLH <sub>1</sub> ] <sup>+</sup>	—	—	—	—	4,95(4)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	10,74(7)	12,42(7)	13,57(7)	—	—
[CuLH <sub>2</sub> ]	-3,63(3)	-2,79(5)	-1,45(3)	—	-3,17(4)
[CuLH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	-14,46(3)	-13,54(7)	-11,96(3)	—	-15,27(5)
[Cu <sub>2</sub> LH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	-3,77(2)	-2,55(2)	-1,45(3)	—	—
[Cu <sub>4</sub> L <sub>2</sub> H <sub>8</sub> ]	-20,24(7)	-16,52(6)	-14,9(2)	—	—
[Cu <sub>3</sub> L <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ]	-9,49(4)	-7,38(5)	-5,15(9)	—	—
pK <sub>CuL<sub>2</sub>H<sub>2</sub></sub> CuL <sub>2</sub> H	7,31	7,07	6,54	6,77	6,43
pK <sub>CuL<sub>2</sub>H</sub> CuL <sub>2</sub>	—	—	—	—	7,63
pK <sub>CuLH</sub> CuL	—	—	—	4,31	4,56
pK <sub>Cu<sub>2</sub>L<sub>2</sub></sub> Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	7,09	6,10	4,51	—	—
pK <sub>CuL</sub> CuLH <sub>1</sub>	—	—	—	—	6,92
pK <sub>CuLH<sub>1</sub></sub> CuLH <sub>2</sub>	—	—	—	—	8,12
pK <sub>CuLH<sub>2</sub></sub> CuLH <sub>3</sub>	10,69	10,75	10,51	—	12,10
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>CuLH</sub>	1,39	1,52	2,21	2,73	2,14
lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>Cu<sub>2</sub>LH<sub>3</sub></sub>	1,95	2,28	2,25	—	—

$$\lg(K_1/K_2)_{\text{CuLH}} = \lg K(\text{CuLH}) - \lg K(\text{CuL}_2\text{H}_2) = 2 \cdot \lg \beta(\text{CuLH}) - \lg \beta(\text{CuL}_2\text{H}_2)$$

$$\lg(K_1/K_2)_{\text{Cu}_2\text{LH}_3} = \lg K(\text{Cu}_2\text{LH}_3) - \lg K(\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6) = 2 \cdot \lg \beta(\text{Cu}_2\text{LH}_3) - \lg \beta(\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6)$$

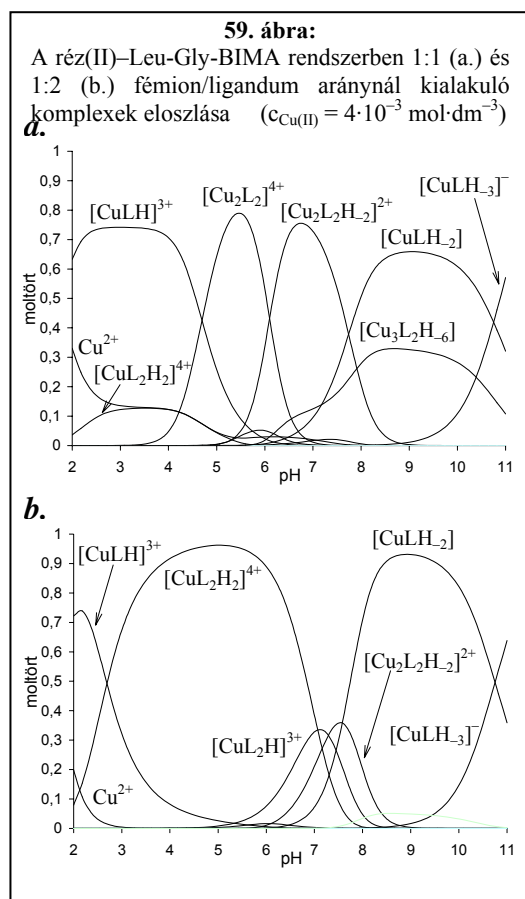
### 5.2.2.1. Prolint nem tartalmazó dipeptidszármazékok (Phe-Gly-BIMA, Leu-Gly-BIMA, Gly-Leu-BIMA) átmenetifém-komplexei

#### Réz(II)komplexek:

A Phe-Gly-BIMA, Leu-Gly-BIMA és Gly-Leu-BIMA ligandumok azonos donor-csoportokat tartalmaznak. Ennek megfelelően azt találtuk, hogy mindhárom ligandum esetében azonos összetételű komplexek alakulnak ki. Az oldalláncoknak csak igen csekély hatása van a komplexek stabilitására.

Savas pH-tartományban a bisz(2-imidazolil)-metil-részen valósul meg a koordináció, a bisz(2-imidazolil)-metil-csoportot tartalmazó aminosavakkal azonos módon ( $[\text{CuLH}]^{3+}$  és  $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+}$  –  $[\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$  összetételű komplexek; 61/a–b. ábra, 89. oldal). A két ligandum koordinációját az aminosavszármazékhoz képest egy hosszabb, dipeptid oldallánc sem gátolja meg. Ezt mutatják az aminosav- és a dipeptidszármazékokkal alkotott komplexekre számolható hasonló  $\lg(K_1/K_2)$  értékek is. A fotometriás és ESR spektroszkópiás paraméterek (24. táblázat, 86. oldal) szintén megfelelnek a korábbiakban mért bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációnak (összehasonlításként lásd még: 16. táblázat, 69. oldal).

Nagyobb pH-n, ligandumfelesleg esetén ezen bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú  $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+}$  komplex aminosocsoportjai deprotonálódnak, így kialakul a  $[\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$  összetételű komplex. A deprotonálás  $pK$ -ját – hasonlóan a szabad ligandumhoz – csökkenti az N-terminális helyzetű, elektronszívó hatású fenilalanil-oldallánc a glicin- vagy leucinszármazékhoz képest. Ezen négy-nitrogénes, bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplexek széles pH-tartományban való jelenlétére utal az ESR spektrum is, melyben ligandumfelesleg esetén 7-es pH felett is megfigyelhető még a négy ekvivalens imidazolnitrogén koordinálódására utaló szuperhiperfinom ESR felhasadás (60. ábra, 87. oldal). Azaz valamennyi 1:2 fémion/ligandum arányú komplexben bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció van, nem történik meg a deprotonált aminosocsoport axiális koordinációja. Azt, hogy a komplexben valamivel kisebb az aminosocsoportok  $pK$ -ja,



koordinációja. Azt, hogy a komplexben valamivel kisebb az aminosocsoportok  $pK$ -ja,

mint a szabad ligandumban, a fémion bisz(2-imidazolil)-metil-véghez való koordinálódása okozhatja, mely szintén elektron-

**24. táblázat:** A réz(II)–Gly-Leu-BIMA, –Leu-Gly-BIMA és –Phe-Gly-BIMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek abszorpciósi ( $\lambda_{\max}[\text{nm}]/\epsilon_{\max}[\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}]$ ), CD spektroszkópiás ( $\lambda_{\max}[\text{nm}]/\Delta\epsilon_{\max}[\text{dm}^3\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}]$ ), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel}[\cdot 10^{-4}\text{cm}^{-1}]$ ) paraméterei

	Gly-Leu-BIMA	Leu-Gly-BIMA	Phe-Gly-BIMA
Abszorpciósi spektrum		$\lambda_{\max}(\epsilon_{\max})$	
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+} - [\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$	599(56)	595(52)	595(55)
$[\text{CuLH}]^{3+}$	695(38)	690(45)	694(38)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$	627(56)	617(55)	621(51)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	kevés	546(70)	537(71)
$[\text{CuLH}_2]$	513(158)	514(158)	513(240)
$[\text{CuLH}_3]^-$	508(172)	508(185)	kevés
$[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$		546(65)	
$[\text{Cu}_4\text{L}_2\text{H}_8]$		559(157)	
$[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6]$		514(163)	
CD* spektrum		$\lambda_{\max}^{\text{CD}}(\Delta\epsilon_{\max})$	
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+} - [\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$ és $[\text{CuLH}]^{3+}$	CD-inaktív		
$[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$	612(–0,309)	625(+0,475)	
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	$\left\{ \begin{array}{l} 650(+0,148) \\ 528(-0,978) \end{array} \right\}$	537(–0,183)	
$[\text{CuLH}_2]$	530(–0,628)	530(–0,257)	
$[\text{CuLH}_3]^-$	510(–0,910)	—	
$[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$	535(–0,511)	535(–0,210)	
$[\text{Cu}_4\text{L}_2\text{H}_8]$	522(–0,996)	498(+0,342)	
$[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6]$	530(–0,651)	$\left\{ \begin{array}{l} 471(+0,150) \\ 545(-0,220) \end{array} \right\}$	
ESR** spektrum		$g_{\parallel}(A_{\parallel})$	
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+} - [\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$	2,235(193)	2,235(191)	2,235(192)
$[\text{CuLH}]^{3+}$	2,297(171)	2,297(173)	2,297(172)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$	széles jel	széles jel	széles jel
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$	széles jel	széles jel	széles jel
$[\text{CuLH}_2]$	2,178(204)	2,174(205)	2,178(204)
$[\text{CuLH}_3]^-$	—	2,168(209)	—

\*CD spektroszkópiás vizsgálatokat csak a réz(II)–Gly-Leu-BIMA és réz(II)–Leu-Gly-BIMA rendszerben végeztünk.

\*\*Az ESR mérésekhez tiszta  $^{63}\text{Cu}$  izotópot használtunk.

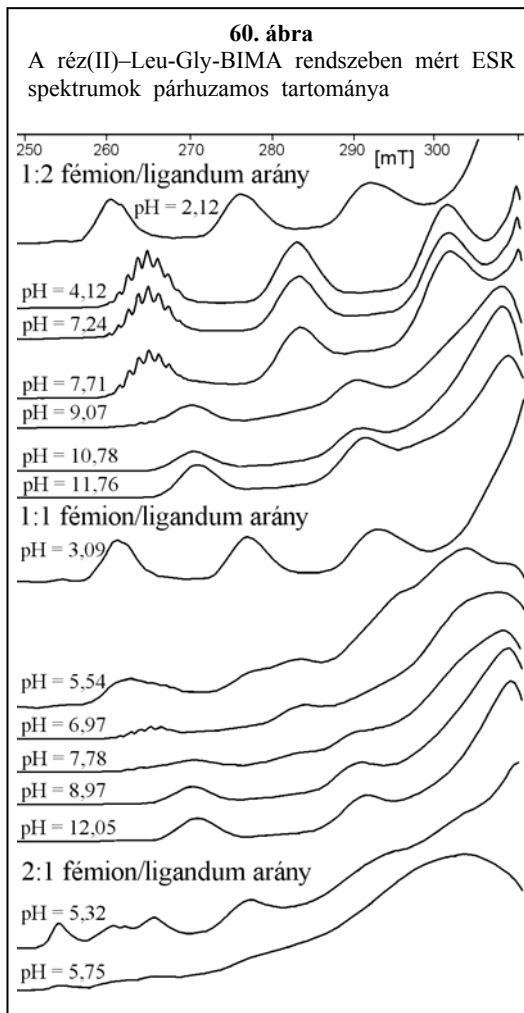
szívó hatást jelent. A  $\lg(K_1/K_2)$  értékek (lásd: 23. táblázat, 84. oldal) azt mutatják, hogy a Phe-Gly-BIMA esetén a legkedvezőtlenebb a biszkomplexek képződése, mely a fenilalanil-oldallánc nagy térkitöltésével, azaz szterikus gátlással magyarázható.

A ligandumfeleslegnél végzett mé-résekkel szemben 1:1 fémion/ligandum aránynál a kezdetben kialakuló bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációt a pH növelésével  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  és  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű dimerek megjelenése köve-ti. A dimerek között köztes deprotoná-lódási lépést ( $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_1]^{3+}$ ) nem lehet számolni a potenciometriás mérések-ből.

Az UV-látható abszorpciós spektrum azt mutatja, hogy a két kétmagvú komplexnek különböző a szerkezete (az UV-látható spektrum változik pH = 5,5 – 7,5 tartományban, 1:1 fémion/li-gandum aránynál). Emellett a dimerek ESR spektruma is mérhető volt, bár a komplexek részben ESR-csendesek, azaz a spektrumok intenzitása jelentősen lecsökkent. (Emiatt ezen pH-tartományban az ESR spektrumokat nagyobb erősítés mellett vettük fel.) Az ESR spektrumban ebben a pH-tartományban kapott szuperhiperfinom ESR felhasadás (lásd: 60. ábra, 1:1 arány, pH = 6,97) azt mutatja, hogy a dimerekben a koordinációs módok között szerepel a bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció is.

A bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció mellett a ligandumhidas  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexben amino-karbonil koordináció alakul ki (61/c–d. ábra, 89. oldal). Az ilyen koordinációval képződő biszkomplexek jellegzetes ESR paraméterei:  $g_{\parallel} = 2,276$  és  $A_{\parallel} = 171 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  (réz(II)-glicinamid rendszer,  $[\text{CuL}_2]^{2+}$  komplex<sup>[209]</sup>). A  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexben a ligandumnak mindkét vége koordinálódik, és szimmetrikus vagy aszimmetrikus komplexek alakulnak ki 1:1 sztöchiometriával. Ezen kötési izomerek aránya változik a pH növelésével, de ez a pH-metriában és a spektrofotometriás mérésekben nem, csak az ESR spektrumokból követhető nyomon. Pontos paramétereket azonban ebből sem lehet számolni, mivel a különböző koordinációs módokhoz tartozó ESR csúcsok részben átfednek egymással.

A  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű komplexben (61/e–f. ábra) hasonlóképpen ligandumhidas szerkezet valósul meg bisz(2-imidazolil)-metil- és peptidszerű (amino- és amidnitrogénon keresztül) koordinációval. Ebben a komplexben feltételezhetően az

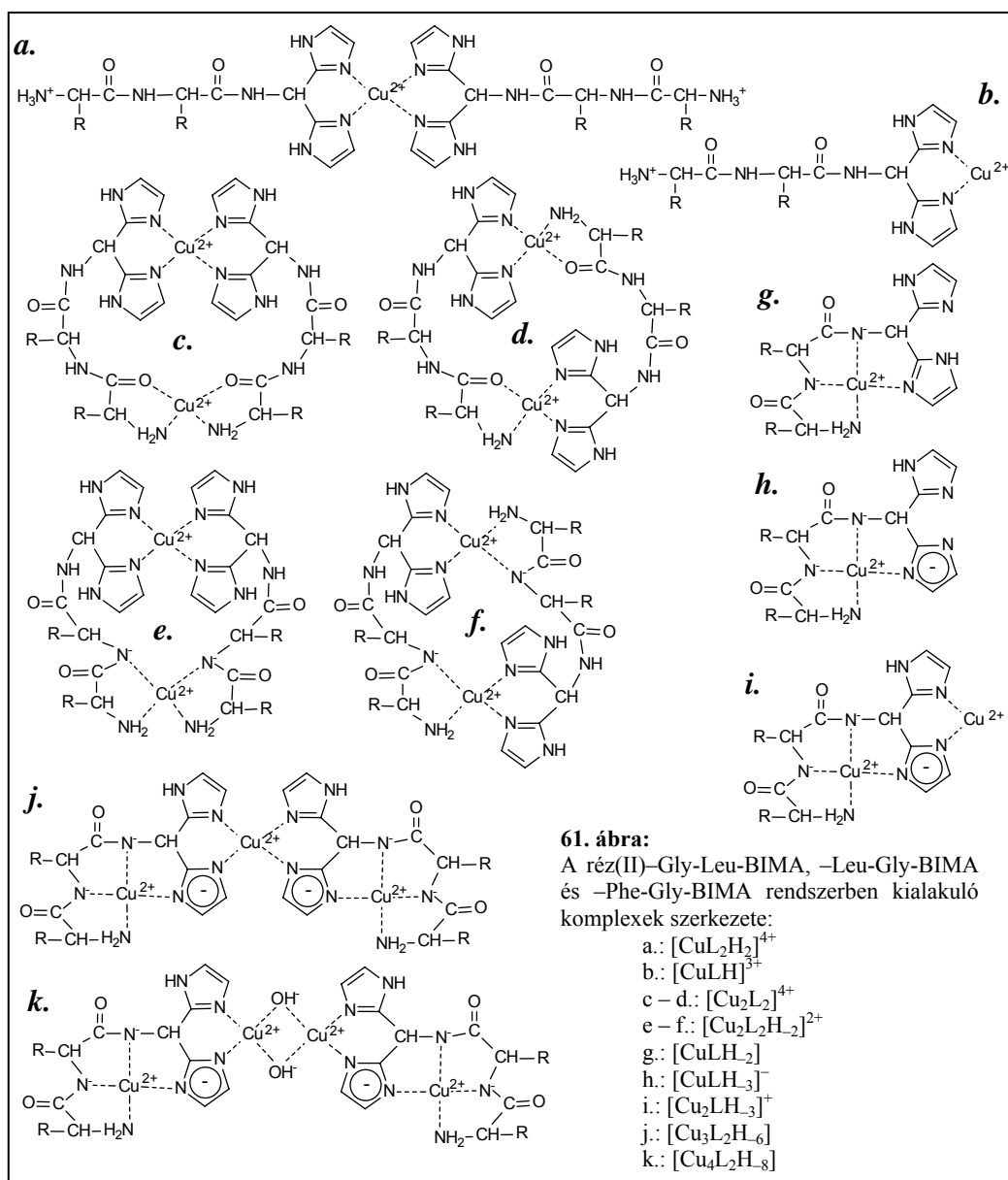


aminovéghez közelebb levő amidnitrogén deprotonálódása megy végbe. Azt, hogy a deprotonálódás az aminocsoport felől kezdődik, alátámasztja az, hogy sem az N-terminálisan védett BIMA-származékoknál (ahol az N-terminális amidcsoporttal nincs kelátképző helyzetben más, erősebb donorcsoport), sem a következő fejezetben tárgyalásra kerülő Ala-Pro-BIMA–réz(II) rendszerben (ahol a prolin miatt az aminocsoporttal kelátképző helyzetben nincs amidnitrogén) nem volt kimutatható amidnitrogén deprotonálódás. A  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  komplexekben a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexhez hasonlóan a koordináció lehet szimmetrikus vagy aszimmetrikus.

Tovább növelve a pH-t az ekvimoláris oldatokban, a  $[\text{CuLH}_2]$  komplexben megvalósul a peptidszerű koordináció, négy nitrogén koordinálódik a réz(II)ion ekvatoriális síkjában: aminonitrogén, két deprotonált amidnitrogén és a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport egyik imidazolja (61/g. ábra).

A 11-es pH körül kialakuló  $[\text{CuLH}_3]^-$  komplexben mind vegyes hidroxokomplex képződés, mind pirrol-N(1)H deprotonálódás elképzelhető lenne. Egyértelműen ez utóbbira utalnak azonban az ESR- és az UV-látható paraméterek (24. táblázat, 86. oldal:  $\lambda_{\text{max}}$  és  $g_{\parallel}$  csökkenése, valamint  $\epsilon_{\text{max}}$  és  $A_{\parallel}$  növekedése a  $[\text{CuLH}_2]$  részecske paramétereire képest). Az, hogy a rendszerekben a mérhető pH-tartományban nem válik ki csapadék, szintén azt mutatja, hogy nem kezdődik el a hidrolízis. A hidrolízist itt is – mint ahogy a réz(II)–His-BIMA rendszerben láttuk – a fémion viszonylag telített koordinációs szférája akadályozza meg.

Az ezekben a rendszerekben végzett CD spektroszkópiás vizsgálatoknak (24. táblázat, 86. oldal) a jelentősége a peptidszerű koordinációt tartalmazó komplexek szerkezetének az alátámasztása volt. Azt találtuk, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplexek gyakorlatilag CD-inaktívak. Ezekben a komplexekben ugyanis a kiralitáscentrum – azaz a  $-\text{CH}(\text{R})-$  csoport – túl távol helyezkedik el a kromofor réz(II)iontól. Az amino-karbonil és/vagy peptidszerű koordinációt is tartalmazó réz(II) komplexek ( $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$ ,  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$ ,  $[\text{CuLH}_2]$ ,  $[\text{CuLH}_3]^-$ ,  $[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$ ,  $[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6]$  és  $[\text{Cu}_4\text{L}_2\text{H}_8]$ ) ezzel szemben valamennyi esetben CD-aktívak. A 3.3. fejezetben leírt (17) egyenletnek (37. oldal) megfelelően – mely az állapítja meg, hogy a tripeptid-koordinációjú komplexek közül a legintenzívebb CD átmenet a középső helyzetben királis aminosavat tartalmazó származék esetében mérhető – a két vizsgált dipeptid-BIMA származék, a Leu-Gly-BIMA és Gly-Leu-BIMA közül is ez utóbbi esetében találtunk jóval intenzívebb, negatív előjelű CD sávokat.



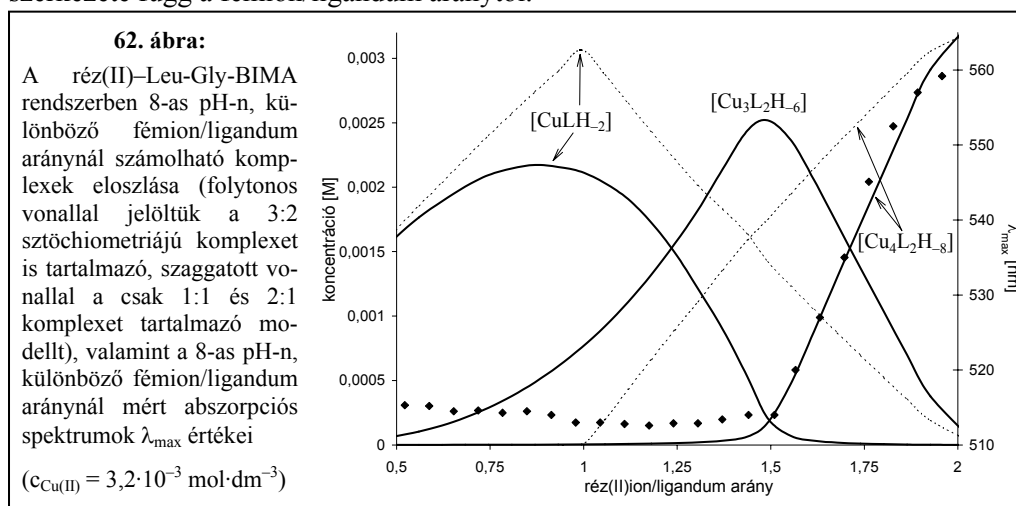
A pirrol-típusú nitrogén deprotonálódása miatt (lásd:  $[\text{CuLH}_3]^-$  komplex, 61/h. ábra) ebben a rendszerben is lehetőség van arra, hogy egy ligandumhoz több fémion is koordinálódhasson, így fémfelesleg esetén is végeztünk vizsgálatokat.

Réz(II)ion feleslege esetén aminosav- és bis(2-imidazolil)-metil-koordináció együttes jelenlétét ( $[\text{Cu}_2\text{L}]^{4+}$  komplex) nem lehetett egyik vizsgálati módszerrel sem kimutatni. Amid-koordinációval kis mennyiségben először  $[\text{Cu}_2\text{LH}_1]^{3+}$  összetételű komplex képződése valószínűsíthető, melyben a kettő közül az egyik amidnitrogén deprotonálódott és koordinálódott. A deprotonálódás a korábbi irodalmi adatok és jelen dolgozatban is leírt egyéb vizsgálatok alapján, valamint amiatt, hogy a bis(2-imidazolil)-metil-koordináció egyidejű jelenléte miatt nincs horgonycsoport a

molekula bisz(2-imidazol)-metil-végén, valószínűleg az aminovégen kezdődik. Ebben a komplexben a koordináció hasonló a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  összetételű komplexéhez.

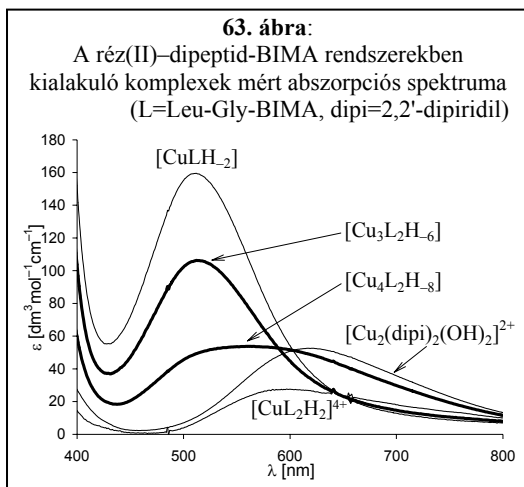
A második amidnitrogén deprotonálódásával és koordinálódásával párhuzamosan egy újabb lúgfogyasztó folyamat is lejátszódik, mely során a  $[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$  összetételű komplex képződik. Ez az extra protonfogyasztó folyamat a pirrol-N(1)H deprotonálódása és koordinálódása, melyet az indukál, hogy a második amidnitrogén koordinálódása után a fémion és a pirrol-típusú nitrogén térben közel kerül egymáshoz. A pirrol-deprotonálódást emellett az imidazolnitrogénhez koordinált másik réz(II)ion is indukálja elektronszívó hatása révén.

A  $[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$  összetételű komplexben (61/i. ábra, 89. oldal) az egyik réz(II)ion koordinációs szférája telítetlen, ami további, több ligandumot is tartalmazó szerkezetek kialakulását teszi lehetővé. Ezen komplexeknek az összetétele és szerkezete függ a fémion/ligandum aránytól.



A fémion/ligandum arány változtatásával végzett fotometriás vizsgálatok a pirroltípusú nitrogén deprotonálódásának a pH-tartományában, 8-as pH felett egy újabb komplex jelenlétét igazolták 3:2 fémion/ligandum aránynál, melyet csupán a pH-metria nem tudott egyértelműen kimutatni. A 3:2 fémion/ligandum aránynál mért pH-metriás titrálásokat ugyanis jól lehetett illeszteni oly módon, hogy ennél az aránynál 1:1 és 2:1 sztöchiometriájú komplexek együttes jelenlétét feltételezzük. A pH-stat körülmények között, 8-as pH-n végzett fotometriás vizsgálat azonban egyértelműen töréspontot mutatott 3:2 fémion/ligandum aránynál (62. ábra). A 3:2 aránynál kialakuló komplexre a peptidszerű koordinációjú  $[\text{CuLH}_2]$  komplexszel megegyező abszorpciós maximum értéket kaptunk (24. táblázat, 86. oldal). Ez alapján a feltételezett szerkezetben a három réz(II)ionból kettő peptidszerűen koordinálódik, a harmadik pedig bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációval köti össze a két egységet (61/j. ábra).

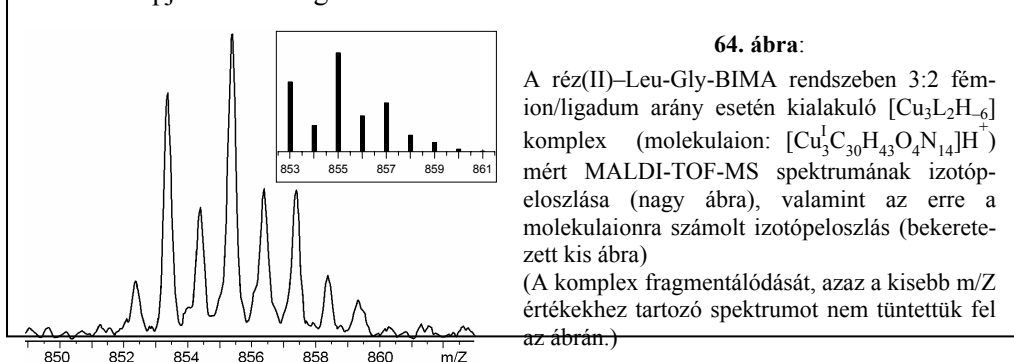




jellemző abszorpciós csúcs kisebb energiaértékekhez tartozó részén (63. ábra;  $[\text{CuLH}_2]$ ,  $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+}$  és  $[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6]$  komplexek spektruma).

A  $[\text{Cu}_3\text{L}_2\text{H}_6]$  komplex szerkezetét MALDI-TOF-MS mérésekkel is alátámasztottuk. Az általunk alkalmazott mátrixoknak (2,5-dihidroxi benzoésav és 2-amino-5-nitro piridin) az előzetes vizsgálata azt mutatta, hogy a mérések pH-tartományában (pH = 8) a mátrix nem képes kiszorítani a dipeptid-BIMA származékainkat a komplexből, még igen nagy (több százszoros) mátrixfelesleg esetén sem.

A kapott MALDI-TOF-MS spektrum izotópeloszlását összehasonlítva az 1, 2, 3, stb. réz esetén számolt spektrummal, a spektrum egyértelműen három rézion jelenlétét mutatja a komplexben (64. ábra). Emellett a mért és az általunk feltételezett molekulára számolt moláris tömeg is megegyezett a mérés hibahatárán (0,1 g/mol) belül. Ez alapján sikerült igazolni az általunk feltételezett szerkezet kialakulását.



MALDI-TOF-MS körülmények között lehetőség van repülés közben is asszociátumok képződésére, azonban ezek maximum két különálló egységből jöhetnek létre, és ezeknek az intenzitása jóval kisebb, mint a komplexünk esetében kapott jel.

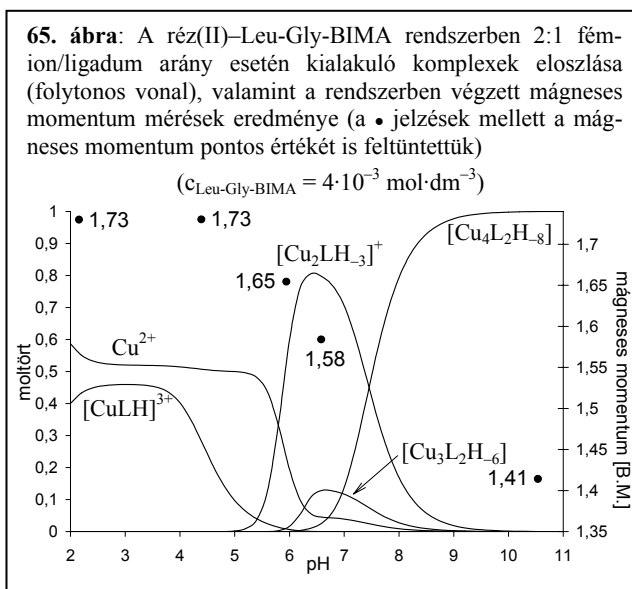
A 2,5-dihidroxi benzoésav mátrixnál végzett méréseknél a lézersugárzás hatására réz(II) → réz(I) redoxireakció ment végbe. Ekkor azt találtuk, hogy a komplex viszonylag könnyen veszíthet egy, illetve két rezet. Ennek az a magyarázata, hogy a

réz(II)ion torzult oktaédes geometriájával szemben a réz(I)ionra tetraédes geometria jellemző, mely a peptidszerű koordinációnak nem, ellenben a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációnak kedvező, így a komplexből a két peptidszerű koordinációjú réz viszonylag könnyen kiszakad, a két ligandumot összekötő, bisz(imidazolil)-metil-koordinációjú réz azonban koordinálva marad. Ezen bomlástermékekben szintén az izotópeloszlás alapján lehetett meghatározni a rézionok számát.

2:1 fémion/ligandum arányánál, 7-es pH felett ehhez képest még egy újabb deprotonálódási lépést figyelhetünk meg. A spektrofotometriás adatok alapján az itt kialakuló komplexben egy, az előző koordinációs módokat tartalmazó dihidroxohidas dimer képződését feltételezzük, melyben két  $[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$  egységet köt össze egy dihidroxohid, és ezáltal  $[\text{Cu}_4\text{L}_2\text{H}_8]$  komplex képződik (61/k. ábra). Ekkor minden réz(II)ion ekvatoriális koordinációs helye foglalttá válik. Ezen komplex UV-látható spektruma is modellezhető egy dihidroxohidas dimer komplexre, valamint a peptidszerű koordinációra jellemző fotometriás paraméterek segítségével. A dihidroxohidas rész modellezésére a réz(II)–dipiridil rendszerben pH = 9-nél képződő  $[\text{Cu}_2(\text{dipi})_2(\text{OH})_2]^{2+}$  komplex spektrumát mértük meg. Így elvégezve a számolást, a modellezett és a mért spektrum egymással jól egyezik (63. ábra, 91. oldal).

A szerkezet alátámasztására emellett mágneses momentum méréseket is végeztünk. Ezen méréseknél a kísérleti részben leírt (20) egyenlet (lásd: 39. oldal) alapján számoltuk ki a különböző összetételű komplexek mágneses momentumát. A C állandó értékének a meghatározásához referenciaként a savas pH-értékeken mért spektrumokat használtuk. A paramágneses, monomer réz(II)komplexekben lévő réz(II)ion mágneses momentuma 1,73 B.M.<sup>[213]</sup>, és az ehhez tartozó párosítatlan elektronok száma 1 (lásd: (21) egyenlet, 39. oldal).

A különböző pH-kon végzett mágneses momentum mérések alapján, a PSEQUAD program segítségével kiszámoltuk az egyes komplexekre jellemző mágneses momentum értékeket, valamint az egy réz(II)ionra jutó átlagos párosítatlan elektronok számát is. Ezeket az adatokat foglalja össze a 25. táblázat (93. oldal).



**25. táblázat:** A réz(II)–Leu-Gly-BIMA rendszerben 2:1 fémion/ligandum aránynál kialakuló komplexek mágneses momentuma ( $\mu_{\text{eff}}$ ) és az egy rézre átlagosan jutó párosítatlan elektronok száma (N)

komplex	$\mu_{\text{eff}}$ [B.M.]	N
$\text{Cu}^{2+}_{\text{aq}}, [\text{CuLH}]^{3+}$	1,73	1,00
$[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$	1,57	0,86
$[\text{Cu}_4\text{L}_2\text{H}_8]$	1,42	0,73

A táblázat adatai szerint a  $[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$  összetételű komplex kialakulásával párhuzamosan csökken a mágneses momentum értéke a monokomplexekéhez képest. Ez az imidazolgyűrűn mint hidcsoporton keresztül létrejövő spin-spin csatolásnak tulajdonítható, melynek következtében a két réz(II) centrum részben diamágnesessé válik.

A  $[\text{Cu}_4\text{L}_2\text{H}_8]$  komplex képződésével tovább csökken a mágneses momentum értéke, azaz az újabb lúgfogyasztó folyamat nem egy egyszerű vegyes hidroxokomplex képződés a  $[\text{Cu}_2\text{LH}_3]^+$  komplexben található koordinált vízmolekula deprotonálódásával, ez ugyanis nem eredményezne újabb spin-spin kölcsönhatást. Ezzel szemben azonban a dihidroxohidas tetramer kialakulása újabb spin-spin kicserélődést tesz lehetővé a réz(II) ionokat összekötő hidroxohidakon keresztül (61/k. ábra). Ehhez hasonló szerkezeteket korábban is kimutattak már az irodalomban mágneses momentum mérések segítségével<sup>[127]</sup> (lásd korábbi, 19/d. ábra, 25. oldal)

A pH-t tovább növelve, pH > 11 esetén valamennyi oldat feketés színű lett, csapadék azonban nem vált ki csak a réz(II)–Phe-Gly-BIMA rendszerben (ahol a ligandumban a legnagyobb térkitöltésű oldallánc található). A folyamat a CD spektroszkópiás vizsgálatok alapján oxigén jelenlétében irreverzibilis, és a ligandum peptid-részének a bomlásával jár. Ezt a folyamatot részletesebben nem vizsgáltuk.

### Nikkel(II)- és cink(II)komplexek:

Néhány ligandum esetében nikkell(II)- és cink(II)ionnal is végeztünk pH-potenciometriás és spektroszkópiás vizsgálatokat. Ezekben a rendszerekben a réz(II)iont tartalmazó rendszerekhez hasonlóan szintén az látszik, hogy a nagy térkitöltésű, nemkoordinálódó oldallánc nem befolyásolja lényegesen a komplexképződést (lásd: 26. táblázat, 94. oldal). Valamennyi rendszerben a bisz(2-imidazolil)-metil-részen kezdődik a koordináció, és a kialakuló komplexek stabilitása megfelel az Irving-Williams sornak, azaz nikkell(II)-, és méginkább cink(II)ion esetén kevésbé stabilisak az  $[\text{ML}_2\text{H}_2]^{4+}$  és  $[\text{MLH}]^{3+}$  komplexek. Cink(II)ionnal nem is mutatható ki 3-as pH-ig komplexképződés.

Ezen bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú komplexekben az aminocsoportra jellemző lépcsőzetes deprotonálódási lépések pK-értékei kisebbek, mint a szabad ligandumokban (lásd: 22. táblázat, 83. oldal; valamint 26. táblázat adatai, 94. oldal). A ligandum tridentát koordinálódását itt a réz(II)ionétól eltérő, szabályos oktaéderes geometria teszi lehetővé.

A pH növelésével nikkell(II)ion esetén lejátszódik az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása, hasonlóan a nikkell(II)–Gly-Gly-His rendszerhez<sup>[45]</sup>, de már 7,5-es pH körül. A 26. táblázat adataiból látható, hogy a két amidnitrogén deprotonálódása egymással erősen átfed,  $pK_{NiLH_1}^{NiL}$  és  $pK_{NiLH_2}^{NiLH_1}$  közel van egymáshoz, mely szintén ismert az irodalomban a nikkell(II)ion tripeptid-komplexei esetén.

**26. táblázat:** A vizsgált dipeptidszármazékok nikkell(II)- és cink(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

komplex összetétele	Nikkell(II)komplexeik			Cink(II)komplexeik		
	Gly-Leu-BIMA	Leu-Gly-BIMA	Phe-Gly-BIMA	Gly-Leu-BIMA	Leu-Gly-BIMA	Phe-Gly-BIMA
[ML <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	27,99(2)	27,75(2)	27,13(3)	24,56(4)	24,17(5)	23,39(7)
[ML <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	21,18(7)	20,73(8)	20,74(9)	17,77(7)	17,30(6)	17,20(9)
[ML <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	13,59(5)	13,51(5)	14,31(9)	—	—	—
[ML <sub>2</sub> H <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	5,2(1)	5,0(1)	6,67(2)	—	—	—
[MLH] <sup>3+</sup>	14,36(2)	14,16(1)	13,65(4)	12,45(2)	12,28(3)	11,97(3)
[ML] <sup>2+</sup>	8,22(3)	8,12(2)	8,48(4)	5,1(1)	—	—
[MLH <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	0,62(5)	1,02(2)	1,10(7)	—	—	—
[MLH <sub>-2</sub> ]	-7,07(3)	-6,55(2)	-6,61(5)	—	—	—
[MLH <sub>-3</sub> ]	-17,11(5)	-16,49(6)	csapadék válík ki	—	—	—
[M <sub>2</sub> LH <sub>-3</sub> ] <sup>+</sup>	-10,73(6)	-9,60(3)	—	—	—	—
[M <sub>2</sub> LH <sub>-4</sub> ]	-18,56(7)	-18,7(1)	—	—	—	—
$pK_{ML_2H_2}^{ML_2H_2}$	6,81	7,02	6,39	6,79	6,87	6,19
$pK_{ML_2}^{ML_2H}$	7,59	7,22	6,61	—	—	—
$pK_{ML_2H_1}^{ML_2}$	8,4	8,0	7,64	—	—	—
$pK_{ML}^{MLH}$	6,14	6,04	5,17	7,37	—	—
$pK_{MLH_1}^{ML}$	7,60	7,10	7,38	—	—	—
$pK_{MLH_2}^{MLH_1}$	7,69	7,57	7,71	—	—	—
$pK_{MLH_3}^{MLH_2}$	10,04	9,94	—	—	—	—
$pK_{M_2LH_3}^{M_2LH_3}$	7,83	9,1	—	—	—	—
$\lg(K_1/K_2)_{MLH}$	0,73	0,57	0,17	0,34	0,39	0,55

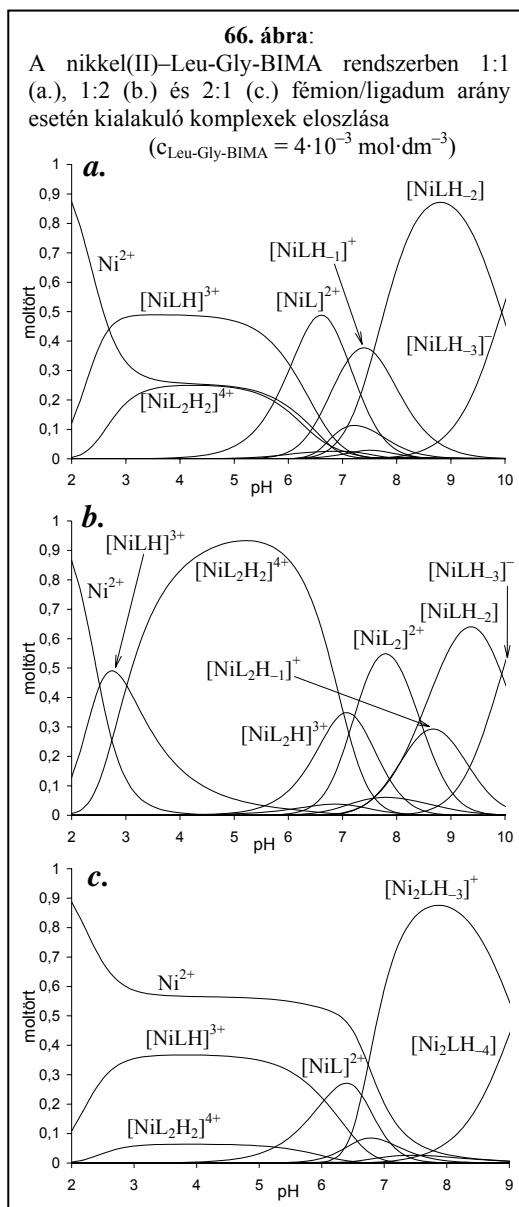
$$\lg(K_1/K_2)_{MLH} = \lg K(MLH) - \lg K(ML_2H_2) = 2 \cdot \lg \beta(MLH) - \lg \beta(ML_2H_2)$$

A rendszerben kialakuló legtöbb komplex oktaéderez geometriájú, azonban 1:1 és 1:2 fémion/ligandum arányánál egy síknégyszetes komplexekre jellemző sáv jelenik meg 7–8-as pH felett ( $[\text{NiLH}_2]$ ,  $\lambda_{\text{max}} = 393 \text{ nm}$ ). Ennek a sávnak a kialakulása az amidnitrogén deprotonálódására és koordinálódására utal<sup>[32, 41, 43]</sup>. A síknégyszetes komplexek kialakulását nemcsak az oldatok sárga színe jelzi, hanem az is, hogy az egyensúly csak lassan áll be a rendszerekben (egy-egy titrálási pont esetében ez 15 percnél hosszabb lehet). A síknégyszetes geometriájú komplexek kialakulása lehetővé tenné az NMR méréseket is, a síknégyszetes nikkell(II)-komplexek ugyanis diamágnesesek. Az NMR vizsgálatok alapján azonban még 11-es pH felett is található kis mennyiségben oktaéderez komplex a rendszerekben, így az NMR jelek szélesebbek, nem jól értékelhetők.

A nikkell(II)–Leu-Gly-BIMA és –Gly-Leu-BIMA rendszerben 10-es pH felett képződő  $[\text{NiLH}_3]^-$  komplexben a réz(II)ionot tartalmazó rendszerrel ellentétben nem a pirrolnitrogén deprotonálódása és koordinálódása játszódik le, hanem a hidrolízis kezdődik el. A nagy fenilalanil-oldalláncot tartalmazó ligandum esetében ez a komplex már nem is oldódik vízben, csapadék válik ki a rendszerben.

Hasonlóképpen a  $[\text{Ni}_2\text{LH}_3]^+$  és  $[\text{Ni}_2\text{LH}_4]$  komplexekben is vegyes hidroxidkoordináció valósul meg fémfelesleg esetén, majd csapadék válik ki.

Cink(II)ion esetében azt kaptuk, hogy a komplexképzésben csak a bisz(2-imidazolil)-metil rész vesz részt. Itt is mono- és biszkomplexek képződését tudtuk számolni, azonban 7-es pH felett ez a bisz(2-imidazolil)-metil-szerű koordináció nem tudja megakadályozni vegyes hidroxokomplexek képződésén keresztül a cink(II)ion hidrolízisét, csapadék leválását.



Mivel azt találtuk, hogy a nikkel(II)- és a cink(II)ionnal lényegesen nehezebben megy végbe az amidnitrogén deprotonálódása és így nem is alakulhatnak ki a réz(II)ionnál talált többmagvú szerkezetek (melyek SOD modellként működhetnek), valamint amiatt, hogy ezek a rendszerek sokkal nehezebben tanulmányozhatóak különféle spektroszkópiai módszerekkel is, a többi peptidszármazék esetében már a réz(II)ionnal való mérésekre helyeztük a hangsúlyt, és csak elvétve végeztünk nikkel(II)- és cink(II)iont tartalmazó rendszerekben vizsgálatokat.

### 5.2.2.2. Prolint tartalmazó dipeptidszármazék (Ala-Pro-BIMA) réz(II)komplexei

A prolint is tartalmazó ligandum segítségével azt kívántuk tanulmányozni, hogy a peptidszármazékok esetében az amidnitrogének deprotonálódása a ligandum aminos- vagy bisz(2-imidazolil)-metil-vége felől kezdődik-e el. A prolin ugyanis gyűrűs,  $-\text{NH}_2$  helyett  $-\text{NH}-$  csoportot tartalmazó aminosav, azaz a peptidkötés kialakulása után az aminovég felől nincs lehetőség az amidnitrogén deprotonálódására és koordinálódására (lásd: 30/d. ábra, 45. oldal).

A pH-metriás mérések és az ezekből számolt stabilitási állandók (23. táblázat, 84. oldal) azt mutatták, hogy a rendszerben nem történik meg az amidnitrogén deprotonálódása semmilyen fémion/ligandum aránynál.

**27. táblázat:** A réz(II)–Ala-Pro-BIMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek abszorpciós ( $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]/\epsilon_{\text{max}}[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ ), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel}[\cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$ ) paramétereit

Komplex összetétele	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+} - [\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$	601(56)	—
$[\text{CuLH}]^{3+}$	698(35)	2,299(168)
$[\text{CuL}]_n^{2n+}$	620(54)	$\left\{ \begin{array}{l} 2,233(191) \\ 2,284(179) \end{array} \right\}$

1:1 fémion/ligandum aránynál, savas pH-n a koordináció a korábbiakhoz hasonlóan a bisz(2-imidazolil)-metil-részen kezdődik ( $[\text{CuLH}]^{3+}$  összetételű komplex). Ezt követően az aminos csoport deprotonálódik, és mivel a deprotonálódás  $pK$ -ja jóval kisebb, mint a szabad ligandum aminos csoportja esetében, az aminos csoport koordinálódása feltételezhető a  $[\text{CuL}]^{2+}$  komplexben. Ezt támasztja alá az is, hogy a deprotonálódással párhuzamosan az abszorpciós maximum a kisebb hullámhosszak irányába tolódik. A  $\lambda_{\text{max}}$  érték alapján (27. táblázat) háromnitrogénes koordináció feltételezhető. Az ESR vizsgálat itt ugyan nem mutatott ki réz(II)–réz(II) kölcsönhatást, azonban a  $[\text{CuL}]^{2+}$  sztöchiometriájú komplexre jellemző ESR spektrumok igen hasonlóak a dipeptidszármazékokkal kapott spektrumokhoz, és a mért ESR paraméterek bisz(2-imidazolil)-metil- ( $g_{\parallel} = 2,234$  és  $A_{\parallel} = 199 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  (réz(II)–BIM rendszer,  $[\text{CuL}'_2]^{2+}$  komplex<sup>[100]</sup>)), valamint  $[2 \cdot (\text{NH}_2, \text{CO})]$ -koordináció ( $g_{\parallel} = 2,276$  és  $A_{\parallel} = 171 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  (réz(II)–glicinamid rendszer,  $[\text{CuL}''_2]^{2+}$  komplex<sup>[209]</sup>)) jelenlétét mutatják. Ez alapján a szerkezet a réz(II)–dipeptid-BIMA

rendszerekben kialakuló szimmetrikus  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexekéhez (61/c. ábra, 89. oldal) hasonló dimer/polimer szerkezet – melyben a nagyobb réz(II)–réz(II) távolságot a prolin merev szerkezete okozza – vagy erősen torzult geometriájú, makrokelátot tartalmazó monomer.

Ligandumfelesleg esetén biszkomplexek képződnek bisz(2-imidazolil)-metilkoordinációval. Ezt a szerkezetet támasztja alá mind az abszorpciós, mind az ESR spektrum. A lépcsőzetes deprotonálódási lépések  $pK$ -i megfelelnek a szabad aminos csoport deprotonálódási lépéseinek. Azonban az abszorpciós spektrumban a  $\lambda_{\text{max}}$  értékeknek a kisebb hullámhosszak felé való tolódása, az oldat sárgulása irreverzibilis folyamatra, a ligandum bomlására utal.

8-as pH felett ligandumfelesleg esetén is csapadék válik ki, azaz a réz(II)–BIM rendszernél<sup>[100]</sup> korábban leírtakkal összhangban csupán a bisz(2-imidazolil)-metilkoordináció nem tudja nagyobb pH-n oldatban tartani a réz(II)iont.

### 5.2.2.3. Oldalláncban nemkoordinálódó donorcsoportot tartalmazó tripeptidszármazék (Ala-Phe-Gly-BIMA) átmenetifém-komplexei

#### Réz(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszer:

Az Ala-Phe-Gly-BIMA (30/g. ábra, 45. oldal) volt az általam vizsgált egyetlen tripeptid-BIMA származék, azonban a korábbi irodalmi eredmények között szerepelnek egyéb tripeptidszármazékok is<sup>[100, 102]</sup> (pl.: 13. ábra, 20. oldal).

A réz(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszer vizsgálatánál azt találtuk, hogy nemcsak a fémion/ligandum aránytól, hanem az abszolút koncentrációktól is jelentősen függ az, hogy a rendszerben milyen pH-nál válik ki csapadék, meddig lehet oldategyensúlyi vizsgálatokat folytatni. A stabilitási állandókat (23. táblázat, 84. oldal) minden esetben csak a csapadékképződés nélkül mérhető tartományból számoltuk. Ennél szűkebb tartomány volt vizsgálható a különféle spektroszkópiás módszerekkel, ugyanis ezekhez a vizsgálatokhoz töményebb oldatokra volt szükség (pH-metriás titrálásokat akár  $8 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  koncentrációjú oldatokban is lehetett végezni). Emiatt a  $[\text{CuLH}_1]^+$ ,  $[\text{CuLH}_2]$  és  $[\text{CuLH}_3]^-$  összetételű komplexekre pontos spektroszkópiai adatokat nem tudtunk meghatározni. A spektroszkópiás vizsgálatoknál emellett az is problémát jelentett, hogy nehezebb volt megoldani az levegő (oxigéngáz) kizárását, mely a vizsgálataink alapján a ligandum réz(II)katalizált bomlását okozza.

Kis pH-n ebben a rendszerben is a bisz(2-imidazolil)-metilkoordináció a meghatározó. Mono-, illetve biszkomplexek alakulnak ki a fémion/ligandum aránytól függően, a biszkomplexek kialakulása azonban a nagy térkitöltésű fenilalanil-oldallánc miatt kedvezőtlenebb: a  $\lg(K_1/K_2)$  érték hasonlóan nagy, mint a réz(II)–Phe-Gly-BIMA rendszerben (23. táblázat, 84. oldal).

Ligandumfelesleg esetében a pH növelésével ennek a bisz(2-imidazolil)-metilkoordinációjú biszkomplexeknek a lépcsőzetes deprotonálódása figyelhető meg. Ezzel

összhangban sem az ESR-, sem az abszorpciós spektroszkópiás paraméterek nem változnak a  $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+} - [\text{CuL}_2]^{2+}$  komplexekben (lásd: 28. táblázat).

**28. táblázat:** A réz(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek abszorpciós ( $\lambda_{\text{max}}[\text{nm}]/\epsilon_{\text{max}}[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ ), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$ ) paraméterei

Komplex összetétele	$\lambda_{\text{max}}(\epsilon_{\text{max}})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{4+} - [\text{CuL}_2]^{2+}$	596(42)	2,235(192)
$[\text{CuLH}]^{3+}$	693(36)	2,298(168)
$[\text{CuL}]^{2+}$ és/vagy	672(38)	{ 2,284(157) – 2,280(164) }
$[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$		

1:1 fémion:ligandum arányánál már van spektrális különbség a  $[\text{CuLH}]^{3+}$  és  $[\text{CuL}]^{2+}$  komplex között mind az ESR-, mind a látható abszorpciós spektrumban. Az abszorpciós spektrum  $\lambda_{\text{max}}$  értékeinek a csökkenése egy újabb nitrogénnek, a deprotonálódott aminocsoportnak a koordinálódását mutatja. Az aminocsoport koordinálódását támasztja alá az is, hogy míg a biszkomplexek esetében a lépcsőzetes deprotonálódási lépések  $pK$ -ja megfelel a szabad aminocsoport deprotonálódásának ( $pK_{\text{CuL}_2\text{H}_2}^{\text{CuL}_2\text{H}} = 6,43$  és  $pK_{\text{CuL}_2}^{\text{CuL}_2\text{H}} = 7,63$ ), addig az 1:1 komplexnél ez az érték jóval kisebb ( $pK_{\text{CuL}}^{\text{CuLH}} = 4,56$ ).

A látható abszorpciós spektrum alapján nem lehet egyértelműen eldönteni, hogy a  $[\text{CuL}]^{2+}$  sztöchiometriájú komplex monomer vagy dimer/polimer szerkezetű-e, az ESR spektrum azonban többféle koordinációs mód együttes jelenlétét mutatta ebben a pH-tartományban. Monomer szerkezet bisz(2-imidazolil)-metil- és makrokeláton keresztüli amino-koordinációval alakulhat ki, ennél a ligandumnál ugyanis már elég hosszú a peptidlánc ahhoz, hogy lehetővé tegye a három donoratom egyazon fémionhoz való koordinálódását. Az ESR paraméterekben – a korábbi irodalmi adatok alapján – ekvatoriális helyzetben a makrokelát képződése a  $g_{\parallel}$  értékek kismértékű csökkenését eredményezi, míg az  $A_{\parallel}$  értékekre nincs egyértelmű hatása<sup>[78]</sup> (lásd: 29. táblázat, 99. oldal).

Ezzel a bisz(2-imidazolil)-metil- és amino koordinációs móddal dimer/polimer komplex képződése kevésbé valószínű a hosszabb lánc, a túl szabad szerkezet miatt, valamint amiatt, hogy ebben az esetben csak három koordinációs helye lenne elfoglal-



29. táblázat: Réz(II)–peptid rendszerekben képződő különböző koordinációs módú, makrokelátot tartalmazó komplexek ESR spektroszkópiás ( $g_{II}/A_{II}[\cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$ ) paraméterei<sup>[78]</sup>

Komplex összetétele	Koordinációs mód	Gly <sub>5</sub>	Gly <sub>3</sub> His	Gly <sub>4</sub> His	Gly <sub>5</sub> His
[CuL] <sup>2+</sup>	(NH <sub>2</sub> ,CO)	2,331(151)	—	—	—
	(NH <sub>2</sub> ,CO)+Im	—	2,299(139)	2,298(137)	—
[CuLH <sub>-1</sub> ] <sup>+</sup>	(NH <sub>2</sub> ,N <sup>-</sup> )	2,251(175)	—	—	—
	(NH <sub>2</sub> ,N <sup>-</sup> )+Im	—	—	2,230(156)	2,227(156)
[CuLH <sub>-2</sub> ] <sup>+</sup>	(NH <sub>2</sub> ,N <sup>-</sup> ,N <sup>-</sup> )	2,219(191)	—	—	—
	(NH <sub>2</sub> ,N <sup>-</sup> ,N <sup>-</sup> )+Im	—	2,194(200)	2,199(200)	2,196(199)

va a réz(II)ionnak (míg a következő bekezdésben bemutatásra kerülő dimer szerkezetben négy). Ebben a szerkezetben egy [CuL]<sup>2+</sup> egység a szomszédos [CuL]<sup>2+</sup> egységhez mindössze egyetlen donorcsoporton, a láncvégi aminonitrogénon keresztül kapcsolódna, ami – a korábbi vizsgálatok alapján – nem elég erős kötés a dimer/polimer összetartásához.

A másik lehetséges koordinációs mód a [CuL]<sup>2+</sup> sztöchiometriájú komplex esetében a dipeptideknél is kimutatott, bisz(2-imidazolil)-metil- és amino-karbonil koordinációjú, szimmetrikus vagy aszimmetrikus dimer vagy polimer szerkezeteknek a kialakulása (61/c–d. ábra, 89. oldal). Az ESR spektrumban 5 – 7 pH-tartományban megjelenő, négy imidazolgyűrű koordinálódására utaló superhiperfinom jel ( $g_{II} = 2,235$ ,  $A_{II} = 196 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) ehhez a komplexhez tartozik (ugyanis ebben a pH-tartományban, 1:1 fémion/ligandum aránynál már nem lehetnek [CuL<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> – [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> biszkomplexek). Ugyancsak ettől a szimmetrikus szerkezetű, ligandumhidas dimertől/polimertől származik a  $g_{II} = 2,280$ ,  $A_{II} = 164 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$  jel, mely jól egyezik az irodalom alapján az amino-karbonil koordinációjú biszkomplexre várt ESR paraméterekkel ( $g_{II} = 2,276$ ,  $A_{II} = 171 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ : réz(II)–glicinamid rendszer, [CuL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> komplex<sup>[209]</sup>).

A titrálások alapján a rendszerben nagyobb pH-nál [CuLH<sub>-1</sub>]<sup>+</sup>, [CuLH<sub>-2</sub>] és [CuLH<sub>-3</sub>]<sup>-</sup> komplexek képződnek. Ezen komplexekben a dipeptidszármazékokhoz hasonlóan az amidnitrogének lépcsőzetes deprotonálódása és koordinálódása valószínűsíthető. Erre utal a csapadékos oldat szűrletéből felvett abszorpciós spektrum is, mely  $\lambda_{\text{max}} = 512 \text{ nm}$ -rel jellemezhető, azaz négynitrogénes, tripeptidszerű koordinációt mutat. Az amidnitrogének deprotonálódás az Ala-Pro-BIMA réz(II)-komplexeinél kapott eredmények alapján a molekula aminovége felől kezdődik. Itt azonban az első amid-deprotonálódási lépés után a molekula másik, bisz(2-imidazolil)-metil fémmegkötő része távolabb van, mint a dipeptid-származékokban volt, így az hajlamosabb lehet egy másik fémionhoz koordinálódni és polimer szerkezetet kialakítani. Ezek a polimerek okozhatják a csapadék kiválását a rendszerben.

Ha a ligandum mindhárom amidnitrogénje deprotonálódott és koordinálódott, akkor vagy az amino-, vagy az imidazolilcsoport kiszorul a réz(II)ion körüli ekvatoriális koordinációs szférából. Ez a folyamat csak 11-es pH felett indul el.

Fémionfelesleg esetén – ugyanúgy mint azt a többi dipeptid-BIMA származéknál láttuk – itt is a bisz(2-imidazolil)-metil- és a peptidszerű koordináció együttes jelenléte feltételezhető, azonban – hasonló okokból, mint 1:1 aránynál – viszonylag hamar csapadékképződéshez vezet ez a folyamat.

### Nikkel(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszer:

A nikkel(II)–Ala-Phe-Gly-BIMA rendszer pH-potenciometriás, UV-látható spektrofotometriás és <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiás vizsgálata a következő koordinációs modellt mutatja (30. táblázat).

**30. táblázat:** Az Ala-Phe-Gly-BIMA nikkel(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

komplex összetétele	lgβ <sub>pqr</sub>	származtatott állandók
[NiL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	28,11(2)	pK <sub>NiL<sub>2</sub>H</sub> <sup>NiL<sub>2</sub>H<sub>2</sub></sup> = 4,95
[NiL <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	23,16(5)	pK <sub>NiL<sub>2</sub></sub> <sup>NiL<sub>2</sub>H</sup> = 7,71
[NiL <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	15,45(4)	pK <sub>NiL<sub>2</sub>H<sub>1</sub></sub> <sup>NiL<sub>2</sub></sup> = 10,60
[NiL <sub>2</sub> H <sub>1</sub> ] <sup>+</sup>	4,85(7)	pK <sub>NiL</sub> <sup>NiLH</sup> = 4,40
[NiLH] <sup>3+</sup>	14,37(1)	pK <sub>NiLH<sub>2</sub></sub> <sup>NiLH<sub>2</sub></sup> = 11,60
[NiL] <sup>2+</sup>	9,97(2)	lg(K <sub>1</sub> /K <sub>2</sub> ) <sub>NiL<sub>H</sub></sub> = 0,63
[NiLH <sub>2</sub> ]	-8,53(2)	
[NiLH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup>	-20,13(3)	
[Ni <sub>2</sub> LH <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	-3,96(4)	
[Ni <sub>2</sub> LH <sub>4</sub> ]	-22,97(4)	

$$\lg(K_1/K_2)_{\text{NiLH}} = \lg K(\text{NiLH}) - \lg K(\text{NiL}_2\text{H}_2) = 2 \cdot \lg \beta(\text{NiLH}) - \lg \beta(\text{NiL}_2\text{H}_2)$$

A fő koordinációs mód itt is a bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció savas pH-tartományban ([NiL<sub>2</sub>H<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> – [NiL<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> és [NiLH]<sup>3+</sup>). Ezen komplexek oktaédes geometriájúak, azonban nagyobb pH-n, a [NiL<sub>2</sub>H<sub>1</sub>]<sup>+</sup> és [NiLH<sub>2</sub>] komplex képződésével párhuzamosan – hasonlóan, mint a korábbi nikkel(II)–dipeptid-BIMA rendszerekben – síknégyzetes geometriára utaló sáv jelenik meg (λ<sub>max</sub> = 387 nm). 10-es pH felett már csak ezek a komplexek vannak jelen a rendszerben, erre utal az egyensúlyok beállításának a lassulása a pH-metriás titrálásnál, és az is hogy ilyen körülmények között NMR méréseket lehetett végezni. Az NMR spektrumok azonban itt is széles jeleket adtak, mutatva, hogy még 11-es pH felett is van egy kis mennyiségű oktaédes komplex a rendszerben, hasonlóan a nikkel(II)–Gly-Leu-BIMA, –Leu-Gly-BIMA és –Phe-Gly-BIMA rendszerhez.

**5.2.3. Oldalláncban erősen koordinálódó (hisztidil-) donorcsoportot tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-dipeptidszármazékok (Phe-His-BIMA és His-Phe-BIMA) réz(II)komplexei**

**31. táblázat:** A vizsgált, hisztidint tartalmazó dipeptidszármazékok réz(II)komplexeinek stabilitási szorzat értékei és néhány származtatott állandó (mérési körülmények: T = 298 K; I = 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl)

komplex összetétele	His-Phe-BIMA	Phe-His-BIMA
[CuL <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>6+</sup>	40,05(2)	40,90(6)
[CuL <sub>2</sub> H <sub>3</sub> ] <sup>5+</sup>	35,92(6)	35,86(8)
[CuL <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	30,36(8)	29,74(9)
[CuL <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	23,83(9)	23,41(9)
[CuL <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	16,63(8)	—
[CuLH <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	20,73(1)	21,12(6)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	29,22(3)	28,58(8)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-1</sub> ] <sup>3+</sup>	—	22,21(9)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-2</sub> ] <sup>2+</sup>	—	15,70(9)
[CuLH <sub>-2</sub> ]	-1,95(1)	-1,79(7)
[Cu <sub>2</sub> L] <sup>4+</sup>	16,90(2)	—
[Cu <sub>2</sub> LH <sub>-1</sub> ] <sup>3+</sup>	—	13,81(5)
[Cu <sub>2</sub> LH <sub>-2</sub> ] <sup>2+</sup>	6,02(2)	—
[Cu <sub>3</sub> L <sub>2</sub> H <sub>-2</sub> ] <sup>4+</sup>	—	25,82(8)
$pK_{\text{CuL}_2\text{H}_4}^{\text{CuL}_2\text{H}_3}$	4,13	5,04
$pK_{\text{CuL}_2\text{H}_3}^{\text{CuL}_2\text{H}_2}$	5,56	6,12
$pK_{\text{CuL}_2\text{H}_2}^{\text{CuL}_2\text{H}}$	6,53	6,33
$pK_{\text{CuL}_2}^{\text{CuL}_2\text{H}}$	7,20	—
$pK_{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-1}}^{\text{Cu}_2\text{L}_2}$	—	6,37
$pK_{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}}^{\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-1}}$	—	6,51
$\lg(K_1/K_2)_{\text{CuLH}_2}$	1,41	1,34

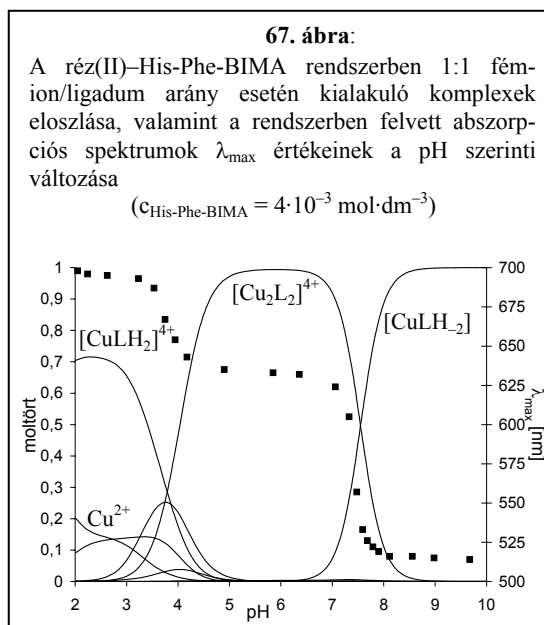
$$\lg(K_1/K_2)_{\text{CuLH}_2} = \lg K(\text{CuLH}_2) - \lg K(\text{CuL}_2\text{H}_4) = 2 \cdot \lg \beta(\text{CuLH}_2) - \lg \beta(\text{CuL}_2\text{H}_4)$$

A bisz(2-imidazolil)-metil kelátképző donorcsoportot tartalmazó dipeptid-származékok (ligandumok szerkezetét lásd: 30/e–f. ábra, 45. oldal) komplexképző sajátságai részben megváltoznak, ha a dipeptidláncban egy erősen koordinálódó donorcsoportú aminosav is található. Ebben az esetben a korábban is meglévő fémmegkötőhelyek mellett újabb koordinációs lehetőségekkel kell számolni. A hisztidin aminosavat tartalmazó származékok estében ez egy igen erős fémmegkötőhely, mely alkalmas lehet axiális vagy ekvatoriális koordinációra megfelelő pozíció és a fémion körüli szabad koordinációs hely jelenléte esetén, vagy dimer/polimer szerkezetek létrehozására egy másik fémionhoz való koordinálódással.

Emellett – ha valamely más csoporttal kelátképző helyzetben van a hisztidincsoport – egy új, önálló fémmegkötő részt is jelenthet a ligandumban, mely szintén ligandumhidas dimerek vagy polimerek, valamint többmagvú komplexek képződését teszi lehetővé. Az előbb említett új, stabil, többfogú kelátszerkezeten keresztüli koordinációs lehetőség a His-Phe-BIMA ligandum esetében a hisztaminszerű, míg a Phe-His-BIMA-nál a dipeptid- (vagy Gly-His-) szerű koordináció megjelenése.

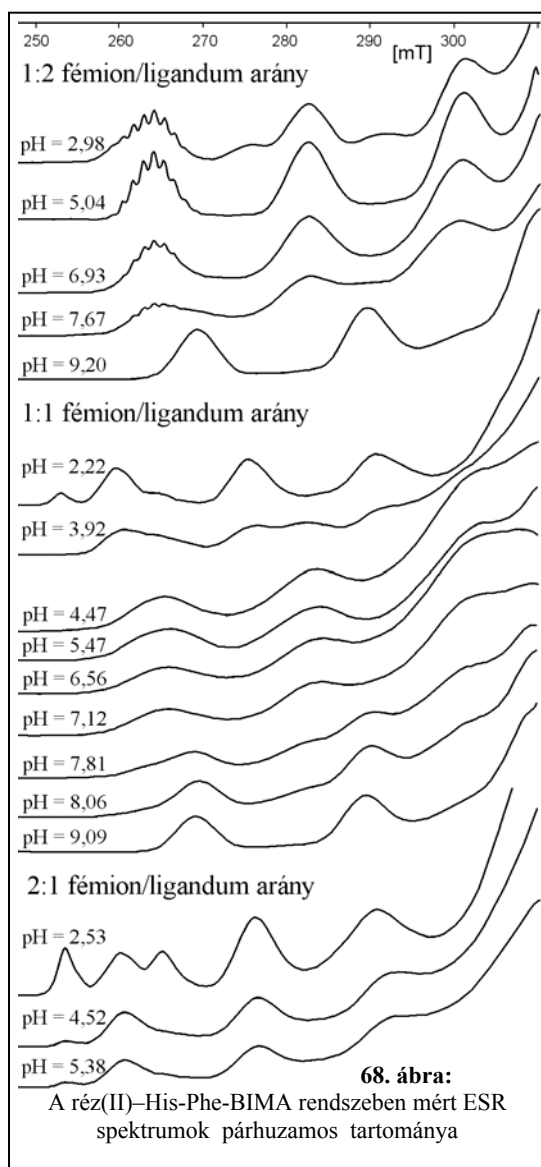
### 5.2.3.1. N-terminális hisztidint tartalmazó származék (His-Phe-BIMA) réz(II)komplexei

A réz(II)–His-Phe-BIMA rendszerben savas pH-n ugyanazt a bisz(2-imidazolil)-metil koordinációs módot találtuk, mint a nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó dipeptid-BIMA származékok vagy az Ala-Phe-Gly-BIMA esetében. Itt is mono-, illetve biszkomplexek alakulnak ki ezzel a koordinációs móddal. A His-Phe-BIMA ligandum esetében – ugyanúgy, mint a His-BIMA ligandumnál – lehetőség lenne már savas tartományban is a hisztaminszerű koordináció megjelenésére, azonban azt kaptuk, hogy – a réz(II)–His-BIMA rendszerhez hasonlóan – ligandumfelesleg esetén itt sem tudja kiszorítani a hisztaminszerű koordináció a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációt, 7-es pH-ig ez utóbbi az uralkodó a rendszerben (lásd: 32. táblázat adatai).



**32. táblázat:** A réz(II)–His-Phe-BIMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek abszorpciós ( $\lambda_{\max}[\text{nm}]/\epsilon_{\max}[\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ ), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel}[\cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$ ) paramétere

Komplex összetétele	$\lambda_{\max}(\epsilon_{\max})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
$[\text{CuL}_2\text{H}_4]^{6+} - [\text{CuL}_2]^{2+}$	594(29)	2,235(192)
$[\text{CuLH}_2]^{4+}$	694(32)	2,302(169)
$[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$	632(81)	széles jel, $\approx 2,228(187)$
$[\text{CuLH}_2]$	510(215)	2,175(206)
$[\text{Cu}_2\text{L}]^{4+}$	676(35)	2,295(171)
$[\text{Cu}_2\text{LH}_2]^{2+}$	581(56)	ESR csendes

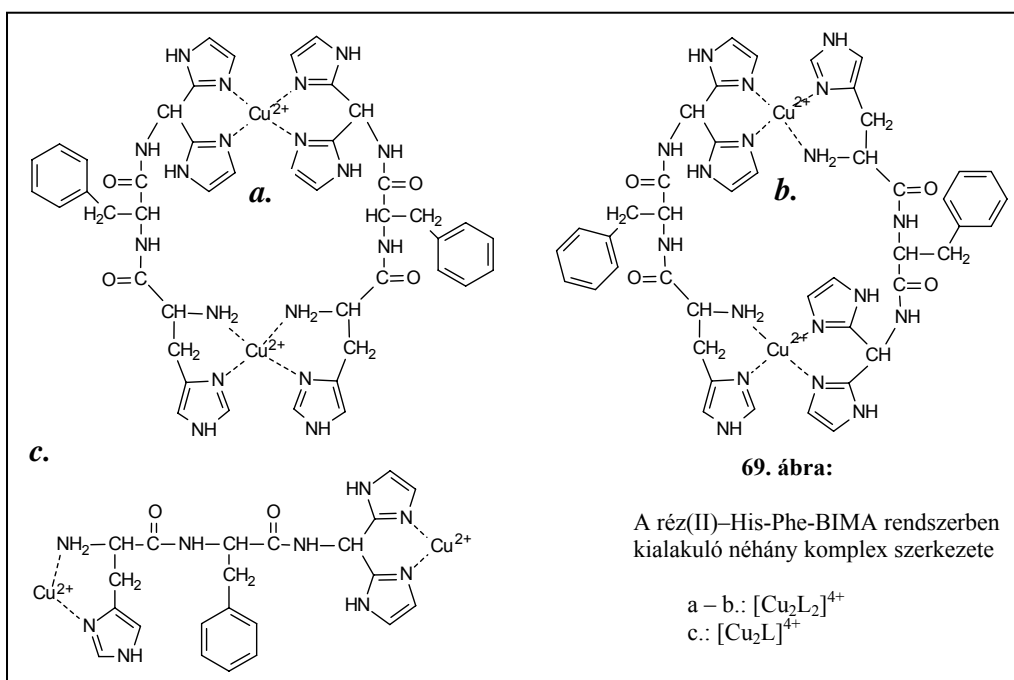


összetételű komplex alakul ki, melyben a koordináció ugyanaz, mint a nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó dipeptid-BIMA származékok esetén (61/g. ábra, 89. oldal). Ez azt mutatja, hogy egy N-terminális hisztidin-oldallánc jelenléte, a hisztaminszerű koordináció nem állítja meg a peptidszerű koordináció kialakulását, nem képes konkurálni azzal nagyobb pH-n.

A réz(II)–His-Phe-BIMA rendszerben fémionfelesleg esetén mért titrálási görbék egyetlen, két fémiont tartalmazó többmagvú komplexszel, a  $[\text{Cu}_2\text{L}]^{4+}$  komplexszel le lehetett írni, melyben az egyik fémion hisztaminszerű-, a másik bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációval kötődik a ligandum két végéhez (69/c. ábra, 104. oldal). A nagyobb pH-n kialakuló  $[\text{Cu}_2\text{LH}_2]^{2+}$  komplexnél már csapadék válik ki, elkezdődik a hidrolízis (bár  $[\text{Cu}_2\text{LH}_1]^{3+}$  komplex képződését nem lehetett számolni), így további

1:1 fémion/ligandum aránynál azonban már kialakul a hisztaminszerű koordináció. Ekkor a ligandum mindkét végén található kelátképző csoport koordinálódik egy-egy fémionhoz, ami dimer szerkezetek képződését teszi lehetővé. Az ilyen vegyes koordinációs móddal kialakuló  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplex tehát a már korábban is bemutatott szerkezeteken kívül (lásd: 61/c–d. ábra, 89. oldal) a bisz(2-imidazolil)-metil- és hisztaminszerű (hisztidin- és aminonitrogéneken keresztül) koordinációt is tartalmazhatja, szimmetrikus vagy aszimmetrikus dimerekben (lásd: 69/a–b. ábra, 104. oldal). Ennek megfelelően az ESR spektrumban egy kiszélesedett sávot találhatunk a  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexnek megfelelő pH-tartományban (pH = 5 – 7; 68. ábra). Itt már nem látni a négy ekvivalens nitrogén koordinálódására utaló superhiperfinom ESR felhasadást, ami azt valószínűsíti, hogy a szimmetrikus szerkezetű komplexek háttérbe szorulnak, és inkább az aszimmetrikusak képződnek nagyobb mennyiségben.

Lúgos pH-tartományban  $[\text{CuLH}_2]$



vizsgálatokat nem tudunk végezni ezen komplex szerkezetére. Azonban éppen a hidrolízis megindulása miatt nem valószínű az amidnitrogének deprotonálódása és koordinálódása, az ugyanis – mint ahogy a dipeptid-BIMA-k és a His-BIMA esetében láttuk – képes lenne telíteni a réz(II)ion koordinációs szféráját és ezáltal megvédeni azt a hidrolízistől.

### 5.2.3.2. Második helyen hisztidint tartalmazó bisz(2-imidazolil)-metil-származék (Phe-His-BIMA) réz(II)komplexei

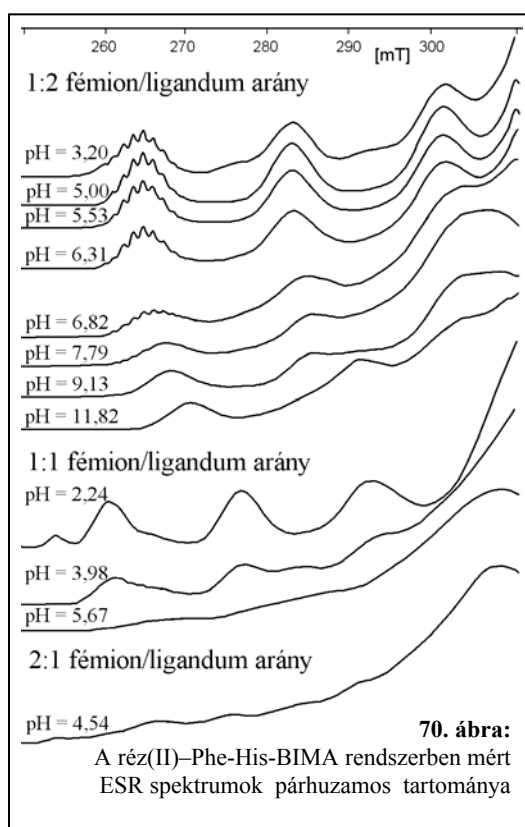
A másik hisztidint tartalmazó ligandum, a Phe-His-BIMA esetében savas pH-tartományban szintén a bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció a meghatározó 1:1 és 1:2 aránynál egyaránt. Biszkomplexek csak ezzel a koordinációval képződnek. Mivel a biszkomplexekben a deprotonálódást nem követi koordináció, a lépcsőzetes deprotonálódás  $pK$ -értékei megfelelnek a szabad hisztidin- és aminocsoporténak (lásd: 31. táblázat, 101. oldal, valamint 22. táblázat, 83. oldal).

Mivel a rendszerben nincsenek nagy stabilitású, nagyobb pH-n képződő biszkomplexek, már 7-es pH körül 1:1 összetételű komplexek alakulnak ki ligandumfelesleg esetén is. Először a réz(II)–dipeptid-BIMA rendszerekben lévő  $[\text{Cu}_2\text{L}_2]^{4+}$  komplexszel azonos összetételű és szerkezetű dimer (61/c–d. ábra, 89. oldal), majd két lépésben ( $pK = 6,37$ ; illetve  $6,51$ )  $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]^{2+}$  dimer vagy  $([\text{CuLH}_1])_n$  polimer alakul ki, melyben Gly-His-szerű koordináció valósul meg (72/a. ábra, 106. oldal).

**33. táblázat:** A réz(II)–Phe-His-BIMA rendszerben képződő különböző összetételű komplexek abszorpciós ( $\lambda_{\max}$ [nm]/ $\epsilon_{\max}$ [dm<sup>3</sup>·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>]), valamint ESR spektroszkópiás ( $g_{\parallel}/A_{\parallel}$ [10<sup>-4</sup> cm<sup>-1</sup>]) paramétereit

Komplex összetétele	$\lambda_{\max}(\epsilon_{\max})$	$g_{\parallel}(A_{\parallel})$
[CuL <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>6+</sup> – [CuL <sub>2</sub> H] <sup>3+</sup>	584(43)	2,235(191)
[CuLH <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	690(32)	2,299(168)
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>	599(51)	ESR csendes
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>1</sub> ] <sup>3+</sup>	598(70)	ESR csendes
[Cu <sub>2</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	570(90)	2,218(187)
[CuLH <sub>2</sub> ]	512(210)*	2,175(209)
[Cu <sub>2</sub> LH <sub>1</sub> ] <sup>3+</sup>	617(45) – 599(58)	ESR csendes
[Cu <sub>3</sub> L <sub>2</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>4+</sup>		

\* A méréseket a csapadékos minták szűrléséből, vagy aceton/víz elegyben lehetett elvégezni.



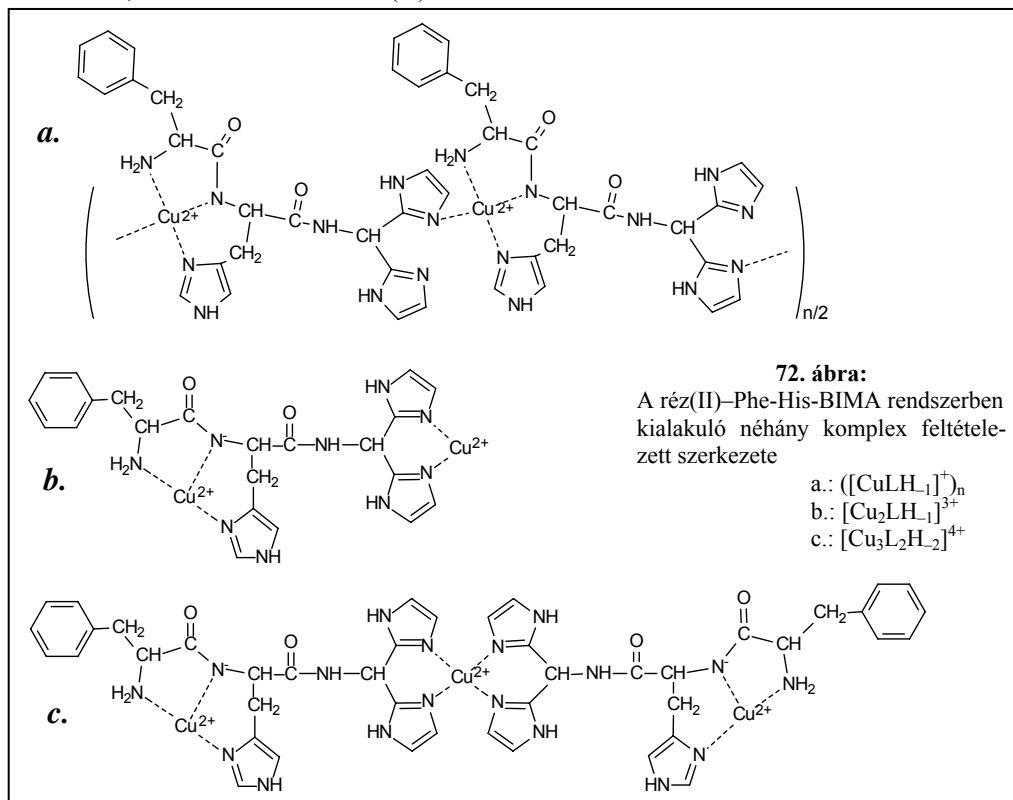
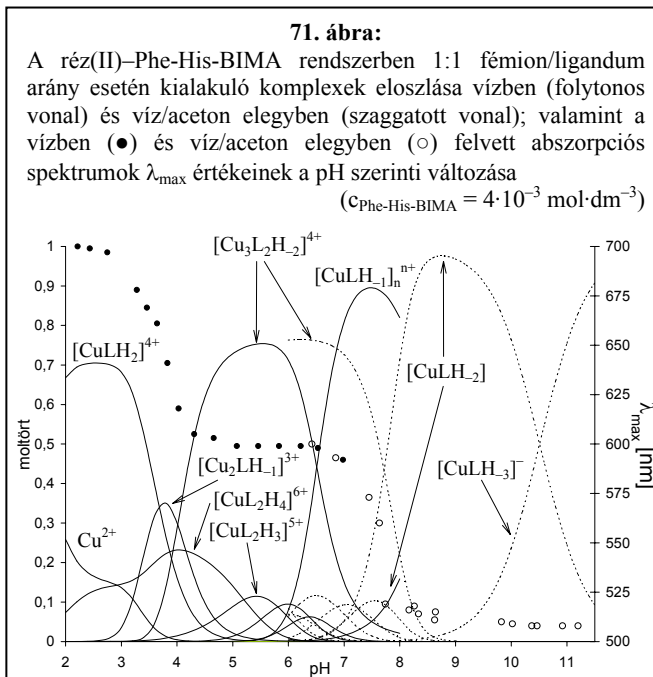
Ezen koordináció kialakulása után a fémionnak még szabad a negyedik ekvatoriális koordinációs helye, és a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport sincs koordinálva, ami hídcsoportként így lehetővé teszi a polimer szerkezet kialakulását. A polimerek jelenlétére utal az is, hogy a rendszerben a ([CuLH<sub>1</sub>]<sup>+</sup>)<sub>n</sub> komplexnek megfelelő pH-tartományban nagyobb koncentrációk esetén (pl. fotometria) csapadék válik ki. pH-metriáson még mérhető ez a tartomány, azonban 8,5-ös pH felett a titrálás során is csapadék alakult ki, tehát a hisztaminszerű koordinációnál erősebb Gly-His-szerű koordináció már jobban akadályozza a tripeptidszerű koordináció ([CuLH<sub>2</sub>] komplex) kialakulását, és ehelyett a hidrolízis kerül előtérbe.

Amennyiben az oldószerként alkalmazott desztillált víz helyett a vizsgálatokat víz/aceton elegyben végezzük – melyben a hidroxidion koncentrációja kisebb, így a hidrolízis kismértékben visszaszorul – nagyobb pH-n ebben a rendszerben is kialakul a peptidszerű koordináció. A potenciometriás és spektrofotometriás mérések alapján az így keletkező [CuLH<sub>2</sub>] komplexben a két amidnitrogén, az aminocsoport és a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport egyik imidazolja koordinálódik (mint korábban a

61/g. ábrán bemutatottuk; lásd: 89. oldal).

Fémionfelesleg esetében szintén egyetlen komplex, a  $[\text{Cu}_2\text{LH}_1]^{3+}$  összetételű komplex a meghatározó, melyben az egyik réz(II) bisz(2-imidazolil)-metil-, míg a másik Gly-His-szerű koordinációval kötődik (72/b. ábra). Mivel ezen koordinációs mód esetén az egyik fémionnak (a bisz(2-imidazolil)-metil-koordinációjú réz(II)ionnak) csak két koordinációs helye foglalt, a rendszerben

kialakulhat a réz(II)-His-BIMA rendszerben képződőhöz hasonló 3:2 összetételű komplex is (72/c. ábra). Ez azonban 7-es pH felett nem képes megakadályozni a hidrolízist, oldatban tartani a réz(II)iont.





## 6.1. Összefoglalás

Metalloenzimekben az imidazolnitrogén alapvető szerepet játszik a fémionok megkötésében és az enzim aktív centrumának a kialakításában. A különböző poliimidazol-vegyületek ezért jó enzimmodellek. Vizsgálataink során egy igen jó fémmegkötő ligandum, a bisz(2-imidazolil)-metil-amin (BIMA) különböző aminosav- és peptidszármazékainak réz(II)-, nikkel(II)- és cink(II)ionnal való komplexképzését tanulmányoztuk. A vizsgálatokat kiegészítettük a bisz(2-imidazolil)-metil-származékoknál egyszerűbb bisz(2-piridil)-metil-származékok komplexkémiával.

Az általunk vizsgált aminosav- és peptidszármazékokat az *MTA Peptidkémiai Kutatócsoportjában*, illetve az *ELTE Szerves Kémiai Tanszékén* állították elő. A ligandumok azonosítására és tisztaságának ellenőrzésére HPLC-t, NMR spektroszkópiát, VRK-t, valamint olvadáspont-meghatározást használtunk. A rendszerek oldategyensúlyi leírására és a képződő komplexek szerkezetének a megállapítására pH-potenciometriát, UV-látható spektrofotometriát, cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiát, <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiát, mágneses momentum méréseket, ESR spektroszkópiát és tömegspektrometriás méréseket (MALDI-TOF-MS) alkalmaztunk.

Összesen tizenhárom új bisz(2-imidazolil)-metil-, illetve bisz(2-piridil)-metil aminosav- és dipeptidszármazék (29. és 30. ábra, 44 – 45. oldal) sav-bázis sajátosságait jellemeztük. Az általunk vizsgált ligandumokban a piridin-, imidazol- és aminosocsoportok deprotonálódása megy végbe a mérhető pH-tartományban. A legnagyobb p*K*-érték minden esetben az aminosocsoporthoz tartozik. A hisztidin-imidazolok p*K*-ja ennél kisebb, míg a legkisebb értékeket a bisz(2-imidazolil)-, illetve bisz(2-piridil)-csoportra mértük, ahol a két protonált aromás nitrogén közeli helyzete mind sztérikusan, mind elektrosztatikusan kedvezőtlen. A p*K*-kat emellett egy hozzájuk viszonylag közel lévő elektronküldő (alifás) csoport növeli, míg egy elektronszívó (amino-, amid-, aromás, prolin-) csoport csökkenti. Ezen p*K*-értékek (főleg a hisztidin aminosavat tartalmazó származékok esetén) jelentősen átfedhetnek egymással, ami szükségessé tette az NMR vizsgálatokat is. A protonálódási/deprotonálódási mikroállandók NMR adatok alapján való számolásánál új számolási módot alkalmaztunk, mely segítségével számolni tudtuk az izomerizációs és protonálódási mikroállandókat olyan molekulák esetén is, ahol az egyes protonálódásra képes csoportok nincsenek nagy távolságra egymástól.

A ligandumok komplexképzését vizsgálva azt találtuk, hogy a fő fémmegkötőhely savas pH-tartományban a bisz(2-piridil)-metil-, illetve a bisz(2-imidazolil)-metil-csoport. Az ezen koordinációval kialakuló, hattagú kelátszerkezetű komplexek stabilitása az Irving-Williams sornak megfelelően Cu(II) > Ni(II) > Zn(II) sorrendben csökken. Réz(II)ion esetén a síknégyszetes torzult geometria miatt csak az erősebb fémmegkötő bisz(2-imidazolil)-metil-származékokkal, míg az oktaédeses nikkel(II)- és cink(II)ion esetében minden ligandummal kialakulnak biszkomplexek is.

Az N-terminális hisztidint tartalmazó ligandumok esetében savas pH-n megjelenik a hisztaminszerű koordináció is, hacsak ezt a hisztidinnek a már savas oldatban kialakuló axiális koordinációja meg nem akadályozza (pl. réz(II)–His-BPMA rendszer). A bisz(2-imidazolil)-metil- és a hisztaminszerű koordináció együttes jelenléte lehetővé teszi fémelesleg esetén kétmagvú komplex, 1:1 fémion/ligandum aránynál pedig szimmetrikus vagy aszimmetrikus ligandumhidas dimerek kialakulását.

*Dipeptidszármazékoknál a ligandum aminovége elég távol van a bisz(2-imidazolil)-metil-résztől ahhoz, hogy a bisz(2-imidazolil)-metil- mellett aminosavszerű [N(amino), O(karbonil)]-koordinációjával szimmetrikus és aszimmetrikus ligandumhidas dimerek alakuljanak ki. Nagyobb pH-n az [N(amino), O(karbonil)]-koordináció helyett [N(amino), N(amid)]-koordináció mutatható ki a ligandumhidas dimerekben, azaz megkezdődik az amid-deprotonálódás.*

*A Phe-His-BIMA ligandumban a hisztamin-csoport helyett egy Gly-His (vagy Phe-His)-szerű csoport található, mely még erősebb koordinálódó csoport. Ez a ligandumrész semleges és gyengén lúgos pH-tartományban képes részt venni a komplexképzésben: Gly-His-szerű koordinációval és bisz(2-imidazolil)-metil-híddal polimer szerkezet alakul ki, mely csapadék formájában kiválik a vizes oldatból.*

Nagyobb pH-n a prolinszármazék (Ala-Pro-BIMA) kivételével minden ligandum esetében végbemegy az amidnitrogén/amidnitrogének lépcsőzetes deprotonálódása és di- vagy tripeptidszerű koordináció alakul ki a fémionok körül. Ezen koordináció kialakulása után az aminosavszármazékok esetén csak három koordinációs helye foglalt a fémionnak, ami lehetővé teszi dimer vagy polimer szerkezetek kialakulását. A hídcsoport lehet a hisztidin oldallánc (His-BMPA), illetve a nemkoordinálódó imidazolcsoport (Gly-BIMA, Phe-BIMA, His-BIMA).

Lúgos pH esetén általában vegyes hidroxokomplexek alakulnak ki, melyek megbontják a dimer szerkezeteket is. A Gly-BIMA esetén ötös koordinációval polimer szerkezet képződik, Phe-BIMA esetében az aromás gyűrűk stacking kölcsönhatása megakadályozza a polimerizációt.

Ezen szerkezetekkel szemben a réz(II)–His-BIMA és réz(II)–dipeptid-BIMA rendszerek esetén az axiális hisztidin-koordináció, illetve a stabilis négy-nitrogénes, tripeptidszerű koordináció megakadályozza a hidrolízist lúgos pH-tartományban is, így itt végbemegy a pirrol-típusú N(1)H nitrogének deprotonálódása. Ez a folyamat ~8-as pK-értékkel jellemezhető.

His-BIMA és dipeptid-BIMA származékok esetében 3:2 réz(II)/ligandum arányú komplexet is sikerült kimutatni, melyben szintén deprotonálódott a ligandumok egy-egy pirrol-típusú nitrogénje, és egy négy aromás nitrogén által koordinált réz(II)ion hídként köt össze két ligandumot. Ezen szerkezetek már fiziológiás pH-n kialakulnak.

A dipeptid-BIMA származékok esetében egy újabb többmagvú komplexet találtunk, mely négy réz(II)iont és két ligandumot tartalmaz. A peptidszerű és bisz(2-imidazolil)-metil-koordináció mellett ezt a szerkezetet egy dihidroxohíd köti össze.

## 6.2. Summary

Metal ions play important roles in the synthesis and transport of organic molecules in living organisms, and in catalyzing acid-base and redox processes in biological systems. Proteins are important binding sites for metal ions. Metalloenzymes usually contain metal ions bound to a specific amino acid residue of the polypeptide backbone, e.g. the imidazolyl group of a histidine. Metals in proteins sometimes only stabilize the ternary structures of metalloenzymes but they more often have vital roles in the catalytic process. Metals may be important to bind the substrate, stabilize the intermediates of the reaction or may take part in the catalyzed reaction.

Histidine residues have two different roles in metalloenzymes: it can coordinate the metal ion through its imidazole nitrogen or, alternatively, upon deprotonation of the pyrrole nitrogen, it may act as a bridging ligand between two metal centres.

**Copper** is ubiquitous in plants and animals, and its redox chemistry is involved in a variety of biological oxidation processes. Copper usually binds to proteins (copper proteins) in living organisms. Biologically active copper centres can be divided into three main types. *Type 1*: "blue" monomeric copper with very distorted coordination of [2·N(imidazole), S(thiol), S(thioether)] donor atoms. These metalloenzymes mainly catalyze different redox reactions (e.g. laccase and ascorbic oxidase in plants and ceruloplasmin in mammals). *Type 2*: "normal" monomeric Cu<sup>II</sup> is an essentially square planar (equatorial) environment with additional, very weak, tetragonal (axial) interactions (e.g. superoxide dismutases). *Type 3*: a pair of copper(I) ions attached to the protein through histidine residues. These enzymes take part in the transport and activation processes of O<sub>2</sub> molecules (e.g. haemocyanin in molluscs). A further class, *Type 4*, has been proposed recently, which is characterized by a unit containing three Cu(II) ions. The important enzyme Cytochrome c oxidase also contains copper ions which are significantly different.

Until the discovery of **nickel** in *jack bean urease* in 1975 (which was the first enzyme to be isolated in crystalline form 50 years before) no biological role for nickel was known. *Ureases* catalyze the hydrolysis of urea. Three other nickel containing enzymes found in bacteria. *[NiFe]-* and *[NiFeSe]-hydrogenases* catalyze the reaction  $2\text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ . *CO Dehydrogenase*, also incorporating Fe, catalyzes the oxidation of CO to CO<sub>2</sub>. *Methyl-coenzyme M reductase* contains low-spin distorted octahedral nickel(II) and participates conversion of CO<sub>2</sub> to CH<sub>4</sub>.

Nickel- and copper(II) ions are also present in the "ATCUN motif" (Amino Terminal Cu(II)-, Ni(II)-binding) models, which are the simplest models for serum albumins and have a free terminal amino group and a histidine in the third position. The most important role of albumin is to transport various small molecules and ions, including metal ions in living organisms. In addition, these peptides may be able to cleave the DNA chain at specific sites, i.e. act as artificial restriction endonucleases.

**Zinc** is one of the most important metal ions in biology, and is more often found in metalloenzymes than copper(II) and nickel(II). The enzymes which catalyze the hydrolysis of carbonic acid esters, amines, peptides or phosphates almost always contain Zn(II) in their active centers. Among the Zn enzymes which have received most attention are *carbonic anhydrase*, *carboxypeptidase*, *termolysine*, *alcohol dehydrogenase*, *superoxide dismutase* and *elastase*. A more recently confirmed function of zinc in proteins is to recognize base-sequences in DNA and regulate the transfer of genetic information during the replication of DNA. These so-called “zinc finger” proteins contain 9–10 zinc(II) ions, each of which is coordinated to 4 amino acids in a tetrahedral environment.

As previously shown, imidazole nitrogen donor atoms are among the most common metal binding sites in metalloenzymes. Polyimidazole ligands are frequently used to mimic the structure and catalytic activity of the active sites of metalloproteins. Our research objective was to study the coordination chemistry of a series of amino acid and peptide derivatives containing the chelating bis(imidazol-2-yl)methyl group with copper(II), nickel(II) and zinc(II). Our goal was to characterize the solution equilibria of these systems and determine the structures of the complexes formed. The systems containing bis(imidazol-2-yl)methyl derivatives as ligands are rather complicated because of the presence of 2–2 nitrogen donor atoms in all imidazole rings. To make the systems simpler, we also measured the coordination properties of amino acid derivatives containing bis(pyridin-2-yl)methyl group.

The amino acid and peptide derivatives was prepared in the *Research Group of Peptide Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences and Organic Chemistry Department of Eötvös University* by *Helga Süli-Vargha*, *Zsuzsanna Likó* and *Lidia Lennert*. The purity of the ligands was checked by HPLC, NMR, melting-point, and TLC measurements and the structures were proved by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy.

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. UV-Visible spectroscopy, circular dichroism (CD) spectroscopy, <sup>1</sup>H-NMR spectroscopic measurements, magnetic moment measurements, electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy, MALDI-TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption/ Ionisation, Time of Flight, Mass Spectroscopy) were used to determine the structures of the complexes.

- We characterized the acid-base properties of thirteen new bis(imidazol-2-yl)methyl and bis(pyridin-2-yl)methyl amino acid and peptide derivatives using pH-potentiometric and NMR method. Our fully protonated ligands can be deprotonated at their pyridine, imidazole, and amino groups in the measurable pH region. The highest p*K* values ( $7.2 \leq pK(\text{amino}) \leq 8.6$ ) belong to the amino group in all systems. p*K* values

of histidyl imidazoles are smaller ( $5.4 \leq pK(\text{histidyl}) \leq 6.3$ ), and the smallest values belong to the bis(imidazol-2-yl) and bis(pyridin-2-yl) groups ( $2.6 \leq pK_1(\text{imidazole}) \leq 3.2$ ;  $4.5 \leq pK_2(\text{imidazole}) \leq 5.6$ ;  $pK_1(\text{pyridine}) \leq 1.5$ ;  $2.9 \leq pK_2(\text{pyridine}) \leq 3.3$ ). In the latter cases, the presence of two protonated aromatic nitrogens is sterically and electrostatically unfavourable, which causes the low  $pK_1$  values. Moreover, the  $pK$  values can be increased or decreased by electron donating (aliphatic) or electron withdrawing (amino-, amide-, aromatic, proline-) groups, respectively.

In the case of histidyl derivatives the protonation equilibria significantly overlap, and this fact made it necessary to do NMR measurement to follow the deprotonation/protonation processes of the different groups separately. We used a new calculation method to give the protonation microconstants by NMR measurements in the case of small molecules, where all deprotonation steps have some effect on all NMR signals. In the case of these small molecules, the individual parts of the ligands are not independent of each other, in contrast with the earlier literature data for larger ligands.

- We characterized the coordination chemistry of two bis(pyridin-2-yl)methyl amino acid derivatives (Gly-BPMA and His-BPMA) with copper(II), nickel(II) and zinc(II) ion. The bis(pyridin-2-yl)methyl groups of Gly-BPMA and His-BPMA are the main metal binding sites for all three metal ions in acidic pH. The binding ability of the six-membered chelate complexes decreases in the order  $\text{Cu(II)} > \text{Ni(II)} > \text{Zn(II)}$  in agreement with the Irving-Williams series. With copper(II) ion, only 1:1 complexes are formed because of the distorted octahedral geometry of the copper(II) ion. On the other hand, the octahedral geometry of nickel(II) and zinc(II) complexes results in the formation of bis(ligand) complexes in the excess of ligand. We can also see the "histamine-like" coordination mode using nickel(II) and zinc(II) ion with the ligand His-BPMA, in the case of ligand excess. With copper(II) ion, the stable axial coordination of histidine side chain in acidic pH region is able to prevent the ligand from forming "histamine-like" coordination.

At higher pH all three metal ions can induce the deprotonation of the amide nitrogens forming a "dipeptide-like" [N(amino), N(amide), N(pyridine)] coordination around the metal center. The coordination of two ligands to nickel(II) and zinc(II) can saturate the coordination sphere of these metal ions. The non-coordinating pyridine ring of Gly-BPMA and His-BPMA cannot act as a monodentate bridging ligand to form a dimeric structure. However, the non-coordinated histidine imidazole nitrogen acts as a bridging residue giving rise to dimeric or polymeric copper(II) and nickel(II) complexes at 1:1 metal to ligand ratio. At basic pH, the formation of mixed-ligand hydroxo complexes can be monitored, which break the dimeric or polymeric structures.

- We complemented earlier literature data about Gly-BIMA by studying the nickel(II)–Gly-BIMA system, as well as the copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes of Phe-BIMA és His-BIMA. The measurements showed that the presence of a bulky phenylalanyl side chain has no considerable effect on the coordination modes. On the other hand, an imidazolyl chain significantly influences the complex formation process. In acidic solutions, the main metal binding sites of Gly-BIMA, Phe-BIMA and His-BIMA ligands are the aromatic rings, similarly to the bis(pyridin-2-yl)methyl derivatives. This coordination mode is also able to form a six-membered chelate structure. The stability of the complexes follows the Irving-Williams series. The imidazole nitrogens has a higher basicity and metal binding ability with respect to the pyridine nitrogens, so in this systems we can monitor the bis(ligand) complex formation, even with copper(II). The coordination of more than two ligands, however, cannot be proved even in these systems.

In addition, with His-BIMA the formation of "histamine-like" coordination can be seen at acidic pH. The simultaneous presence of these two coordination modes makes possible the formation of binuclear complexes at metal ion excess, and the formation of symmetric and asymmetric ligand-bridged dimeric complexes at 1:1 metal ion to ligand ratio.

The presence of the stable bis(ligand) complexes makes the formation of dipeptide-like [N(amino), N(amide), N(imidazole)] coordination more difficult at higher pH – especially at ligand excess.

We can see the formation of dimeric structures with both Gly-BIMA and His-BIMA at neutral pH. The bridging groups are the non-coordinating imidazole groups of the bis(imidazol-2-yl)methyl residues, and not the histidine imidazole.

Under mildly alkaline conditions mixed-ligand hydroxo complexes are formed with Gly-BIMA and Phe-BIMA. In the case of Gly-BIMA polynuclear complexes are formed with five-coordinated distorted copper(II). With Phe-BIMA, the stacking interaction of the aromatic rings prevents polymerization. In contrast with these structures, the dimeric complex of copper(II)–His-BIMA system formed at neutral pH contains axially coordinated histidines, which are able to prevent the hydrolysis even at basic pH and makes the deprotonation of pyrrolic type N(1)H-groups possible. This process was characterized with  $pK$  8.5.

Another important consequence of the deprotonation of N(1)H-groups is that they can be considered as additional metal binding sites in the presence of excess metal ions. A trinuclear complex is formed in the system, in which two copper(II) ions are coordinated by dipeptide-like coordination with additional axial histidine interaction, and the third copper(II) acts as bridging metal ion between the two ligands. The formation of this structure is characteristic at physiological pH 5.5.

• We characterized the coordination chemistry of four bis(imidazol-2-yl)methyl dipeptide derivatives containing non-coordinating side chains (Gly-Leu-BIMA, Leu-Gly-BIMA, Phe-Gly-BIMA and Ala-Pro-BIMA) with copper(II), nickel(II) and zinc(II) ion. The measurements showed that the presence of a non-coordinating aromatic (phenylalanyl) or aliphatic (leucyl, alanyl) side chain has absolutely no effect on the structure of the complexes formed: it only influences the stability constants somewhat. At acidic pH the coordination mode is the same bis(imidazol-2-yl)methyl coordination as in the case of amino acid derivatives. The amino end of the molecule is, however, sufficiently far from the bis(imidazol-2-yl)methyl part to be coordinated at the same time in an "amino acid-like" [N(amino), O(carbonyl)] coordination mode. These two coordination modes can form symmetric and asymmetric dimeric structures. At higher pH and 1:1 metal to ligand ratio we can see the formation of additional dimeric complexes with bis(imidazol-2-yl)methyl and [N(amino), N(amide)] coordination. The deprotonation of the amide nitrogen starts in this complexes and continues in the formation of a monomeric, "tripeptide-like" [N(amino), N(amide), N(amide), N(imidazole)]-coordinated complex at pH 8-10. This structure is the predominant complex both 1:1 ratio and ligand excess. These very stable 4N fused chelate rings cannot be broken up even by the hydrolysis, which facilitates the deprotonation of pyrrolic type N(1)H-groups of the coordinated imidazole rings at pH 11. Moreover, the pyrrole deprotonation – similarly to the copper(II)–His-BIMA system – makes the coordination of more than one metal ion per ligand possible. The measurements proved the existence of complexes with 3:2 and 4:2 metal to ligand ratios. In the 3:2 complex two of the copper(II) ions are coordinated in a 4N "tripeptide-like" coordination. The third copper(II) coordinated by four imidazole groups acts as a bridge between the two ligands. This complex – similarly to the 3:2 complex of the copper–His-BIMA system – predominates at physiological pH. At 2:1 metal to ligand ratio, deprotonation and coordination of the pyrrolic type N(1)H-groups occur at even lower pH (pH 6) and a tetranuclear mixed dihydroxo complex is formed at pH 8.

Compared to the dipeptide-BIMA derivatives containing non-coordinating amino acid units, proline in the peptide chain has larger effect on the coordination chemistry of the ligand. In contrast with the former systems, with the proline derivative we could not show the deprotonation and coordination of the amide nitrogens. At acidic pH bis(imidazol-2-yl)methyl-, at neutral pH "amino acid-like" [N(amino), O(carbonyl)] coordination does exist. Because the amide deprotonation could only be started from the bis(imidazol-2-yl)methyl part of this ligand (Ala-Pro-BIMA does not contain an amide-NH group in chelating position with the amino group) and cannot be seen this deprotonation, this is a further verification that in the former systems the amide deprotonation starts from the amino part of the ligands. Since the absence of the two

amide-NH groups prevents the formation of stable 4N "tripeptide-like" coordination, we can see precipitation caused by mixed hydroxo complex formation at higher pH.

- Histidine in the peptide sequence is an additional strong donor group for metal ions. We found that the structures of the complexes formed significantly depend on the position of histidine in the peptide chain.

Donor groups of the amino terminal histidine derivative His-Phe-BIMA are similar to those of His-BIMA, so the structures of the complexes formed with these ligands are somewhat similar. At acidic pH bis(imidazol-2-yl)methyl- and "histamine-like" coordination can be detected. The collective presence of these two coordination modes makes the formation of symmetric and asymmetric ligand-bridged dimers possible at 1:1 metal ion to ligand ratio. Dimeric structures with bis(imidazol-2-yl)methyl and "amino acid-like" ([N(amino), O(karbonil)]-) or [N(amino), N(amid)] coordination can also be detected. At basic pH, the N-terminal histidine side chain cannot stop the stepwise deprotonation and coordination of the amide nitrogens to copper(II). The structure of the complexes formed is the same as that with ligands containing non-coordinating side chain, but in these systems these complexes can be formed only at higher pH because of the existence of stable histamin-coordinated complexes. The formation pH for "tripeptide-coordinated" complexes is so high that – mainly with ligand excess – amide deprotonation and hydrolysis are overlapping, which prevents the formation of tri- and tetranuclear complexes with pyrrolic type coordination.

The ligand Phe-His-BIMA contains a "Gly-His (or Phe-His)-like" donor function, which is – as the earlier literature data in peptide coordination chemistry show – even stronger coordinating group than the histamine group. The literature data also show that "Gly-His-like" coordination is only effective at slight alkaline pH. For this reason, we can see the formation of bis(imidazol-2-yl)methyl coordinated and ligand-bridged complexes at acidic and neutral pH, respectively. At higher pH, a polymeric species with "Gly-His-like" coordination is precipitated. However, if we use a water/acetone mixture as solvent (in which OH<sup>-</sup> concentration is lower, hydrolysis is less pronounced), we can monitor the 4N "tripeptide-like" coordination. In the case of metal ion excess, 2:1 and 3:2 complexes can be formed with bis(imidazol-2-yl)methyl and "Gly-His-like" coordination. The latter one – similarly to other trinuclear complexes mentioned earlier – one of the copper(II) ions is a bridging ion, coordinated by four imidazole nitrogens. This structure is less stable than the one with other dipeptide-BIMA derivatives and His-BIMA because of the unsaturated 3N coordination of the other two copper(II) ions and it hydrolyses at alkaline pH.



The study of different oligopeptide derivatives helps understand the interactions between metal ions and proteins. The most important coordinating groups of oligopeptides are imidazole N(1) and N(3) nitrogens. The two imidazole nitrogens have also essential roles in the forming of ligand-bridged structures in the enzymes superoxide dismutases.

The results obtained for the copper(II) complexes of amino acids and peptides reveal that bis(imidazol-2-yl) analogues of these biomolecules are very effective ligands for metal binding. The nitrogen donor atoms of the chelating bis(imidazolyl) residues are the major metal binding sites under acidic conditions and they remain the exclusive metal binding sites if the terminal amino group or an effective side chain donor function are not present in the molecules. The high thermodynamic stability of the metal complexes of the bis(imidazol-2-yl)methyl ligands suggests that they could potentially be enzyme inhibitors. Moreover, specific enzyme inhibitors may be obtained by attaching the bis(imidazol-2-yl)methyl ligands to the preferred peptide sequence for the enzyme cleavage.

The terminal amino group can be considered as another anchor for metal binding with these ligands. The multidentate character of these ligands results in the formation of various polynuclear complexes including the ligand bridged and the imidazole bridged dimeric species. These complexes can be considered as interesting structural models of the various dinuclear species of transition elements.

Finally, the most intriguing feature of the coordination chemistry of these ligands that the deprotonation of the coordinated imidazole-N(1)H groups results in the appearance of a new chelating site in the molecules. It leads to the formation of stable trinuclear complexes via negatively charged imidazolato bridges and these species can be considered as promising structural and/or functional models of various metalloenzymes.

Oligopeptide derivatives are very useful ligands for gaining insight into the nature of interactions between metal ions and peptides. These small molecules serve as models of the active centres in metalloproteins, and – using the specific, very strong binding ability of these molecules to metal ions – inhibit the enzymes selectively.

## 7. Hivatkozott irodalmak jegyzéke

1. Johnson, W. H.; Roberts, N. A.; Borkakoti, N.: *J. Enzyme Inhibition*, **2**, 1 (1987).
2. Greenwood, N. N.; Earnshaw, A.: *Chemistry of the Elements*, (2<sup>nd</sup> ed.) Butterworth-Heinemann (1997).
3. Kaim, W.; Schwederski, B., *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*, Wiley, Chichester; New York, pp. 187-214 (1994).
4. Karlin, K. D., Tyeklár, Z. (eds.), *Bioinorganic Chemistry of Copper*, Chapman and Hall, New York, 506 pp. (1993).
5. Sykes, A. G.: *Adv. Inorg. Chem.*, **36**, 377-408 (1991).
6. Lippard, S. J.: *Science*, **268**, 996-997 (1995).
7. Barrios, A. M., Lippard, S. J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 9172-9177 (2000).
8. Kolodziej, A. F.: *Prog. Inorg. Chem.*, **41**, 493-597 (1994).
9. Lancaster, J. R. (ed.), *The Bioinorganic Chemistry of Nickel*, VCH, Weinheim, 337pp. (1988).
10. Sigel, H. (ed.), *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 23, *Nickel and its Role in Biology*, Dekker, New York, 488 pp. (1988).
11. Hadjiliadis, N. D. (ed.), *Cytotoxic, Mutagenic and Carcinogenic Potential of Heavy Metals Related to Human Environment*, Vol. 26, Sarkar, B.: *Design of Proteins with ATCUN motif which Specifically Cleave DNA*, NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, 477-491 pp. (1997).
12. Pavletich, N. P., Pabo, O. O.: *Science*, **261**, 1701-1707 (1993).
13. Kitajima, N.: *Adv. Inorg. Chem.*, **39**, 1-77 (1992).
14. Kim, M. K.; Martell, A. E.: *Biochemistry*, **3**, 1169 (1964).
15. Kim, M. K.; Martell, A. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 914 (1966).
16. Kiss, T.; Sóvágó, I.; Gergely, A.: *J. Pure Appl. Chem.* Vol. 63, 597 (1991).
17. Sigel, H.; Griesser, R.; Priejs, B.: *Z. Naturforsch. (B)*, **27**, 353 (1972).
18. Liler, M.: *J. Chem. Soc. (B)*, 334 (1971).
19. Martin, R. B.: *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 793-794 (1972).
20. Martin, R. B.; Hutton, W. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 4752-4754 (1973).
21. Udupa, M. R.; Krebs, B.: *Inorg. Chim. Acta*, **31**, 251 (1978).
22. Sigel, H.; Martin, R. B.: *Chem. Rev.*, **82**, 385 (1982).
23. Sóvágó, I.; Harman, B.; Gergely, A.; Radomska, B.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 235 (1986).
24. Gergely, A.; Nagypál, I.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1104 (1977).
25. Dobbie, H.; Kermack, W. O.: *Biochem. J.*, **59**, 246 (1955).
26. Brunetti, A. P.; Lim, M. C.; Nancollas, G. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 5120 (1968).
27. Farkas, E.; Kiss, T.: *Polyhedron* **8**, 2463 (1989).
28. Shtyrlin, V. G.; Gogolashvili, E. L.; Zakharov, A. V.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1293 (1989).
29. Kaneda, A.; Martell, A. E.: *J. Coord. Chem.*, **4**, 159 (1975).
30. Saato, M.; Matsuki, S.; Ikeda, M.; Nakaya, J.: *Inorg. Chim. Acta*, **125**, 49 (1986).
31. Sóvágó, I.; Sanna, D.; Dessì, A.; Várnagy, K.; Micera, G.: *J. Inorg. Biochem.*, **63**, 99-117 (1996).
32. Kim, M. K.; Martell, A. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 872 (1969).
33. Strandberg, B.; Lindqvist, I.; Rosenstein, R.: *Z. Kristallogr.* **116**, 266 (1961).
34. Freeman, H. C.; Schoene, J. C.; Sime, J. G.: *Acta Cryst.*, **18**, 381 (1965).
35. Freeman, H. C.; Taylor, M. R.: *Acta Cryst.*, **18**, 939 (1965).
36. Freeman, H. C.: Crystal structures of metal peptide complexes; In: *Advances in Protein Chemistry*, **22**, Academic Press, New York (1967).
37. Sóvágó, I.; Farkas, E.; Gergely, A.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2159 (1982).
38. Sóvágó, I.; Kiss, T.; Várnagy, K.; Decock-Le Reverend, B.: *Polyhedron*, **7**, 1089 (1988).
39. Cherifi, K.; Reverend, Decock-Le Reverend, B.; Várnagy, K.; Kiss, T.; Sóvágó, I.; Loucheux, C.; Kozłowski, H.: *J. Inorg. Biochem.*, **38**, 69 (1990).
40. Martin, R. B.; Chamberlin, M.; Edsall, J. T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 495 (1960).
41. Kim, M. K.; Martell, A. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 5138 (1967).
42. Davies, G.; Kustin, K.; Pasternack, R.F.: *Inorg. Chem.*, **8**, 1535 (1969).
43. Dorigatti, T. F.; Billo, E. J.: *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **37**, 1515 (1975).
44. Freeman, H.C.; Guss, J. M.: *Acta Cryst.*, **B34**, 2451 (1978).
45. Billo, E. J.; Margerum, D. W.: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 6811 (1970).
46. Freeman, H.C.; Guss, J. M.; Sinclair, R.L.: *Acta Cryst.*, **B34**, 2459 (1978).

47. Rabenstein, D. L.; Libich, S.: *Inorg. Chem.*, **11**, 2960 (1972).
48. Liang, G.; Tribolet, R.; Sigel, H.: *Inorg. Chim. Acta*, **115**, 273 (1989).
49. Radomska, B.; Kiss, T.: *J. Coord. Chem.*, **21**, 81 (1990).
50. Pettit, L. D.; Pyburn, S.; Decock-Le Reverend, B.; Lebkiri, A.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 235 (1989).
51. Kozłowski, H.: *Inorg. Chim. Acta*, **31**, 135 (1978).
52. Kiss, T.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1263 (1987).
53. Kozłowski, H.; Bal, W.; Dyba, M.; Kowalik-Jankowska, T.: *Coord. Chem. Rev.*, **184**, 319 (1999).
54. Martell, A. E.; Smith, R. M.: *Critical stability constants*, Vol. 5, Plenum, New York (1982).
55. Yokoyama, A.; Aiba, H.; Tanaka, H.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **47**, 112 (1974).
56. Farkas, E.; Sóvágó, I.; Kiss, T.; Gergely, A.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 611 (1984).
57. Munowitz, M.; Bachovchin, W. W.; Herzfeld, J.; Dobson, C. M.; Griffin, R. G.: *J. Am. Chem. Soc.*, **104** 1192 (1982).
58. Farkas, E.; Sóvágó, I.; Gergely, A.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1545 (1983).
59. Agarwal, R. P.; Perrin, D. D.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 268 (1975).
60. Aiba, H.; Yokoyama, A.; Takana, H.: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **47**, 136 (1974).
61. Brookes, G.; Pettit, L. D.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2112 (1975).
62. Daniele, P. G.; Zerbinati, O.; Aruga, R.; Ostacoli, G.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1115 (1988).
63. Roggers, R. K.; Martin, R. B.: *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **37**, 1097 (1975).
64. Radomska, B.; Kiss, T.; Sóvágó, I.: *J. Chem. Soc. Chem. Res. (S)*, 156 (1987).
65. Martin, R. B.; Edsall, J. T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 1107 (1960).
66. Ensuque, A.; Demaret, A.; Abello, L.; Lapluye, G.: *J. Chim. Phys.*, **79**, 185 (1982).
67. Heut, J.; Vilkas, E.: *Inorg. Chim. Acta*, **91**, 43 (1984).
68. Blount, J. F.; Fraser, K. A.; Freeman, H. C.; Szymanski, J. T.; Wang, C. H.: *Acta Crystallogr.*, **22**, 396 (1967).
69. Preut, H.; Vornefeld, M.; Hubert, F.: *Acta Crystallogr.*, **C47**, 264 (1991).
70. Lau, S. J.; Kruck, T. P. A.; Sarkar, B.: *J. Biol. Chem.*, **249**, 5878 (1974).
71. Camerman, N.; Camerman, A.; Sarkar, B.: *Can. J. Chem.*, **54**, 1309 (1976).
72. Gajda, T.; Henry, B.; Aubry, A.; Delpuech, J.: *Inorg. Chem.*, **35**, 586 (1996).
73. Hay, R. W.; Hassan, M. M.; You-Quan, C.: *J. Inorg. Biochem.*, **52**, 17 (1993).
74. He, X. M.; Carter, D. C.: *Nature*, **358**, 209-215 (1992).
75. McDonald, M. R.; Scheper, H. D.; Lee, H. D.; Margerum, D. W.: *Inorg. Chem.*, **34**, 229 (1995).
76. McDonald, M. R.; Fredericks, F. C.; Margerum, D. W.: *Inorg. Chem.*, **36**, 3119-3124 (1997).
77. Margerum, D. W.; Scheper, W. M.; McDonald, M. R.; Fredericks, F. C.; Wang, L.; Lee, H. D.: In *Bioinorganic Chemistry of Copper*, Karlin, K. D.; Tyeklar, Z., Eds.; Chapman & Hall: New York, pp 213-221 (1993).
78. Várnagy, K.; Szabó, J.; Sóvágó, I.; Malandrinos, G.; Hadjiliadis, N.; Sanna, D.; Micera, G.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 467-472 (2000).
79. Bryce, G. F.; Roeske, R. W.; Gurd, F. R. N.: *J. Biol. Chem.*, **240**, 3837 (1965).
80. Bryce, G. F.; Roeske, R. W.; Gurd, F. R. N.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 1072 (1966).
81. Sanna, D.; Ágoston, Cs. G.; Sóvágó, I.; Micera, G.: *Polyhedron*, **20**, 937-947 (2001).
82. Casolaro, M.; Chelli, M.; Ginanneschi, M.; Laschi, F.; Messori, L.; Muniz-Miranda, M.; Papini, A. M.; Kowalik-Jankowska, T.; Kozłowski, H.: *J. Inorg. Biochem.*, **89** 181-190 (2002).
83. Bonomo, R. P.; Impellizzeri, G.; Pappalardo, G.; Purrello, R.; Rizzarelli, E.; Tabbi, G.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 3851-3857 (1998).
84. Morris, P. J.; Martin, R. B.: *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **33**, 2913 (1971).
85. Sundberg, R. J.; Martin, R. B.: *Chem. Rev.*, **74**, 471 (1974).
86. Sóvágó, I.; Kiss, T.; Gergely, A.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 964 (1978).
87. Morris, P. J.; Martin, R. B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 1543 (1970).
88. Aiba, H.; Yokoyama, A.; Tanaka, H.: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **47**, 1003 (1974).
89. Livera, C. E.; Pettit, L. D.; Bataille, M.; Perly, B.; Kozłowski, H.; Radomska, B.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 661 (1987).
90. Bogges, R. K.; Martin, R. B.: *Inorg. Chem.*, **13**, 1525 (1974).
91. Wienken, M.; Lippert, B.; Zangrando, E.; Randaccio, L.: *Inorg. Chem.*, **31**, 1983-1985 (1992).
92. Tsiveriotis, P.; Hadjiliadis, N.: *Coord. Chem. Rev.*, **190-192**, 171-184 (1999).
93. Appleton, T. G.; Pesch, F. J.; Wienken, M.; Menzer, S.; Lippert, B.: *Inorg. Chem.*, **31**, 4410 (1992).
94. Wienken, M.; Zangrando, E.; Randaccio, L.; Menzer, S.; Lippert, B.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 3349 (1993).

95. Best, S. L.; Chattopadhyay, T. K.; Djuran, M. I.; Palmer, R. A.; Sadler, P. J.; Sóvágó, I.; Várnagy, K.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2587 (1997).
96. Eilbeck, W. J.; West, M. S.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 274 (1976).
97. Sundberg, R. J.; Bryan, R. F.; Taylor, I. F.; Taube, H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 381 (1974).
98. Sundberg, R. J.; Gupta, G.: *Bioinorg. Chem.*, **3**, 39 (1973).
99. Evans, C. A.; Rabenstein, D. L.; Geier, G.; Ermi, I. W.: *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 8106 (1977).
100. Várnagy, K.; Sóvágó, I.; Ágoston, K.; Likó, Zs.; Süli-Vargha, H.; Sanna, D.; Micera, G.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2939 (1994).
101. Bühler, H.; Anderegg, G.: *Chimia*, **24**, 433 (1970).
102. Várnagy, K.; Sóvágó, I.: *Molecular Modeling and Dynamics of Bioinorganic Systems*, (eds.: Banci, L.; Comba, B.) 441 (1997). NATO ASI Series, Dordrecht/Boston/London
103. Likó, Zs.; Süli-Vargha, H.: *Tetrahedron Lett.*, **34**, 1673 (1993).
104. a.: Drey, D. N. C.; Fruton, J. S.: *Biochemistry.*, **4**, 1 (1965). b.: Lennert L.; Ósz K.: *TDK dolgozat* (1998).
105. Irving, H. M.; Miles, M. C.; Pettit, L. D.: *Anal. Chim. Acta*, **38**, 475 (1967).
106. Drey, D. N. C.; Fruton, J. S.: *Biochemistry.*, **4**, 1258 (1965).
107. Tang, C. C.; Davalian, D.; Huang, P.; Breslow, R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3918 (1978).
108. Mohan, M. S.: *Ind. J. Chem., Sect. A*, **20**, 252 (1981).
109. Sóvágó, I.; Várnagy, K.; Ósz, K.: *Comments on Inorg. Chem.*, **23(2)**, 149-178 (2002).
110. Sancho, A.; Gimeno, B.; Amigó, J. M.; Ochando, L. E.; Debaerdemaeker, T.; Folgado, J. V.; Soto, L.: *Inorg. Chim. Acta*, **248**, 153-158 (1996).
111. Sóvágó, I.: *Metal Complexes of Peptides and their Derivatives*, (ed.: Burger, K.) *Coordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems* 135-184 (1990). Ellis Horwood, New York
112. Akhriff, Y.; Server-Carrio, J.; Sancho, A.; García-Lozano, J.; Escrivá, E.; Folgado, J. V.; Soto, L.: *Inorg. Chem.*, **38**, 1174-1185 (1999).
113. Várnagy, K.; Sóvágó, I.; Goll, W.; Süli-Vargha, H.; Micera, G.; Sanna, D.: *Inorg. Chim. Acta*, **283**, 233-242 (1998).
114. Bhalla, R.; Helliwell, M.; Garner, C. D.: *Inorg. Chem.*, **36**, 2944-2949 (1997).
115. Irving, H. M. N. H.; Williams, R. J. P.: *J. Chem. Soc.*, 3192-3210 (1953).
116. Spodine, E.; Manzur, J.; Garland, M. T.; Fackler, J. P.; Staples, R. J. Jr., Trzcinska-Bancroft, B.: *Inorg. Chim. Acta*, **203**, 73 (1993).
117. Bernhardt, P. V.; Comba, P.; Mahu-Rickenbach, A.; Stebler, S.; Steiner, S.; Várnagy, K.; Zehnder, M.: *Inorg. Chem.*, **31**, 4194-4200 (1992).
118. Kapinos, L. E.; Song, B.; Sigel, H.: *Inorg. Chim. Acta*, **280**, 50-56 (1998).
119. Sigel, H.; Saha, A.; Saha, N.; Carloni, P.; Kapinos, L. E.; Griesser, R.: *J. Inorg. Biochem.*, **78**, 129-137 (2000).
120. Campbell, C. J.; Driessen, W. L.; Reedijk, J.; Smeets, W.; Spek, A. L.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2703-2706 (1998).
121. Mallik, S.; Johnson, R. D.; Arnold, F. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 2518-2520 (1993).
122. Higgs, T. C.; Helliwell, M.; Garner, C. D.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2101-2110 (1996).
123. Bonomo, R. P.; Di Blasio, B.; Maccarrone, G.; Padone, C.; Rizzarelli, E.; Saviano, M.; Vecchio, G.: *Inorg. Chem.*, **35**, 4497-4504 (1996).
124. Koolhaas, G. J. A. A.; van Berkel, P. M.; van der Slot, S. C.; Mendoza-Diaz, G.; Driessen, W. L.; Reedijk, J.; Kooijman, Veldman, N.; Spek, A. L.: *Inorg. Chem.*, **35**, 3525-3532 (1996).
125. Török, I.; Surdy, P.; Rockenbauer, A.; Korecz, L. Jr.; Koolhaas, G.J.A.A.; Gajda, T.: *J. Inorg. Biochem.*, **71**, 7-14 (1998).
126. Koolhaas, G. J. A. A.; Driessen, W. L.; Reedijk, J.; van der Plas, J. L.; de Graaff, R. A. G.; Gatteschi, D.; Kooijman, H.; Spek, A. L.: *Inorg. Chem.*, **35**, 1509-1517 (1996).
127. Obias, H. V.; Lin, Y.; Murthy, N. N.; Pidcock, E.; Solomon, E. I.; Ralle, M.; Blackburn, N. J.; Neuhold, Y. M.; Zuberbühler, A. D.; Karlin, K. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 12960-12961 (1998).
128. Sorrell, T. N.; Garrity, M. L.; Richards, J. L.; White, P. S.: *Inorg. Chim. Acta*, **218**, 103-108 (1994).
129. Santagostini, L.; Gullotti, M.; Monzani, E.; Casella, L.; Dillinger, R.; Tuczec, F.: *Chem. Eur. J.*, **6**, 519-522 (2000).
130. Wei, N.; Murthy, N. N.; Tyeklár, Z.; Karlin, K.: *Inorg. Chem.*, **33**, 1177-1183 (1994).
131. Jitsukawa, K.; Harata, M.; Arii, H.; Sakurai, H.; Masuda, H.: *Inorg. Chim. Acta*, **324**, 108-116 (2001).

132. Ohtsu, H.; Shimazaki, Y.; Odani, A.; Yamauchi, O.; Mori, W.; Itoh, S.; Fukuzumi, S.: *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 5733-5741 (2000).
133. Tabbi, G.; Driessen, W. L.; Reedijk, J.; Bonomo, R. P.; Veldman, N.; Spek, A. L.: *Inorg. Chem.*, **36**, 1168-1175 (1997).
134. Mimura, M.; Matsuo, T.; Nakashima, T.; Matsumoto, N.: *Inorg. Chem.*, **37**, 3553-3560 (1998).
135. Matsumoto, N.; Motoda, Y.; Matsuo, T.; Nakashima, T.; Re, N.; Dahan, F.; Tuchagues, J. P.: *Inorg. Chem.*, **38**, 1165-1173 (1999).
136. Miyasaka, H.; Okamura, S.; Nakashima, T.; Matsumoto, N.: *Inorg. Chem.*, **36**, 4329-4335 (1997).
137. Dominguez-Vera, J. M.; Camara, F.; Moreno, J. M.; Colacio, E.; Stoeckli-Evans, H.: *Inorg. Chem.*, **37**, 3046-3050 (1998).
138. Long, L. S.; Chen, X. M.; Ji, L. N.: *Inorg. Chem. Commun.*, **2**, 181-183 (1999).
139. McKee, V.; Zvagulis, M.; Dagdigan, J. V.; Patch, M. G.; Reed, C. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 4765-4772 (1984).
140. Gajda, T.; Krämer, R.; Jancsó, A.: *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1635-1644 (2000).
141. Rowland, J. M.; Thornton, M. L.; Olmstead, M. M.; Mascharak, P. K.: *Inorg. Chem.*, **40**, 1069-1073 (2001).
142. Lynch, W. E.; Kurtz, D. M. Jr.; Wang, S.; Scott, R. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 11030-11038 (1994).
143. Sorrell, T. N.; Allen, W. E.; White, P. S.: *Inorg. Chem.*, **34**, 952-960 (1995).
144. Kimblin, C.; Murphy, V. J.; Hascall, T.; Bridgewater, B. M.; Bonanno, J. B.; Parkin, G.: *Inorg. Chem.*, **39**, 967-974 (2000).
145. Brown K. (2000): A radical proposal. *Scientific American Presents* 11. (2) 39-43.
146. Tainer, J. A.; Getzoff, D. E.; Richardson, J. S.; Richardson, D. C.: *Nature*, **306**, 284 (1983).
147. Wang, D.; Zhao, X.; Vargak, M.; Spiro, T. G.: *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2193-2199 (2000).
148. Myari, A.; Malandrinos, G.; Deligiannakis, Y.; Plakatouras, J. C.; Hadjiliadis, N.; Nagy, Z.; Sóvágó, I.: *J. Inorg. Biochem.*, **85** 253-261 (2001).
149. Patel, R. N.; Kumar, S.; Pandeya, K. B.: *Spectrochim. Acta, Part A*, **56**, 2791-2797 (2000).
150. Drew, M. G. B.; Cairns, C.; Lavery, A.; Nelson, S. M.: *J. Chem. Soc.: Chem. Commun.*, 1122 (1980).
151. Coughlin, P. K.; Martin, A. E.; Dewan, J. C.; Watanabe, E. I.; Bulkowski, J.E.; Lehn, J. M.; Lippard, S. J.: *Inorg. Chem.*, **23**, 1004 (1984).
152. Coughlin, P. K.; Lippard, S. J.: *Inorg. Chem.*, **23**, 1446 (1984).
153. Salata, C. A.; Youinou, M. T.; Burrows, C. J.; *Acc. Chem. Res.*, **15**, 318 (1982).
154. Pierre, J. L.; Chautemps, P.; Refaif, S.; Beguin, C.; Marzuoki, A. E.; Serratrice, G.; Saint-Aman, E.; Rey, P.: *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 1965 (1995).
155. Zhu, H. L.; Zheng, L. M.; Fu, D. G.; Huang, X. Y.; Wu, M. F.; Tang, W. X.: *J. Inorg. Biochem.*, **70**, 211-218 (1998).
156. Facchin, G.; Torre, M. H.; Kremer, E.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Baran, E. J.: *J. Inorg. Biochem.*, **89** 174-180 (2002).
157. Liu, C. M.; Xiong, R. G.; You, X. Z.; Liu, Y. J.: *Polyhedron*, **15**, 4565 (1996).
158. Lu, Q.; Shen, C. Y.; Luo, Q. H.: *Polyhedron*, **12**, 2005 (1993).
159. Müller, J.; Felix, K.; Maichle, C.; Lengfelder, E.; Strahle, J.; Weser, U.: *Inorg. Chim. Acta*, **233**, 11 (1995).
160. Müller, J.; Schübl, D.; Maichle-Mössmer, C.; Strahle, J.; Weser, U.: *J. Inorg. Biochem.*, **75**, 63-69 (1999).
161. Durackova, Z.; Mendiola, M. A.; Sevilla, M. T.; Valent, A.: *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **48** 109-116 (1999).
162. Feng, C. J.; Luo, Q. H.; Wang, Z. L.; Shen, M. C.; Wang, H. W.; Zhao, M. H.: *J. Inorg. Biochem.*, **75**, 1-6 (1999).
163. Chowdhury, S. K.; Doleman, M.; Johnston, D.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **6**, 478-487 (1995).
164. Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1195 (1985).
165. Zékány, L.; Nagypál, I.: *Computation Methods for the Determination of Formation Constants*, **8**, (ed.: Leggett, D. J.) 291 (1985). Plenum Press, New York
166. Eriksson, G.: *Anal. Chim. Acta*, **112**, 375-383 (1979).
167. Kozłowski, H.; Micera, G.: *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids*, **1**, (ed.: Berthon, G.) 566 (1995). Marcel Dekker Inc., New York
168. Pettit, L. D.; Gregor, J. E.; Kozłowski, H.: *Perspectives on Bioinorganic Chemistry*, **1**, (eds.: Hay, R. W.; Dilworth, J. R.; Nolan, K. B.) (1991). JAI Press, London

169. Billo, E. J.: *Inorg. Nucl. Chem. Lett*, **10**, 613 (1974).
170. Prenesti, E.; Daniele, P. G.; Prencipe, M.; Ostacoli, G.: *Polyhedron*, **18**, 3233 (1999).
171. Cantor, C. R.; Schimmel, P.R., *Biophysical Chemistry*, Vol. 2, Chapter 8 (1980).
172. Martin, R. B.: *Optical Properties of Transition Metal Ion Complexes of Amino Acids and Peptides*, in Sigel, H. (ed.) *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 1, Chapter 4, Marcel Dekker, Inc., New York, 129-156pp. (1974).
173. Martin, R.B.; Tsangaris, J.M.; Chang, J.W.: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 821 (1968).
174. Chang, J.W.; Martin, R.B.: *J. Phys. Chem.*, **73**, 4277 (1969).
175. Tsangaris, J.M.; Chang, J.W.; Martin, R.B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 726 (1969).
176. Tsangaris, J.M.; Martin, R.B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 4255 (1970).
177. Wilson Jr., E.W.; Martin, R.B.: *Inorg. Chem.*, **9**, 528 (1970).
178. Ósz, K.; Bóka, B.; Várnagy, K.; Sóvágó, I.; Kurtán, T.; Antus, S.: *Polyhedron*, **21**, 2149-2159 (2002).
179. Noszál, B. in: *Biocoordination Chemistry: Coordination Equilibria in Biologically Active Systems*, (Burger, K. (Ed.)) Ellis Horwood, Chichester, New York, 1990. pp. 18-55.
180. Evans, D. F.: *J. Chem. Soc.*, 2003 (1959).
181. Ebsworth, E. A. V.; Rankin, D. W. H.; Craddock, S.: *Structural Methods in Inorganic Chemistry*, 2<sup>nd</sup> Edition, Chapter 2, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1991).
182. Szabó-Plánka, T.; Nagy, N.; Rockenbauer, A.; Korecz, L.: *Polyhedron*, **19**, 2049 (2000).
183. Brunci, S.; Cariati, F.; Daniele, P. G.; Prenesti, E.: *Spectrochim. Acta*, **56A**, 815 (2000).
184. Sigwart, C.; Hemmerich, P.; Spence, J. T.: *Inorg. Chem.*, **7**, 2545 (1968).
185. Belford, R. L.; Chasteen, N. D.; So, H.; Tapscott, R. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 4675 (1969).
186. Miller, J. M.; Wilson, G. L.: *Some Applications of Mass Spectroscopy in Inorganic and Organometallic Chemistry*; In: *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, Academic Press Inc., London, 1976., Vol. 18., Eds.: Emeléns, H. J.; Sharpe, A. G.
187. Harvey, D. J.: *Mass Spectrometry Reviews*, **18**, 349-451 (1999).
188. Harvey, D. J.: *Proteomics*, **1**, 311-328 (2001).
189. Masselon, D.; Salih, B.; Zenobi, R.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **10** 19-26 (1999).
190. Kiss, T.; Kozłowski, H.; Micera, G.; Erre, L. S.: *Polyhedron*, **8**, 647-651 (1989).
191. Bourcier, S.; Bouchonnet, S.; Hoppilliard, Y.: *Int. J. Mass Spectrom.*, **210/211** 59-69 (2001).
192. Land, C. M.; Kinsel, G. R.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **12**, 726-731 (2001).
193. Lubal, P.; Kyvala, M.; Hermann, P.; Holubová, J.; Rohocev, J.; Havel, J.; Lukes, I.: *Polyhedron*, **20**, 47-55 (2001).
194. Scrivens, J. H.; Jackson, A. T.; Yates, H. T.; Green, M. R.; Critchey, G.; Brown, J.; Bateman, R. H.; Bowers, M. T.; Gidden, J.: *Int. J. Mass Spectrom.*, **165/166** 363-375 (1997).
195. Wong, C. K. L.; Chan, T. W. D.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 513-519 (1997).
196. Rashidezadeh, H.; Guo, B.: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **9** 724-730 (1998).
197. Shields, S. J.; Bluhm, B. K.; Russell, D. H.: *Int. J. Mass Spectrom.*, **182/183** 185-195 (1999).
198. Greiner, G.; Seyfarth, L.; Poppitz, W.; Witter, R.; Sternberg, U.; Reissmann, S.: *Letters in Peptide Science*, **7**, 133-141 (2000).
199. Lavanant, H.; Hecquet, E.; Hoppilliard, Y.: *Int. J. Mass Spectrom.*, **185/186/187**, 11-23 (1999).
200. Joseph, M.; Leigh, T.; Swain, M. L.: *Synthesis*, 459 (1977).
201. Woessner, I. F. Jr.: *The FASEB Journal*, **5**, 2145 (1991).
202. Niemers, E.; Hiltmann, R.: *Synthesis*, 593 (1976).
203. Nguyen, D.; Seyer, R.; Heitz, A.; Castro, B.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1025 (1985).
204. Arena, G.; Maccarrone, G.; Rizzarelli, E.; Sciuto, S.; Bindoni, M.; Cardile, V.; Riello, M. C.: *J. Inorg. Biochem.*, **50**, 31 (1993).
205. Hancock, R.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 416 (1980).
206. Gonzales, A. G.; Rosales, D., Gómez-Ariza J. Fernández Sanz, J. L. : *Anal. Chim. Acta*, **228**, 301 (1990).
207. Covington, A. K.; Paabo, M.; Robinson, R. A.; Bates, R. G.: *Anal. Chem.*, **40**, 700 (1968).
208. Sóvágó, I.; Gergely, A.: *Inorg. Chim. Acta*, **20**, 27 (1976).
209. Sóvágó, I.; Gergely, A.: *Inorg. Chim. Acta*, **37**, 233 (1979).
210. Kittl, W.; Rode, B.: *Inorg. Chim. Acta*, **55**, 21 (1981).
211. Kozłowski, H.: *Polyhedron*, **10**, 2331 (1991).
212. Kiss, T.; Szűcs, Z.: *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2443 (1986).
213. Carlin, R. L.; Block, R.: *Proceedings - Indian Academy of Sciences, Chemical Sciences*, **98 (1-2)**, 79-97 (1987).