

Bioligandum - réz(II) egyensúlyi rendszerek ESR-spektroszkópai
vizsgálata vizes oldatban kétdimenziós értékelő módszerrel:
mikroeloszlás és koordinációs módok

Doktori értekezés

Nagy Nóra Veronika

Témavezető:

Plánkáné Dr. Szabó Terézia egyetemi docens



Szegedi Tudományegyetem

Fizikai Kémiai Tanszék

Szeged

2003

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés.....	
1	
1.1. A vizsgált rendszerek biológiai szerepe.....	
1	
1.2. A lehetséges vizsgáló módszerek áttekintése.....	
3	
1.3.	
Célkitűzés.....	6
2. Az alkalmazott módszerek elméleti alapjai.....	
7	
2.1. A komplex egyensúlyi rendszerek leírása.....	
7	
2.2. Mátrix rang analízis	
8	
2.3. Réz(II)-komplexek ESR-spektrumainak elméleti leírása.....	10
2.3.1. A réz(II)-komplexek szimmetriája, a d-szintek felhasadása és a kölcsonhatási tenzorok.....	12
2.3.2. Mágneses magok hatása.....	
13	
2.3.3. A színek változása a kísérleti körülményekkel.....	14
2.3.4. D _{4h} szimmetriájú réz(II)-komplexek ESR-paraméterei.....	16
2.3.5. A koordinációs módok hatása az izotróp ESR-paraméterekre.....	17
2.4. A kétdimenziós értékelő eljárás.....	19
2.4.1. Valamely egyensúlyi rendszer leírásához szükséges spektrumok száma.....	19
2.4.2. Az értékelés statisztikai leírása.....	20
3. Kísérleti rész.....	
23	
3.1. Felhasznált vegyszerek és ligandumok.....	23
3.2. Az ESR-spektrumok felvétele és numerikus előkészítése az értékeléshez.....	25
3.3.	
	Mátrix
	rang
analízis.....	26

4. Kísérleti eredmények és értékelésük.....	27
4.1. Réz(II) - oligoglicin rendszerek.....	27
4.1.1. Irodalmi áttekintés.....	27
4.1.2. Az egyensúlyi modell felépítése és igazolása.....	28
4.1.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok a monokomplexekben.....	34
4.1.4. ESR-paraméterek és koordinációs módok a biszkomplexekben.....	38
4.2. Réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszer.....	42
4.2.1. Irodalmi áttekintés.....	42
4.2.2. Egyensúlyi modell.....	43
4.2.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok.....	47
4.2.3.1. Monokomplexek és oligomerek.....	49
4.2.3.2. Biszkomplexek.....	51
4.3. Réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszer.....	54
4.3.1. Irodalmi áttekintés.....	54
4.3.2. Egyensúlyi modell	55
4.3.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok.....	61
4.3.3.1. Koordinációs módok a mono- és dimer komplexekben.....	64
4.3.3.2. Koordinációs módok a biszkomplexekben.....	67
4.4. Réz(II) - N-szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav rendszerek.....	71
4.4.1. Irodalmi áttekintés.....	71
4.4.2. Egyensúlyi modellek.....	71
4.4.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok.....	78
4.4.3.1. A réz(II) - L1 rendszer.....	80
4.4.3.2. A réz(II) - L2, réz(II) - L3 és réz(II) - L4 rendszerek.....	82

4.4.3.3. A réz(II) - L5 rendszer.....	
84	
5A. Összefoglalás.....	
87	
5B. Summary.....	
	91
6. Irodalomjegyzék.....	
96	
7. Függelék.....	
101	

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik segítettek a kutatásban, és abban, hogy ez a dolgozat elkészüljön. Köszönöm Prof. Dr. Visy Csaba tanszékvezető Úrnak, hogy lehetővé tette munkámat a Tanszéken.

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Plánkáné Dr. Szabó Teréziának, aki bevezetett az ESR-spektroszkópia rejtelmeibe, és nagy türelemmel és kitartással irányította és segítette munkámat.

Köszönöm Prof. Dr. Rockenbauer Antalnak, hogy a számítógépes programmal kapcsolatos kérdéseimet, kéréseimet nagy türelemmel fogadta, és segített a számítások részletesebb megismerésében. Dr. Korecz Lászlónak köszönöm az ESR-spektrumok felvételében nyújtott segítségét.

Szeretném megköszönni Prof. Dr. Nagypál Istvánnak, hogy a kutatási témát és engem is mindvégig támogatott, valamint segített az egyensúlyok mélyebb megismerésében. Dr. Peintler Gábornak köszönöm, hogy megtanított a mátrix rang analízis módszerére, és bármilyen számítógépes problémám akadt, mindig segített megoldani.

Köszönetet mondok Prof. Dr. Brücher Ernőnek, Dr. Király Róbertnek és Tircsó Gyulának a szekunder foszfinsav ligandumokért, és az eredményes közös munkáért. Tircsó Gyulának külön köszönöm, hogy a munka során felmerülő kéréseimet mindig készséggel és gyorsan teljesítette.

Köszönöm Árkosi Zsuzsannának a barátságát, és a szakmai segítséget, mindkettővel nagymértékben hozzájárult ahhoz, hogy ez a dolgozat elkészüljön. Végül, de nem utolsó sorban nagyon köszönöm szüleimnek, Dr. Nagy Ferencnek és Dr. Nagy Ferencnének és testvéreimnek Nelinek és Ferinek, hogy támogattak, és biztosították a nyugodt, de soha nem unalmas családi háttérrel.

1. Bevezetés és célkitűzés

1.1. A vizsgált rendszerek biológiai szerepe

A réz az élő szervezetek számára nélkülözhetetlen elem, mivel számos biológiai folyamatban vesz részt. Leggyakrabban bioredoxi folyamatok katalizátoraként szerepel. A szervezetben fehérjékhez kötődve fordul elő [1-3], a körülötte kialakuló sztereokémia jelentősen befolyásolja a fémion redoxipotenciálját. A plasztocianin a zöld növényi levelek kloroplasztjaiban szerepel elektronátadóként [4]. Baktériumok, algák és más növények fotoszintézisében hasonló szerepet tölt be az azurin, sztellacianin és umecianin [5]. Fontos növényi enzim a "kék" oxidázok csoportjába tartozó lakkáz és aszkorbát-oxidáz [5]. Egyes állati szervezetekben (puhatestűek) réz-fehérje komplex, a hemocianin végzi az oxigén szállítását. Az emberi szervezetben is számos réztartalmú enzim van, amelyek közül alapvetően fontos a citokróm-c-oxidáz mint elektronátadó a mitokondriumokban. A szuperoxid-dizmutáz diszproporcionálja a szuperoxidot, amelynek felhalmozódása jelentős szerepet játszik az ízületi gyulladás, az epilepsziás roham és a rák kialakulásában [6-9]. A tirozináz a pigmentképződés folyamatában vesz részt. Az amin-oxidázok azon primer aminok eltávolításához nélkülözhetetlenek, amelyekre már nincs szükség a hormonműködésben. A lizil-oxidáz a kötőszövetek létrehozásában és gyógyításában játszik szerepet. Továbbá a réz a prosztaglandin szintézis és a hisztaminműködés szabályozásában is részt vesz [10]. A réz többnyire az illető metalloenzim aktív centrumában van, vagy ha nem, akkor is döntő hatással van az aktív centrumra. A hisztidin oldallánc számos metalloenzim aktív centrumában szerepet játszik a fémion megkötésében. Általában 2-4 hisztidin oldallánc imidazolnitrogénje koordinálódik a fémionhoz. Ritkábban hídligandumként is szerepelhet, ha a pirrolnitrogén deprotonálódása folytán két fémion megkötésére is alkalmassá válik, pl. a Cu-Zn-szuperoxid-dizmutázok esetében.

Ismeretes, hogy normál étrend mellett a szervezetbe naponta körülbelül 2 mg réz jut be, és ez a vizelettel vagy más formában (haj, köröm, stb.) választódik ki. Amennyiben a táplálkozás nem fedezi a szervezetből távozó mennyiséget, súlyos rézhiány léphet fel, amely az agyi degenerációval járó Menkes betegséghez vezet [11]. Genetikai eredetű anyagcserezavar folytán az agyban és a májban felhalmozódó fölös mennyiségű réz idegrendszeri tüneteket és májcirózist okoz (Wilson-kór) [11].

Sokoldalú biológiai szerepe miatt a réz bioszervetlen kémiája már régóta a kutatók érdeklődésének középpontjában áll. A rézvegyületek biológiai szerepének tisztázásához egyrészt a réz kötési helyek feltárása szükséges, másrészt a biológiai funkciót befolyásoló stabilitási, elektronszerkezeti és geometriai sajátságokra és az ezeket kialakító szerkezeti tényezőkre kell fényt deríteni. E célból gyakran kisebb molekulákat választanak modellként, ilyenek lehetnek a fehérjekomplexek esetében a kisebb-nagyobb tagszámú peptidek komplexei.

Ezzel összhangban tanulmányoztam doktori munkám keretében néhány oligoglicin és hisztidin tartalmú dipeptid vizes oldatban képződő réz(II)-komplexeit. Ezekről a rendszerekről számos irodalmi adat állt már rendelkezésre; munkám célja egyfelől az egyensúlyi viszonyokról és az egyes molekulafajták szerkezetéről kialakult kép további finomítása volt. Mivel egy egészen új, fejlesztés alatt lévő ESR-spektroszkópiai értékelő eljárást alkalmaztam, e módszer tesztelése szempontjából is kíváncsi voltam, hogy először olyan rendszereknél használjuk, amelyek többé-kevésbé ismertek. Az sem elhanyagolható szempont, hogy a fentebbi és ezekkel rokon ligandumok nemcsak modellként szolgálhatnak, hanem maguk is biológiai hatásúak. A triglicin és a tetraglicin réz(II)-komplexei szuperoxid-diszmutáz aktivitást mutatnak [12]. Egy másik tripeptid, a glicil-L-hisztidil-L-lizin rézkomplexe a plazmában előforduló ún. növekedési faktor, amely magánál a ligandumnál is erőteljesebben gyorsítja a sejtnövekedést, és fokozza a réz bejutását a sejtekbe [13].

Ugyancsak biológiai jelentősége miatt választottam vizsgálataim tárgyául néhány szekunder foszfinsav - réz(II) egyensúlyi rendszert (a bisz(aminometil)foszfinsav és nitrogénen szubsztituált származékainak komplexeit). Számos olyan aminofoszfínát ligandumot vizsgáltak már jelentős biológiai hatása miatt, amelyekben a foszfínátcsoport terminális pozícióban volt. Az elmúlt években felfedezett GABA_B antagonistáknak hatású vegyületek között is kiemelkedő szerepet játszanak a foszfinsavak [14, 15]. A foszfínát- és a karboxilátcsoport hasonló koordinációs sajátságú, habár az aminofoszfínátok komplexek stabilitása kisebb, mint a megfelelő aminokarboxilátok komplexeké [16], mivel a foszfínátcsoport jóval erősebben savas karakterű, mint a karboxilcsoport. Amikor a foszfínát rész egy peptidkötést helyettesít, az ilyen típusú molekula jó modellje néhány hidrolitikus enzim átmeneti állapotban lévő szubsztrátjának [17, 18, 19, 20]. Az olyan láncközi foszfínátcsoportot tartalmazó ligandumok pedig, amelyek oldalláncukban több erős donorcsoportot tartalmaznak, a biológiai aktivitásukat erős koordinációs képességüknek köszönhetik: számos baktérium valamely enzimjének működését gátolják [17, 18, 19, 20], a szimmetrikus foszfinsavaknál erős HIV

proteáz gátló tulajdonságot találtak [21]; a bisz(L-prolino-N-metil)foszfinsav és a bisz(iminodikarboximetil-N-metil)foszfinsav (amelyeket jelen munkában is vizsgáltunk) növényi növekedést szabályozó hatást mutattak [22, 23, 24, 25].

1. 2. A lehetséges vizsgáló módszerek áttekintése

Komplex egyensúlyi rendszerek vizsgálatára a legelterjedtebb módszer a pH-potenciometria, amelyet legtöbbször ultraibolya-látható spektroszkópiái (UV-VIS) [26, 27, 28, 29] és kalorimetriás [27, 30, 31] mérésekkel egészítenek ki, továbbá alkalmazható még az infravörös (IR) [32, 33, 34, 35, 36], a Raman [32, 33, 34, 35, 36], a cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia [37], különféle röntgen-módszerek [38, 39, 40], a magmágneses rezonancia (NMR) spektroszkópia [41, 42], valamint paramágneses fémionok esetén az elektronspinrezonancia- (ESR-) [43, 44, 45, 46, 47] spektroszkópia. A pH-potenciometria minden spektroszkópiái módszer alkalmazásához szükséges, mivel általa meghatározható a képződő komplexek összetétele és képződési állandói, utóbbiakból pedig a komplexek koncentrációeloszlása különböző körülmények között. Ennek ismeretében kiválaszthatók azok a fém- és ligandumkoncentrációk, valamint pH-k, ahol domináns komplexek vannak jelen, és az ilyen körülmények között felvett spektrumokból következtethetünk a megfelelő komplex szerkezetére. A látható abszorpciós színekész hullámhossza és annak (a koncentrációviszonyok változásakor bekövetkező) eltolódása a ligandumtér erősséget és annak változásait követi, amiből következtethetünk a koordinálódó donorcsoportok minőségére és annak változásaira. Az IR és Raman spektrumokból nyerhető fém-ligandum vegyértékrezgési frekvenciákból a geometriára és annak torzulásaira vonhatunk le következtetéseket. A CD spektroszkópiával optikailag aktív molekulák vizsgálhatók, így például a királis fémkomplexek is. (A kiralitás származhat abból, hogy a donoratomok vagy a kötések kétféleképpen (tükörszimmetrikusan) rendeződhetnek el, vagy abból, hogy a központi fémion környezetében optikailag aktív atom található.) A CD spektrumokból a geometriára és a koordinálódó donoratomok elrendeződésére következtethetünk, főleg empirikus szabályokra támaszkodva.

Kalorimetriás módszerrel az egyensúlyi rendszerben képződő komplexek termodinamikai adatait határozhatjuk meg. Adott fémkoncentrációnál a ligandummal történő titrálással az egyes pontokban mért reakcióhőkből a képződő komplexek összetétele és

képződéshője meghatározható. Ha a képződési állandó független mérésekből már ismert, akkor az entrópiaváltozás is kiszámítható.

A röntgen-módszerek közül a szilárd egykristály röntgendiffrakciós vizsgálatával szerezhethetjük a legpontosabb információt a komplex szerkezetéről (donoratomok elrendeződése, kötéshosszak, kötésszögek), azonban ilyen egykristály előállítása nem minden molekulafajtából lehetséges (pl. kisebb mennyiségben képződő komplexek esetén). Probléma lehet, hogy a kristályszerkezet nem egyezik meg minden esetben az oldatbeli szerkezettel; jól donáló oldószerekben koordinációs szféra expansió következhet be, a H-kötések oldatban megszűnhetnek, új H-kötések jöhetnek létre a ligandum és az oldószer között. Az oldat röntgen-diffraktometria csak nagy koncentrációjú és egyszerű rendszerek vizsgálatára alkalmas. Meghatározhatjuk vele egy adott atom első, második, esetleg harmadik koordinációs szférájában lévő atomok átlagos távolságát és számát. Ha a röntgensugárzás valamely atomot (abszorber) ionizál, és a hatására kilökött elektron egy másik szomszédos atomról visszaverődik, majd egy másik kilökött elektronnal találkozik, interferencia jön létre. A sugárzás energiájának függvényében mérve az oldat elnyelését, a XANES (X-ray Absorption Near Edge Structure) és EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure) spektrumokat kapjuk. A XANES spektrumból nyerhető az abszorber oxidációs száma, az abszorberhez koordinálódó atomok minősége, és jó közelítéssel megbecsülhető az abszorber körül kialakuló geometria. Az EXAFS spektrumból szintén megállapítható az abszorber atom koordinációs száma és geometriája, továbbá az első koordinációs szférában koordinálódó atomok átlagos kötéstávolsága, és a második, ill. a harmadik koordinációs szférában lévő atomok ún. nemkötő távolsága. Ha a koordinálódó atom(ok) EXAFS spektrumát is regisztráljuk, szerencsés esetben kötésszöget is lehet számolni.

Oldatban a komplexek többnyire átfedő pH-tartományokban képződnek, és spektrumaik is átfednek, ezért spektrumfelbonásra van szükség az egyes komplexekhez tartozó (egyedi) színek meghatározásához. Az ultraibolya-látható spektrumok felbontása a pH-potenciometriás szempontból lineárisan független komplexek esetére megoldott, ám az azonos összetételű, de eltérő szerkezetű komplexek spektrumai elvileg sem választhatók szét. A fentebb felsorolt többi módszernél a spektrumfelbontás lehetőségei még korlátozottabbak.

Az NMR-spektroszkópia is értékes szerkezeti adatokkal szolgálhat, főleg diamágneses komplexek esetében, illetve ha a fémioné a rezonáló mag. Valamely ligandum NMR-spektrumát összehasonlítva komplexének NMR-spektrumával, a jelek kémiai eltolódásának, esetleg alakjának (felhasadásának) megváltozásából következtethetünk arra, hogy mely

donoratomok kötődnek a fémionhoz. Ha a pH függvényében regisztráljuk a kémiai eltolódást, a görbékéből egyensúlyi adatokat is nyerhetünk. A módszer alkalmazása paramágneses fémionok (mint pl. a réz(II)ion) esetén a legtöbb esetben azonban nehézkes, mert a párosítatlan elektron hatására a relaxációs idők csökkennek, ami jelentős vonalkiszélesedéshez vezet. Bonyolultabb rendszerekben itt is főleg a spektrumfelbontás jelent problémát.

A paramágneses fémkomplexek vizsgálatának egyik leghatékonyabb eszköze az ESR-spektroszkópia, amely viszonylag híg oldatokban is alkalmazható. Az üvegfázisban (megfagyasztott oldatban) felvett spektrumokban a paraméterek anizotrópiája (irányfüggése) megjelenik, ami széleskörű információt szolgáltat a fém-donoratom kötésjellegéről, a geometriáról, illetve annak esetleges torzulásairól. A paramágneses ligandummagok okozta felhasadás elemzésével, továbbá a g és a hiperfinom-csatolási állandó értékekből, tapasztalati alapon a koordinálódó donorcsoportokra is következtetni lehet. Üvegfázisban azonban a koncentrációk és a pH értékei nem ismertek pontosan, és nincs jól definiálva az üvegeképződési hőmérséklet sem, így minden spektrumot külön-külön kell értékelni, nincs lehetőség a spektrumokból nyerhető információk egyesítésére. Továbbá egy-egy komplex spektrumának leírásához viszonylag nagy számú paraméter szükséges, így a spektrumok felbontására itt korlátozottak a lehetőségek (legfeljebb két komponensre bonthatók fel).

Folyékony oldatban a molekulák gyorsan forognak, így az ESR-paraméterek anizotrópiája kiátlagolódik. Ez a geometria megállapítása és a fém-ligandum kötésjelleg vonatkozásában információvesztést jelent. Ugyanakkor azonban a koncentrációk pontosan beállíthatók, a pH mérhető, és egy további fontos előny: a spektrumok lényegesen kevesebb paraméterrel írhatók le. Mindez azt jelenti, hogy ha egy megfelelő körülmények között regisztrált spektrumsorozat információtartalmát egyesítjük azzal, hogy egyidejűleg (egy optimalizálási eljárással) értékeljük ki a görbesereget, a rendszerről kétoldalú felvilágosítást nyerhetünk: leírhatjuk a koncentrációeloszlást (a képződési állandók meghatározása révén), továbbá valamennyi képződő ESR-aktív komplex koordinációs módjáról is tájékozódhatunk (az ESR-paraméterek értéke alapján). A spektrumfelbontás így egészen bonyolult egyensúlyi rendszereknél is biztonsággal elvégezhető, és – más módszerekkel szemben – az azonos összetételű, de eltérő szerkezetű molekulák (izomerek) megkülönböztetésére is mód nyílhat még átfedő egyensúlyok esetén is. Mindezen lehetőségek kiaknázására mérési módszerként az ESR-spektroszkópiát választottam, és a "kétdimenziós" ESR-szimulációs módszert [48] alkalmaztam.

Ha a fenti értékelő módszert bonyolultabb rendszereknél alkalmazzuk, a nagyszámú paraméter egyértelmű meghatározásához jó kezdeti adatokra van szükségünk, amihez az is szükséges, hogy minél pontosabb egyensúlyi modellből induljunk ki. Ehhez nagy segítséget jelent, ha meg tudjuk határozni előzetesen az ESR-aktív részecskék számát a rendszerben. E célból a "mátrix rang analízis (MRA) a maradék intenzitások módszerével" [49] elnevezésű, tisztán matematikai elemzést adaptáltam az ESR-spektrumcsomagokra.

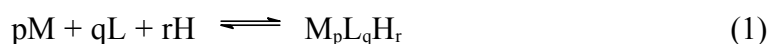
1.3. Célkitűzés

Az ún. kétdimenziós ESR-spektroszkópiai szimulációs módszer lehetőségeit kihasználva, célul tűztem ki (1) az oldatban kialakuló különböző összetételű komplexek, továbbá az azonos összetételű, de különböző szerkezetű molekulafajták (kötési és geometriai izomerek) azonosítását és képződési állandóik meghatározását, (2) az ezekben különböző helyzetben koordinálódó donorcsoportok azonosítását és (3) esetenként további szerkezeti sajátosságok felderítését (fém-donoratom kötésjelleg, geometriai torzulás).

2. Az alkalmazott módszerek elméleti alapjai

2.1. A komplex egyensúlyi rendszerek leírása

Fémiont (M) és ligandumot (L) tartalmazó vizes oldatban a pH-tól függően a ligandum különböző protonáltságú formában kötődhet a fémionhoz. A létrejött $M_pL_qH_r$ összetételű komplexek képződési állandóját (β) az alábbi egyensúlyra vonatkozóan a tömegmérleg-egyenlet alapján a következőképpen számíthatjuk ki [50]:



$$\beta = \frac{[M_pL_qH_r]}{[M]^p [L]^q [H]^r} \quad (2)$$

ahol $[M_pL_qH_r]$ a komplex, $[M]$, $[L]$, $[H]$ pedig a komponensek egyensúlyi koncentrációja az oldatban. Használjuk még a komplexek deprotonálódását jellemző egyensúlyi állandót, amelyre:



$$K = \frac{[M_pL_qH_{r-1}] [H^+]}{[M_pL_qH_r]} \quad (4)$$

Az egyensúlyi rendszerben képződő i -edik komplex képződési állandóját β_i -vel, összetételét a p_i , q_i , r_i együtthatókkal jelöljük. Ha a komplex egyensúlyi koncentrációját egy adott j -edik pH-n (c_{ij}) megmérjük (pl. ESR-spektroszkópiai úton), valamint a teljes M és L koncentrációkat (T_{Mj} , T_{Lj}) a bemérésből ismerjük, akkor β_i meghatározható, mivel $[M]$, $[L]$ és $[H]$ a következő összefüggések szerint kiszámítható:

$$[M]_j = T_{Mj} B \sum_i c_{ij} p_i \quad (5)$$

$$[L]_j = T_{Lj} B \sum_i c_{ij} q_i \quad (6)$$

$$[H]_j = 10^{-pH_j} \quad (7)$$

Egy adott összetételhez számos esetben többféle koordinációs mód is tartozhat, ezeket izomereknek nevezzük. Létrejöhetnek geometriai (azonos donoratomokkal eltérő elrendeződésben kötődő) izomerek és kötési (eltérő donorcsoporttal kötődő) izomerek. Utóbbiak egy érdekes csoportja, amikor a biszkomplexekben kötött ligandumok protonáltsági állapota különbözik az izomerekben (pl. az egyikben $LH_{-1} + LH$ formában, a másikban $L + L$ formában kötődnek a ligandumok).

Ha két izomer képződik, és ezek képződési állandója külön-külön meghatározható, akkor a komplex képződési állandója a két izomerre kapott érték összege lesz ($\beta = \beta_{1.\text{izomer}} + \beta_{2.\text{izomer}}$). Az olyan eloszlást, amely az izomereket (mikroszpecieket) külön-külön jeleníti meg, mikroeloszlásnak nevezzük.

A fenti összefüggéseket használtuk fel az ESR-spektrumok kiértékelésénél a képződési állandók kiszámításához.

2.2. Mátrix rang analízis

A vizsgált egyensúlyi rendszerek bonyolultsága miatt célszerűnek látszott a felvett spektrumok előzetes vizsgálata olyan matematikai módszerrel, amellyel mindenfajta előzetes kémiai feltételezés nélkül, kizárólag a spektrumok elemzésével szerezhetünk a rendszerről információt. Az 1960-as években Richard M. Wallace [51] és más kutatók [52, 53] (eredetileg ultraibolya-látható spektrumok kiértékelésére) kidolgoztak egy módszert, amely az abszorbancia mátrix rangja és a spektroszkópiailag aktív részecskék száma között teremt összefüggést. A módszer használatához egyetlen feltétel szükséges: legyen lineáris kapcsolat a vizsgált minta részecskéinek elnyelése és koncentrációja között a teljes hullámhossz tartományon. Az eljárás célja a lineárisan független elnyelő részecskék számának meghatározása. (Ennek ismerete nagy segítséget nyújthat abban, hogy megfelelő kémiai modellt állíthassunk fel az egyensúlyi rendszerekre.) A módszer fejlesztése két irányban haladt, egyrészt, hogy grafikus módon lehessen elvégezni a kiértékelést, másrészt, hogy minél több adatot lehessen kiértékelni (ez utóbbi a ma már kellően fejlett számítástechnika segítségével vált lehetővé).

Mivel az ESR-spektrumok intenzitása függ a kísérleti körülményektől, a módszer alkalmazhatóságának feltétele csak akkor teljesül, ha a teljes spektrumsorozatot azonos beállításnál vesszük fel, így az intenzitás arányos marad az ESR-aktív részecskék koncentrációjával. Ezt a feltételt az átfolyó rendszer alkalmazásával biztosítottuk. Ekkor érvényesül, hogy: $I_i = c^k I(B_i)^k$, ahol I_i az i -edik térértéknél mért intenzitás, c^k és $I(B_i)^k$ a k -adik ESR-aktív részecske koncentrációja és intenzitása a vizsgált körülmények között. ($I(B_i)$ számításának módját a 2.3.3. fejezetben részletezem.) Ezt összegezve az összes elnyelő részecskére kapjuk, hogy:

$$I_{i,j} = \sum_{k=1}^m I(B_i)^k c_j^k, \quad (i = 1..p, j = 1..n) \quad (8)$$

ahol p a térértékek száma, n a különböző összetételű rendszerekben végzett mérések száma és m az ESR-aktív részecskék száma. Az így megadható intenzitások összessége adja a vizsgálandó mátrixot:

	T_1	T_2	Λ	T_j	Λ	T_n
B_1	$I_{1,1}$	$I_{1,2}$	Λ	$I_{1,j}$	Λ	$I_{1,n}$
B_2	$I_{2,1}$	$I_{2,2}$	Λ	$I_{2,j}$	Λ	$I_{2,n}$
M	M	M		M		M
B_i	$I_{i,1}$	$I_{i,2}$	Λ	$I_{i,j}$	Λ	$I_{i,n}$
M	M	M		M		M
B_p	$I_{p,1}$	$I_{p,2}$	Λ	$I_{p,j}$	Λ	$I_{p,n}$

ahol T_j valamely komponens teljes koncentrációja a j -edik oldatban. Ez a mátrix az előző összegzés szerint felírható mátrixok szorzataként is: $I = I(B)\Delta C$, ahol $I(B)$ a $p \times m$ elemű, az adott körülményekre érvényes moláris intenzitás mátrix, C az $m \times n$ elemű koncentrációmátrix, és I a $p \times n$ elemű intenzitásmátrix. A mátrix rangjának definíciója szerint az $I(B)$ és C mátrixok rangja nem lehet nagyobb mint m , és éppen m lesz abban az esetben, ha a térértékek száma (p) és a különböző összetételű oldatok száma (n) nagyobb, mint az összes elnyelő részecskék száma. Ezek alapján tehát a mátrixok szorzatából kapott I mátrix rangja is m lesz. Az intenzitás mátrix rangját az MRA nevű programmal határoztuk meg [49], amely a következő átalakításokat végzi az I mátrixon. Kiválasztja a legnagyobb abszolút értékű elemet (teljes főelem kiválasztás), majd felcseréli a sorokat és oszlopokat úgy, hogy ez az elem az első sor első oszlopába kerüljön. Majd pedig az így kapott I_{ij} mátrix minden elemén (kivéve az első diagonális elemet) elvégzi a következő átalakítást:

$$I_{ij}' = I_{ij} - \frac{I_{i,1} I_{1,j}}{I_{1,1}} \quad (9)$$

Ennek hatására az első sor és oszlop minden eleme nulla lesz, kivéve a diagonális elemet. Az első sor és oszlop elhagyásával nyert almatríxszal elvégezzük újból ugyanezeket az átalakításokat, kezdve a teljes főelem kiválasztással. Mindezt addig végezzük, amíg a főátló alatti összes elem nulla lesz. Az eredeti mátrix rangja a nem nulla értékű diagonális elemek számával lesz egyenlő.

Ez az eljárás a hibával nem terhelt adatokra ad pontos értéket, azonban mérési pontok esetén nehéz megítélni, hogy mely elemek tekinthetők nullának. Ennek eldöntésére az egyik lehetőség, hogy az intenzitás mátrix minden I_{ij} eleme helyére beírjuk az intenzitásértékek kísérletből becsült standard deviációit, és így felépítünk egy szórás mátrixot (S). Ezen ugyanúgy végrehajtjuk a diagonalizálást, majd összehasonlítjuk a diagonális elemeket az I és S mátrixokban, és ha az I mátrix adott eleme a megfelelő szórás elem háromszorosánál (esetleg kétszeresénél) nagyobb, akkor nem nulla elemnek tekintjük.

Egy másik lehetőség a lineárisan független elnyelő részecskék számának meghatározására az ún. maradék intenzitás görbék megrajzolása. Tételezzük fel, hogy a lineárisan független elnyelő részecskék száma a rendszerben m . Ekkor a mátrix fenti átalakításait elvégezve az $m+1$ -edik lépésben kiválasztjuk azt a sort (térértéket), amely a következő legnagyobb elemet tartalmazza. Ez a sor hordozza a legtöbb információt egy esetleges $m+1$ -edik részecske meglétéről. Ha most ezt a sort elhagyjuk, és újra elvégezzük a redukált mátrixon a MRA-t, akkor az $m+1$ -edik lépésben most az $m+1$ -edik részecskére jellemző második legfontosabb információt hordozó sort kapjuk meg, és így tovább. A mátrixot így lépésről lépésre redukálva, az eljárást addig folytatjuk, amíg csak m sora marad az eredeti mátrixnak. Ezután az $m+1$ -edik lépésekben kapott diagonális elemeket ábrázoljuk a térértékek függvényében (maradék intenzitás görbe), amely azon intenzitás értékeket mutatja, amelyek nem magyarázhatóak meg m részecske feltételezésével. Amennyiben a maradék intenzitás nem változik szisztematikusan a térrel, vagyis alapvonal jellegű, akkor az $m+1$ -edik részecske létét elvethetjük, ha viszont a görbe "spektrum jellegű", akkor egy $m+1$ -edik részecske kismértékű jelenlétét is figyelembe vesszük a modell felállításánál. Vagyis, ha a feltételezett részecskeszámot mindig eggyel növelve kiszámítjuk a maradék intenzitás görbéket, akkor annyi részecske szükséges az eredeti intenzitásértékek leírásához, amennyivel a maradék intenzitás görbe a zaj értékére csökkenthető, és tovább már nem változik.

2.3. Réz(II) - komplexek ESR-spektrumainak elméleti leírása

Az elektronspinrezonancia- (ESR-) spektroszkópiával paramágneses anyagok vizsgálhatók. Ilyenek a szabadgyökök, átmeneti- és ritkaföldfém vegyületek. A módszer a Zeeman-effektuson, vagyis az elektron és a mágneses tér kölcsönhatásán alapul. Az elektron energiaszintjeinek elfajultsága mágneses erőterben megszűnik, az $S=1/2$ elektronspin és a hozzá tartozó mágneses momentum a külső térhez képest kétféle orientációt vehet fel: paralel,

illetve antiparalel irányba állhat be. Ez a kétfajta orientáció különböző energiájú állapotokat jelent. Az ESR-abszorpciót akkor kapjuk, ha a sztatikus térre merőlegesen polarizált nagyfrekvenciájú - rendszerint mikrohullámú - elektromágneses teret is alkalmazunk, és az elektromágneses sugárzás energiája megegyezik a két állapot energiakülönbségével [54].

Az ESR-spektrumban megnyilvánuló kölcsönhatásokat az ún. spin-Hamilton-operátor kölcsönhatási mátrixokkal célszerű leírni. Ha a párosítatlan elektron nem gömbszimmetrikus pályán helyezkedik el, akkor a kölcsönhatások irányfüggőek lesznek, így azokat tenzorokkal (3Δ3-as mátrixokkal) lehet leírni.

A spin-Hamilton-operátor $S=1/2$ spinű rendszerekre, $\hat{H}_{SH}$ [55]:

$$\hat{H}_{SH} = \hat{H}_Z + \hat{H}_{HF} + \hat{H}_Q + \hat{H}_{SHF} \quad (10)$$

ahol $\hat{H}_Z = \mu_e \mathbf{B} \underline{\underline{g}} \hat{S}$ a Zeeman-operátor, a párosítatlan spin és a mágneses tér kölcsönhatási energiáját reprezentálja. Az egyenletben $\mu_e = eh/(4\pi mc) = 9.2732 \cdot 10^{-24} \text{ JT}^{-1}$ a Bohr-magneton, $h = 6.6262 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$ a Planck-állandó, m az elektron tömege, c a fénysebesség, B a mágneses indukció (T), $\underline{\underline{g}}$ az anyagra jellemző spektroszkópiai felhasadási tenzor, $\hat{S}$ az elektronspin operátor.

$\hat{H}_{HF} = \hat{S} \underline{\underline{A}} \hat{I}$ a hiperfinom-kölcsönhatás operátora. A párosítatlan elektron és az atommag spinje által létrehozott "belső mágneses tér" kölcsönhatását reprezentálja, ahol $\hat{I}$ a magspin operátor és $\underline{\underline{A}}$ a hiperfinom-felhasadási tenzor.

$\hat{H}_Q = \hat{I} \underline{\underline{P}} \hat{I}$ a kvadrupólus-kölcsönhatási operátor. Az $1/2$ -nél nagyobb magspinű magok kvadrupólusmomentummal rendelkeznek. $\hat{H}_Q$ ennek kölcsönhatását írja le az elektromos térgradienssel a mag helyén, és $\underline{\underline{P}}$ a kvadrupólus-kölcsönhatási tenzor.

$\hat{H}_{SHF} = \hat{S} \underline{\underline{a}} \hat{I}_1$ a superhiperfinom-kölcsönhatási operátor. Átmenetifém-komplexekben a párosítatlan elektron a ligandumok donoratomjaira delokalizálódik. Amennyiben vannak közöttük nullától eltérő magspinnel (I_1) rendelkezők, akkor az ezen magok által létrehozott belső mágneses tér és a párosítatlan elektron kölcsönhatását reprezentálja $\hat{H}_{SHF}$, $\underline{\underline{a}}$ pedig a superhiperfinom-felhasadási tenzor.

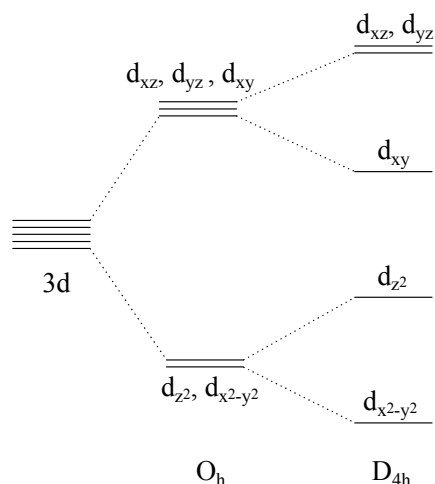
A fent megadott spin-Hamilton-operátor csak a paramágneses molekulákon belüli kölcsönhatásokat reprezentálja, ezért olyan esetekben alkalmazható, amikor a paramágneses centrumok diamágneses környezetben (pl. oldatban) vannak, és így egymással nincsenek kölcsönhatásban.

A spektrum alakját, azaz a jelintenzitás változását a mágneses indukció függvényében döntően a $\underline{\underline{g}}$ -, $\underline{\underline{A}}$ -, $\underline{\underline{a}}$ -, és $\underline{\underline{P}}$ -tenzorok határozzák meg. A tenzorokat leíró mátrixot diagonalizálva a főátló elemeiből megkapjuk a tenzorok főértékeit.

A paramágneses centrum szimmetriájától függően három eset lehetséges. (1) Köbös ligandumtérben (szabályos oktaéderes és tetraéderes komplexekben) a $\underline{\underline{g}}$ - és $\underline{\underline{A}}$ -tenzorok három főértéke megegyezik és $P_{xx}=P_{yy}=P_{zz}=0$. A spektrum független a molekulának a térben elfoglalt orientációjától, ekkor a $\underline{\underline{g}}$ - és a hiperfinom-csatolási állandó izotróp. (2) Alacsonyabb szimmetria esetén g és a csatolási állandók anizotrópok: a spektrum függ attól, hogy a mágneses tér milyen irányt vesz fel a $\underline{\underline{g}}$ -tenzor főtengelyrendszerében. Tetragonális ligandumtérben a fentebbi tenzorok axiálisak, azaz két-két főértékük megegyezik. (3) A szimmetria további csökkenésekor 3-3 különböző főértékkel jellemezhetők, azaz rombosak.

2.3.1. A réz(II)-komplexek szimmetriája, a d-szintek felhasadása és a kölcsönhatási tenzorok

A $3d^9$ elektronkonfigurációjú réz(II)ion egy párosítatlan elektronnal rendelkezik ($S=1/2$), a lyuk-elektron energiaszintjeit különböző szimmetriájú ligandumterekben az 1. ábra mutatja. Oktaéderes kristálytérben (O_h) az ötszörösen elfajult d-szintek egy háromszorosan elfajult magasabb és egy kétszeresen elfajult alacsonyabb energiájú szintre hasadnak fel. Mivel degenerált alapállapotot eredményező molekulaszervezet a Jahn-Teller-effektus értelmében nem lehet stabilis, ezért az oktaéderes szimmetria torzul: a z-tengely mentén lévő ligandumok közelebb vagy távolabb kerülnek a központi iontól, ami a d-szintek további felhasadásához vezet. A réz(II)-komplexek zömében a legstabilisabb állapot a (D_{4h} szimmetriájú) megnyúlt oktaéderes térben jön létre. A párosítatlan elektron alapállapotban a $d_{x^2-y^2}$ pályán tartózkodik [56, 57].



1. ábra

A d-szintek felhasadása különböző szimmetriájú ligandumterekben

A réz(II)-komplexek szimmetriája, ha a ligandumok térszerkezetét is figyelembe vennénk, igen alacsony lenne. A mágneses kölcsönhatások rombos torzulása azonban gyakran kicsi a vonalszélességhez képest, és így az ESR-spektrumot leírhatjuk az "effektív D_{4h} szimmetriával".

2.3.2. Mágneses magok hatása

A spektrumban a Zeeman-kölcsönhatásból származó egyetlen rezonanciajel a hiperfinom-kölcsönhatás következtében felhasad. Általános esetben egy I spinű mag $(2I+1)$ -szeres felhasadást eredményez. Mivel a réz(II) esetén $I_{Cu}=3/2$, négy jel várható, amelyek intenzitása megegyezik.

Mivel a réz(II)ion komplexeiben a párosítatlan elektron legtöbbször a $d_{x^2-y^2}$ pályán tartózkodik, amelynek a z-tengely mentén csomósíkjai vannak, szuperhiperfinom-felhasadás csak azoktól a mágneses ligandum-magoktól várható, amelyek a komplexben ekvatoriálisan (az xy síkban) helyezkednek el. A peptidek és foszfinsavak jellemző donoratomjai (O, N) közül csak a nitrogén rendelkezik magspinnel ($I_N=1$), és a fentebbiek értelmében csak az ekvatoriális nitrogének lépnek szuperhiperfinom-kölcsönhatásba a párosítatlan elektronnal. Ez fontos az ekvatoriális donorcsoportok azonosításakor. Ha a molekulában n számú ekvivalens (a párosítatlan elektronnal azonos jellegű és erősségű kölcsönhatásban lévő) N donoratom van, a szuperhiperfinom-kölcsönhatás $(2I+1)^n = 3^n$ -szeres felhasadást eredményez.

Egy-egy rézjel 3^n számú, 3^{-n} intenzitású vonalra hasad fel. Az energiaszintek között azonban vannak elfajultak, végeredményben $(2n+1) = (2n+1)$ különböző energiaszint keletkezik, a spektrumban egy-egy rézvonala $(2n+1)$ szuperhiperfinom-vonalra hasad fel.

A szuperhiperfinom-szintek elfajultsága, illetve a vonalak intenzitásaránya tehát n számú ekvivalens nitrogén-donoratom esetén:

$n = 1$	1 : 1 : 1
2	1 : 2 : 3 : 2 : 1
3	1 : 3 : 6 : 7 : 6 : 3 : 1
4	1 : 4 : 10 : 16 : 19 : 16 : 10 : 4 : 1

Ha a N-atomok (részben) eltérő kölcsönhatásban állnak az elektronnal, és közöttük $n_1, n_2, \dots$ ekvivalens van, a felhasadás $(2n_1+1)(2n_2+1)\dots$ -szeres. A fentiek az $n_1, n_2, \dots$ ekvivalens atom együtteseire (donoratom "szetekre") külön-külön érvényesek.

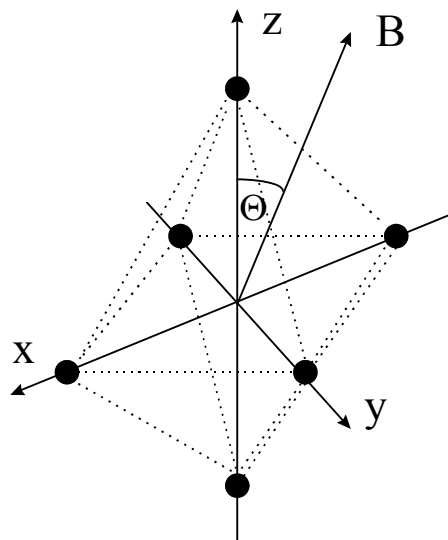
Mivel a réz magspinje $1/2$ -nél nagyobb, fellép a kvadrupólus-kölcsönhatás is, ami a hiperfinom-kölcsönhatás közvetítésével módosítja a színeképet, a hiperfinom-vonalak szeparációját megváltoztatva.

2.3.3. A színekép változása a kísérleti körülményekkel

A 2. ábra mutatja a tetragonális komplexekben szokásos koordináta-rendszer-választást. A tetragonális tengely a z -tengely, ez jelöli ki az ún. "párhuzamos" főirányt, ugyanis a mágneses indukció irányát a z -tengellyel bezárt szögével, $\cup$ -val szokás megadni. A tenzorok "párhuzamos" irányban mérhető főértékeit a τ , míg a $\cup \neq 90^\circ$ irányában mérhetőeket a υ (merőleges) indexszel jelöljük. Axiális szimmetria esetén tehát $g_\tau = g_{zz}$ és $g_\upsilon = g_{xx} = g_{yy}$.

Szilárd egykristályban a molekulák orientációja megegyezik, ezért mérhető, hogy a paraméterek szögfüggése miatt hogyan változik a színekép a mágneses indukció irányával. Megfagyasztott oldatban és porokban a molekulák orientációja a térhez képest eltérő, de helyzetük a mérés során állandó, így a színekép a különböző orientációjú molekulák spektrumainak összege, itt is jelentkezik a paraméterek szögfüggése. A legegyszerűbb a színekép értékelése folyékony oldatban, ahol a molekulák rotációja miatt nem jelenik meg a paraméterek szögfüggése [55, 58]. Az ilyen, ún. izotróp spektrumokból a kölcsönhatási

tenzorok főértékeinek átlaga határozható meg (pl. $g_o = 1/3(g_{xx} + g_{yy} + g_{zz})$, D_{4h} szimmetria esetén $g_o = 1/3(2g_v + g_t)$).



2. ábra

A $\underline{g}$ -tenzor főtengelyrendszere tetragonális komplexekben

A hiperfinom-kölcsönhatás hozzávetőleg egy nagyságrenddel kisebb a Zeeman-effektusnál, ezért a vonalak kisebb tér irányába való eltolódása az elsőrendű közelítéshez képest és a vonalszeparáció növekedése a nagyobb terek irányában még mérhető effektust okoz. Az elméleti spektrumvonalak helyének számításakor ezért ún. másodrendű korrekcióra van szükség.

Folyadékfázisban tehát a következő mágneses indukció-értékeknél mérhetők spektrumvonalak:

$$B(M_I, M_F) = B_o - A_o M_I - 1/(2B_o) A_o^2 \{I(I+1) - M_I^2\} - a_{N_o} M_F \quad (11)$$

ahol $M_I = -I, -I+1, \dots, +I$ a központi ion mágneses kvantumszáma, $M_F = -nI_L, -nI_L+1, \dots, nI_L$ a szuperhiperfinom-felhasadást okozó donoratomok eredő mágneses kvantumszáma, I a központi ion magspinje, I_N a N donoratom magspinje, $B_o = h\nu/\mu_B g_o$ az izotróp g_o nak megfelelő tér és A_o, a_{N_o} a tér dimenziójú izotróp hiperfinom- illetve szuperhiperfinom-csatolási állandók.

Adott mágneses indukciónál a mérhető intenzitás, $I(B)$ az egyes vonalak hozzájárulásainak összege. Ha a vonalak derivált Lorentz-görbe,

$$I(B) = -C \sum_{M_I} \sum_{M_F} M_{MF} \{B - B(M_I, M_F)\} \sigma_{MI} \{\sigma_{MI}^2 + [B - B(M_I, M_F)]^2\}^{-2} + I_0 + kB \quad (12)$$

ahol $I_0 + kB$ az alapvonal egyenlete, C a kísérleti körülményektől függő amplitúdó faktor, σ_{MI} a vonalszélesség. Oldatban:

$$\sigma_{MI} = \alpha + \beta M_I + \gamma M_I^2, \quad (13)$$

ahol α, β, γ a tér dimenziójú relaxációs paraméterek és M_{MF} az egyes szuperhiperfinomvonalak intenzitását jellemző tényező.

2.3.4. D_{4h} szimmetriájú réz(II)-komplexek ESR-paraméterei

A réz(II)ion d-pályáinak részvételével D_{4h} szimmetria esetén a következő lazító molekulapályák alakulnak ki [59]:

$$\psi_{b1g} = \alpha d_{x^2-y^2} - \alpha' \varphi_L(x^2-y^2)$$

$$\psi_{a1g} = \alpha_1 d_{z^2} - \alpha_1' \varphi_L(z^2)$$

$$\psi_{b2g} = \beta_1 d_{xy} - \beta_1' \varphi_L(xy)$$

$$\psi_{eg} = \beta d_{xz} - \beta' \varphi_L(xz)$$

$$\psi_{eg} = \beta d_{yz} - \beta' \varphi_L(yz)$$

Az x- és y-tengelyek a ligandumok donoratomjai felé irányulnak. A d-függvények jelölik a réz(II) 3d-pályáit, míg a φ_L - függvények a ligandumok megfelelő szimmetriájú pályáit. A ψ_{b1g} a síkbeli σ -kötést, a ψ_{b2g} a síkbeli π -kötést, ψ_{eg} a síkon kívüli π -kötést reprezentálja. Az $\alpha_1, \alpha, \beta_1, \beta$ molekulapálya-együtthatók a megfelelő kötések kovalens jellegét mutatják. D_{4h} szimmetria esetén a párosítatlan elektron a ψ_{b1g} pályán található. Ekkor a molekulapálya-együtthatók és a $\underline{g}$ - illetve $\underline{A}$ -tenzorok főértékei között érvényesek az alábbi összefüggések [59, 60]:

$$g_{\tau} - g_e = -8\lambda_o / \Delta E_{xy} (\alpha^2 \beta_1^2 - f_1) \quad (14)$$

$$g_{\perp} - g_e = -2\lambda_o / \Delta E_{xz,yz} (\alpha^2 \beta^2 - f_2) \quad (15)$$

$$A_{\tau} = -K + P [-4/7 \alpha^2 + (g_{\parallel} - g_e)(1+f_3) + 3/7 (g_{\perp} - g_e)(1+f_3)] \quad (16)$$

$$A_{\perp} = -K + P [-2/7 \alpha^2 + 11/14 (g_{\perp} - g_e)(1+f_4)] \quad (17)$$

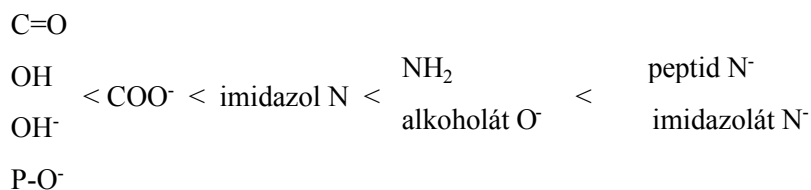
ahol $g_e = 2.0023$ a szabad elektron g-faktora, $\lambda_o = -828 \text{ cm}^{-1}$ a szabad réz(II)ion spin-pálya csatolási állandója, K a Fermi-féle hiperfinom-csatolási tag: $K = -A_o + P(g_o - g_e)$ (ahol $g_o = (g_{\tau} + 2g_{\perp})/3$, $A_o = (A_{\tau} + 2A_{\perp})/3$), $P = 0.036 \text{ cm}^{-1}$ a szabad réz(II)ion dipólus-koefficiense, ΔE_{xy} a $B_{2g} \leftarrow B_{1g}$, $\Delta E_{xz,yz}$ az $E_g \leftarrow B_{1g}$ elektronátmenet energiája, f_1, f_2, f_3, f_4 kis korrekciós tagok, amelyek tartalmazzák a fém-donoratom átfedési integrálokat.

2.3.5. A koordinációs módok hatása az izotróp ESR-paraméterekre

A szuperhiperfinom-felhasadás oxigén és nitrogén donoratomokat tartalmazó komplexekben értékes adalékot szolgáltat a koordinálódó donorcsoportok azonosításához, mivel csak az ekvatoriális helyzetben képződő nitrogéndonorok hozzák létre. A spektrum szuperhiperfinom-szerkezete azonban gyakran rosszul feloldott, és főleg átfedő egyensúlyok esetén többféle nitrogén-felhasadási modellel is egyformán jó színképi egyezést érhetünk el. Ezért a fő szerkezeti információt a g_o és A_o értékek hordozzák, amelyek általában minden molekulafajta esetén pontosan és egyértelműen meghatározhatók.

Ha erősebb terű donorcsoportok kiszorítják a vízmolekulákat az első koordinációs szférából, a ΔE_{xy} és $\Delta E_{xz,yz}$ elektrongerjesztési energiák növekedése a g_{τ} és $g_{\perp}$, így g_o csökkenését eredményezi (l. (14) és (15) egyenletek) [48, 61]. A nagyobb hozzájárulás a g_{τ} -ból ered, mert a λ_o együtthatója nagyobb a (14), mint a (15) egyenletben, továbbá $\Delta E_{xy} \propto \Delta E_{xz,yz}$. A ΔE_{z^2} elektrongerjesztési energia, amelyet az axiális koordináció erősen befolyásolhat, effektív D_{4h} szimmetria estén nem hat a g és hiperfinom-csatolási állandó értékekre ((14)-(17) egyenletek). Így az axiális koordináció csak közvetett és gyenge hatással van az ESR-paraméterekre, amennyiben gyengíti az ekvatoriális kölcsönhatásokat, és ezen keresztül csökkennek az elektrongerjesztési energiák. Megnyúlt oktaéderes geometriájú komplexeknél

$\Delta E_{z^2} \propto \Delta E_{xy} \propto \Delta E_{xz,yz}$, így az e három sáv szuperpozíciójaként mérhető látható abszorpció színképsáv energiája, $\Delta E_{\max}$ közel megegyezik ΔE_{xy} -nal. Így várható, hogy amelyik donorcsoport koordinációja nagyobb kékeltozódást eredményez, annak bekötődése úgyszintén nagyobb mértékű g_o (g_{τ}) csökkenést vált ki, és az egyes donorcsoportok g_o -ra gyakorolt hatása követi a látható spektroszkópiából ismert ligandumter-erősségi sorrendet [62].



A fém-donoratom kötések kovalens jellege a spin-pálya csatoláson keresztül szintén befolyásolja g_0 értékét. A g_τ -on keresztül főleg a síkbeli σ - és síkbeli π -kötések kovalensebbé válása (α^2 , β_1^2 csökkenése) okoz jelentősebb g_0 csökkenést a (14) egyenletnek megfelelően [55, 59, 63, 64]. Ha ugyanazon donoratomok szerepelnek az ekvatoriális síkban, de más elrendezésben, akkor a két esetben a hibahatáron belül megegyező g_0 értékeket kapunk. A kötés kovalens jellegének mértéke lehet az a_{N_0} értéke, amely arányos a párosítatlan spinsűrűséggel a nitrogénmag helyén, vagyis jellemzi a síkbeli σ -kötést a réz(II) és a nitrogén donoratom között. Függ még a nitrogénatom hibridállapotától is, így például ugyanolyan mértékű kovalencia esetén kisebb a_{N_0} értéket várunk egy sp^3 amino-N-től, mint egy sp^2 peptid-N⁻ donoratomtól [65].

Ha a ligandumtér erőssége nő, a g_0 érték csökkenésével egyidőben A_0 érték növekedése várható a (16) és (17) egyenletek alapján. Amennyiben g_0 csökkenésével párhuzamosan A_0 nem nő, sőt csökken, az rombos torzulásra utalhat, mert ekkor 3d - 4s pályakeveredés lép föl, ami a Fermi-féle hiperfinom-csatolási tagon (K) keresztül A_0 értékét csökkenti ((16), (17) egyenletek) [64].

A vonalszélességeket három relaxációs paraméter (α, β, γ) segítségével írjuk le a (13) egyenlet szerint. Nagy α érték esetén széles vonalak várhatóak. A réz(II) akvakomplexe esetén a nagy α érték a g nagy anizotrópiájából származik (a g_τ és a $g_\perp$ értékek nagyon eltérnek). A ligandumtérerő növekedésével ez az anizotrópia csökken, és így a spektrumvonalak keskenyednek. Amennyiben kis g_0 értéknél (ahol kis g -anizotrópia valószínű) tapasztalunk széles vonalakat (nagy α értéket), abból oligomerizációra következtethetünk, ugyanis a réz(II)-centrumok közötti dipólus-kölcsönhatás vonalkiszélesedést okoz. A paraméterek ebben az esetben a spektrum formális leírására szolgálnak, kivéve a g_0 értéket, amely továbbra is a főértékek átlaga, ha a két réz(II)-centrum környezete azonos, ill. a két réz(II)-centrum g_0 értékeinek átlaga különböző környezetek esetén. Ha a réz(II)-centrumok között a kölcsönhatás erős, a spinkicserélődési effektus miatt az ESR-jel teljesen meg is szűnhet, úgynevezett ESR-inaktív komplex jön létre.

2.4. A kétdimenziós értékelő eljárás

A kétdimenziós szimulációs módszer a paramágneses komplex egyensúlyi rendszerről készített ESR-spektrumsorozat együttes kiértékelésén alapul. A spektrumokat különböző fém és ligandum koncentrációknál végzett titrálások során, különböző pH-értékeken, átfolyó rendszerben vesszük fel. A körülményeket a rendszer főbb egyensúlyi folyamatainak ismeretében úgy kell megválasztani, hogy minden kémiai lehetséges komplex lehetőleg minél nagyobb koncentrációban képződve megjelenjen a spektrumok egy-egy kisebb csoportjában, vagyis a teljes spektrumsorozat minden molekulafajtáról tartalmazzon elegendő információt.

Az értékelő program az ESR-jelintenzitást két fizikai mennyiség függvényeként írja le (erről kapta az eljárás a "kétdimenziós" elnevezést). Az egyik koordináta a szokásos módon a mágneses tér, a másik pedig a koncentráció, ebbe beleértve a pH-t is.

A jelintenzitás térfüggését a 2.3.3. fejezetben ismertetett egyenletek alapján számolom mindegyik komplex esetében (természetesen az egyes molekulafajták paraméterei más-más értékeket vehetnek föl). Adott kísérleti görbéhez a megfelelő oldatban jelen lévő komplexek koncentrációjuk arányában járulnak hozzá. A tapasztalat igazolta ugyanis, hogy a vizsgált és hasonló rendszerekben megvalósul a "lassú csere" kritériuma: a különböző komplexek egymásba alakulása az ESR-időskálán lassú folyamat, ezért a kísérleti spektrum a jelen lévő komplexek spektrumainak (koncentrációval súlyozott) összege. Ezzel a feltételezéssel élhetünk az azonos összetételű, de különböző koordinációs módú komplexek egymásba alakulásával és spektrumával kapcsolatban is.

A jelintenzitás koncentrációfüggését a teljes spektrumcsomagban a képződési állandók összessége határozza meg. A 2D_EPR program [48] az ESR-paraméterek illesztésével egyidejűleg végzi a képződési állandók optimalizálását, hogy az ezekből a 2.1. fejezet összefüggései alapján számított koncentrációk az összetevő spektrumok optimális súlyfaktorai legyenek a teljes spektrumsorozatban.

2.4.1. Valamely egyensúlyi rendszer leírásához szükséges spektrumok száma

Egyetlen réz(II) ESR-spektrum, ahol a hiperfinom-szerkezet jól feloldott, átlagosan körülbelül 10 elkülönülő vonalat tartalmaz, amelyek 30 információ-egységet hordoznak (mivel egy jelet 3 érték határoz meg: helye, szélessége és intenzitása). Egy ESR-aktív molekula spektrumának leírásához általában (a N donoratomok számától függően) 6-9 ESR-paraméter

szükséges (g_0 , A_0 , 1-4 a_{N_0} érték és az α , β , γ relaxációs paraméterek). Ezért egyetlen spektrumból maximálisan három részecske ESR-paraméterei és relatív koncentrációja határozható meg egyértelműen. Az oldatokban rendszerint ennél több részecske van jelen egyidejűleg, tehát az illesztendő paraméterek száma túl nagy (főleg, ha figyelembe vesszük, hogy az izomerek paraméterei eltérnek). Ha a különböző pH-kon és fém-ligandum koncentrációarányoknál felvett spektrumokat együttesen értékeljük, az illesztendő paraméterek száma csak kismértékben nő (elegendő a komplexek képződési állandóit optimalizálni, hiszen ezek, valamint a T_{Cu} , T_L és a $[H^+]$ ismeretében bármely komplex koncentrációja bármely oldatban kiszámítható). A spektrumcsomag információtartalma ugyanakkor a spektrumok számával nagymértékben nő. Az illesztendő paraméterek száma például 15 elnyelő részecske esetén a 150-et nem haladja meg, míg 20-30 spektrum mintegy 600-900 információ-egységet képvisel. Ennyi kísérleti görbe tehát még akkor is elegendő egy viszonylag bonyolult egyensúlyi rendszer egyértelmű leírásához, ha vannak közöttük kevésbé jól feloldottak is.

2.4.2. Az értékelés statisztikai leírása

Adott pH-n és fém-ligandum aránynál felvett j -edik spektrum ($S_j(B)$) a jelenlévő részecskék spektrumainak összegéből tevődik össze:

$$S_j(B) = \sum_i c_{ij} F_i(B)$$

ahol $F_i(B)$ az i -edik ESR-aktív részecske spektruma egységnyi koncentrációra vonatkoztatva, c_{ij} pedig a koncentrációja a j -edik spektrumban. A komponensek koncentrációját a (2) egyenlet szerint megadható képződési állandóik illesztésével változtatjuk, míg a spektrumokat az ESR-paraméterek alapján írjuk le. Az illesztés alapja a kísérleti $E_j(B)$ és a számított $S_j(B)$ intenzitásértékek közötti eltérés minimalizálása:

$$SSQD = \sum_j SQD_j = \sum_j \sum_k [E_j(B_k) - S_j(B_k)]^2 / N$$

ahol $SSQD$ a teljes spektrumsorozatra összegzett átlagos négyzetes eltérés, SQD_j a j -edik spektrumra számítható átlagos négyzetes eltérés, B_k a k -edik térérték és N egy spektrum térértékeinek a száma. A j -edik spektrum illeszkedését jellemezhetjük, ha az SQD_j értéket összehasonlítjuk a varianciával:

$$V_j = \sum_k [E_j(B_k) - \bar{E}_j]^2 / N$$

és a zajjal:

$$Z_j^2 = \sum_k' [E_j(B_k) - \bar{E}_j]^2 / N_v$$

ahol $\sum_k'$ a spektrum két végén, az ESR-abszorpció tartományán kívüli részekben vett N_v számú pont összegzését jelenti, és $\bar{E}_j = \sum_k' E_j(B_k) / N_v$ az alapvonal. Jó illeszkedés esetén az SQD_j a V_j -hez képest jóval kisebb, és körülbelül a zaj négyzetének értékét éri el. Az illesztés jóságának jellemzésére bevezethetjük a zajjal korrigált regressziós paramétert (R_j):

$$R_j = (V_j + Z_j^2 \cdot SQD_j) / V_j$$

amelynek értéke 1, ha az SQD_j a zajnégyzet értékére csökken. Hasonlóan számítható az eredő regresszió a teljes spektrumsorozatra:

$$R = (V + Z^2 \cdot SSQD) / V$$

ahol V az összegzett variancia, Z az összegzett zaj. A különböző modellek összehasonlítására szolgál a kritikus ΔR érték:

$$\Delta R_{krit} = 9 Z^2 [N_{par} / (N' N_{minta} V)]$$

ahol N' a ténylegesen független mérési pontok száma, N_{par} az összes illesztett paraméter száma, N_{minta} a spektrumok száma. Amennyiben két modell R értékének különbsége meghaladja ezt a kritikus értéket, akkor a különbség szignifikánsnak tekinthető. Az egyedi spektrumokra ez a kritikus érték 1 nagyságrenddel nagyobb, mivel a minták száma egy ($N_{minta}=1$), amit valamelyest kompenzál, hogy a paraméterek száma is csökken (N_{par}), mivel ekkor csak az illető spektrumban jelenlévő részecskék paramétereinek számát kell figyelembe venni.

A módszer alkalmas ESR-inaktív komplexek képződési állandójának meghatározására is, mivel az átfolyó rendszer segítségével a spektrumok ugyanazon beállításnál vehetők fel, így az intenzitásváltozás a spektrumokban az aktív komplexek koncentrációjának változását tükrözi. Az ESR-inaktív részecske képződési állandójának illesztésekor használt összefüggés:

$$SQD_{kone} = \sum_j ([Cu_{aktív}]_j \cdot B[Cu_{ESR}]_j)^2$$

ahol $[Cu_{aktív}]_j$ az aktív rézkoncentráció a j -edik spektrumban az egyensúlyi adatokból számolva, és $[Cu_{ESR}]_j$ a rézkoncentráció a j -edik spektrum intenzitásából számolva [48].

Mivel a hibafüggvény lokális minimumainak száma exponenciálisan nő az illesztett paraméterek számával, ezért egy 100 paramétert használó optimalizálás könnyen hibás konvergenciához vezethet, ha a kezdeti paraméterértékek nincsenek kellően közel a valós értékekhez. Ezért különösen fontos, hogy legyenek előzetes ismereteink a rendszerben

képződő komplexek számáról, összetételéről. Ebben nyújt nagy segítséget a pH-potenciometria és a mátrix rang analízis.

3. Kísérleti rész

3.1. Felhasznált vegyszerek és ligandumok

1. táblázat A tanulmányozott ligandumok neve, szerkezete és jelölése

Ligandum	Szerkezet	Jelölés
diglicin	$\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{COO}^-$	G2
triglicin	$\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{COO}^-$	G3
tetraglicin	$\text{NH}_3^+-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{COO}^-$	G4
glicil-L-hisztidin	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{CH}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_5\text{H}_4\text{N} \end{array}$	GH
L-hisztidil-glicin	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_5\text{H}_4\text{N} \end{array}$	HG
bisz(aminometil)foszfinsav	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \parallel \quad \\ \text{H}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{H} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{O}^- \end{array}$	L1
bisz(N-glicino-N-metil)foszfinsav	$\begin{array}{c} ^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^- \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{O}^- \quad \text{H} \end{array}$	L2
bisz(N-benzilglicino-N-metil)foszfinsav	$\begin{array}{c} ^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^- \\ \quad \quad \\ \text{CH} \quad \text{O}^- \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_5 \quad \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	L3
bisz(L-prolino-N-metil)foszfinsav	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \quad \text{O} \quad \text{COO}^- \\ \quad \parallel \quad \\ \text{N}-\text{CH}_2-\text{P}-\text{CH}_2-\text{N} \\ \quad \\ \text{C}_4\text{H}_7 \quad \text{C}_4\text{H}_7 \end{array}$	L4
bisz(iminodikarboxi-metil-N-metil)foszfinsav	$\begin{array}{c} ^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^- \\ \quad \quad \\ \text{CH} \quad \text{O}^- \quad \text{CH} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_5 \quad \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	L5

Az analitikai tisztaságú diglicin, triglicin és tetraglicin ligandumokat a Sigma cégtől, az L-hisztidil-glicin és glicil-L-hisztidin ligandumokat a Fluka AG cégtől a szereztük be, és további tisztítás nélkül használtuk fel. Az N-szubsztituált szekunder foszfinsav ligandumokat a Debreceni Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékén állították elő [66]. A

vizsgált ligandumok szerkezetét és jelölését az 1. táblázatban foglaltam össze. A további, analitikai tisztaságú reagenseket (KCl, NaOH, HCl) a Reanal cégtől vásároltuk.

A vizsgált mintákban a réz(II) koncentrációja mindig 5mM volt, míg a fém-ligandum koncentrációarány 2:1 és 1:20 között változott. A vizsgálandó oldatok összetételét (koncentráció, pH) általában irodalmi képződési állandó értékek alapján választottuk meg. A megfelelő koncentrációeloszlási görbéket a PSEQUAD programmal számítottuk ki [67]. A törzsoldatokhoz, amelyek 0.2 M KCl alapelektrolitot tartalmaztak, annyi HCl oldatot adtunk, hogy a titrást kb. 2-es pH-ról indíthassuk. Az egyes ligandumok esetén a felvételi körülmények a 2. táblázatban szerepelnek.

2. táblázat A különböző ligandum - réz(II) egyensúlyi rendszerek esetén vizsgált pH-tartományok

		Fém-ligandum arány						
Ligandum		2:1	1:1	1:4	1:5	1:10	1:15	1:20
GH	pH		2.5 - 12.3					2.5 - 12.0
HG	pH		2.3 - 12.1	2.0 - 11.8				
GG	pH		3.0 - 12.1				2.3 - 12.2	
GGG	pH		2.9 - 12.0				3.2 - 11.9	
GGGG	pH		2.8 - 12.2				2.5 - 12.2	
L1	pH		1.6 - 6.1		1.5 - 6.7			
L2	pH	1.6 - 5.5	1.5 - 8.5		1.5 - 10.5			
L3	pH	1.9 - 5.5	2.2 - 10.7		2.2 - 12.1			
L4	pH		1.8 - 10.4			1.7 - 9.7		
L5	pH	2.0 - 6.2	1.7 - 8.4		1.5 - 10.5			

3.2. Az ESR-spektrumok felvétele és numerikus előkészítése az értékeléshez

A minta 10 cm³-ét üvegből készült titráló cellába helyeztük, majd a mérés ideje alatt végig nagy tisztaságú argongázt buborékolattunk át rajta, amellyel kizártuk az oxigén és a széndioxid bejutását a levegőből, valamint biztosítottuk a minta keverését. Masterflex CL perisztaltikus pumpa segítségével az oldatot folyamatosan áramoltattuk a rezonátorüregben

lévő üvegapillárisba és vissza (az áramlási sebesség $14\text{cm}^3/\text{perc}$ volt). A kb. 0.2 M-os NaOH oldatot Metrohm 765 Dosimat automata burettából adagoltuk, a pH-t Radiometer GK2401C kombinált üvegelektóddal összekötött Radiometer PHN 240 potenciométerrel mértük, 0.01 pontossággal. Az elektródot IUPAC Standard pufferekkel kalibráltunk. A kívánt pH-t beállítva, 2 perces cirkuláltatás után vettük fel az ESR-színképeket JEOL JES-FE3X típusú spektrométerrel 100 kHz-es modulációval, szobahőmérsékleten (291 K). Az ESR-spektrumokat körülbelül 0.4-0.6 pH-egységenként vettük föl.

A frekvencia pontos meghatározásához Mn(II)-vel szennyezett MgO külső sztenderdet használtunk. A mérések során a mintatartót desztillált vízzel megtöltve felvettük az üvegapilláris spektrumát is ("üvegjel"). A spektrumok értékelése előtt az üvegieket valamennyi görbéből levontuk, így a korrigált színképek már nem tartalmazták sem a mangán sztenderd, sem az üvegapilláris anyagában (és esetlegesen a rezonátorüregben) jelen lévő szennyeződések spektrumát. A frekvenciák az egyes spektrumok felvételekor kissé eltértek, ezért a görbéket eltoltuk a térskálán a mért térértékek arányos csökkentésével vagy növelésével, mintha valamennyi fölvétel azonos frekvencián történt volna. Az azonos térértékeknél vett intenzitásokat harmadfokú polinom illesztéssel nyertük.

A réz(II) aquakomplexének spektrumait függetlenül is regisztráltuk, 5mM réz(II)-klorid oldatban, 0-0.4 M között változó KCl koncentrációnál, és megállapítottuk, hogy az aquakomplex paraméterei nem változnak szisztematikusan az ionerősséget beállító só koncentrációjával. Ennek alapján feltételezhető, hogy a kloridionok kölcsönhatása a rézionokkal elhanyagolható a vizsgált egyensúlyi rendszerekben is.

A 2D_EPR programmal maximálisan 36 kísérleti spektrum együttes értékelésére van lehetőség, összesen 15 ESR-aktív és 5 ESR-inaktív molekulafajta figyelembevételével. A program egyidejűleg optimalizálja az ESR-paramétereket (g_0 , A_0 , a_{N_0} , a σ_{MI} vonalszélességeket leíró α, β, γ paraméterek (ahol $\sigma_{MI} = \alpha + \beta M_I + \gamma M_I^2$)), valamint a képződési állandókat (β_i). A paraméterek kezdeti értékeit addig változtatja, amíg a teljes átlagos négyzetes eltérés tovább már nem csökken. A program figyelembe veszi továbbá, hogy a ^{63}Cu és a ^{65}Cu izotópok magmágneses momentuma, és így komplexeik hiperfinom-csatolási állandói is eltérnek. A két izotóp spektrumát természetes előfordulásuk arányában (0.671:0.329) összegzi. A számított spektrumokban a színképsávok alakját derivált Lorentz-görbével írtuk le.

A hiperfinom-csatolási állandókat és a relaxációs paramétereket minden táblázatban a ^{63}Cu izotópra vonatkoztatva adtam meg.

3.3. Mátrix rang analízis

Az egyes rendszerekben felvett összes ESR-spektrum intenzitásértékeit a térértékek és a pH-k szerint mátrixba rendezve határoztam meg a mátrix rangját a maradék intenzitásgörbéket megadó MRA program segítségével [49]. Az intenzitás arányosságát a komplexek koncentrációjával az biztosította, hogy a spektrumokat átfolyó rendszerben, azonos beállításnál vettük fel. A térértékek száma 900-1000, a felvett spektrumok száma pedig általában 25-35 között volt egy-egy rendszer esetén.

4. Kísérleti eredmények és értékelésük

4.1. Réz(II) - oligoglicin rendszerek

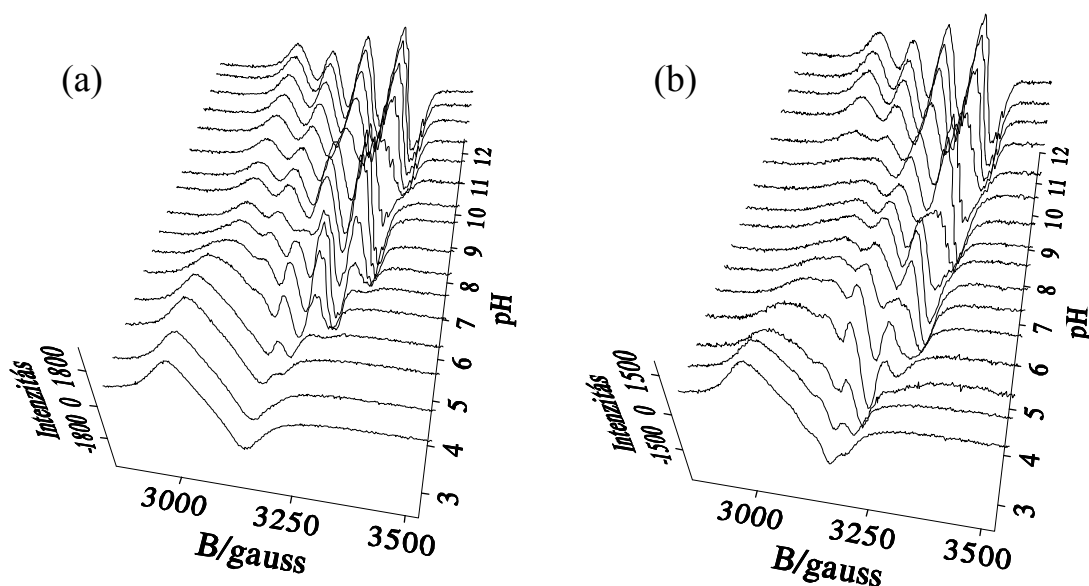
4.1.1. Irodalmi áttekintés

A réz(II) - triglicin és réz(II) - tetraglicin rendszerek pH-potenciometriás és látható spektroszkópiai vizsgálata során ekvimoláris oldatban az akvakomplex mellett 5 monokomplex képződési állandóját és koordinációs módját határozták meg. Általánosan elfogadott ezekben a komplexekben a láncvégi amino-nitrogén horgonydonor szerepe, és savas közegben a szomszédos peptid-oxigén egyidejű kapcsolódása, majd pH=4 felett a szomszédos peptid-NH csoportok fémion-indukált lépcsőzetes deprotonálódása és ekvatoriális koordinációja [68-74]. A ligandumfeleslegben képződő biszkomplexekről, főleg szerkezetükről, azonban már jóval kevesebb adat áll rendelkezésre. Két deprotonált biszkomplex képződését vették számításba a semleges és mérsékelt lúgos tartományban a pH-potenciometriás vizsgálatokban [71,73]. Ezen túlmenően, a rendkívül nagy ligandumfeleslegnél, megfagyasztott oldatban fölvetett ESR-spektrumok alapján megállapították, hogy savas oldatban is képződnek (protonált) biszkomplexek [71]. Érdekes kérdés, hogy milyen eredményre vezet a biszkomplexekben a két ligandum versengése az ekvatoriális helyekért. Bizonyos esetekben azonos mértékben (de)protonált ligandumok azonos donoratomokkal kötődhetnek (pl. a $[\text{CuL}_2]$ komplexben $(\text{L}+\text{L})$, vagy a $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexben $(\text{LH}_{.1}+\text{LH}_{.1})$ összetétellel), azonban az eltérő protonáltsági állapot és koordinációs mód $((\text{LH}_{.1} + \text{LH})$, ill. $(\text{LH}_{.2} + \text{L})$) sem zárható ki. A fenti koordinációs módok együtt is létezhetnek izomerelegyekben, sőt geometriai izoméria is felléphet. Az ESR- spektroszkópia alkalmas módszer ilyen izomerek megkülönböztetésére, ecélből régóta alkalmazzák domináns komplexek esetén a spektrum nagyterű tarományában a nitrogén szuperhiperfinom-felhasadás vizsgálatát [56, 75, 76, 77, 78]. A fentebbi pH-potenciometriás vizsgálatok szerint azonban a biszkomplexek semmilyen körülmények között sem dominánsak, ezért tanulmányozásukhoz spektrumfelbontásos eljárásra van szükség.

Az ismertebb réz(II) - diglicin rendszert is újra vizsgáltuk, egyrészt a ligandumfeleslegben kialakuló komplexek szerkezetét szerettük volna tisztázni, másrészt jó összehasonlítási alap lehet a növekvő hosszúságú peptidlánc koordinációs tulajdonságainak jellemzésekor.

4.1.2. Az egyensúlyi modell felépítése és igazolása

A képződő komplexek várhatóan nagy száma miatt a "kétdimenziós" analízist megelőzően célszerűnek látszott tisztázni az ESR-aktív molekulafajták számát az egyes rendszerekben. Ezért a spektrumsorozatokat először kémiai modell feltételezése nélkül, tisztán matematikai módszerrel, mátrix rang analízissel értékeltük. A réz(II) - tetraglicin rendszerben felvett kísérleti spektrumokat mutatja a 3. ábra.

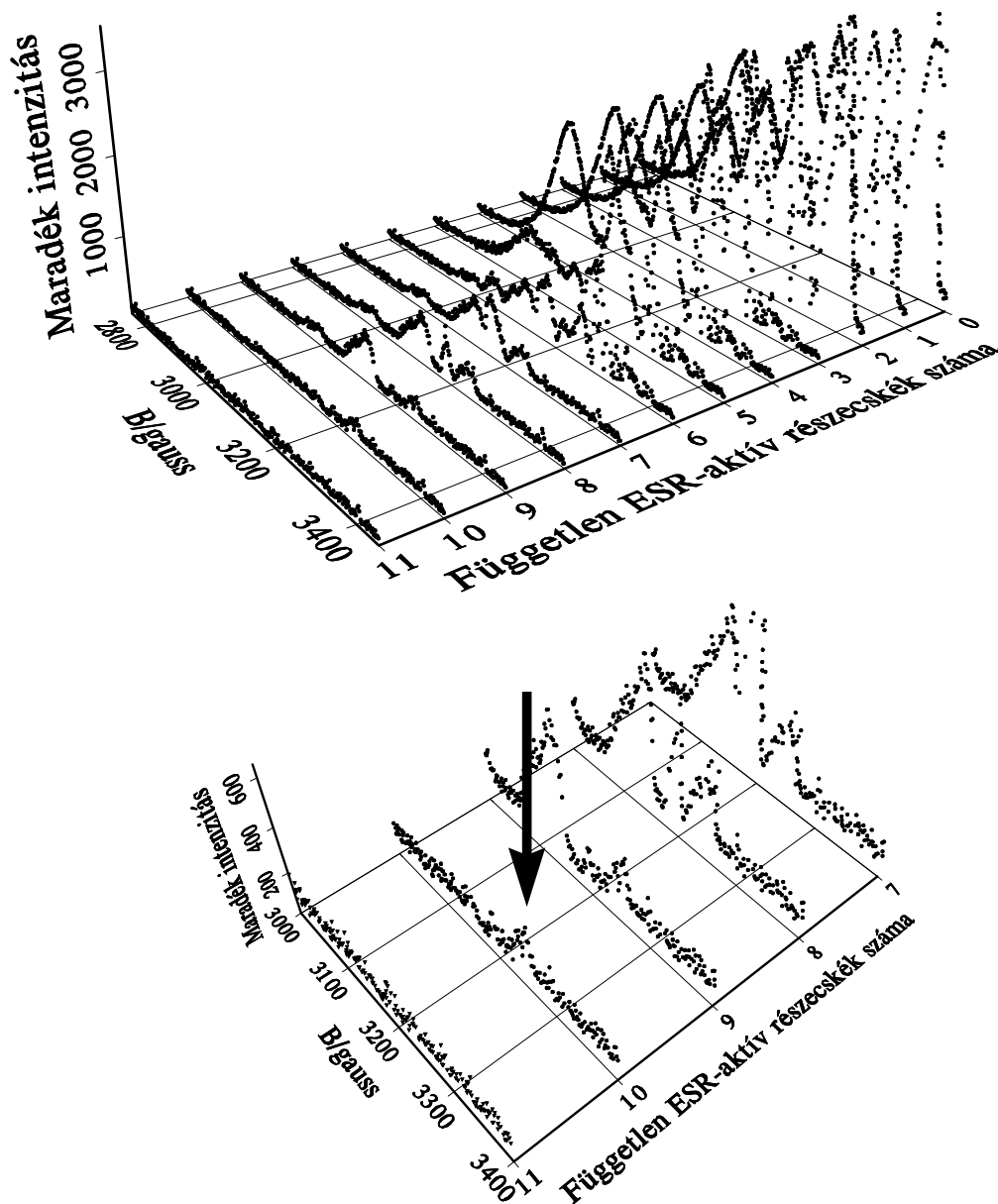


3. ábra

Kísérleti ESR-spektrumsorozat a réz(II) - tetraglicin rendszerben; (a) $T_{cu} = T_L = 5$ mM és (b) $T_{cu} = 5$ mM, $T_L = 75$ mM.

Az ezen spektrumsorozaton elvégzett MRA eredményét szemlélteti a 4. ábra. A maradék intenzitás görbéket összehasonlítva megállapítható, hogy az utolsó kis csúcs (3200 G körül) a tizenegyedik részecske bevételel tűnik el, tehát tizenegy lineárisan független, ESR-aktív komplex valószínűsíthető a rendszerben. A triglicin ligandumnál is hasonló eredményt kaptunk, míg a diglicinnél minimálisan 9 részecske feltételezhető.

Tizenegy független részecske a réz(II) - tetraglicin és réz(II) - triglicin rendszerekben akkor lehet jelen, ha valamennyi, kémiai lehetséges protonáltsági állapotú mono- és biszkomplex képződik.

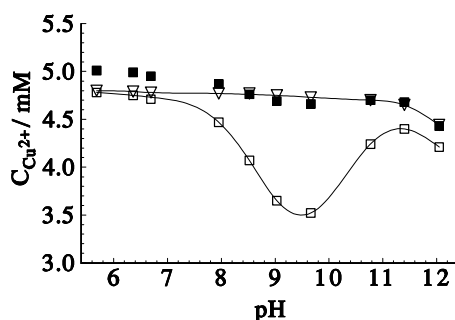


4. ábra

A mátrix rang analízis eredménye a réz(II) - tetraglicin rendszerben; (a) maradék intenzitás görbék különböző számú ESR-aktív részecske feltételezésével, (b) kinagyított maradék intenzitás görbék 7-11 feltételezett részecskére

Ennek megfelelően, az akvakomplexen kívül a $[\text{CuLH}]^{2+}$, $[\text{CuL}]^+$, $[\text{CuLH}_{-1}]$, $[\text{CuLH}_{-2}]$, $[\text{CuLH}_{-3}]^{2-}$, $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$, $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$, $[\text{CuL}_2]$, $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_{-2}]^{2-}$ ESR-aktív részecskéket feltételeztük a fentebbi egyensúlyi rendszerekben. A diglicin ligandum esetében a $[\text{CuLH}_3]$ komplexet nem tudtuk kimutatni pH = 12-ig, de az összes többi komplexet figyelembe vettük ennél a rendszerrel is, sőt az ESR-inaktív $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ komplexszel is ki kellett egészíteni a

modellt az intenzitásból számolt és az analitikai fémion koncentrációk jó egyezéséhez (5. ábra).



5. ábra

Analitikai és számított teljes réz(II)-koncentráció azonos réz(II) és diglicin koncentrációnál, ahol □ az analitikai koncentráció, △ az ESR-rel nyert képződési állandókból (3. táblázat) a tömegmérleg-egyenlet alapján számolt koncentráció és % az utóbbi adatokból számolt fémkoncentráció, de a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ komplex figyelmen kívül hagyásával

Ezen komplexek figyelembevételével azonos fém- és ligandumkoncentráció esetén a $\text{pH} = 2 - 12$ tartományban, míg ligandumfeleslegnél a savas tartományban felvett spektrumokat jól le tudtuk írni. Ligandumfeleslegnél, $\text{pH} = 6$ fölött azonban a színképi egyezés nem volt kielégítő. Itt izomerek feltételezésével finomítottuk az egyensúlyi modellt. A legjobb egyezést úgy kaptuk, ha a $[\text{CuL}_2]$, $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexek spektrumát két komponens görbére bontottuk fel, vagyis izomeregyensúlyt vettünk figyelembe. Az ESR-analízissel kapott képződési állandókat a pH-potenciometriás módszerrel meghatározott irodalmi állandókkal együtt mutatom be a 3. táblázatban. Megállapítható, hogy a kétféle módszerrel nyert adatok jól egyeznek. Az ESR-spektroszkópiai képződési állandókból kiszámított koncentrációeloszlások a 6. ábrán láthatók.

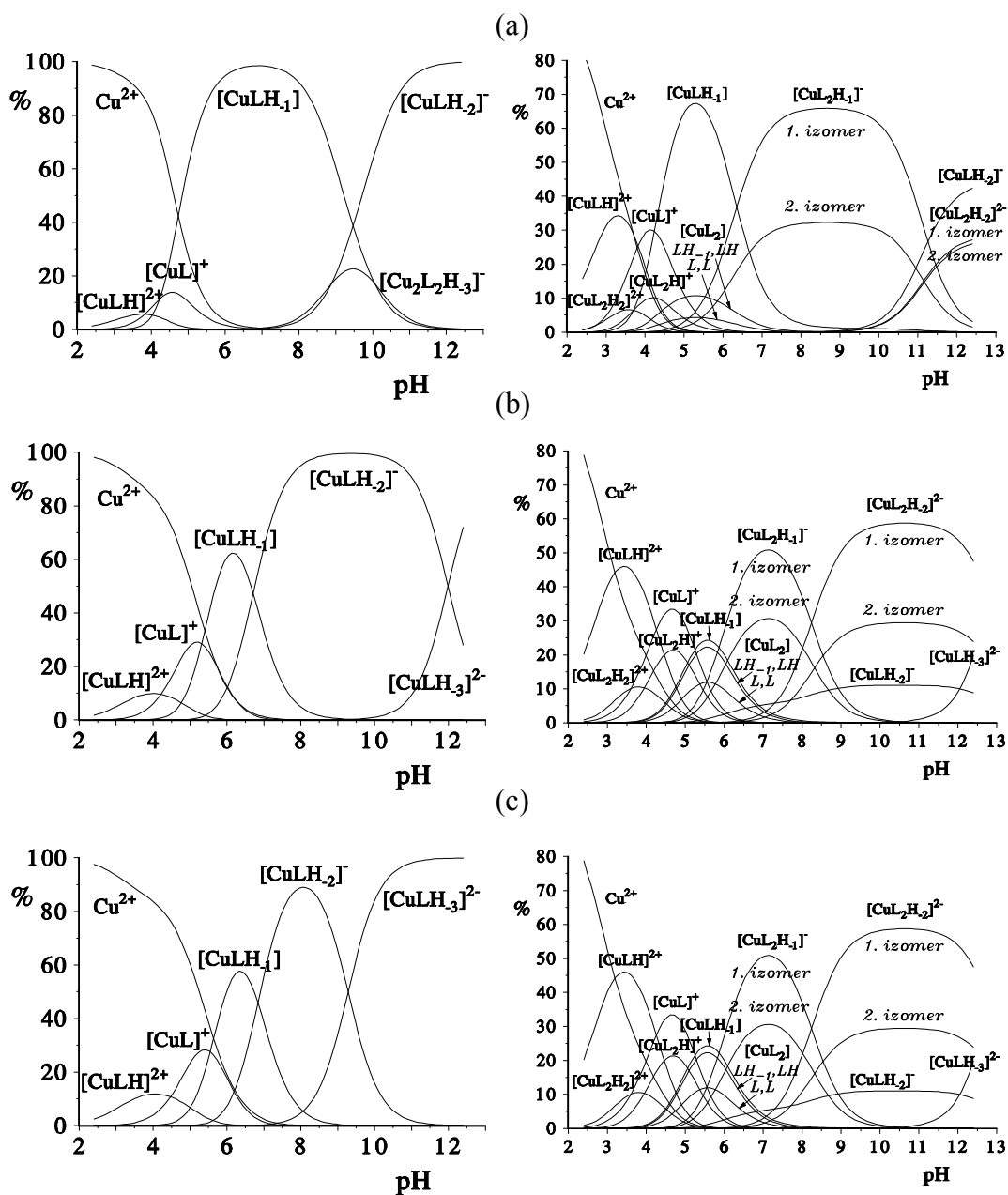
A fenti, legjobb modellek alapján analizálva a spektrumsorozatokat, az eredő regressziós együttható (R) értéke a diglicin, triglicin, ill. tetraglicin esetében 0.99598, 0.99376, ill. 0.99515 volt. Ha a modellből bármelyik részecskét elhagytuk, az R érték csökkenése meghaladta a kritikus értéket, ami jelzi, hogy a redukált modellek esetén szignifikánsan romlott a színképi egyezés. Ennek a csökkenésnek az arányát a kritikus értékhez viszonyítva mutatom be a 4. táblázatban. (Az egyedüli kivétel a diglicin ligandum $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplexe, ahol a különbség csekély. Ennek a részecskének a jelenlétét a másik két rendszerrel való analógia támasztja alá.)

3. táblázat A diglicin, triglicin és tetraglicin réz(II)-komplexeinek képződési állandói ($\log\beta$)^a

Komplex	^b												
	Ligandum												
	Diglicin				Triglicin					Tetraglicin			
	Jelen	[81]	[80]	[82]	Jelen	[70]	[71]	[72]	[73]	Jelen	[71]	[74]	[69]
[CuLH] ²⁺	9.42(8)	9.36			9.47(9)		9.51		9.65	9.56(7)	9.09		
[CuL] ⁺	5.60(3)	5.63	5.56	5.62	5.26(5)	5.08	5.25	5.13	5.30	5.07(3)	5.06	5.07	5.08
[CuLH ₁]	1.36(1)	1.24	1.33	1.45	0.06(3)	-0.03	-0.16	-0.05	-0.18	-0.48(2)	-0.50	-0.54	-0.42
[CuLH ₂] ⁻	-8.10(1)	-8.28	-8.04	-8.09	-6.77(3)	-6.76	-7.02	-6.77	-6.97	-7.32(1)	-7.41	-7.47	-7.31
[CuLH ₃] ²⁻					-18.76(9)	-18.66	-18.30	-18.18		-16.60(2)	-16.59	-16.78	-16.6
[CuL ₂ H ₂] ²⁺	18.2(1)				18.09(8)					18.00(9)			
[CuL ₂ H] ⁺	14.5(1)				14.19(6)					14.40(6)			
[CuL ₂]	10.0(1) ^c				9.3(1) ^c			9.6	9.66	9.17(9) ^c			
<i>LH₁, LH</i>	9.9(1)				9.13(9)					9.03(5)			
<i>L, L</i>	9.48(7)				8.86(7)					8.60(5)			
[CuL ₂ H ₁] ⁻	4.51(5) ^d	4.34	4.46	4.56	3.57(5) ^d		3.23	2.9	3.34	3.38(5) ^d	3.31		
<i>1. izomer</i>	4.34(2)				3.37(2)					2.98(2)			
<i>2. izomer</i>	4.03(3)				3.14(3)					3.16(3)			
[CuL ₂ H ₂] ²⁻	-6.83(6) ^d	-7.70	-7.14		-4.6(1) ^d				-4.62	-4.94(5) ^d	-5.00		
<i>1. izomer</i>	-7.12(2)				-4.82(4)					-5.08(1)			
<i>2. izomer</i>	-7.14(5)				-5.10(7)					-5.49(4)			
[Cu ₂ L ₂ H ₃] ⁻	-4.57(8)	-4.65	-4.51	-4.63									

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. ^b Az [LH] és [LH₂]⁺ proton komplexek $\log \beta$ értékei a diglicin esetén 8.15 és 11.35 [81], a triglicin esetén 7.93 és 11.25 [71] és a tetraglicin esetén 7.94 és 11.18 [71]. ^c $\log \beta = \log (\beta_{LH-1, LH} + \beta_{L, L})$. ^d $\log \beta = \log (\beta_{1. izomer} + \beta_{2. izomer})$

1:15 fém-ligandum arány



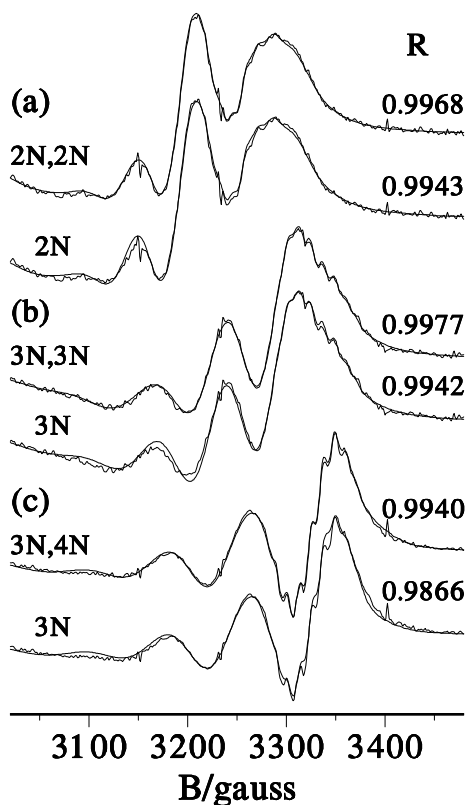
Koncentrációeloszlási görbék az ESR-értékelésből kapott $\log\beta$ adatok alapján számolva (3. táblázat) az (a) réz(II) - diglicin, (b) réz(II) - triglicin, és (c) réz(II) - tetraglicin rendszerekben

32

4. táblázat. $\Delta R / \Delta R_{\text{kritikus}}$ értékek a réz(II) - oligoglicin rendszerekben

a		R		
		2N,2N	2N	3N
$[\text{CuLH}]^{2+}$		4.0	2.4	15.9
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$		1.1	1.4	2.9
$[\text{CuL}_2\text{H}]^+$		2.2	3.8	17.0
$[\text{CuL}_2]^{2-}$	2N ^b	5.0	4.3	10.7
$[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$	3N ^b	7.9	1.6	10.5
	2N ^b	38.3	2.8	12.5
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$	4N ^b	11.0	9.1	33.4
	3N ^b	10.0	9.8	21.1

^a Az első három sorban az adott komplexet, a következő sorokban csak egy-egy izomert hagytunk ki a modellből. ^b A modellben figyelembe vett izomer ekvatoriális N donoratomjainak száma.



7. ábra

Kísérleti és számított ESR spektrumok a réz(II) - tetraglicin rendszerben, $T_{\text{Cu}} = 5 \text{ mM}$, $T_{\text{L}} = 75 \text{ mM}$ koncentrációnál, az (a) $[\text{CuL}_2]$ ($\text{pH} = 5.58$), (b) $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ ($\text{pH} = 7.65$) és (c) $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ ($\text{pH} = 8.99$) komplexek maximális koncentrációja közelében. A felső görbe mutatja az egyezést, amikor a kérdéses komplex színekét két komponens spektrum összegeként írtuk le, az alsó esetében pedig egykomponensű görbéként

4.1.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok a monokomplexekben

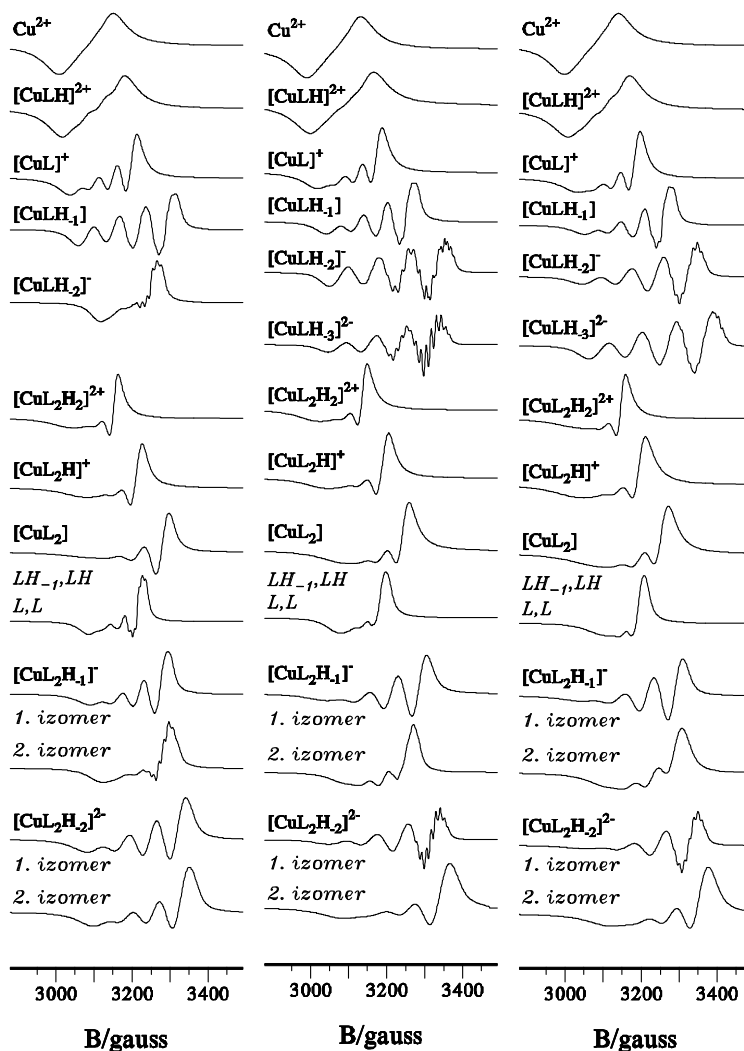
A monokomplexek g_0 és csatolási állandó értékeit a 5. táblázat tartalmazza, az ezekből (és a relaxációs paraméterekből) számolt spektrumaik a 8. ábrán láthatók.

5. táblázat A diglicin, triglicin és tetraglicin réz(II)-komplexeinek ESR paraméterei^a

Komplex		EPR paraméterek		
Komplex		g_0	a_{N_0}/G	a_{L_0}/G
Cu^{2+}	$g_0, A_0/G$	2.1945(4), 34.5(4)	2.196(1), 34.2(9)	2.1966(2), 34.5(4)
$[CuLH]^{2+}$	$g_0, A_0/G$	2.1795(7), 41(2)	2.181(2), 41.(2)	2.1828(1), 40(1)
$[CuL]^+$	$g_0, A_0/G$	2.1606(5), 45.8(6)	2.1647(8), 43.8(7)	2.1633(2), 42.6(5)
	a_{N_0}/G	8(1)	8(1)	9.0(9)
$[CuLH_1]$	$g_0, A_0/G$	2.1198(1), 66.8(1)	2.1273(3), 59.6(3)	2.1280(1), 58.4(2)
	a_{N_0}/G	13.6(1), 11.7(1)	12.4(5), 12.2(5)	12.4(3), 12.2(3)
$[CuLH_2]^-$	$g_0, A_0/G$	2.1164(1), 37.0(1)	2.0971(1), 80.9(2)	2.1057(1), 79.3(1)
	a_{N_0}/G	12.1(1), 12.1(1)	17.1(3), 14.6(2), 8.6(4)	15.8(2), 12.4(3), 10.6(2)
$[CuLH_3]^{2-}$	$g_0, A_0/G$		2.1019(3), 78.6(4)	2.0864(1), 86.6(1)
	a_{N_0}/G		14.7(6), 13(1), 11.9(7)	16.9(1), 15.1(1), 10.6(1), 10.8(1)
$[CuL_2H_2]^{2+}$	$g_0, A_0/G$	2.1794(7), 34(2)	2.181(2), 35(2)	2.1797(2), 35(1)
$[CuL_2H]^+$	$g_0, A_0/G$	2.1463(7), 41(2)	2.153(1), 43(2)	2.1583(1), 46(1)
	a_{N_0}/G	9(5)	10(3)	11(4)
$[CuL_2]$				
LH_1, LH	$g_0, A_0/G$	2.1167(7), 56(2)	2.120(1), 47(2)	2.1238(1), 51(1)
	a_{N_0}/G	9(2), 9(2)	9(4), 9(4)	8(4), 8(4)
L, L	$g_0, A_0/G$	2.1386(7), 36(2)	2.144(2), 31(1)	2.1414(1), 29.4(9)
	a_{N_0}/G	9(1), 9(1)	9(1), 9(1)	9(1), 9(1)
$[CuL_2H_1]^-$				
1. izomer	$g_0, A_0/G$	2.1148(1), 52.0(1)	2.1138(4), 68.8(4)	2.1159(1), 68.0(4)
	a_{N_0}/G	12.2(2), 10.6(3)	10.4(8), 8.0(6), 8.0(6)	12.7(8), 9.9(8), 7.5(9)
2. izomer	$g_0, A_0/G$	2.1034(2), 44.1(2)	2.1130(6), 44.2(5)	2.0983(1), 44.9(5)
	a_{N_0}/G	12.3(6), 12.3(6), 12.3(6)	14.8(6), 8(2), 8(2)	14(1), 12(2), 9.0(3)
$[CuL_2H_2]^{2-}$				
1. izomer	$g_0, A_0/G$	2.1033(4), 66.7(6)	2.1004(2), 77.1(2)	2.1002(1), 76.5(2)
	a_{N_0}/G	11(1), 6.9(6), 6.9(6)	13.5(4), 12.4(7), 10.4(4)	13.8(5), 12.3(3), 9.8(3)
2. izomer	$g_0, A_0/G$	2.0932(2), 64(1)	2.081(2), 71(3)	2.0805(3), 70(1)
	a_{N_0}/G	13(1), 13(1), 9(1), 9(1)	13(3), 13(3), 11(3), 11(3)	12(3), 12(3), 9(4), 9(4)

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. A vonalszélességre jellemző relaxációs paraméterek a Függelék 1. és 2. táblázatában találhatók.

A kis konfidencia-intervallumok tükrözik a g_0 és A_0 paraméterek megbízhatóságát. A deprotonált monokomplexek színeképében a ligandum szuperhiperfinom-vonalak is jól feloldottak, itt az a_{N0} paraméter hibája is kicsi.

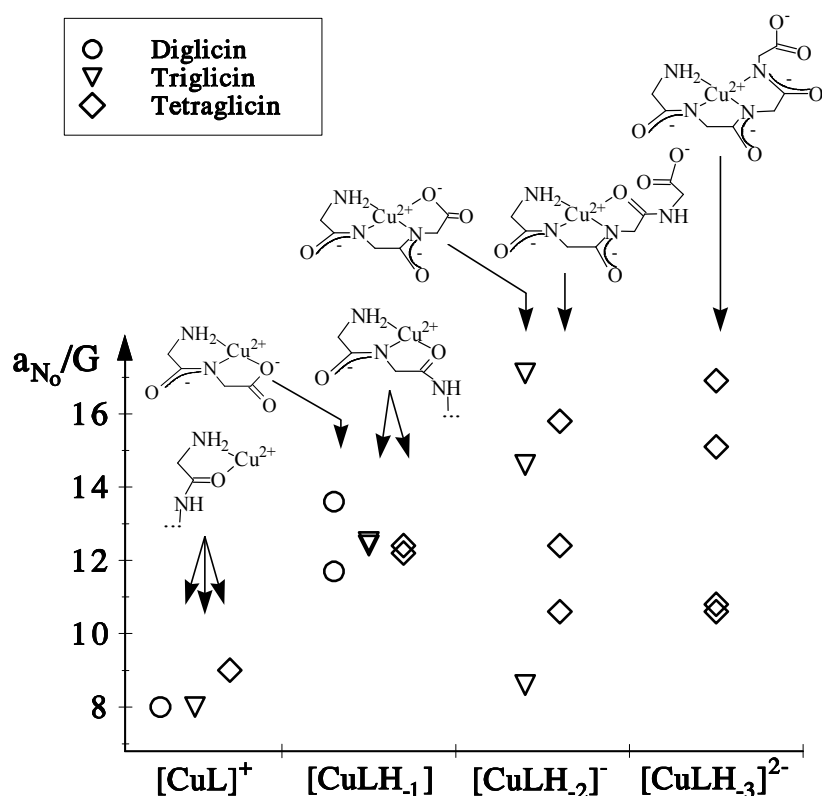


8. ábra

A diglicin, triglicin és tetraglicin réz(II)-komplexeinek számított spektrumai (az 5. táblázat és a Függelék 1. és 2. táblázatának adatai alapján, 9.4 GHz frekvencián)

A 9. ábrán a monokomplexek nitrogén-csatolási állandóit és a komplexeknek az irodalomban elfogadott szerkezetét tüntettem fel. Utóbbiakkal kapcsolatban meg kell jegyezni, hogy a peptid-oxigén koordinációját oldatban nehéz közvetlenül bizonyítani, mert kötődése nem vált ki számottevő eltolódást sem a látható színeképsáv hullámhosszában, sem a g_0 értékében. Ugyanakkor termodinamikai vizsgálatok igazolták [62, 79, 80], hogy réz(II) - dipeptid rendszerekben az aminos csoporttal együtt a fémionhoz kapcsolódva, stabil öttagú

kelátgyűrűt alkot. Ésszerű feltételezésnek tűnik, hogy ilyen kelátgyűrűk a nagyobb tagszámú peptidek N-terminális részével is kialakulnak, sőt ha az oligopeptid valamely peptid-nitrogénje már deprotonálódott, vele együtt a következő peptidkötés oxigénje is a rézhez kapcsolódik, hasonló kelátgyűrűt alkotva.



9. ábra

A réz(II) - diglicin, réz(II) - triglicin, és réz(II) - tetraglicin rendszerekben kialakuló monokomplexek a_{N_0} szuperhiperfinom-csatolási állandói és szerkezete

Érdekes összefüggés figyelhető meg a monokomplexek lépcsőzetes deprotonálódása során kialakuló csatolt kelátgyűrűk száma és a nitrogén-csatolási állandók között (9. ábra). A $[CuL]^+$ komplexek kis a_{N_0} értéke az aminocsoport sp^3 hibridállapotának és közepes kötéserősségnek felel meg. Az első deprotonálódási lépés eredményeként a_{N_0} jelentősen nő, ami jelzi a réz(II) - nitrogén σ -kötés erősödését mindhárom $[CuLH_1]$ komplexben. A diglicinkomplex esetében szignifikáns eltérés van a két nitrogén donortom között, míg a másik két molekulában a két csatolási állandó a hibahatáron belül megegyezik. Ez a különbség a harmadik donorcsoport minőségével magyarázható: a diglicinnél a karboxilátcsoporttal kialakuló viszonylag erős kötés képes stabilizálni a szomszédos réz(II) - peptid-N⁻ kötést, és ez megnyilvánul a nagyobb a_{N_0} értékben. Ezzel szemben a peptid-oxigén gyenge koordinációja

a triglicin és a tetraglicin esetében jóval gyengébb ilyen hatást eredményez. Az eltérő harmadik donorum miatt a g_o értékek is eltérnek (5. táblázat). A második peptid-NH deprotonálódását már különösen nagy a_{No} érték megjelenése követi, főleg a triglicin $[CuLH_2]^-$ komplexénél. A magyarázat hasonló, mint az előbbi esetben: a második peptid-nitrogén deprotonálódása és koordinációja stabilizálja az első réz(II) - peptid- N^- kötést, növelve a hozzá tartozó csatolási állandó értékét. A triglicin $[CuLH_2]^-$ komplexénél ehhez még hozzáadódik a negyedik pozícióban kötődő láncvégi karboxilátocsoport hatása, ennek köszönhető a két szokatlanul nagy a_{No} érték (amelyek tehát nagy valószínűséggel a két peptid- N^- -hez rendelhetők) (9. ábra); ezzel együtt a g_o érték csökken (5. táblázat). A tetraglicin $[CuLH_3]^{2-}$ komplexében a harmadik deprotonálódott peptid- N^- játszik hasonló szerepet, mint a fentebbi molekulafajtákban a karboxilátocsoport.

A fentieket a következőképpen összegezhetjük: ha egy nitrogénatom két szomszédos kelátgyűrűben vesz részt, és a vele szomszédos két donorum többé-kevésbé erős kötést létesít a réz(II)ionnal, akkor a nitrogénatom és a fémion közötti σ -kötés tovább erősödik. Találtunk tehát egy közvetlen, ESR-spektroszkópiai bizonyítékot a csatolt kelátgyűrűs szerkezeteket stabilizáló hatásra az oligoglicinek monokomplexeiben.

Általánosan elfogadott, hogy a diglicin lúgos tartományban képződő $[CuLH_2]^-$ komplexében a negyedik ekvatoriális helyen lévő vízmolekula deprotonálódik. Ez együttjár a g_o kismértékű csökkenésével (5. táblázat), ami valamivel kovalensebb fém-donorum kötési jellegre utal (a protonvesztést ugyanis nem kíséri a látható színekécsáv kékelődése). Ugyanakkor azonban a_{No} kicsivel kisebb, mint a $[CuLH_1]$ komplexben, ami úgy lehetséges, hogy a kevésbé kovalens réz(II) - nitrogén σ -kötést erősebben kovalens π -kötés kompenzálja; hasonló versengés a különböző fém-ligandum kötések között megfigyelhető volt más réz(II)-komplexekben is [55, 59, 63, 64, 83]. Az OH^- ion kötődésének másik hatása A_o drámai csökkenése. Ez 3d-4s pályakeveredésre, rombusz torzulásra utal, ami feltehetőleg a OH^- és a szomszédos karboxilátocsoport elektrosztatikus taszítása miatt jön létre [64, 84].

A triglicin $[CuLH_3]^{2-}$ összetételű vegyes hidroxokomplexénél kismértékű, de szignifikánsnak tekinthető g_o növekedést tapasztaltunk a $[CuLH_2]^-$ komplexhez viszonyítva, ami az ekvatoriális koordináció megváltozását valószínűsíti. Az OH^- axiális koordinációja esetén nem várunk g_o változást. Ezzel szemben, ha az OH^- a karboxilátocsoportot kiszorítva, az ekvatoriális síkban kötődik, akkor - mivel előbbi gyengébb donorum - kismértékű g_o növekedést várunk. Másrészt - mivel felbomlik a harmadik csatolt kelátgyűrű - nem várható

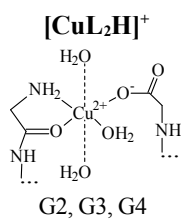
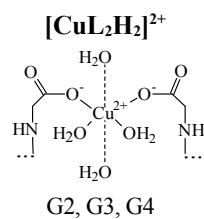
kiugróan nagy a_{No} érték. A 5. táblázat adatai igazolják mindkét várakozást, így valóban az OH^- ekvatoriális koordinációja valószínű.

4.1.4. ESR-paraméterek és koordinációs módok a biszkomplexekben

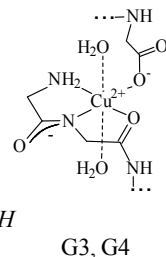
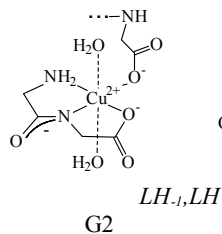
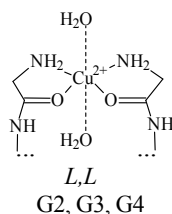
A $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2+}$ komplexekben (LH+LH) koordináció valószínű a karboxilátocsoportok kötődésével (a karboxilcsoport zömmel deprotonálódik már a szabad ligandumban is $\text{pH} = 3 - 4$ között, ahol ez a molekulafajta eléri maximális koncentrációját). A $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ molekulánál (LH+L) kötődés valószínű, az L ligandum esetén az amino-nitrogénen és peptid-oxigénen keresztül, míg a másik ligandum itt is karboxilátocsoportjával koordinálódik a fémionhoz (10. ábra). A kapott g_0 értékek megfelelnek a donortomok fenti elrendeződésének (5. táblázat).

Mivel a $[\text{CuL}_2]$ komplex két izomerjének g_0 értékei között szignifikáns a különbség (0.018-0.024 a különböző rendszerekben (5. táblázat)), így különböző ekvatoriális donortomegyütteseket kell feltételeznünk, nem csupán az ekvatoriális donortomok átrendeződését. A nagyobb mennyiségben képződő izomer g_0 értéke valamivel kisebb, mint ugyanazon ligandum $[\text{CuLH}_1]$ komplexéé, ami hasonló koordinációt sugall, kiegészítve egy további gyenge donortommal. Itt tehát (LH₁+LH) típusú koordinációt valószínűsíthetünk, ahol a második ligandum karboxilátocsoportján keresztül kapcsolódik egy CuLH_1 egységhez, miközben aminocsoportja protonált marad. A kisebbik izomer nagyobb g_0 értéke megfelel az (L+L) koordinációnak, ahol mindkét ligandum amino-nitrogénjével és peptid-oxigénjével kötődik a fémionhoz (10. ábra).

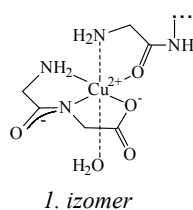
Valamennyi ligandum $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ komplexe esetében izomerpárokat mutattunk ki. A diglicinnél a két izomer g_0 értéke szignifikánsan eltér: a nagyobb mennyiségben képződő izomeré közel esik a $[\text{CuLH}_1]$ komplexéhez, hasonló donortom elrendeződést sugallva az ekvatoriális síkban, a kisebbik izomerben a kisebb g_0 nagyobb ligandumtérrőt jelez. Korábbi termodinamikai adatok szerint [79] az LH₁ ligandum háromfajú ekvatoriális kötődése fennmarad a $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ komplexben, és egy további kelátgyűrű jön létre az L ligandum amino-nitrogén és peptid-oxigén atomjainak ekvatoriális-axiális koordinációjával. Értelmezésünk szerint az izomerek ez utóbbi két donortom pozíciójának felcserélődésével jönnek létre. A nagyobb g_0 értékű izomerben a gyengébb terű peptid-oxigén, míg a kisebb g_0 értékűben az amino-nitrogén kapcsolódik ekvatoriálisan.



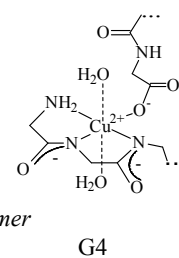
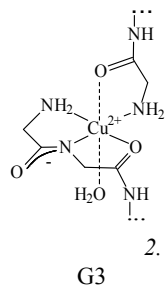
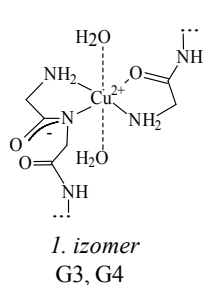
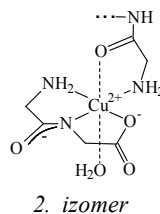
[CuL₂]



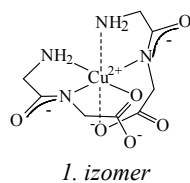
[CuL₂H₁]⁺



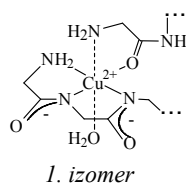
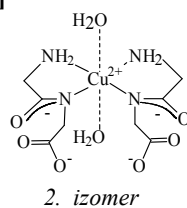
G2



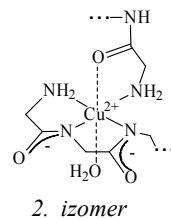
[CuL₂H₂]²⁻



G2



G3, G4



10. ábra

Javasolt koordinációs módok a réz(II) - diglicin (G2), réz(II) - triglicin (G3) és réz(II) - tetraglicin (G4) rendszerekben képződő biszkomplexekben

Utóbbi esetben a kisebb g_o -nak megfelelően nagyobb A_o értéket várnánk effektív D_{4h} szimmetria esetén, ezzel szemben A_o tetemesen kisebb: ezt rombos torulással magyarázzuk, amit - a második ligandum ekvatoriális-axiális koordinációja mellett - valószínűleg a két aminocsoport közeli elhelyezkedése okoz (10. ábra). (A nagyobb g_o -lal jellemezhető izomerben is valószínű a rombos torzulás, ezt állapíthatjuk meg, ha paramétereit összevetjük a $[CuLH_1]$ paramétereivel: nemcsak g_o értéke, hanem A_o értéke is kisebb, mint az utóbbi molekulafajtáé.)

A triglicin $[CuL_2H_1]$ komplexében elvileg létrejöhetne (LH_2+LH) -típusú koordináció, ahol az egyik ligandum amino- és két deprotonált peptid-nitrogénjével, a másik pedig karboxilátocsoportjával koordinálna, de ehhez meg kellene bomlania a $[CuLH_2]$ komplexre jellemző, négyfogú, három csatolt kelátgyűrűs, igen stabil kötésmódnak, hogy a negyedik koordinációs helyről az első ligandum karboxilátocsoportját a másik molekula ugyanolyan típusú donorcsoportja kiszoríthassa. Ez nem valószínű, amit az is alátámaszt, hogy a két izomer közeli g_o értékei azonos minőségű donoratomokat jeleznek az ekvatoriális síkban, de geometriai izomériára az (LH_2+LH) koordinációnál nincs lehetőség. Sokkal valószínűbb az (LH_1+L) kötésmód, ahol az L ligandum aminocsoportja ekvatoriálisan kötődik a fémionhoz. Ezt egyrészt arra alapozom, hogy a kisebb g_o valamivel erősebb ligandumteret jelez e komplex mindkét izomerjében, mint a triglicin $[CuLH_1]$ komplexében (5. táblázat). Másrészt a nagyobb arányban kialakuló izomer meglehetősen nagy A_o értéke kizárja, hogy számottevő rombos torzulás lenne e molekulafajtában; nagy valószínűséggel a ligandumok kétfogú diekvatoriális kötődése valósul meg az aminocsoportok transz elhelyezkedése mellett. (Ekkor a deprotonálódott ligandum peptid-oxigénje nem vesz részt az ekvatoriális koordinációban.) A kisebb mennyiségben képződő izomerben a tekintélyes rombos torzulás az aminocsoportok cisz elrendeződésére és az L ligandum ekvatoriális-axiális koordinációjára utal; ekkor a deprotonálódott tripeptid peptid-oxigénje is kialakíthat ekvatoriális kötést a fémionnal (10. ábra). (Meg kell azonban jegyezni, hogy az ESR-adatok alapján nem zárható ki teljes biztonsággal az L ligandum diekvatoriális kötődése sem.)

A tetraglicin és triglicin $[CuL_2H_1]$ komplexe 1. izomerjének g_o és A_o értékei a hibahatáron belül megegyeznek (5. táblázat), így ugyanazt a koordinációt javasoljuk a tetraglicinkomplexnél is (10. ábra). A triglicinnel ellentétben azonban itt az 1. izomerből van kevesebb. A nagyobb mennyiségben képződő izomer g_o értéke jóval kisebb, ami jóval erősebb ligandumteret jelez (5. táblázat). A $[CuLH_2]$ komplexhez képest 0.008-del kisebb a g_o érték, ami megfelel annak, hogy az LH_2 összetételű ligandum amino-nitrogénje és két deprotonált

peptid-N⁻-je mellett egy másik, LH összetételű ligandum karboxilátcsoportja foglalja el a negyedik ekvatoriális helyet (10. ábra).

A $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplex a diglicin esetében kétféle deprotonálódási lépés során keletkezhet: vagy a $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ komplex L ligandumának protonvesztésével, vagy úgy, hogy egy OH⁻ ion koordinálódik ehhez a molekulához. A kis g_o értékek az előbbi esetet támasztják alá. A kisebbik g_o értékű, kisebb mennyiségben képződő izomerben mindkét ligandum diekvatoriális kötődése valószínű az amino- és deprotonált peptid-nitrogének keresztül (4N izomer). A g_o -hoz mérten kis A_o rombos torzulást jelez, ezért az azonos típusú donoratomok alacsonyabb szimmetriájú, cisz elrendeződése valószínű (10. ábra). A nagyobb g_o érték a másik izomerben csak 3 nitrogén donoratom ekvatoriális kötődésének felel meg, ami az első ligandum háromfogú ekvatoriális koordinációja esetén szükségszerű: ekkor csak egy szabad ekvatoriális pozíció marad a másik ligandum számára (3N izomer). Nagy valószínűséggel a peptid-N⁻ foglalja el ezt a helyet, hiszen a fémion-indukált deprotonálódás feltétele, hogy a kialakult kötés erős legyen. A második ligandum amino- és karboxilátcsoportjai axiális kötések alakíthatnak ki (10. ábra).

A számottevő eltérés az izomerek g_o értékei között a triglicin és tetraglicin $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexénél eltérő ekvatoriális donoratom-együtteseket jelez, és kizárja azt a lehetőséget, hogy mindkét izomerben ugyanolyan (LH₁+LH₁) koordináció alakulna ki ugyanazon ekvatoriális donoratomok eltérő elrendeződésével (cisz-transz izoméria). A kisebbik izomer esetében a g_o érték még a diglicin megfelelő komplexének 4N-es izomerjénél is lényegesen kisebb (5. táblázat), holott már abban is a lehetséges legerősebb terű donoratomok szerepelnek (2 amino-nitrogén + 2 peptid-N⁻) (10. ábra). A triglicin és tetraglicin esetében ugyanezen donoratomok mellett a szignifikánsan kisebb g_o -t kovalensebb fém-ligandum kötésekkel magyarázhatjuk, mint az analóg diglicinkomplexben. A monokomplexekben igen szemléletesen mutatkozott meg a csatolt kelátgyűrűs szerkezetek kiemelkedő stabilitása; ezzel összhangban, itt is csatolt kelátgyűrűs szerkezetet, (LH₂+L) koordinációt feltételezünk. A két ligandum aminocsoportjai cisz helyzetbe kényszerülnek a deprotonálódott ligandum háromfogú ekvatoriális kapcsolódása folytán, ami rombos torzuláshoz és az A_o csökkenéséhez vezet (5. táblázat). A nagyobb mennyiségben kialakuló izomernek a $[\text{CuLH}_2]^-$ komplexhez közeli) nagyobb g_o értékét hasonló (LH₂+L) kötésmódhoz rendelhetjük, de itt az L ligandum peptid-oxigénje foglal el ekvatoriális pozíciót, míg amino-nitrogénje axiálisan koordinálódik (10. ábra).

Ha elfogadjuk a biszkomplexekre fentebb javasolt szerkezeteket, illetve a csatolt kelátgyűrűs struktúrák kiemelt stabilitását a biszkomplexek esetében is, magyarázat kínálkozik a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexek igen eltérő deprotonálódási pK-ira a három rendszerben. A diglicinnél ez jóval nagyobb (pK=11.34), mint a másik két ligandumnál (pK=8.21 és 8.32), ami érthetővé válik, ha figyelembe vesszük, hogy a diglicin esetében a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-2}]^{2-}$ komplex képződéséhez mindkét ligandum deprotonálódása szükséges. Ezen túlmenően a 4N-es izomer esetében egy erős háromfogú kötődést, két csatolt kelátgyűrűs szerkezetet bont meg a második ligandum kötődése, a 3N-es izomernél pedig megmarad ugyan a két csatolt kelátgyűrűs struktúra, de itt a horgony aminocsoport csak egy gyenge axiális kötést létesít. A fenti tapasztalatok és a nagy pK érték magyarázata összhangban van Lukas és munkatársai eredményeivel [83], akik diglicin-analóg szubsztituált primer foszfinsavak esetében a karboxilátcsoportot helyettesítő foszfinátcsoport bázicitását a szubsztituens minőségével befolyásolni tudták, és azt tapasztalták, hogy ahol a láncvégi donorcsoport kevésbé savas (bázikusabb), s így erősebben tud kötődni a fémionhoz, ott megnő a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplex deprotonálódási pK-ja, a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-2}]^{2-}$ komplex képződése a lúgosabb tartományba tolódik..

4.2. Réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszer

4.2.1. Irodalmi áttekintés

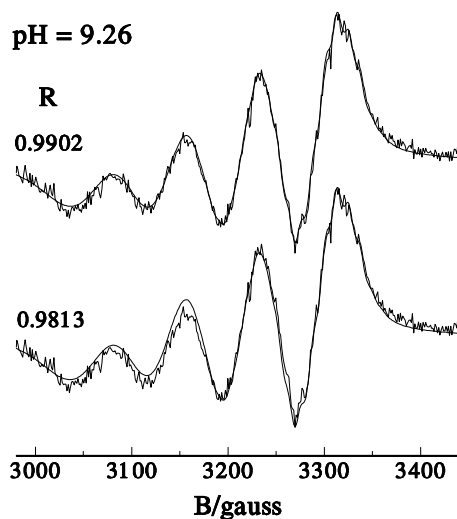
A réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszerben képződő legtöbb komplex összetétele és képződési állandója már ismert, de a többmagvú molekulafajtákkal kapcsolatosan nem alakult ki egységes álláspont, és a biszkomplexek képződési állandói a különböző közleményekben jelentősen eltérnek [72, 85-93]. Az oldalláncbeli imidazolcsoport tovább növeli a lehetséges koordinációs módok változatosságát az egyszerű dipeptidekhez képest. Egyes szerzők a dipeptidekkel való hasonlóságot, mások az oldallánc szerepét hangsúlyozzák. Ekvimoláris oldatban a lúgos tartományban Brookes és Pettit [72] szerint a $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexet fokozatosan a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-3}]^-$, majd a $[\text{CuLH}_{-2}]^-$ összetételű molekulafajta váltja fel. Más szerzők nem vették figyelembe a dimer komplexet [85-89]. Sóvágó és munkatársai [85] spektroszkópiai adatokra támaszkodva a pirrol-NH deprotonálódását és a $[\text{Cu}_4\text{L}_4\text{H}_{-8}]^{4-}$ tetramer képződését valószínűsítették a lúgos tartományban. Néhány szerző erősen lúgos közegben az ekvatoriális vízmolekula deprotonálódását és a $[\text{CuLH}_{-1}(\text{OH})]^-$ vegyes hidroxokomplex kialakulását feltételezi [72, 86, 88, 90]. A biszkomplexek esetében az egyik ligandum

háromfogú ekvatoriális kötődése a deprotonált peptid-nitrogén részvételével általánosan elfogadott [72, 85-89], az összetétel ezt hangsúlyozva a következőképpen adható meg: $[\text{Cu}(\text{LH}_{-1})(\text{LH})]$ és $[\text{Cu}(\text{LH}_{-1})\text{L}]^-$. A második ligandum esetében mindkét biszkomplexben az imidazol-nitrogén kötődését javasolják [72, 85, 86, 91, 92].

4.2.2. Egyensúlyi modell

A pH-potenciometriás vizsgálatok savas közegben a $[\text{CuLH}]^{2+}$, $[\text{CuL}]^+$ és $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexeket mutatták ki [72, 85-89, 91-93]. Ezen komplexek mellett az erősen savas tartományban a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ komplexszel egészítettük ki az egyensúlyi modellt: ez szükséges volt a spektrumok kielégítő leírásához, valamint ahhoz, hogy az akvakomplex paraméterei ne térjenek el szignifikánsan a független mérések során meghatározott értékektől.

Ekvimoláris oldatban, pH = 8 fölött az ESR-spektrumokban megjelenik egy rosszul feloldott komponens görbe, amelyet a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-3}]^-$ komplexhez rendeltünk. E molekulafajta kihagyásakor főleg a pH = 9 - 10 közötti tartományban szemmel láthatóan rosszabb a színeképi egyezés (11. ábra). Ugyanilyen összetételű komplexet egyszerű dipeptid ligandumok esetében is kimutattak, bár azokban a rendszerekben e molekulafajta ESR-inaktív volt [94].

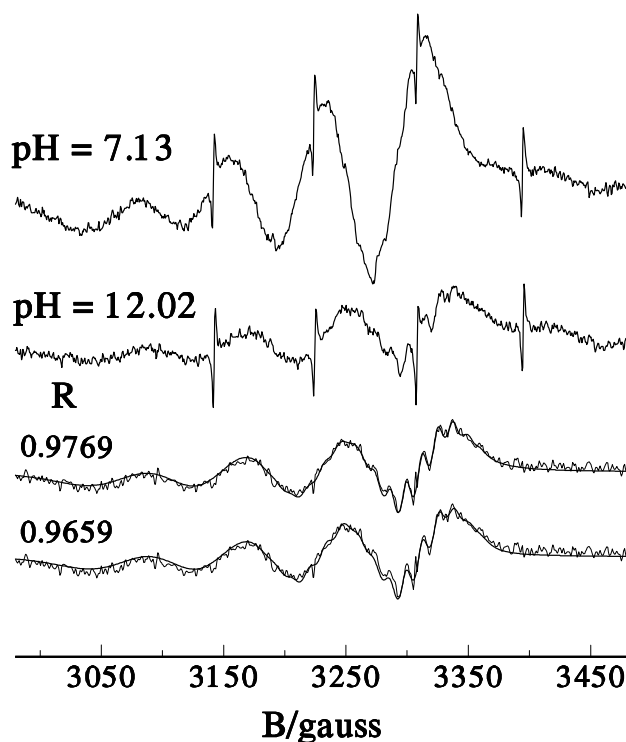


11. ábra

Kísérleti és számított ESR-spektrumok a réz(II)-glicil-L-hisztidin rendszerben ($T_{\text{Cu}} = T_{\text{L}} = 5$ mM, pH = 9.26) a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-3}]^-$ komplex figyelembevételével (felső spektrum) és anélkül (alsó spektrum)

A pH további növekedésével (pH = 9 fölött) a jelintenzitás gyorsan és jelentősen csökken (12. ábra), ami egy ESR-inaktív komplex, nagy valószínűséggel a korábban már spektroszkópiai adatok alapján [85, 91, 92] javasolt $[\text{Cu}_4\text{L}_4\text{H}_{-8}]^{4-}$ tetramer képződésének következménye. A pH = 11 feletti, kis intenzitású spektrumok jelzik, hogy kisebb

koncentrációban monomer $[\text{CuLH}_2]^-$ komplex is jelen van. Sőt, egyetlen $[\text{CuLH}_2]^-$ komplex nem volt elegendő, szemmel is láthatóan javult a színképi egyezés (12. ábra), amikor két komponens görbe összegeként írtam le e spektrumokat, vagyis két különböző szerkezetű, $[\text{CuLH}_2]^-$ összetételű molekulafajtát feltételeztem.



12. ábra

ESR-spektrumok a réz(II)-glicil-L-hisztidin rendszerben egyező fémion- és ligandumkoncentrációnál, pH = 7.13 és 12.02 -nél. A nagyobb pH esetén a felső spektrum a mért, az alsó kettő az üvegjellel korrigált spektrum és annak leírása két komponens görbe összegeként (felül), és egykomponensű görbeként (alul)

Az 6. táblázatban foglaltam össze a réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszer esetén a kétdimenziós ESR-értékeléssel meghatározott, továbbá az irodalmi pH-potenciometriás képződési állandók logaritmusát. A monokomplexek esetében az irodalmi adatok viszonylag kisebb eltéréseket mutatnak (mintegy 0.5 egységnyi tartományon belülre esnek); az ESR-rel meghatározott értékek beillenek az irodalmi adatok sorába. A biszkomplexeknél sokkal szélsőségesebb eltérések vannak az irodalmi adatok között (mintegy 2 logaritmus egység).

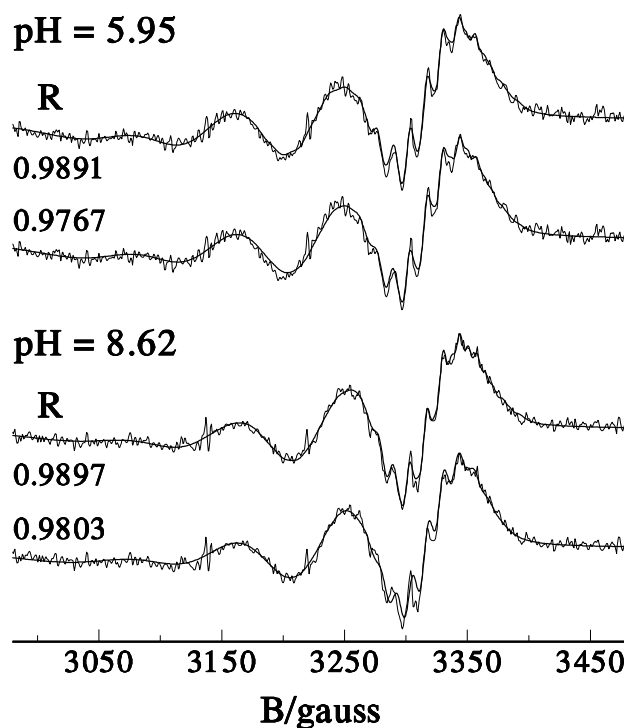
6. táblázat A glicil-L-hisztidin réz(II)-komplexeinek képződési állandói ($\log\beta$)

ESR		Irodalmi	
a	b,c	b	
10.31	10.31	10.31	10.31
10.31	10.31	10.31	10.31

CuLH_2^{3+}	15.0(1)						
CuLH_2^{2+}	12.50(6)	12.08		12.25		12.45	
CuLH^+	9.14(5)	8.76	8.92	8.68	9.14	8.96	8.92
CuLH^{-1}	4.72(5)	4.76	4.58	4.54	4.80	4.81	4.60
CuLH_2^{2-}	1.0(2) ^d				2.2		
CuLH_2^{-2}	5.1(2)	4.70	4.85	4.84	4.84		5.25
1. izomer	-5.4(1)						
2. izomer	-5.4(1)						
CuL_2^{4-}	11.78(6) ^d						
CuL_2^{2-}	15.62(6)	14.92	14.66	15.41	16.52	15.06	14.67
1. izomer	15.28(5)						
2. izomer	15.23(5)						
CuL_2^{-1}	8.65(6) ^d	7.42		7.68	8.44	8.92	6.21
1. izomer	8.40(5)						
2. izomer	8.30(5)						

^a Az $[\text{LH}]$, $[\text{LH}_2]^+$ és $[\text{LH}_3]^{2+}$ protonált ligandumok $\log\beta$ értékei 8.2, 14.95 és 17.41 [72]. A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. ^b Képződési állandó értékek az L-alanil-L-hisztidin komplexekre 37 °C-on. ^c Az ESR-paramétereket nem illesztették. A különböző tereknél mért intenzitásokat bontották fel a pH-potenciometriásan azonosított komplexek hozzájárulásaira. ^d $\log\beta = \log(\beta_{1.\text{ izomer}} + \beta_{2.\text{ izomer}})$

A ligandumfeleslegben képződő $[\text{CuL}_2]$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexek rendkívül nagy hasonlóságot mutató ESR-spektrumait szintén nem lehetett kielégítően leírni egykomponensű görbeként, ezért mindkét komplexnél két eltérő koordinációjú izomert tételeztem föl (13. ábra). E molekulák összetételének megfelelően 4, illetve 5 nitrogénatom koordinációjára van lehetőség, tehát az ekvatoriális síkban akár 4 N donortom is szerepelhet; ugyanakkor az egyik izomer viszonylag magas g_0 értéke (l. a következő fejezetben) inkább 3 ekvatoriális nitrogénatom jelenlétét valószínűsíti. Emiatt az illesztést elvégeztem az egyik izomerben 3, a másikban 4 ekvatoriális nitrogénatomot feltételező (3N+4N) szuperhiperfinom-felhasadási modellel is, és mindkét izomerben 4 ekvatoriális nitrogénatomot figyelembe vevő (4N+4N) modellel is. A $[\text{CuL}_2]$ komplexnél a (3N+4N) modell adta a legjobb egyezést. A $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplex esetében a (4N+4N) modellt a statisztikai paraméterek alapján nem lehetett kizárni; itt azért választottuk a (3N+4N) modellt, mert a $[\text{CuL}_2]$ molekulafajta színképi adataival való igen jó egyezés azonos koordinációs módokat sugall: a két komplex látható abszorpciós spektruma a hibahatáron belül megegyezik [85], és ugyanez áll a megfelelő izomerek ESR-spektrumaira is.



13. ábra

Mért és számított ESR-spektrumok hússzoros glicil-L-hisztidin feleslegben, pH = 5.95-nél és 8.62-nél, a $[\text{CuL}_2]$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexek maximális koncentrációjánál. A felső görbéken a számított spektrum két komponens összege, az alsókon egykomponensű

A $[\text{CuLH}_2]^{3+}$, $[\text{CuLH}]^{2+}$, $[\text{CuL}]^+$, $[\text{CuLH}_{-1}]$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-3}]^-$, kétféle szerkezetű $[\text{CuLH}_{-2}]^-$, $[\text{Cu}_4\text{L}_4\text{H}_{-8}]^{4-}$, továbbá az izomer-párok elegyeként létező $[\text{CuL}_2]$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexekből alkotott egyensúlyi modell alapján tudtam tehát a legjobb színképi egyezést elérni. A teljes spektrumsorozatra kapott eredő regressziós együttható $R = 0.98906$. A $\Delta R = 0.00019$, két modell összehasonlításakor az R érték ennél nagyobb növekedése/csökkenése esetén lehet szignifikáns javulásról/romlásról beszélni. Bármely komplex elhagyásakor szignifikánsan romlott az egyezés. Ennek alátámasztására a 7. táblázatban bemutatom a kisebb mennyiségben képződő komplexek elhanyagolásakor bekövetkező eredő regressziós együttható csökkenésnek (ΔR) a kritikus értékhez viszonyított arányát.

7. táblázat $\Delta R / \Delta R_{\text{kritikus}}$ a réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszerben

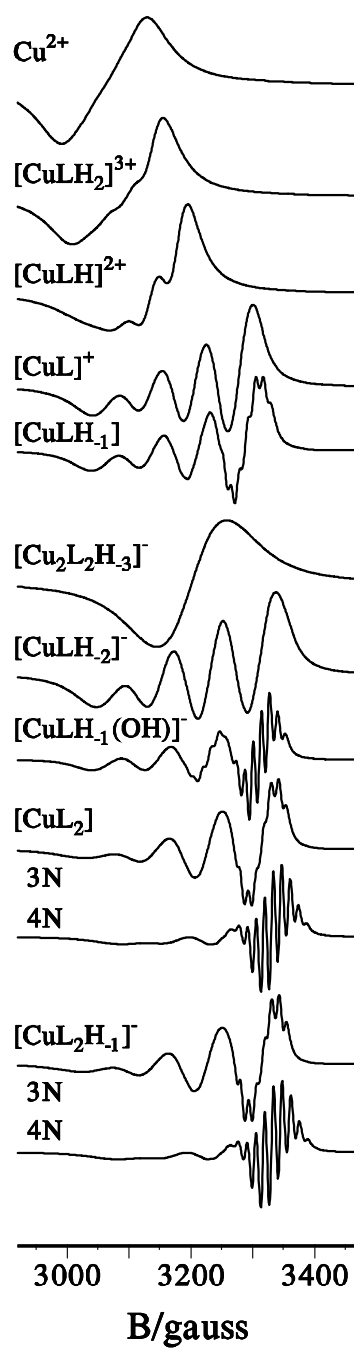
Kihagyott komplex	$\Delta R / \Delta R_{\text{kritikus}}$
-------------------	---

$[\text{CuLH}_2]^{3+}$	13.7
$[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$	5.6
$[\text{CuLH}_2]^-$, egyik izomer	3.4
$[\text{CuL}_2]$, egyik izomer	3.9
$[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$, egyik izomer	5.6

Meg kell jegyezni, hogy ligandumfeleslegben $\text{pH} = 10$ fölött a fentebbi modell alapján nem lehetett jól leírni a spektrumokat, és a modell további bővítésére tett kísérletek sem jártak sikerrel. Minden valószínűség szerint további deprotonálódási folyamatok játszódnak le (pirrol-NH deprotonálódása és/vagy egy második peptid-nitrogén protonvesztése a biszkomplexekben), és ennek következtében több új molekulafajta képződik kis koncentrációban és nagyon hasonló ESR-paraméterekkel.

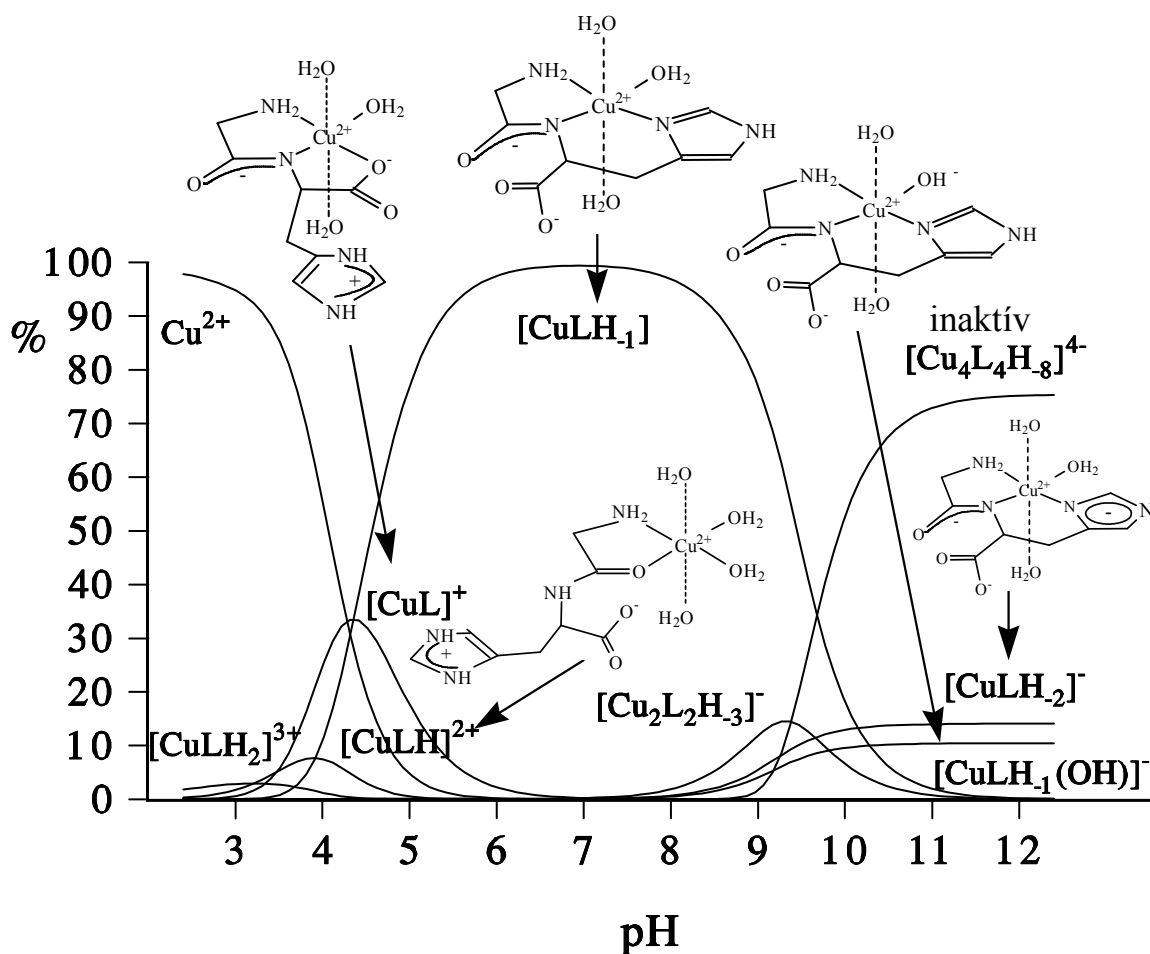
4.2.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok

A réz(II) - glicil-L-hisztidin komplexek ESR-paramétereit a 8. táblázatban, az ebből számolható komponens spektrumokat az 14. ábrán mutatom be. A szinképi illeszkedés a komplexek zömének paramétereire érzékeny volt. A kis mennyiségben képződő, széles szinképvonalakkal, gyengén feloldott (szuper)hiperfinom-szerkezettel leírható $[\text{CuLH}_2]^{3+}$, $[\text{CuLH}]^{2+}$ és $[\text{CuLH}_2]^-/1.$ izomer paramétereire az illesztés kevésbé volt érzékeny, itt nagyobb konfidencia-intervallumok adódtak.



14. ábra

A réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszerben kimutatott komplexek ESR-spektrumai (a 8. táblázat és a Függelék 3. táblázatának adatai alapján, 9.4 GHz frekvencián)



15. ábra

A réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszer koncentrációeloszlási görbéje 1:1 fém-ligandum koncentrációarányánál (az ESR-értékelésből kapott $\log \beta$ adatok alapján (6.táblázat)), valamint a monokomplexek szerkezete

A $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ komplex fel nem oldott spektruma (14. ábra) jól tükrözi az összekapcsolódott paramágneses centrumok közötti mágneses dipólus kölcsönhatás vonalkiszélesítő hatását. Az ugyanezen összetételű molekulafajta az egyszerű dipeptidok esetében, ahol nagy valószínűséggel hidroxó-hidas szerkezet alakul ki, diamágneses [61, 94]. A glicil-L-hisztidin komplexben a paramágneses centrumok közötti kölcsönhatás gyengébb, nem zárható ki, hogy nem hidroxó-, hanem imidazoláto-híd alakul ki a monomer egységek között.

A $[\text{CuLH}_2]^-$ komplex esetén a kétféle koordinációs módot azzal magyarázhatjuk, hogy egyik izomerben egy vízmolekula, a másikban a pirrol-NH deprotonálódik. Az egyszerű dipeptidok azonos összetételű molekulafajtája csakis a vegyes hidroxokomplex lehet. Ezen utóbbi komplexek spektrumának egyik legfőbb jellegzetessége a jól feloldott

szuperhiperfinom-szerkezet és az egyforma nitrogén-csatolási állandók [61, 84, 90, 96]. A 2. izomer spektruma mutat hasonló tulajdonságokat (14. ábra, 8. táblázat), így valószínűleg ez a vegyes hidroxokomplex, míg az 1. izomer jön létre a pirrol-NH deprotonálódásával (15. ábra). E hozzárendeléssel a g_0 értékek is összhangban vannak (8. táblázat), mert az imidazolátocsoport erősebb ligandumteret képvisel, mint az imidazolcsoport és a hidroxocsoport együttesen.

A $[\text{Cu}_4\text{L}_4\text{H}_{.8}]^{4-}$ tetramer diamágneses, ami erős réz(II)-réz(II) kölcsönhatást jelez. Látható spektroszkópai adatok alapján feltételezik, hogy mindegyik imidazolátó-gyűrű két szomszédos réz(II)ionhoz kapcsolódik, és egy ciklikus szerkezetű tetramer alakul ki, amelyben valamennyi réz(II)ion körül 4 ekvatoriális N-donoratom helyezkedik el - ez okozza a látható abszorpciós sáv kékelődését a glicil-L-hisztidin [85] és más hasonló ligandumok [91, 92] esetében, amikor $\text{pH} = 12$ körül a $[\text{CuLH}_{.1}]$ komplex protonvesztésével a fenti molekulafajta kialakul.

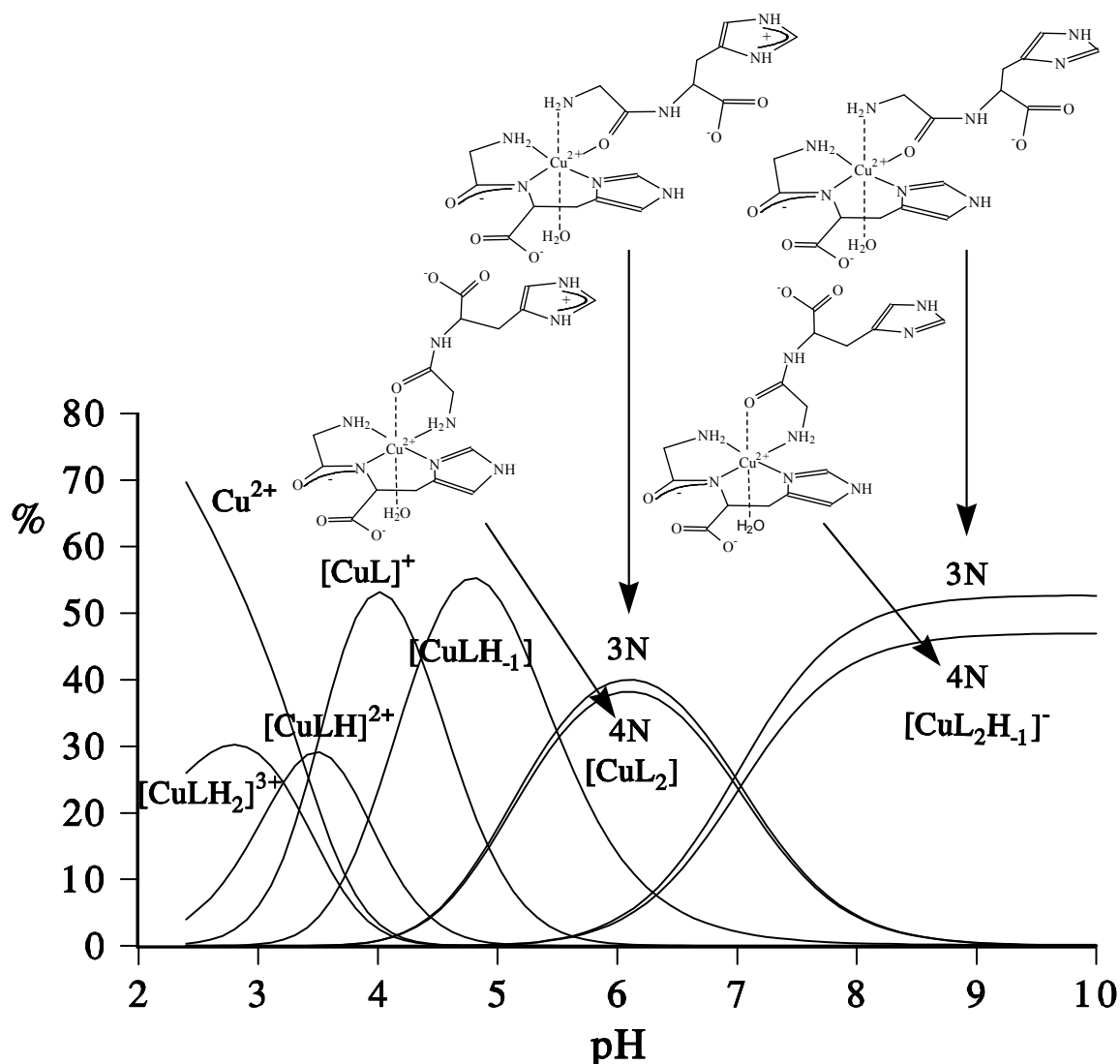
4.2.3.2. Biszkomplexek

Mindkét biszkomplex esetében általánosan elfogadott, hogy az egyik ligandum peptid-nitrogénje deprotonálódik, és ez a ligandum ugyanúgy kötődik, mint a $[\text{CuLH}_{.1}]$ komplexben [72, 85, 91, 92]. Szintén elfogadott, hogy a $[\text{CuL}_2]$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_{.1}]^-$ komplexekben a koordináció módja megegyezik, hiszen abszorpciós és CD spektrumaik közel azonosak [85, 91, 92]; a megegyező koordinációs módot támasztják alá ESR-spektroszkópai adataink is a két komplex megfelelő izomerjeinek vonatkozásában (8. táblázat). Mindez azt jelenti, hogy a $[\text{CuL}_2]$ komplex protonvesztése olyan donorcsoporton következik be, amely sem ebben, sem a keletkező $[\text{CuL}_2\text{H}_{.1}]^-$ komplexben nem vesz részt a koordinációban. Ebből az is következik, hogy a $[\text{CuL}_2]$ komplex deprotonálódási pK -ja várhatóan megegyezik a koordinációban részt nem vevő donorcsoport szabad ligandumbeli deprotonálódási pK -jával. Ennek alapján javasolja az irodalom a második ligandum egyfogú imidazol koordinációját mindkét biszkomplexben [72, 85, 91, 92]): a pH -potenciometriás mérések szerint a $[\text{CuL}_2]$ komplex deprotonálódási pK -ja ($\text{pK} = 7.5 - 8.4$, a 6. táblázat adataiból) közel esik a szabad ligandum aminocsoportjának pK -jához ($\text{pK} = 8.2$), ami az előbbieket értelmében arra utal, hogy a második ligandum aminocsoportja nem vesz részt a koordinációban. Ezt támasztja alá egy kémiai rokon ligandum, a glicil-L-hisztidin-glicin deprotonálódási entalpiája a $[\text{CuL}_2]$ komplexben: ez a szabad ligandum aminocsoportjának deprotonálódási entalpiájához közeli érték.

Több kísérleti adatunk ugyanakkor ellentétes az irodalomban javasolt fentebbi koordinációs móddal. Az egyik ilyen kísérleti tény az izomerek g_o értékei jelentik: nem felelnek meg annak a feltételezésnek, hogy az első ligandum háromfogú ekvatoriális kötődése mellett a negyedik ekvatoriális pozíciót az imidazol-nitrogén foglalja el. A 2. izomer g_o -ja a $[CuLH_{.1}]$ komplexénél mintegy 0.030-del kisebb, ami sokkal inkább megfelel a második ligandum aminocsoportja, semmint imidazol-nitrogénje koordinálódásának (utóbbi esetben 0.010-0.015-nyi különbség várható). Az 1. izomer g_o értéke a 2. izomerénél tetemesen, mintegy 0.022-vel nagyobb, aminek alapján e molekulákban is rendkívül valószínűtlen, hogy a második ligandum imidazol-nitrogénje foglalná el a negyedik ekvatoriális pozíciót: abban az esetben lényegesen kisebb g_o növekedést várnánk. E várakozást a hisztamin- és hisztidinkomplexek korábbi összehasonlító vizsgálatára alapozom [61]. A hisztamin $[CuL_2H]^{3+}$ komplexében a protonált ligandum imidazol-nitrogénjével kapcsolódik a fémionhoz, az L-hisztidin ugyanezen komplexében aminokarboxilátokötésmódot mutattak ki - de a hisztidinkomplex g_o -ja csak 0.013-del kisebb, pedig az erősebb terű aminocsoport helyettesíti a hisztaminkomplex imidazol-nitrogénjét, és még a karboxilátocsoport bekötődése is hozzájárul a g_o csökkenéséhez. A glicil-L-hisztidin biszkomplexeinek 1. izomerjében tehát csak 0.010 körüli g_o növekedést várnánk, ha a 2. izomerbeli aminocsoport helyett az imidazolcsoport foglalná el a negyedik ekvatoriális kötés helyet. Sokkal valószínűbb, hogy ebben a pozícióban csupán egy gyenge oxigéndonor van, ebből adódik az izomerek közötti meglehetősen nagy g_o különbség. További kísérleti tény, hogy vizsgálataink szerint a két $[CuL_2]$ izomer deprotonálódási pK-ja a hibahatáron belül megegyezik (pK = 6.98, ill. 7.01), és közel esik a szabad ligandum imidazolcsoportjának deprotonálódási pK-jához (pK = 6.8 [49,56-63]), ami azt támasztja alá, hogy mindkét komplex mindkét izomerjében az imidazolcsoport a nem koordinálódó donorcsoport. (Ha a $[CuL_2]$ komplexben mégis imidazolkoordináció valósulna meg, amit az aminocsoport protonvesztésekor aminokoordináció váltana föl (ezért csökkenne a pK a szabad ligandum amino pK-jához képest), ennek meg kellene mutatkoznia az ESR-paraméterek változásában, de ezek az adatok a hibahatáron belül megegyeznek.)

Mindezek alapján az egyszerű dipeptidek $[CuL_2H_{.1}]$ komplexével analóg koordinációt tartom a legvalószínűbbnek. A deprotonált ligandum háromfogú ekvatoriális kötődése valósul meg mindkét izomerben (de a glicil-L-hisztidin esetében a harmadik donor az imidazol-, nem pedig a karboxilátocsoport). A másik ligandum amino-nitrogén és peptid-oxigén atomjaival ekvatoriális-axiális helyzetben kapcsolódik a fémionhoz; az izomerek abban térnek el, hogy e két donortom közül melyik foglalja el az ekvatoriális helyet. Az analóg kelátgyűrűs szerkezet

stabilitását számos, az előző fejezetben ismertetett irodalmi példa is bizonyítja az egyszerű dipeptidek komplexében.



16. ábra

A réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszer koncentrációeloszlási görbéje 20-szoros ligandumfeleslegben (az ESR-értékelésből kapott log β adatok alapján (6.táblázat)), valamint a biszkomplexe javasolt szerkezete

Az glicil-L-hisztidin biszkomplexeire javasolt koordinációs módokat a látható abszorpciós színek hullámhossza is alátámasztja. A módosított Billo-szabály [62] alapján a 4N izomerre mintegy 540 nm-es λ_{max} számolható, míg a 3N izomerre ez az érték 593 nm körüli. Ha figyelembe vesszük, hogy az izomerek koncentrációja közel megegyezik, és feltételezzük, hogy moláris abszorpciós koefficiensük is közel azonos (a monokomplexe

esetén ez a tapasztalat [85, 91, 92]), akkor az izomerelegy színeképsávja várhatóan a fenti hullámhosszak átlagához közel, 567 nm körül (illetve, ha a 3N izomerben a viszonylag erős axiális kötés miatt várható kis vörösetolódást is tekintetbe vesszük, valamivel afölött) jelenik meg. A mért érték ehhez igen közeli, 575 nm a glicil-L-hisztidin [91] és 568 nm a glicil-L-hisztamin [92] komplexre.

(Meg kell jegyezni, hogy mind az abszorpciós színeképsáv hullámhosszát, mind a ϵ_0 értékeket az ekvatoriális donorumok együttese határozza meg, így azok nem bizonyító erejűek az axiálisan kötődő donorumok anyagi minősége tekintetében. Adataink alapján tehát nem zárható ki az a lehetőség sem, hogy a $[\text{CuL}_2]$ 1. izomerben nem az axiális aminos-nitrogén - ekvatoriális peptid-oxigén koordináció, hanem axiális imidazol koordináció jön létre; a pH növekedtével, a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ 1. izomerjében alakul csak ki a fenti kelát, és a rézhez való kötődés csökkenti az 1. izomerben az aminocsoport deprotonálódási pK-ját a szabad ligandumhoz képest - véletlenszerűen épp akkora értékre, mint a szabad ligandum imidazolcsoportjának pK-ja. Egy ilyen változás nem követelné meg az ESR-paraméterek megváltozását, hiszen az ekvatoriális síkban változatlanul hagyná a ligandumtérerőt.)

4.3. Réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszer

4.3.1. Irodalmi áttekintés

A réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszerben még változatosabb koordinációs módok jöhetnek létre, mint a glicil-L-hisztidin vagy az egyszerű dipeptid ligandumok esetében. Itt ugyanis a peptidváz donorumjainak erős versenytársa lehet az N-terminális rész, amely az oldalláncbéli donorcsoport részvételével hisztaminszerű koordinációt alakíthat ki. Ezen túlmenően, lúgos közegben az imidazolcsoport is deprotonálódhat.

Valamennyi pH-potenciometriás vizsgálat azonosította a $[\text{CuL}]^+$ és $[\text{CuL}_2]$ komplexeket [72, 85, 97, 98], és a legtöbb kutató figyelembe vette a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}]$ dimert is [85, 97, 98]. A különböző munkák emellett egy vagy több további protonált vagy deprotonált mono- vagy biszkomplex képződéséről számolnak be. A pH-potenciometriás, ultraibolya-látható spektroszkópiái, valamint kalorimetriás és ESR-mérések alapján javasolt koordinációs módokban hasonlóan nagy eltérések vannak. A $[\text{CuL}]^+$ és $[\text{CuL}_2]$ komplexekben általánosan elfogadott a hisztaminszerű koordináció [78, 72, 85, 98], míg a dimer esetén felmerült a

hidroxo- [97], ill. az imidazolátocsoport [99] híd szerepe, más munkák pedig a peptid-nitrogén deprotonálódását és a semleges imidazolcsoport híd szerepét javasolják [98, 100].

4.3.2. Egyensúlyi modell

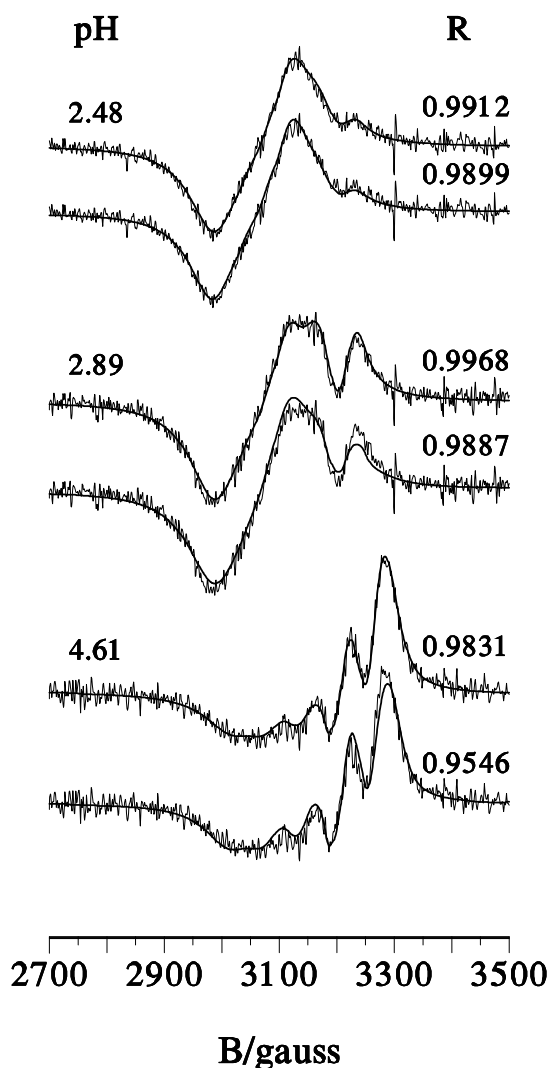
A $\text{pH} = 2 - 12$ tartományban, azonos fémion- és ligandumkoncentrációnál, ill. négyszeres ligandumfeleslegben felvett ESR-spektrumokat egy ESR-inaktív és 12 ESR-aktív komplex feltételezésével lehetett a legjobban leírni. Ezek a következők: az akvakomplex, a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ és $[\text{CuLH}]^{2+}$, a $[\text{CuL}]^+$ két izomerje, az aktív $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ és az inaktív $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ komplexek, a $[\text{CuLH}_2]^-$ és $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ molekulafajták, a $[\text{CuL}_2]$ két izomerje, továbbá a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexek. Ennél a modellnél az egyes spektrumok R_j értéke 0.986 és 0.995 között változott, az eredő regressziós paraméter (R) 0.990538-nak adódott. Ha a modellből bármelyik molekulafajtát kihagytuk, az egyezés jelentősen romlott. Néhány kisebb mennyiségben kialakuló komplex esetében az R csökkenés mértékét a kritikus értékhez viszonyítva mutatja a 9. táblázat.

9. táblázat. $\Delta R / \Delta R_{\text{kritikus}}$ értékek a réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszerben

Kihagyott komplex	$\Delta R / \Delta R_{\text{kritikus}}$
$[\text{CuLH}_2]^{3+}$	2.0
$[\text{CuLH}]^{2+}$	1.4
$[\text{CuL}]^+$, egyik izomer	2.9
$[\text{CuLH}_2]^-$	25.8
$[\text{CuL}_2\text{H}]^+$	8.3
$[\text{CuL}_2]$, egyik izomer	2.8
$[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$	4.1
$[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$	1.2

A 17. ábra szemlélteti a színképi egyezés romlását, ha a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$, a $[\text{CuLH}]^{2+}$ vagy a $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ komplexek valamelyikét elhagytuk a modellből.

Amennyiben a $[\text{CuL}]^+$ komplex esetén nem feltételezünk izomériát, vagyis csak egyetlen spektrumot rendelünk hozzá, akkor szintén jelentősen eltérnek a megfelelő kísérleti és számított görbék (18. ábra).

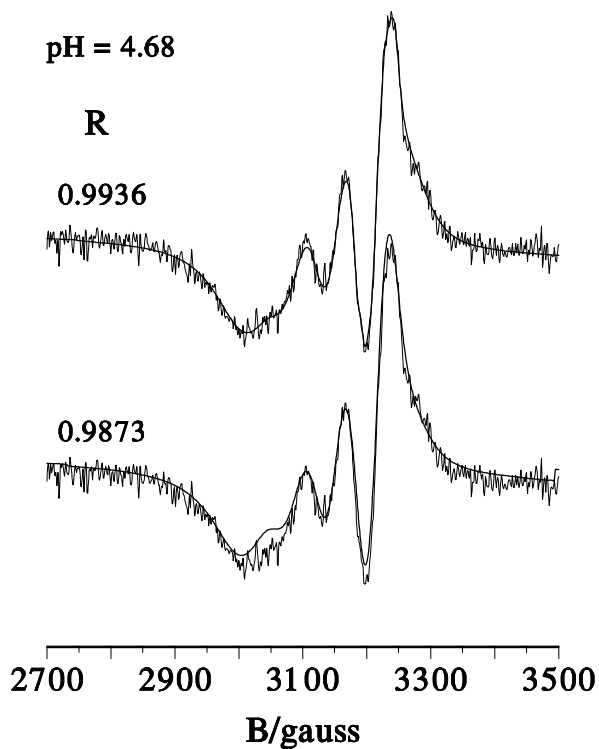


17. ábra

Kísérleti és számított ESR spektrumok L-hisztidil-glicin feleslegben. A különböző pH-knál a felső spektrum mutatja a legjobb egyezést, az alsó spektrum szemlélteti az illeszkedést, amikor egy-egy komplexet nem vettünk figyelembe. A kihagyott komplexek a növekvő pH sorrendjében: $[\text{CuLH}_2]^{3+}$, $[\text{CuLH}]^{2+}$ és $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$

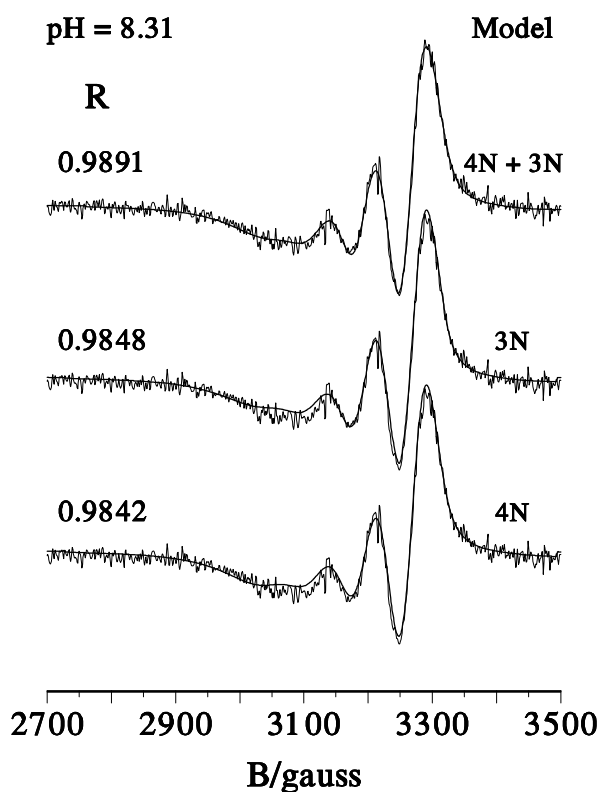
A $[\text{CuL}_2]$ komplex színeképét nem lehetett kielégítően leírni sem 3, sem 4 nitrogénatom ekvatoriális koordinációját feltételezve (19. ábra). A színeképi egyezés számottevően javult, ha e spektrumot két komponens görbe összegeként értelmeztem; különböző szuperhiperfinom-felhasadási modelleket próbáltam ki, hogy meghatározzam az ekvatoriálisan kötődő nitrogénatomok számát. A legjobb illeszkedést a (3N+4N) modell eredményezte (19. ábra), de a (3N+4N) és a (4N+4N) modellek között a színeképi egyezés alapján nem lehetett

egyértelműen különbséget tenni. A g_0 értékek szignifikáns eltérése miatt döntöttünk az előbbi modell mellett (l. alább).



18. ábra

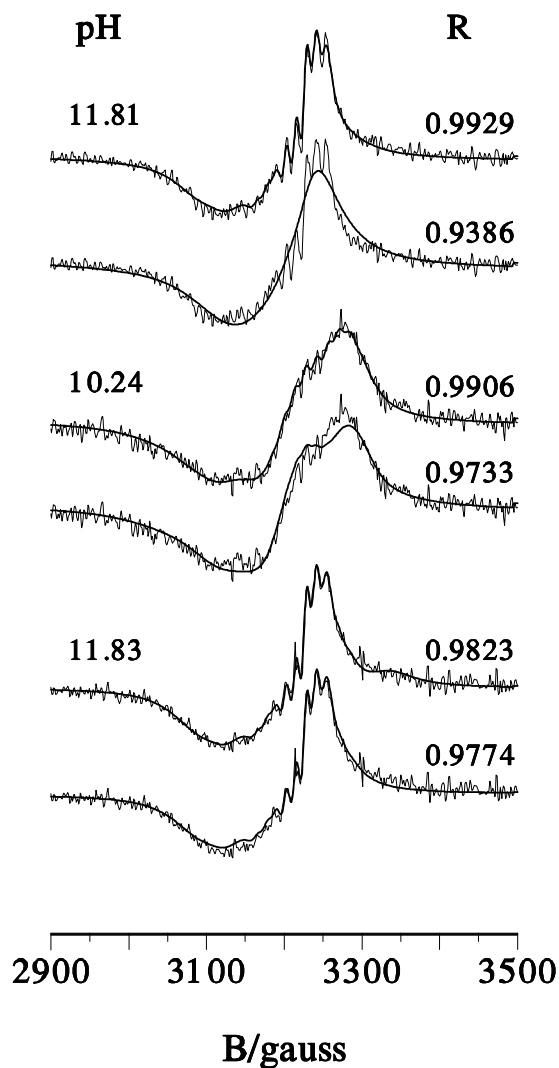
Kísérleti és számított ESR-spektrumok azonos réz(II) és L-hisztidil-glicin koncentrációnál. A felső spektrum esetén a $[\text{CuL}]^+$ komplex színeképét kétkomponensű görbeként, az alsó spektrumnál pedig egykomponensűként értelmeztük



19. ábra

Kísérleti és számított ESR-spektrumok L-hisztidil-glicin feleslegnél. A legfelső spektrum esetében a $[\text{CuL}_2]$ komplex színképét két komponens spektrum (egy 4 és egy 3 nitrogénes szuperhiperfinom-felhasadással jellemezhető görbe) összegeként, míg a két alsó spektrumot egykomponensűként írtam le. Utóbbiaknál az ekvatoriális nitrogéndonorok száma 3 (középső spektrum), ill. 4 volt (legalsó spektrum)

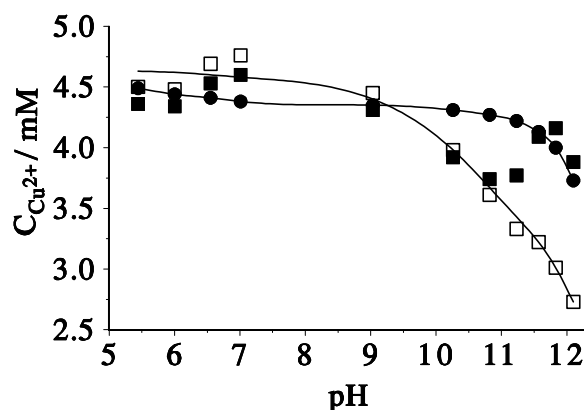
A lúgos tartományban a $[\text{CuLH}_2]^-$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ komplexek elhagyása még drámaibb csökkenést okozott az R értékében (20. ábra). Továbbá megfigyelhető, hogy az utolsó spektrumban kis mennyiségben megjelenő $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplex figyelembevétele jelentősen javítja a színképi egyezést (20. ábra).



20. ábra

Kísérleti és számított ESR-spektrumok lúgos közegben a réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszerben a legjobb modell esetén, ill. egy-egy komplexet kihagyva. $T_{\text{Cu}} = T_{\text{L}}$, pH = 11.81-nél a felső spektrum esetében a $[\text{CuLH}_2]^-$ komplexet figyelembe vettem, az alsónál kihagytam; $T_{\text{Cu}} = T_{\text{L}}$, pH = 10.24-nél a $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ komplexet vettem figyelembe, illetve hagytam el; $T_{\text{Cu}} / T_{\text{L}} = 1/4$, pH=11.83-nál a $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexet vettem számításba, illetve hagytam ki a modellből

Ha csak a fentebb felsorolt ESR-aktív komplexeket vettük figyelembe, akkor pH = 11 felett a jelintenzitásból számított teljes réz(II)-koncentráció jelentősen alatta maradt az analitikai koncentrációnak. Ha viszont bevettük a modellbe a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ összetételű inaktív komplexet, akkor ez az eltérés jelentősen csökkent (21. ábra).



21. ábra

Analitikai és számított teljes réz(II)-koncentráció azonos réz(II)- és L-hisztidil-glicin-koncentrációnál, ahol ● az analitikai fémkoncentráció, ■ az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból (10. táblázat) a tömegmérleg egyenlet alapján számolt réz(II)-koncentráció, □ utóbbi adatokból számolt fémkoncentráció, de a $[Cu_2L_2H_3]^-$ komplex figyelmen kívül hagyásával.

Az ESR-módszerrel nyert bruttó képződési állandók jól egyeznek a pH-potenciometriás mérésekből kapott értékekkel (10. táblázat), főleg a [85] és [98] közlemények adataival. Utóbbiak azonban csak a pH = 8 alatt képződő komplexek képződési állandóit adták meg. Más közleményekben [72, 97] szerepelnek néhány deprotonált komplex képződési állandói is, de ezek nagymértékben eltérnek az általunk meghatározottaktól (10. táblázat). Ennek egyik magyarázata lehet, hogy nem vettek figyelembe néhány olyan mono- és kétmagvú komplexet, amelyek az ESR-mérések szerint jelen vannak a rendszerben ebben a tartományban, és emiatt a deprotonált biszkomplexek jelenlétét és képződési állandóit túlbecsülték. Méréseink alapján azt is megállapíthatjuk, hogy az ESR-spektrumok konzisztens leírásához a $[CuL_2H_2]^{2-}$ komplexet pH = 11 alatt nem kell figyelembe vennünk. Oka lehet a pH-potenciometriás, ill. az ESR-módszerrel meghatározott állandók eltérésének a lúgos tartományban, hogy míg erősen lúgos oldatban a pH-potenciometriás képződési állandók az elektród alkáli hibájával terheltek, addig a pH-mérés ezen hibája az ESR-analízissel kapott képződési állandókban sokkal kevésbé jelenik meg, mert a komplexek egyensúlyi koncentrációját nem a pH-ból, hanem a spektrumokból számítjuk.

10. táblázat Az L-hisztidil-glicin réz(II)-komplexeinek képződési állandói ($\log\beta$)^a

					^b
Komplex	[72]	[97]	[85]	[98]	Jelen munka
$[\text{CuLH}]^{3+}$					15.05 (7)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$					
$[\text{CuLH}_3]^+$	11.00			12.10	12.17 (2) ^c
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$	8.82	8.82	8.85	8.84	8.81 (2)
<i>h</i> izomer					8.58 (4)
<i>p</i> izomer					8.58 (2)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$					
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$	8.76	1.72			
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$		6.0	8.2	8.22	8.17 (2)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$					4.20 (2)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$	8.74				8.84 (2)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$		18.56		20.06	18.88 (2) ^d
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$		14.15	15.06	15.22	14.88 (2)
<i>4N</i> izomer					14.67 (1)
<i>3N</i> izomer					14.46 (2)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$	5.88	5.66			4.60 (4)
$[\text{CuLH}_2]^{2+}$		4.1			7.28 (8)

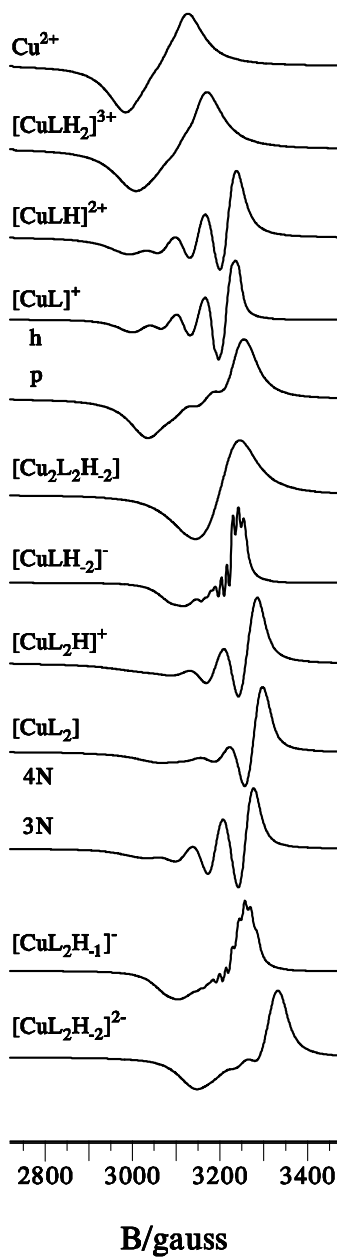
^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. ^b Az $[\text{LH}]$, $[\text{LH}_2]^+$ és $[\text{LH}_3]^{2+}$ protonkomplexek esetén 7.58, 13.53 és 16.49 $\log \beta$ értékekkel számoltunk [85]. ^c $\log \beta = \log (\beta_{\text{h izomer}} + \beta_{\text{p izomer}})$. ^d $\log \beta = \log (\beta_{\text{4N izomer}} + \beta_{\text{3N izomer}})$

4.3.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok

A komplexek-ESR paraméterei a 11. táblázatban szerepelnek, az ezekből számolt komponens ESR-spektrumokat a 22. ábrán mutatom be.

A paraméterek hibája általában kicsi, a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplexek kivételével. Ezek a molekulák csak kis mennyiségben képződnek, és spektrumuk is rosszul feloldott (22. ábra). Ráadásul a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ mellett a szintén rosszul feloldott spektrumú akvakomplex van jelen viszonylag nagy mennyiségben, a $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplex pedig csak kevés spektrumban jelenik meg. Ez okozza paramétereik nagyobb hibáját, továbbá azt, hogy a lehetséges izomeregyensúlyok vizsgálatára ezeknél a komplexeknél nem volt lehetőség.

Hogy könnyebben eldönthető legyen, egy-egy L-hisztidil-glicin komplexben hisztaminszerű vagy dipeptidszerű koordináció alakul-e ki, a 11. táblázatban feltüntettem az L-hisztidin, hisztamin és diglicin réz(II)-komplexeinek g_0 és A_0 értékeit is.

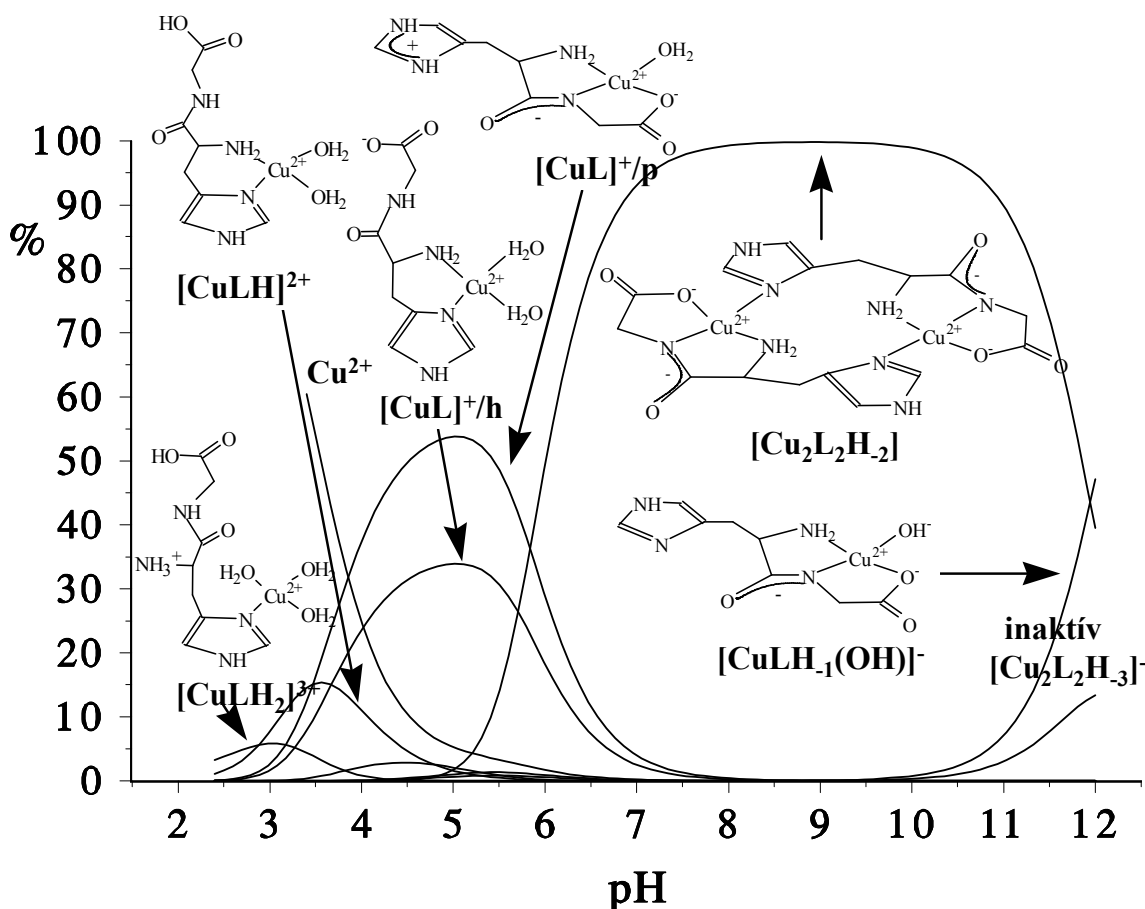


22. ábra

Az L-hisztidil-glicin réz(II)-komplexeinek 9.4 GHz frekvencián (a 11. táblázat és a Függelék 4. táblázat adatai alapján) számított ESR-spektruma

4.3.3.1. Koordinációs módok a mono- és a dimer komplexekben

A 23. ábrán bemutatom azonos fémion- és ligandumkoncentrációnál a réz(II)ion eloszlását az egyes komplexek között. Az ábrán feltüntettem a mono- és a dimer komplexek javasolt koordinációs módjait is, amelyeket az alábbi megfontolások alapján tételezek föl.



23. ábra

Koncentrációeloszlás a réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszerben azonos fémion- és ligandumkoncentrációnál (az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból számolva (10. táblázat)), továbbá a mono- és a dimer komplexek szerkezete

A $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ összetételnél két koordinációs mód is szóba jöhet: vagy a karboxilátocsoport kötődik, és mind az amino-, mind az imidazol-nitrogénatom protonált marad, vagy az egyik nitrogén koordinálódik, miközben a másik nitrogén és a karboxilcsoport marad protonált állapotban. A g_0 értékek alapján az utóbbi valószínűsíthető: az L-hisztidin CuLH_2 és a diglicin CuLH komplexei esetében, ahol karboxiláto koordináció alakult ki, a g_0 értékek lényegesen nagyobbak; az L-hisztidil-glicin komplex g_0 -ja a hisztamin CuLH komplexéhez esik közel (11. táblázat), ezért az előbbi komplexben is egyfogú imidazol kötődést javasolunk. Az L-hisztidin és az L-hisztidil-glicin ligandumok koordinációjának eltérése karboxilcsoportjaik eltérő savasságával magyarázható. A $[\text{CuLH}_2]^{3+}$ komplex

képződési tartományában a szabad L-hisztidil-glicin molekulák többségében a karboxilcsoport protonált marad ($pK = 2.96$), míg az L-hisztidinnél deprotonálódik ($pK = 1.50$) [85].

Az L-hisztidil-glicin $[CuLH]^{2+}$, valamint az L-hisztidin és a hisztamin CuL komplexeinek g_o és A_o értékei nagyon közeliak (11. táblázat), aminek alapján az előbbinél is az amino-N és az imidazol-N egyidejű koordinációját tételezhetjük fel. Látható spektroszkópai és kalorimetriás mérések is ezt a hisztaminszerű kötémódot, és protonált karboxilcsoport jelenlétét támasztották alá [98].

A $[CuLH]^{2+}$ komplex protonvesztése két eltérő koordinációs módú izomerhez vezet: az egyik $[CuL]^+$ izomer a $[CuLH]^{2+}$ komplexhez hasonló paraméterekkel írható le (11. táblázat), ami hisztaminszerű ekvatoriális koordinációra utal (innen a "h izomer" elnevezés). Ebben az esetben a karboxilátcsopórt sztérikus okok miatt nem tud részt venni az ekvatoriális koordinációban, ezért azt várnánk, hogy a $[CuLH]^{2+}$ pK -ja a szabad ligandum karboxilcsoportjának pK -jával (2.96) megegyező érték (vagy a karboxilátcsopórt esetleges axiális kötődése esetén még kisebb) lesz. Ezzel szemben a h izomer képződéséhez vezető deprotonálódási lépésre 0.71-dal nagyobb érték adódik ($pK = 3.67$ a 10. táblázat adataiból). Ez azzal értelmezhető, hogy a szabad ligandumban a protonált amino- és imidazol-nitrogén erős pozitív induktív effektusa elősegíti a karboxilcsoport protonvesztését, míg ez a hatás jelentősen csökken a nitrogén donoratomok koordinálódásakor. A másik izomerben a kis g_o erős ligandumteret jelez. Itt feltehetően a peptid-NH fémion-indukált deprotonálódása következik be, és létrejön az egyszerű dipeptidek $[CuLH_{-1}]$ komplexénél ismert háromfogú ekvatoriális kötődés az amino- és deprotonált peptid-nitrogén, valamint a karboxilátó-oxigén részvételével (innen a p izomer elnevezés, ami "peptidszerű" kötődésre utal).

A $[CuL]^+$ komplex esetében általunk javasolt szerkezetek összhangban vannak Daniele és munkatársainak a látható színeképi adatok és a képződési entrópiák alapján tett megállapításaival [98]. Hisztaminszerű koordinációt javasolnak, és a termodinamikai adatok alapján egyidejűleg a karboxilátcsopórt gyenge (részleges) töltésneutralizációját a fémionhoz történő kapcsolódás révén. Ők mind a hisztaminszerű kötémódot, mind a karboxilátcsopórt koordinációját ugyanazon komplexhez rendelik (a fémion "gyenge" semlegesítő hatását axiális karboxilátó kötődésként értelmezik), mi viszont izomeregysúlyt mutattunk ki: a h izomer molekuláiban megvalósul a hisztaminszerű koordináció, a p izomerben pedig az amino- és a peptid-nitrogének ekvatoriális koordinációját kiegészítő, viszonylag erős ekvatoriális karboxilátó kötődés.

Azonos fémion- és ligandumkoncentrációnál, semleges és gyengén lúgos oldatokban az ESR-aktív $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ dimer domináns. Spektrumában a széles vonalak, a fel nem oldott hiperfinom-szerkezet jelzi a réz(II)ionok közötti mágneses dipólus kölcsönhatást. Korábban háromféle lehetséges szerkezetre tettek javaslatot: (1) két hisztaminszerűen kötődő monomer egységet két OH^- ion köt össze [97]; (2) a monomer egységekben szintén az amino- és az imidazol-nitrogén kötődik a réz(II)ionhoz, de a deprotonálódott pirrol-nitrogén köti össze a szomszédos réz(II)-centrumokat [99]; és (3) a monomer egységekben a peptid-NH deprotonálódik, a kialakuló háromfogú ekvatoriális koordináció az egyszerű dipeptidek $[\text{CuLH}_1]$ komplexére emlékeztet; ezt egészítik ki a szomszédos monomer egységekből származó imidazol-nitrogének, amelyek kölcsönösen elfoglalják a másik fémion negyedik ekvatoriális helyét [98, 100].

Az első szerkezetet két okból is elvethetjük: egyrészt a komplex ESR-aktivitása jelzi, hogy a paramágneses centrumok közötti kölcsönhatás nem túl erős, viszont a hidroxó-hidak általában olyan erős kölcsönhatást közvetítenek, ami a réz(II)ionok spinpárosodásához vezet [99]; másrészt, ha mégis a hisztaminszerű koordinációjú monomer egységeket hidroxó-hidak kapcsolnák össze, és fennmaradna az ESR-aktivitás, akkor jóval nagyobb g_0 értéket kellene kapni (a $[\text{CuL}]^+$ h izomerjéhez közelít, mivel az OH^- gyenge donor). Termodinamikai adatok [98] szintén cáfolják ezt a szerkezetet.

A második és a harmadik szerkezet létrejöttéhez a ligandum fémion-indukált deprotonálódásának kell végbemennie, amihez erős fém - deprotonált N^- kötésnek kell kialakulnia. Ez utóbbi akkor jöhet létre, ha a deprotonálódott nitrogén is az ekvatoriális síkban kötődik. A kis g_0 érték ezzel összhangban is van, de csupán a g_0 alapján nem lehet eldönteni, hogy melyik képződik a két szerkezet közül. A második szerkezet szterikus okok miatt zárható ki. Molekulamodellek azt mutatják, hogy az egyik fémion körüli hisztaminszerű koordináció mellett az imidazolgyűrű másik N-jének egyidejű ekvatoriális koordinációja egy másik fémionhoz (és viszont) nem lehetséges. Legfeljebb gyenge axiális kötések révén alakulhatnak ki a monomereket összekötő hidak, amelyek nem jelentenének kellő hajtóerőt a fémion-indukált deprotonálódáshoz, és a kis g_0 értéket sem magyaráznák. A fentiek alapján így a harmadik szerkezetet javaslom, vagyis a peptid-NH deprotonálódását és a dipeptidszerű koordinációt imidazol-hidakkal (23. ábra).

A $[\text{CuLH}_2]^-$ komplex ESR-paraméterei, beleértve a két ekvivalens nitrogéndonorról származó superhiperfinom-csatolási állandókat is (11. táblázat), közel megegyeznek a diglicin $[\text{CuLH}_1(\text{OH})]^-$ vegyes hidroxokomplexének paramétereivel. Ennek alapján az L-

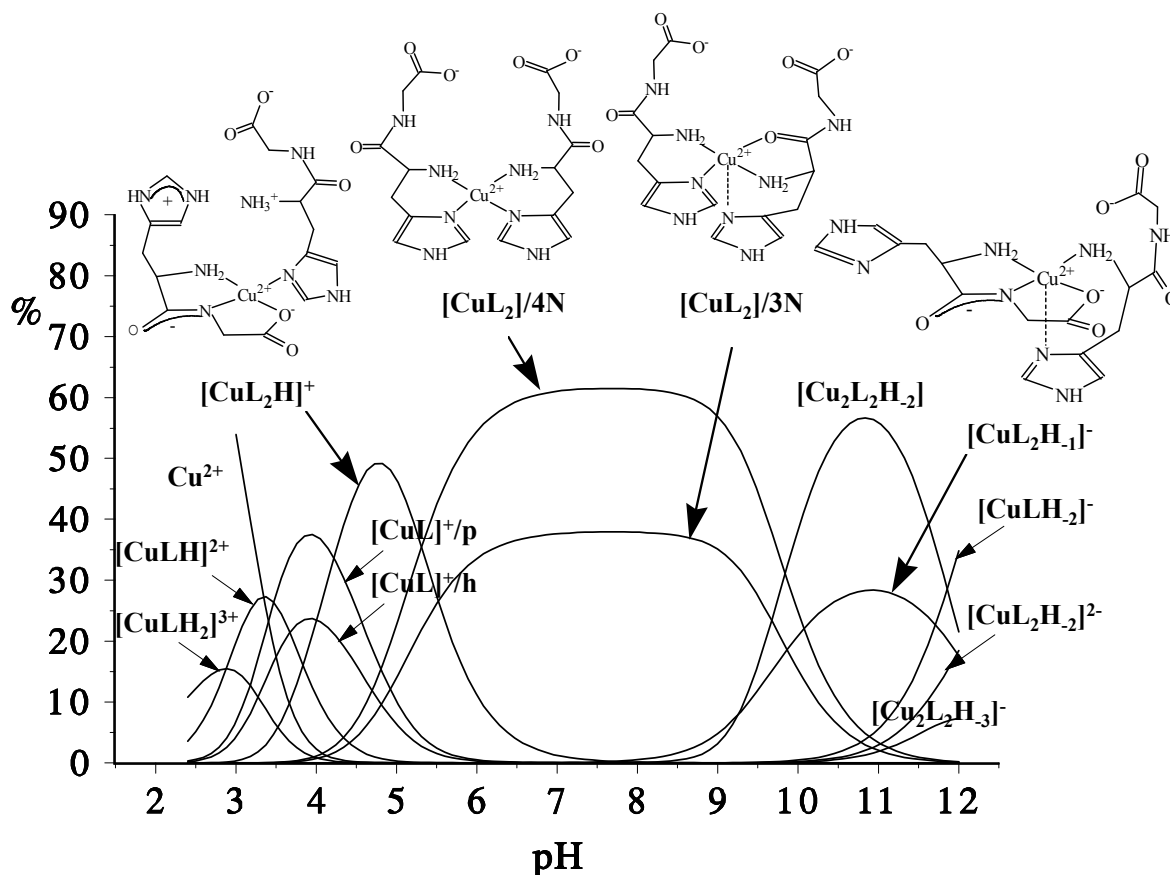
hisztidil-glicin $[\text{CuLH}_2]^+$ komplexében is hasonló koordinációt javasolunk, a peptid-NH és egy ekvatoriális vízmolekula deprotonálódásával (23. ábra). További analógia az egyszerű dipeptidekkel, hogy kis mennyiségben a diamágneses $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^+$ is képződik, amelyben a $[\text{CuLH}_2]^+$ egységeket minden valószínűség szerint egy OH^- ion köti össze [99, 100]. Az L-hisztidil-glicin esetében azonban a fenti (monomer és kétmagvú) hidroxokomplexek kialakulása a $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$ ESR-aktív dimer imidazol-hídjainak felbomlását követeli meg, ez lehet a magyarázata annak, hogy az egyszerű dipeptidek ugyanezen összetételű komplexeihez képest 2-3 egységgel nagyobb pH-n képződnek (vö. 6. és 23. ábra).

4.3.3.2. ESR-paraméterek és koordinációs módok a biszkomplexekben

A 24. ábra a réz(II)ion koncentrációeloszlását mutatja be a különböző komplexek között L-hisztidil-glicin feleslegénél. Az ábrán azokat a koordinációs módokat is feltüntettem, amelyeket a biszkomplexekre az alábbi megfontolások alapján javasolok.

A $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ komplex L liganduma vagy hisztamin-, vagy peptidszerűen koordinálódhat, ugyanúgy, mint a $[\text{CuL}]^+$ komplexben. Az LH az imidazol- vagy az amino-nitrogén révén kötődhet (utóbbi esetben a peptid-oxigén is koordinálódik). A sokféle lehetséges variáció ellenére ennél a molekulafajtánál nem tudtunk izomeregyensúlyt kimutatni, csak egyféle koordinációt. A g_0 egymagában nem szolgáltat perdöntő bizonyítékot egyik lehetséges szerkezet mellett sem. Ha az L ligandum hisztaminszerű koordinációját tételezzük fel, akkor a $[\text{CuL}]^+$ komplex h izomerjéhez viszonyíthatjuk a g_0 -t; eszerint az 0.028-del csökken az LH ligandum hatására (11. táblázat). Ez a g_0 eltolódás jóval nagyobb, mint amit egy egyfogú imidazol koordináció kiválthatna (vö. a hisztamin $[\text{CuL}]^{2+}$ és $[\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$ komplexeket), de nagyobb egy amino-N és egy peptid-O kötődése esetén várhatónál is. Az amino-nitrogén rendszerint akkor okoz ilyen nagymértékű g_0 csökkenést, ha egy másik, viszonylag erős donoratommal együtt koordinálódva képez kelátgyűrűt, például karboxilát-oxigénnel (vö. pl. az L-hisztidin $[\text{CuL}]^+$ komplexét a $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ komplexszel és a 3N-es $[\text{CuL}_2]$ izomerrel (11. táblázat)). Az L-hisztidil-glicin esetén azonban az aminokarboxilát koordináció (a peptidcsoport részvétele nélkül) nem kedvezményezett, mivel nyolctagú kelátgyűrű képződésével járna. Mindezeket figyelembe véve, az L ligandum hisztaminszerű kötődésének feltételezésével a g_0 érték nehezen értelmezhető. (Mindazonáltal nem zárható ki az (amino-N, imidazol-N + amino-N, peptid-O) ekvatoriális koordináció, mivel ismert olyan példa is, amikor egy amino-N koordinációja a $[\text{CuL}]^{2+}$ komplexhez 0.029-es g_0 csökkenést eredményez (a hisztamin $[\text{CuL}_2]^{2+}$ 3N izomer esetében)). Tételezzük fel most, hogy az L ligandum

peptidszerűen kötődik a fémionhoz, mint a $[\text{CuL}]^{2+}$ p izomerében, és hasonlítsuk össze a $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ g_o értékét az utóbbi molekulafajtaéval: a különbség ekkor 0.011. Ez inkább megfelel az LH ligandum egyfogú imidazol, mint amino koordinációjának: ha az egyszerű dipeptidek $[\text{CuLH}_1]$ komplexéhez ekvatoriálisan egy amino-nitrogén kötődik, a g_o csökkenése 0.017-0.020 [84, 101] (11. táblázat), míg egy egyfogú imidazol kötődés a hisztamin $[\text{CuL}]^{2+}$ komplexéhez a g_o -t 0.012-del csökkentette (11. táblázat). Ez utóbbi, valószínűbb szerkezetet tüntettem föl a 24. ábrán.



24. ábra

Koncentrációeloszlás a réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszerben négyszeres ligandumfeleslegben (az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból számolva (10. táblázat)), valamint a biszkomplexelek szerkezete

Habár az ESR-adatok nem szolgáltatnak egyértelmű bizonyítékot, termodinamikai adatokkal [98] is az utóbbi szerkezetet támaszthatjuk alá. A képződési entrópiák alapján megállapították, hogy a karboxilátocsoport töltése semlegesítve van a $[\text{CuL}_2\text{H}]^{3+}$ komplexben, bár a szerzők a töltésneutralizációt nem a fémionhoz való kötődéssel, hanem protonálódással magyarázzák (bisz-hisztaminszerű koordinációt javasolnak, és az egyik karboxilcsoport protonált állapotát). A komplex deprotonálódási pK értéke ($pK=5.1$ a 10. táblázat adatai

alapján) azonban jóval meghaladja a szabad ligandum karboxilátcsoportjának deprotonálódási pK-ját ($pK=2.96$), amire egyetlen magyarázat kínálkozik: a karboxilátcsoport a komplexben nem protonálódás, hanem fémionkoordináció révén semlegesítődik (a 24. ábrán látható szerkezettel összhangban), és a komplex protonvesztése más donorcsoporton valósul meg.

Ahhoz, hogy a $[CuL_2]$ komplexben a ligandumok ($LH_{-1}+LH$) összetétellel koordinálódjanak, az LH ligandum nem kötődő nitrogén donoratomjának jóval nagyobb bázicitásúnak kellene lennie a komplexben (amelynek deprotonálódási pK-ja 10.28 a 10. táblázat adatai alapján), mint a szabad ligandumban (ahol az imidazolcsoport deprotonálódási pK-ja 5.95, az aminocsoporté 7.58 [85]). Ezért sokkal valószínűbb, hogy mindkét ligandum L formában van, és bisz-hisztaminszerű koordináció jön létre az amino- és imidazolcsoportok részvételével, amint az az irodalomban általánosan elfogadott. Ennél a komplexnél kétféle donoratom elrendeződést mutattunk ki. Az egyik izoméria lehetőség, hogy mindkét ligandum diekvatoriálisan kötődik a fémionhoz, és az izomerek az azonos típusú donoratomok (cisz vagy transz) elrendeződésében térnek el. A másik lehetőség, hogy az egyik izomerben minden donoratom szintén ekvatoriális pozícióban kötődik, a másik izomerben viszont az egyik ligandum ekvatoriális-axiális koordinációja valósul meg. Mivel cisz-transz izoméria esetén az izomerek közel azonos g_o értéke valószínű, a szóbanforgó izomerpár esetében azonban szignifikánsan eltér a két érték (11. táblázat), ezért a második lehetőséget javasoljuk, amely analóg az azonos összetételű L-hisztidin- és hisztaminkomplexben kimutatott izomériával (11. táblázat). A nagyobb mennyiségben képződő 4N izomer kis g_o -ja jelzi, hogy mind a négy nitrogén donoratom az ekvatoriális síkban koordinálódik; a g_o -hoz mérten kis A_o rombos torzulást valószínűsít, ezért az azonos típusú donoratomok alacsonyabb szimmetriájú cisz elrendeződését javasoljuk (24. ábra). A kisebb mennyiségben kialakuló izomer g_o értéke 0.016-del nagyobb a 4N izomerénél, ami megfelel annak a képnek, hogy itt egy imidazol-nitrogén hiányzik az ekvatoriális síkból, és egy viszonylag erős axiális kötés van jelen (amit minden valószínűség szerint az említett imidazol-nitrogén alakít ki a fémionnal, 24. ábra).

A $[CuL_2H_{-1}]$ komplex esetében az a fő kérdés, hogy az LH_{-1} ligandum a dipeptideknél megszokott háromfogú koordinációval kapcsolódik-e a réz(II)ionhoz (az amino-nitrogén, deprotonált peptid- N^- és a karboxilát-oxigén részvételével), és így az L ligandumnak csak egyetlen ekvatoriális pozíció jut, vagy az L ligandum kiszorítja a karboxilátcsoportot, és két ekvatoriális pozíciót foglal el. Az utóbbi esetben a karboxilátcsoport hiánya várhatóan 0.005-0.010-nyi g_o növekedést eredményezne, míg az L ligandum hisztaminszerű kötődése 0.040-es csökkenést okozna (vö. a $[CuL]$ komplexet és a $[CuL_2]$ 4N izomert az L-hisztidil-glicin, L-

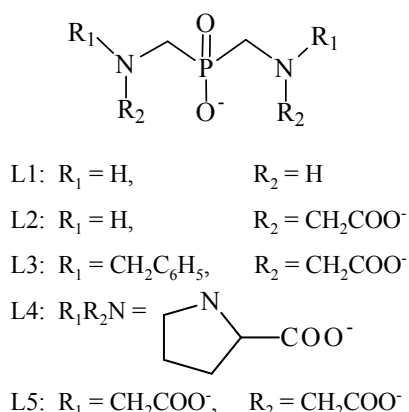
hisztidin, és hisztamin esetében (11. táblázat)). Ha a $[\text{CuL}]$ p izomerjének g_o értékéhez most mindkét eltolódást hozzáadjuk, akkor 2.100 körüli vagy annál valamivel kisebb g_o értéket kapunk. Ez felelne meg tehát egy olyan koordinációnak, amikor az LH_{-1} ligandum amino és deprotonált peptid N-je, valamint az L ligandum amino- és imidazol-N-je koordinálna az ekvatoriális síkban. A kísérleti érték ($g_o = 2.114$) ennél jóval nagyobb, csak három ekvatoriálisan koordinálódó nitrogén donoratomra utal. A p izomerhez viszonyított g_o különbség 0.020, körülbelül akkora, mint az egyszerű dipeptidek $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexe és a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ 3N izomerje között (11. táblázat a diglicin esetében), ahol az első molekulafajta ekvatoriális koordinációja a másodikban egy további aminocsoporttal egészül ki. Mindezek alapján az L-hisztidil-glicin $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexében az LH_{-1} ligandumnak az egyszerű dipeptidekre emlékeztető háromfogú ekvatoriális kapcsolódása valószínű, amit az L ligandum hisztaminszerű ekvatoriális-axiális koordinációja egészít ki (az aminocsoport foglalja el az ekvatoriális, az imidazolcsoport pedig az axiális pozíciót (24. ábra). Egy további analógia is alátámasztja ezt a szerkezetet: számos réz(II) - peptid vagy réz(II) - aminosav komplex esetén megfigyelhető, hogy ha két szomszédos ekvatoriális pozícióban aminocsoportok vannak jelen, akkor rombos torzulás lép fel (amit a kis A_o érték jelez) [55, 60, 84, 101, 102] (11. táblázat). Az A_o kis értéke rombos torzulást valószínűsít az L-hisztidil-glicin $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexében is (11. táblázat).

A $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ komplex igen kis g_o értéke jelzi, hogy benne minden ekvatoriális kötőhelyet nitrogénatomok foglalnak el, de a komplex kis mennyisége és paramétereinek nagy szórása miatt nincs lehetőség a koordináció módjának pontosabb leírására, esetleges izomerek azonosítására.

4.4. Réz(II) - N-szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav rendszerek

4.4.1. Irodalmi áttekintés

A vizsgált ligandumok szerkezetét, a könnyebb összehasonlíthatóság érdekében a szubsztituensek kiemelésével, a 25. ábrán mutatom be. Az amino donorcsoportok jelenléte az L1 ligandumban lehetőséget jelent a diaminszerű koordinációra, míg a másik négy ligandum amino- és karboxilátcsoportjai révén aminosavszerűen kötődhet. Érdekes kérdés, hogy a foszfínátcsoport részt vesz-e, és milyen körülmények között, a koordinációban.



25. ábra

Szubsztituensek a bisz(aminometil)foszfinsav ligandumokban (az 1. táblázatnak megfelelően).

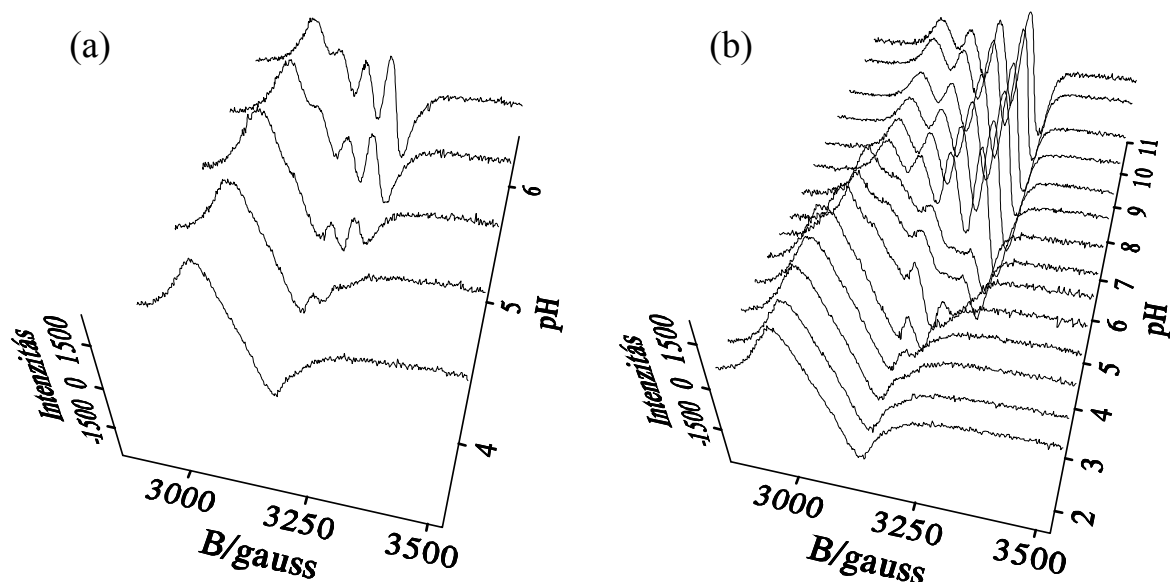
E ligandumok komplexképző sajátosságait, biológiai fontosságuk ellenére, még alig vizsgálták. Ritkaföldfém-komplexeikre vonatkozóan vannak elsősorban pH-potenciometriás irodalmi adatok [103]. A disszertációban tárgyalt réz(II) - N-szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav rendszerek pH-potenciometriás vizsgálatát a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén, Prof. Dr. Brücher Ernő munkatársai, Dr. Király Róbert és Tircsó Gyula végezték el.

4.4.2. Egyensúlyi modellek

Mivel a ligandumok eltérő számú disszociálabilis protont tartalmaznak, és az analóg koordinációjú komplexek töltése eltér, az egyszerűség kedvéért ebben a fejezetben elhagytam a komplexek összetételét kifejező képletekből a szögletes zárójeleket és a komplexek töltését.

A mátrix rang analízist (MRA) [49] ezeknél a rendszereknél is alkalmaztam, hogy az egyensúlyi modell felépítéséhez meghatározzam a lineárisan független ESR-aktív részecskék

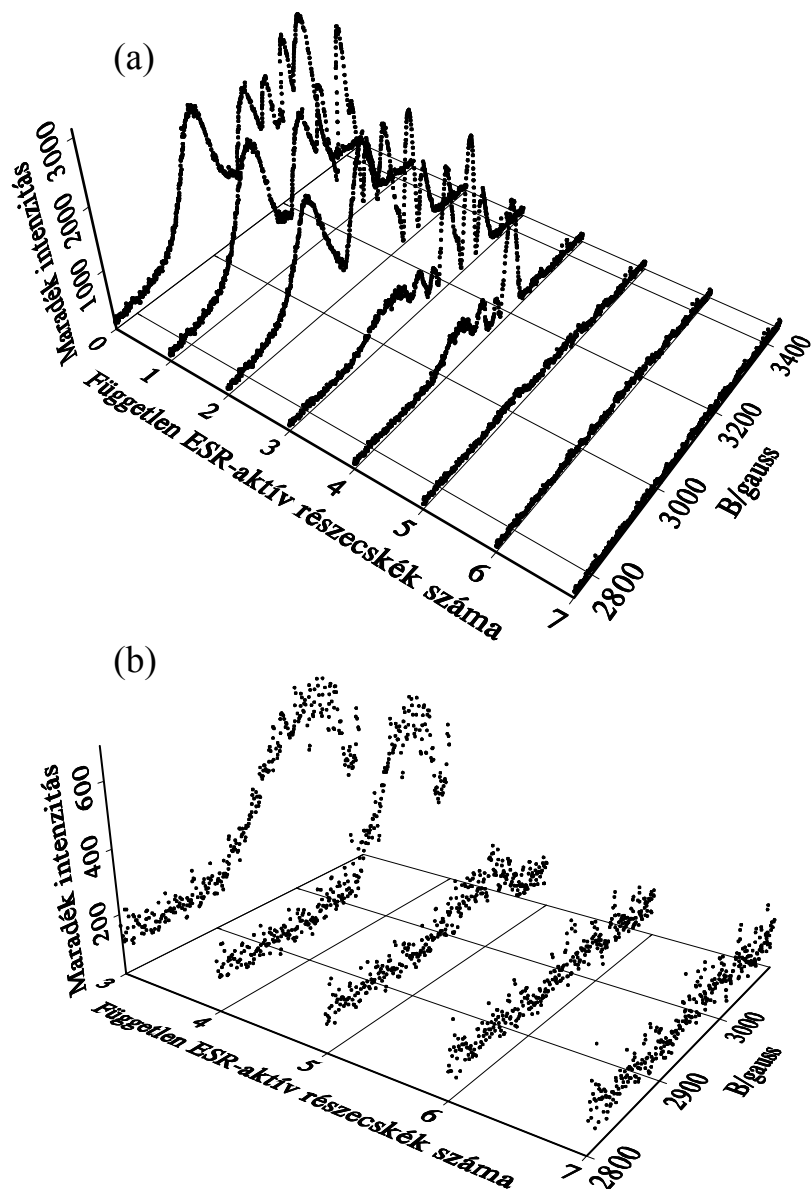
számát. A réz(II) - L1 rendszerben felvett ESR-spektrumokat a 26. ábrán mutatom be, míg az ugyanezen spektrumsorozaton elvégzett MRA eredményét szemlélteti a 27. ábra.



26. ábra

ESR-spektrumsorozat a réz(II) - L1 rendszerben; (a) $T_{Cu} = T_L = 5 \text{ mM}$, (b) $T_{Cu} = 5 \text{ mM}$, $T_L = 25 \text{ mM}$

A különböző térértékeknél kapott maradék intenzitások fokozatosan csökkennek, amint a rendszerben egyre több ESR-aktív részecske jelenlétét vesszük figyelembe. A maradék intenzitás 6 lineárisan független komplex feltételezésekor éri el a zaj értékét (27. ábra). (A 3000 G körüli utolsó kis csúcs eltűnése a kinagyított (b) ábrán jól látható). Az MRA az L2, L3, L4, ill. L5 ligandumokat tartalmazó rendszerek esetén 2, 4, 6, ill. 5 független részecske jelenlétét igazolta. E számok ismerete jó kiindulópont a kétdimenziós analízishez, habár az MRA nem tudja megkülönböztetni azokat a részecskéket, amelyeknek a koncentrációaránya nem változik a sorozat spektrumaiban, így például az izomereket, vagy konstans fémion koncentrációnál a monomer-dimer párokat.



27. ábra

Mátrix rang analízis eredménye a réz(II) - L1 rendszer teljes spektrumsorozatán; (a) különböző számú ESR-aktív részecske feltételezésekor kapott maradék intenzitás értékek, és (b) kinagyított maradék intenzitás görbék 5-7 feltételezett részecskére 3000 G körül

A réz(II) - L1 rendszerben az MRA több független részecskét jelzett, mint a pH-potenciometriás modell, ennek megfelelően a CuL_2H_2 komplexet is figyelembe vettük a Cu, CuLH, CuL, CuL_2H és CuL_2 molekulafajták mellett. Ennek hatására a színképi egyezés erősen savas közegben, ligandumfeleslegben jelentősen javult. A spektrális egyezés még jobb lett, ha a CuL_2H_2 és CuL_2 komplexek spektrumát két-két komponens görbe összegeként írtuk le, amelyeket eltérő koordinációs módú részecskékhez rendeltünk. A fémkomplexek ESR-

analízissal nyert képződési állandóinak logaritmusát a 12. táblázat tartalmazza, a proton- és fémkomplexek pH-potenciometriás módszerrel meghatározott $\log \beta$ adataival együtt. A két különböző mérési technikával kapott képződési állandók jól egyeznek: az eltérések nem nagyobbak, mint általában azoknak az irodalmi adatoknak az eltérései, amelyeket különböző kutatók adott rendszerben hasonló körülmények között mérnek.

Habár az L2, L3 és L4 ligandumok ugyanazon donoratomokkal rendelkeznek, koordinációs tulajdonságaik mégis eltérőek. A réz(II) - L2 rendszer legjellemzőbb sajátossága CuL komplexének nagy stabilitása: ez a molekula már $\text{pH} = 1.5$ körül domináns. ESR-spektruma két komponens görbe összegeként írható le, ami mikrospecieszek képződésére utal. Az L3 és L4 ligandumoknál a CuLH komplexet is ki tudtuk mutatni, mivel itt a CuL komplex képződése magasabb pH-ra tolódott (a CuLH komplex deprotonálódási pK -ja 2.44, ill. 3.10 az L3, ill. L4 ligandumok esetében). Az L4 ligandumot tartalmazó rendszerben a CuLH₂ és CuL₂H₃ protonált komplexeket szintén figyelembe kellett venni a spektrumok kielégítő leírásához. A kétdimenziós analízis az egyensúlyi modell további finomítását is lehetővé tette: a CuL komplex esetében e rendszerekben is izomeregyensúlyt mutattunk ki, továbbá a Cu₂L₂ dimert. Az utóbbi molekulafajta maximális mennyisége 3, ill. 15% volt az L3, ill. L4 ligandum esetében (a koncentrációeloszlási görbék a következő fejezetben találhatók). A pH-potenciometriás és az ESR-módszerrel nyert képződési állandók e rendszereknél is jó egyezést mutattak (12. táblázat).

A fenti három ligandum komplexképző képessége nem áll párhuzamban donorcsoportjaik bázicitásával. Az aminocsoportok pK értékei az L2 és L3 esetében (9.00 és 6.53, ill. 9.22 és 5.56) közepes bázicitást mutatnak, míg az L4 esetében ezek a csoportok jóval bázikusabbak (a pK értékek: 10.92 és 7.35 (12. táblázat)). Ugyanakkor az L2 CuL komplexe különlegesen nagy stabilitású, míg az L3, de főleg az L4 ligandum esetében e komplex képződése nagyobb pH-kra tolódik, ami a nem koordinálódó szubsztituensek (L3), ill. a prolin gyűrű okozta merev szerkezet (L4) jelentős sztérikus gátló hatását jelzi. Utóbbi ligandum esetében e hatás még a donoratomok meglehetősen nagy bázicitását is ellensúlyozza.

További karboximetilcsoport jelenléte a nitrogénatomon (L5) nagymértékben megnöveli a molekula dimerizációs hajlamát: monomer-dimer párokat mutattunk ki (erősebben savas közegben CuLH és Cu₂L₂H₂ összetétellel, valamint a CuL és Cu₂L₂ pártpH=4 felett; e ligandumnál már a Cu₂L₂ dimer sokkal nagyobb arányban van jelen, mint a

12. táblázat Az N-szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav ligandumok proton- és réz(II)-komplexeinek képződési állandói ($\log\beta$)^a

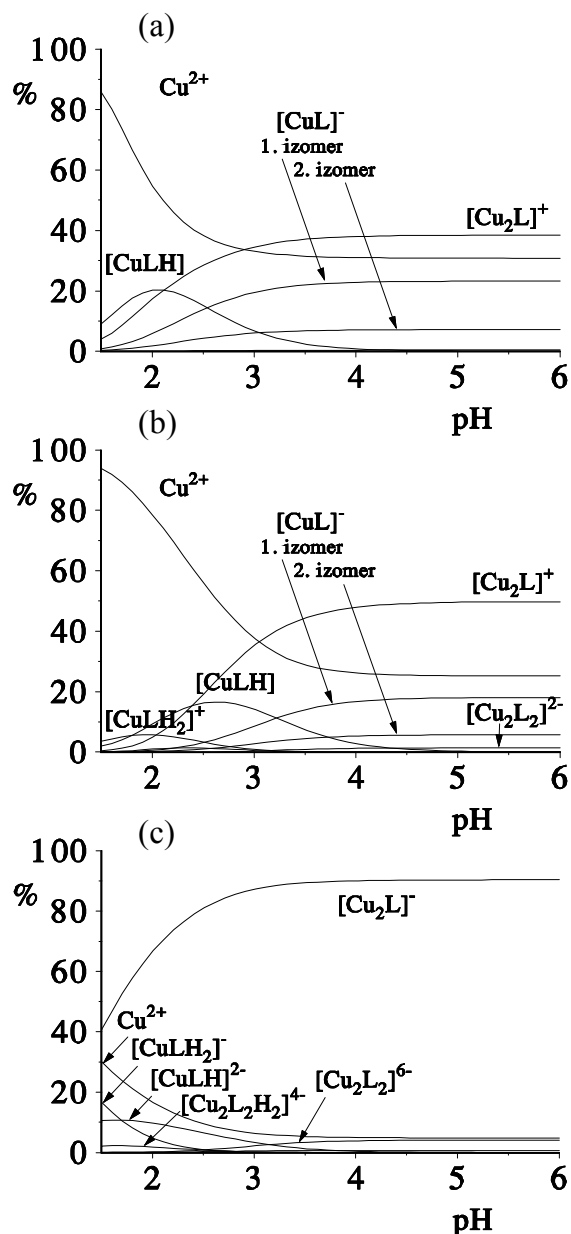
Komplex	Ligandum									
	L1		L2		L3		L4		L5	
	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
	ESR	pH- _c	ESR	pH- _c	ESR	pH- _c	ESR	pH- _c	ESR	pH- _c
LH		9.05(2)		9.00(1)		9.22(2)		10.92(2)		10.01(1)
LH ₂		16.50(2)		15.53(2)		14.78(3)		18.27(3)		16.51(1)
LH ₃				18.06(2)		16.91(6)		20.27(6)		19.19(2)
LH ₄				19.72(3)		18.3(2)		21.57(6)		21.36(2)
LH ₅										22.74(6)
Cu ₂ L					16.13(6)	16.25(9)	18.32(4)		23.03(8)	23.0(1)
CuLH ₂							20.30(2)		23.13(4)	
CuLH	13.65(2)	13.6(1)			15.94(1)	15.92(6)	18.50(1)	18.44(9)	21.38(3)	22.1(2)
Cu ₂ L ₂ H ₂									45.24(6)	
CuL	8.48(1)	8.30(6)	17.30(3) ^d	17.4(2)	13.50(2) ^d	13.44(6)	15.40(3) ^d	15.36(9)	17.5(1)	19.3(2)
1. izomer			17.28(1)		13.40(1)		15.28(1)			
2. izomer			16.62(2)		12.82(1)		14.78(2)			
Cu ₂ L ₂					27.62(7)		32.19(1)		40.0(1)	
CuL ₂ H ₃							38.95(1)			
CuL ₂ H ₂	26.9(1) ^d									
1. izomer	26.66(7)									
2. izomer	26.42(8)									
CuL ₂ H	21.69(1)	21.53(7)								
CuL ₂	14.88(2) ^d	14.65(7)								
1. izomer	14.72(1)									
2. izomer	14.37(1)									

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. ^b Az ESR analízis során a protonkomplexekre a pH-potenciometriásan mért értékeket használtuk. ^c Tircsó Gyula Ph. D. hallgató mérései (Debreceni Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék), I=1.0 M KNO₃. ^d $\log\beta = \log(\beta_{1. \text{ izomer}} + \beta_{2. \text{ izomer}})$

megfelelő monomer). A réz(II) - L5 rendszerben nagyobb az eltérés az ESR- és a pH-potenciometriás módszerrel kapott képződési állandók között (12. táblázat), ami az utóbbi esetben figyelembe nem vett dimerizációnak tulajdonítható.

Meg kell jegyezni, hogy azokban a rendszerekben, amelyekben a CuL dimerizációja kimutatható volt, ott fémfeleslegben Cu₂L kétmagvú komplex is képződött, amelynek

maximális koncentrációja a dimerizációs hajlam növekedésével párhuzamosan, vagyis az L3, L4, L5 sorrendben nőtt (28. ábra).



28. ábra

Koncentrációeloszlási görbék 2:1 fém-ligandum koncentrációarányánál (a) a réz(II) - L3, (b) réz(II) - L4 és (c) réz(II) - L5 rendszerekben (az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból számolva (12. táblázat)).

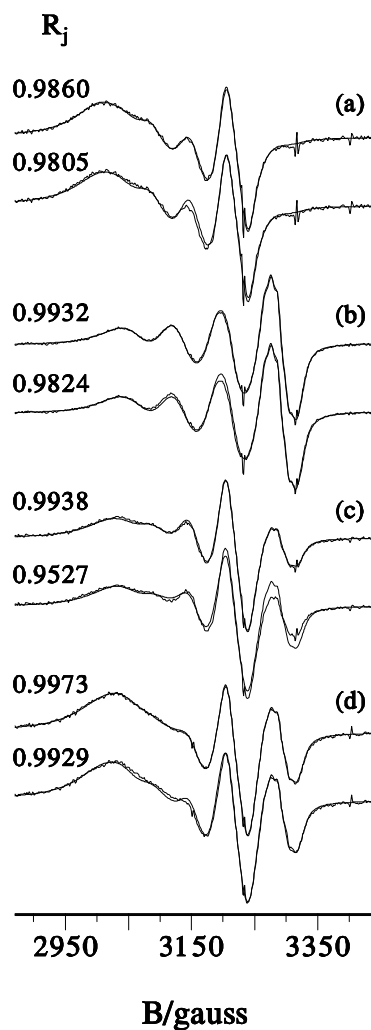
A fenti modellek jó színeképi egyezést eredményeztek: az eredő regressziós együttható (R) értéke a különböző rendszerekben 0.99017 és 0.99528 között volt. Ha bármelyik részecskét kihagytuk a modellből, az R csökkenése szignifikáns mértékben meghaladta a kritikus értéket (13. táblázat). (Az egyetlen kivétel az L5 ligandum CuL komplexe, ahol R csökkenése csak kismértékben haladta meg a kritikus értéket.). A színeképi egyezés romlását

szemlélteti a 29. ábra a réz(II) - L4 rendszer néhány spektrumánál, amikor egy-egy, a legjobb modellben szereplő komplexet kihagytunk.

13. táblázat $\Delta R / \Delta R_{\text{kritikus}}$ értékek a réz(II) - N-szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav rendszerekben

Kihagyott komplex	Ligandum				
	L1	L2	L3	L4	L5
CuLH_2^{a}				46.7	9.2
$\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2^{\text{a}}$					4.9
CuL^{a}					1.5
CuL^{b}		10.0	42.9	44.9	
$\text{Cu}_2\text{L}_2^{\text{a}}$			8.9	534.9	
$\text{CuL}_2\text{H}_3^{\text{a}}$				698.5	
$\text{CuL}_2\text{H}_2^{\text{b}}$	3.4				
$\text{CuL}_2\text{H}_2^{\text{a}}$	20.7				
$\text{Cu}_2\text{L}^{\text{a}}$			122.6	28.3	808.7

^a Az adott komplexet nem vettük figyelembe. ^b Az adott komplex spektrumát egykomponensű görbeként vettük figyelembe.



29. ábra

Kísérleti és számított ESR-spektrumok a réz(II) - L4 rendszerben a legjobb modell alapján (felső görbe) és 1-1 molekulafajta elhagyásával (alsó görbe). Az elhanyagolt komplexek (a) $[\text{CuLH}_2]$, pH = 1.76; (b) $[\text{CuL}]^-$, pH = 9.00; (c) $[\text{CuL}_2\text{H}_3]^-$, pH = 2.89; és (d) $[\text{Cu}_2\text{L}]^+$, pH = 2.96. A kiválasztott pH-n az adott komplex közel maximális koncentrációban van jelen, a fém-ligandum arány az (a)-(c) esetekben 1:10, a (d) esetben 1:1

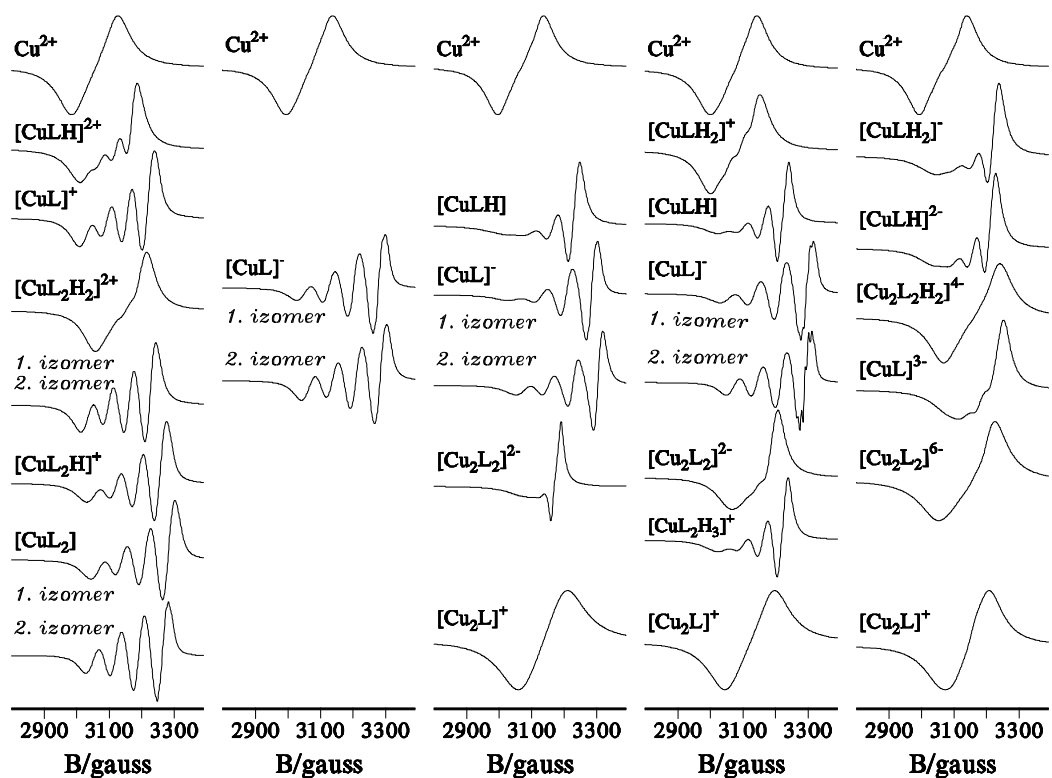
4.4.3. ESR-paraméterek és koordinációs módok

A fentebbi rendszerekben képződő komplexek ESR-paramétereit a 14. táblázatban foglaltam össze, az ezekből számolt komponens ESR-spektrumokat pedig a 30. ábrán mutatom be. A molekulafajták többségének g_0 és A_0 (továbbá relaxációs) paramétereire érzékeny volt az illesztés. A Cu_2L , $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2$ és Cu_2L_2 esetében a nagyobb 3σ értékek az illető komplexek széles színeképsávjával, rosszul feloldott spektrumával magyarázhatók.

14. táblázat. Az N-szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav ligandumok réz(II)-komplexeinek paramétere^a

Cu²⁺	g_o	2.1967(2)	2.1956(3)	2.1968(9)	2.1954(5)	2.196(3)
	A_o/G	34.3(3)	34.8(1)	34(3)	35.2(6)	36(1)
Cu₂L	g_o			2.149(3)	2.153(3)	2.1486(5)
	A_o/G			34(3)	36(2)	36.4(5)
CuLH₂	g_o				2.1911(9)	2.1421(6)
	A_o/G				37.8(7)	49.7(6)
	a_N/G					11(1)
CuLH	g_o	2.1646(5)		2.1457(4)	2.1496(2)	2.1468(4)
	A_o/G	44.9(5)		59.6(4)	56.9(2)	47.9(4)
	a_N/G	6(1)		10.9(6)	11.7(3)	9.8(6)
Cu₂L₂H₂	g_o					2.138(1)
	A_o/G					48(1)
CuL						
1. izomer	g_o	2.1463(3)	2.1249(1)	2.1228(1)	2.1206(1)	2.125(6)
	A_o/G	60.2(3)	73.1(3)	73.4(1)	76.8(4)	40(3)
	a_N/G	10.7(6), 11.9(5)	10.5(1), 10.5(1)	9.6(1), 9.6(1)	10.9(1), 10.9(1)	11(3), 11(3)
2. izomer	g_o		2.1199(1)	2.1095(4)	2.1178(1)	
	A_o/G		71.9(2)	73.3(3)	71.2(1)	
	a_N/G		10.6(2), 10.6(2)	6.0(4), 6.0(4)	10.7(1), 10.7(1)	
Cu₂L₂	g_o			2.153(1)	2.1508(7)	2.1463(9)
	A_o/G			31(1)	35.4(6)	41.9(8)
CuL₂H₃	g_o				2.1500(2)	
	A_o/G				56.3(1)	
	a_N/G				10.9(2), 10.9(2)	
CuL₂H₂						
1.izomer	g_o	2.1398(7)				
	A_o/G	39(2)				
	a_N/G	10(5), 8(5)				
2.izomer	g_o	2.1430(6)				
	A_o/G	62(2)				
	a_N/G	8(2), 8(2)				
CuL₂H	g_o	2.1249(2)				
	A_o/G	64.4(2)				
	a_N/G	10.2(4), 9.2(6), 9.2(6)				
CuL₂						
1.izomer	g_o	2.1122(1)				
	A_o/G	68.8(2)				
	a_N/G	9.0(2), 9.0(2) 8.2(2), 8.2(2),				
2.izomer	g_o	2.1246(2)				
	A_o/G	69.2(2)				
	a_N/G	9.2(2), 9.2(2), 8.2(2)				

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. A vonalszélességre jellemző relaxációs paraméterek a Függelék 5. és 6. táblázatában találhatók.



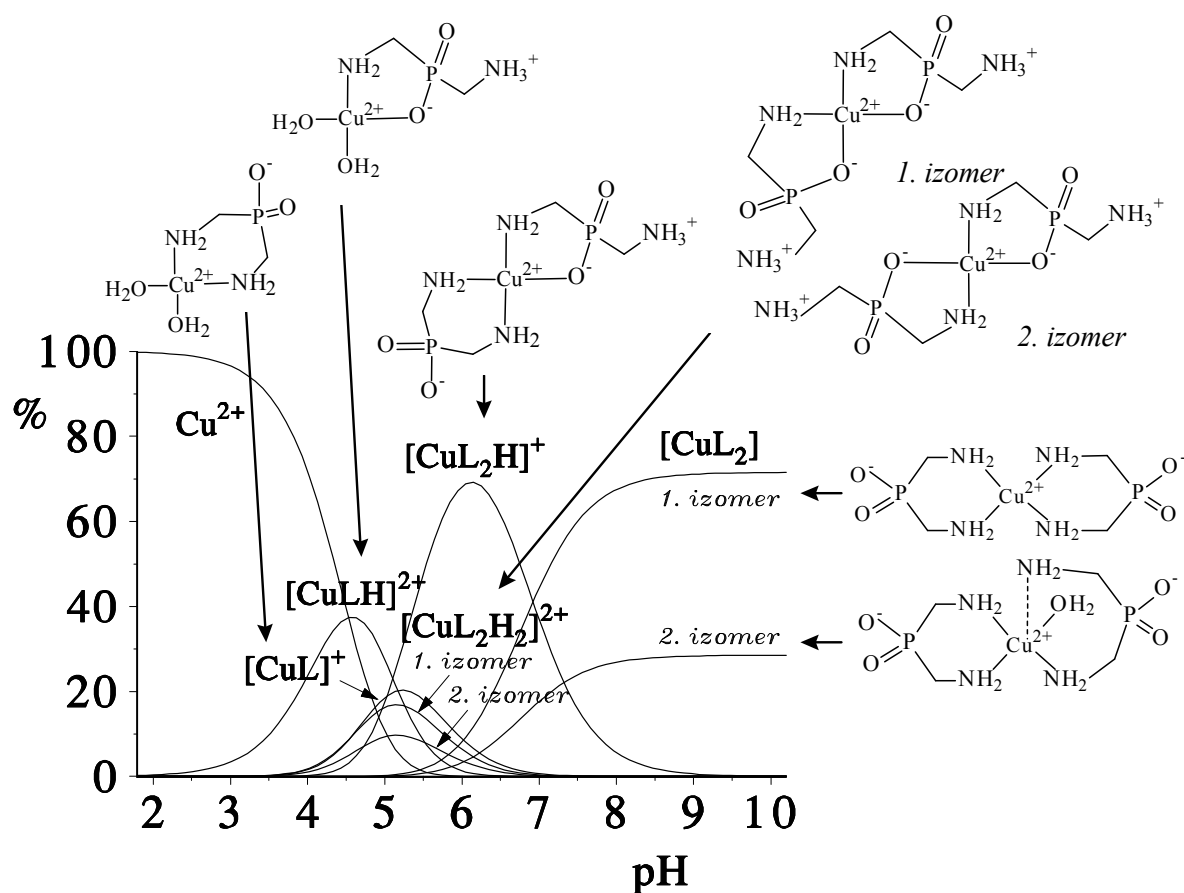
30. ábra

Balról jobbra az L1, L2, L3, L4 és L5 ligandumok réz(II)-komplexeinek (a 14. táblázat és a Függelék 5. és 6. táblázat adatai alapján) számított ESR-spektrumai 9.4 GHz mérési frekvencián

4.4.3.1. A réz(II) - L1 rendszer

A g_0 fokozatos csökkenése (14. táblázat) jól mutatja az aminocsoportok lépcsőzetes protonvesztését és ekvatoriális kötődését a mono- és biszkomplexekben (ez alól egyedül a CuL_2 komplex 2. izomerje kivétel). Felmerül azonban a kérdés, vajon a foszfinátcsoport részt vesz-e a koordinációban, vagy sem. Egy kémiaailag rokon ligandum esetében ki tudtak mutatni foszfináto kötődést: a bisz(morfolináto-N-metil)foszfinsav esetén, ahol a nitrogénatomok koordinációja erősen gátolt, egy igen kis stabilitású CuL komplexet mutattak ki ($\log K_{\text{CuL}} = 1.6$), amelyben foszfináto koordináció feltételezhető [103]. A réz(II) - L1 rendszerben több kísérleti tény utal arra, hogy azokban a komplexekben, amelyekben egyik vagy mindkét ligandum egyik aminocsoportja protonált, ezen LH összetételű ligandum(ok) aminofoszfináto-típusú kötődése alakul ki. Először is, a CuL_2H_2 komplex mindkét izomerjének g_0 értéke kisebb, mint a CuL -é, pedig mindhárom komplexben két-két ekvatoriális nitrogénatom van. A CuL két aminocsoportjának koordinációjával kelátgyűrűt hoz létre, amely jóval erősebb kapcsolódást eredményez, mint két aminocsoport egyfogú kötődése (ami a CuL_2H_2 esetén

megvalósulhat, ha a foszfinátcsoportok nem vesznek részt a koordinációban); ebben az esetben azt várnánk, hogy a CuL g_0 értéke a kisebb. Az ellentétes eredmény azzal magyarázható, hogy a CuL_2H_2 izomerekben az aminocsoport nem egymagában, hanem a foszfinátcsoporttal együtt, kelátgyűrűt képezve kötődik. Másodszer, valamely komplex izomerjeinek kimutatása azon a tényen alapul, hogy azok egymásba alakulása lassú az ESR-időskálán. Ez a feltétel abban az esetben teljesülhet, ha a donoratombok mozgása a kelátgyűrű részeként gátolt, míg a ligandumok egyfogú koordinációjakor gyors (cisz-transz) átrendeződésre van lehetőség, amely átlagspektrumot eredményez, komponens spektrumok összege helyett. Az a tény tehát, hogy a CuL_2H_2 komplexnél izomereket tudtunk kimutatni, az aminofoszfináto-típusú koordinációt támasztja alá. A javasolt szerkezeteket a ligandumfeleslegnél kiszámolt koncentrációeloszlási görbén tüntettem föl, és a 31. ábrán mutatom be.



31. ábra

Koncentrációeloszlás a réz(II) - L1 rendszerben 1:5 fém-ligandum aránynál (az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból számolva (12. táblázat)), továbbá a fémkomplekx javasolt szerkezete

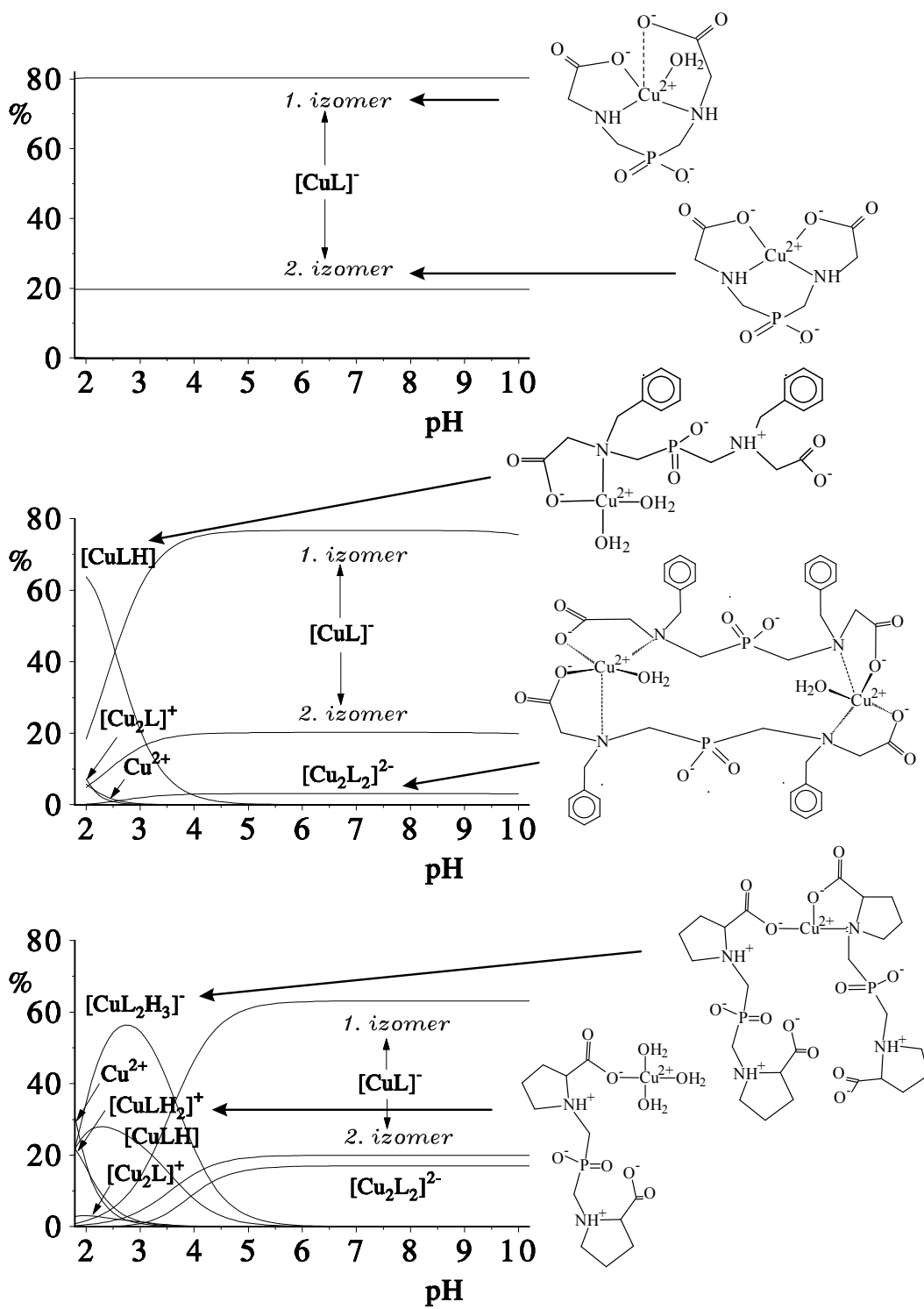
A CuL_2H_2 izomerpár esetén cisz-transz izoméria valószínűsíthető, mivel a két g_0 érték közel azonos (14. táblázat). A nagyobb mennyiségben képződő molekulafajta alacsonyabb

szimmetriáját jelzi viszonylag kis A_o értéke, valószínűleg ez a cisz izomer. A geometriai izoméria e típusa számos réz(II) - α -aminosav [56, 102] és réz(II) - β -aminosav [104] rendszerben kimutatható volt, bár a megfelelő aminosavkomplexek g_o értéke jóval kisebb, mivel azokban az erősebb terű karboxilátocsoport vesz részt a koordinációban.

A CuL_2 komplex izomerjeinek g_o értéke szignifikánsan eltér, a kisebbik mennyiségben jelen lévő izomeré közel megegyezik a CuL_2H komplexével, amelyben 3 ekvatoriális nitrogénatom van. Ebben az izomerben valószínűleg az egyik ligandum mindkét nitrogénatomja ekvatoriálisan kötődik, a másik ligandum aminocsoportjai pedig egy ekvatoriális és egy axiális pozíciót foglalnak el (31. ábra).

4.4.3.2. A réz(II) - L2, réz(II) - L3 és réz(II) - L4 rendszerek

Ezek a ligandumok szimmetrikusan, mindkét amino-nitrogénen tartalmaznak egy-egy karboximetilcsoportot és egy-egy nem koordinálódó szubsztituens. A nem koordinálódó csoportok közötti különbség jelentősen eltérő koncentrációeloszlásban nyilvánul meg (32. ábra), ugyanakkor az analóg komplexek közel azonos ESR-paraméterei (14. táblázat) hasonló koordinációs módokra utalnak. Ezeknél a ligandumoknál az aminofoszfináto-típusú kötődés mellett aminokarboxiláto koordinációra is lehetőség van, a karboximetil-csoportok révén. Megfigyelhető, hogy az L3 és L4 ligandumok $CuLH$, valamint az L2, L3 és L4 CuL komplexeinek g_o értékei jóval kisebbek, mint az L1 ligandum megfelelő komplexeié (14. táblázat), és közel esnek az aminosavak mono- és bisz(aminokarboxiláto) koordinációval létrejövő analóg komplexeinek g_o értékéhez [56, 102, 104]. Ezért valószínű, hogy az L2, L3 és L4 komplexeiben az aminofoszfináto-koordinációt az aminokarboxiláto-típusú kötődés váltja fel. Az aminosavak CuL_2 komplexeiben kimutatott cisz-transz izomériára [56, 102, 104] ezen ligandumok CuL komplexében nincs lehetőség, mivel a donoratomok a ligandumon láncszerűen helyezkednek el. A kisebb g_o értékű 2. izomernél valószínűleg mind a négy donoratom ekvatoriálisan kötődik, míg a nagyobb g_o értékű 1. izomer esetén az egyik láncvégi karboxilátocsoport axiális pozíciót foglal el. Az L3 és L4 ligandum CuL komplexének a képződési tartományában a spektrumok egy fel nem oldott komponenst is tartalmaznak, amelynek nagy sávszélessége fémionok közötti dipólus kölcsönhatásra utal a megfelelő molekulában, ezért ezt a spektrumot a Cu_2L_2 dimerhez rendeltem.



32. ábra

Koncentrációeloszlás a réz(II) - L2, réz(II) - L3 és réz(II) - L4 rendszerekben 1:5 fém-ligandum aránynál (az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból számolva (12. táblázat)), továbbá a fémkomplexek javasolt szerkezete

A viszonylag nagy g_0 érték (14. táblázat) csupán egy amino-nitrogén (és egy vagy két karboxiláto-oxigén) ekvatoriális kötődésére utal, míg a kis A_0 érték rombos torzulást mutat.

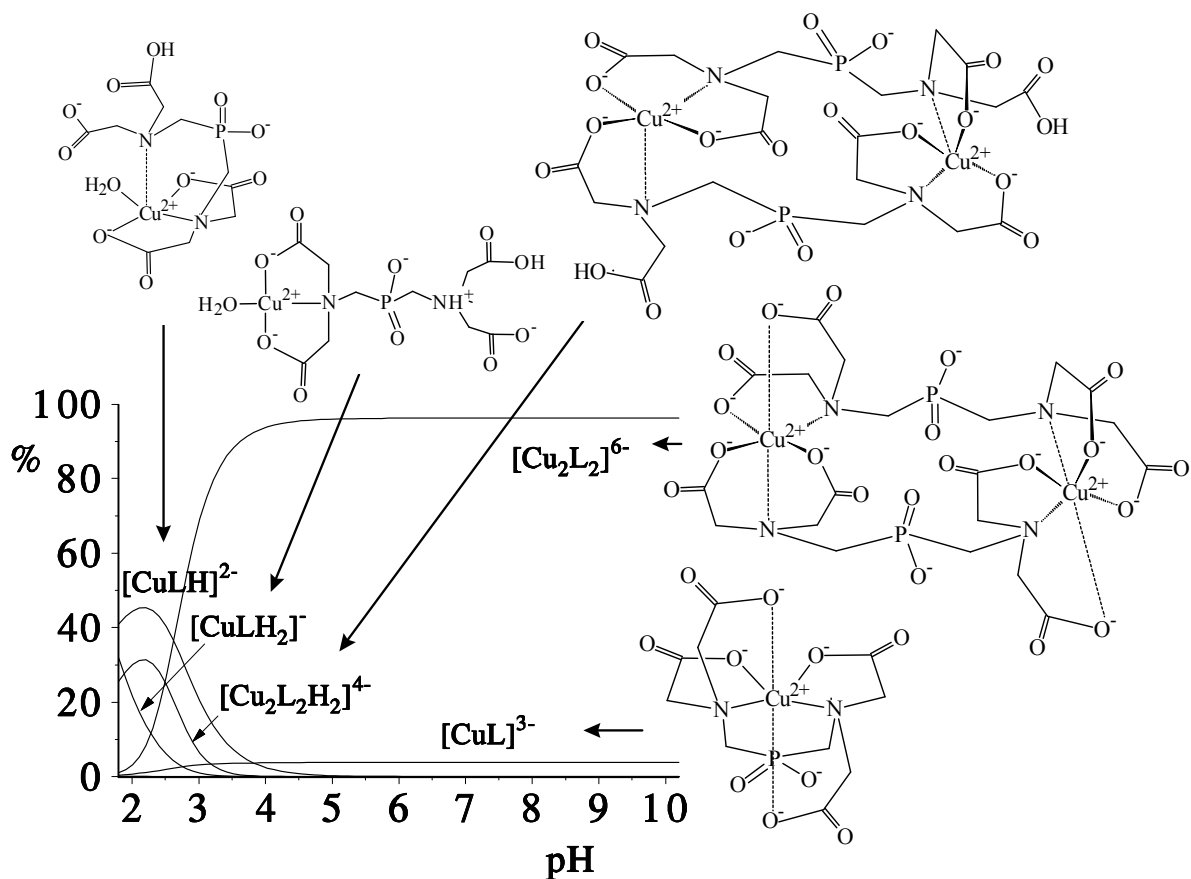
(Meg kell jegyezni, hogy az ESR-paraméterek nem nyújtanak egyértelmű információt annak eldöntésére, hogy az oligomerizáció milyen mértékű. A szerkezet torzulása azonban valószínűbb az alábbi dimerben, mint pl. egy hosszabb oligomer láncban.) Mindezek alapján a következő szimmetrikus dimer szerkezetet tételezem fel: a ligandum egyik végének amino- és karboxilátocsoportja ekvatoriálisan kötődik az egyik fémionhoz, míg a másik vége aminocsoportjával axiálisan, karboxilátocsoportjával pedig ekvatoriálisan a másik fémionhoz. A másik ligandum az utóbbi fémionhoz kötődik diekvatoriálisan, és az előbbihez ekvatoriális-axiális helyzetben karboxilátó- és aminocsoportjaival. A javasolt koordinációs módokat a 32. ábrán, a fenti ligandumok feleslegénél számolt koncentrációeloszlási görbékkel együtt mutatom be. (Az azonos összetételű komplexekre ugyanazt a koordinációs módot javasoljuk mindhárom ligandum esetén.)

Az L4 ligandum CuLH_2 komplexének az akvakomplexéhez közeli g_o értéke egy oxigén donoratomot tartalmazó csoport kötődésére utal (ez karboxilátó- és foszfinátocsoport is lehet, a g_o alapján nem lehet eldönteni; a kevésbé savas karakterű karboxilátó-oxigén kötődése valószínűbb). Ligandumfeleslegben egy további protonált biszkomplex, a CuL_2H_3 is képződött. Itt az LH ligandum aminokarboxilátó koordinációja és az LH_2 ligandum oxigén donoratommal történő kötődése valószínű.

Az L3 és L4 ligandumok Cu_2L komplexében a donoratomok elrendeződése a fémion körül a CuLH komplexéhez hasonló (32. ábra), amit a g_o értékek egyezése támaszt alá (14. táblázat).

4.4.3.3. A réz(II) - L5 rendszer

A CuLH_2 komplex ESR-paraméterei az L3 és L4 CuLH komplexéihez vannak közel (14. táblázat), tehát aminokarboxilátó-koordináció a valószínű az előbbi komplexnél is. A valamivel kisebb g_o és A_o érték azonban kicsivel erősebb és kismértékben torzult ligandumtérre utal. Ez azt sugallja, hogy a másik karboxilátocsoport is ekvatoriálisan a fémionhoz kötődik (33. ábra).



33. ábra

Koncentrációeloszlás a réz(II) - L5 rendszerben 1:5 fém-ligandum aránynál (az ESR-kiértékelésből nyert képződési állandókból számolva (12. táblázat)), valamint a fémkomplexek javasolt szerkezete.

A következő deprotonálódási lépés egyaránt érintheti a protonált aminocsoportot vagy egy karboxilcsoportot. A CuLH_2 komplexszel összehasonlítva, kismértékű g_o növekedés (0.0047) figyelhető meg a CuLH komplexnél; ez azonos ekvatoriális donoratom-együtttest jelez a két molekulában, amely az utóbbi molekulafajtában kiegészül egy erős axiális kötessel. Ez a kötés feltételezhetően a ligandum másik végén lévő amino-nitrogén révén jön létre, és hatta gyűrű képződésével jár. (Kilenc tagú kelátgyűrű egy gyenge karboxilátocsoport részvételével kevésbé lenne kedvező). A g_o alapján megállapítható, hogy a deprotonált karboxilátocsoport, feltehetően szterikus okokból, nem vesz részt ekvatoriális koordinációban sem (ekvatoriális kötődése ugyanis kisebb g_o értéket eredményezne).

A $\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2$ dimerben a g_o valamivel kisebb, mint a CuLH komplexben, ennek alapján a dimerben további karboxilátocsoport ekvatoriális kötődését tételezhetjük fel. A két ligandum a két fémionhoz a következő módon koordinálódhat: a ligandum egyik végének amino- és két

karboxilátocsoportja az egyik fémhez ekvatoriálisan koordinálódik, a másik vége a másik fémionhoz amino- és karboxilátocsoportjával axiális-ekvatoriális kelátgyűrűt képezve kötődik; a másik ligandum ugyanígy kapcsolódik, de a két fémion felcserélésével (33. ábra).

Az egyetlen komplex, amelyben a kis g_o érték mindkét amino-nitrogén ekvatoriális kötődését mutatja, a CuL komplex. Ugyanakkor a kis A_o a szimmetria jelentős csökkenését jelzi, amit valószínűleg az axiálisan kötődő karboxilátocsoportok okoznak (33. ábra).

A g_o értékek a $Cu_2L_2H_2$ és Cu_2L_2 komplexekben szignifikánsan eltérnek, ami jelzi, hogy az utolsó karboxilcsoport deprotonálódása megváltoztatja a fémion körüli koordinációt. A g_o kis mértékű növekedése axiális kötések megjelenését jelzi az utóbbi dimerben. Az összes donortom koordinációjára lehetőség van, ha a ligandumok mindkét vége egy axiális és két ekvatoriális kötést létesít: a lánc egyik végének amino- és egyik karboxilátocsoportja kapcsolódik ekvatoriálisan, a másik karboxilátocsoport axiálisan az egyik fémionhoz, a lánc másik vége pedig a két karboxilátocsoporttal koordinálódik ekvatoriálisan a másik fémionhoz, míg aminocsoportjával axiálisan köt ugyanehhez (33. ábra).

5A. Összefoglalás

Réztartalmú metalloenzimek egyszerűbb modellvegyületeiként tanulmányoztam néhány oligopeptid réz(II)-komplexeit vizes oldatban: az oligoglicin - réz(II) rendszerek vizsgálatával a peptidváz koordinációs tulajdonságairól, míg a hisztidintartalmú dipeptidek réz(II)-komplexeinek tanulmányozásával a fehérjékben igen gyakran koordinálódó oldallánc viselkedéséről kívántam részletesebb ismereteket szerezni. E modellvegyületek és más, kémiai rokon molekulák réz(II)-komplexei maguk is mutatnak biológiai aktivitást. A vizsgált ligandumok másik csoportját a bisz(aminometil)foszfinsav és annak mindkét N-en, szimmetrikusan szubsztituált származékai alkották, amelyeknek biológiai hatása szintén sokrétű.

A fentebbi paramágneses rendszerek vizsgálatára igen alkalmas módszernek ígérkezett az ESR-spektroszkópia, mivel a) a fémion közvetlen koordinációs környezetéről nyújt sokoldalú felvilágosítást, b) a mérések a biológiai rendszereket jól megközelítő körülmények között, folyékony vizes oldatban, viszonylag kis koncentrációnál elvégezhetők, és c) a kapott spektrumsorozatok jól felbonthatók ezen egyensúlyi rendszerekben a komponensek (rézion, ligandum, H^+) koncentrációjától függően, átfedő tartományokban képződő különféle összetételű komplexek színepeire. d) Ezen túlmenően, az azonos összetételű komplexek eltérő szerkezetű (és spektrumú) izomerjei, továbbá a monomerek és oligomerek is könnyen megkülönböztethetők. Új spektrumfelbontási módszert, az ún. kétdimenziós ESR-spektroszkópiát értékelő módszert alkalmaztam, amely a teljes spektrumcsomag egyidejű analizisét végzi el, és ennek eredményeként megkapjuk valamennyi (ESR-aktív és -inaktív) fémkomplex képződési állandóját, továbbá az aktív molekulafajták ESR-paramétereit.

A következőképpen jártam el. a) Előzetes pH-potencimetriás adatok alapján kiválasztottam az optimális koncentrációviszonyokat és pH-kat a spektrumfelvételekhez. b) Az ESR-spektrumokat átfolyó rendszerben, azonos spektrométer-beállításoknál vettük fel, hogy biztosítsuk a jelintenzitás koncentrációarányosságát. c) Meghatároztam az egyes rendszerekben képződő lineárisan független ESR-aktív komplexek minimális számát egy modellmentes matematikai módszerrel, mátrix rang analizissel (a maradék intenzitások módszerével). Ennek ismeretében, ha szükséges volt, további független komplexekkel egészítettem ki a pH-potenciometriás egyensúlyi modellt. d) E lehetséges legjobb modell alapján, a lehető legjobb kezdeti paraméterekből kiindulva elvégeztem az ESR-spektrumok analizisét a "kétdimenziós" értékelő programmal. Ha bizonyos tartományokban nem volt

kielégítő a színképi egyezés, az ott nagyobb mennyiségben képződő komplexnél izomeregyensúlyt tételeztem föl (spektrumát kétkomponensű görbeként írtam le), vagy monomer-oligomer egyensúlyt vettem figyelembe. Végül ellenőriztem, hogy az újabb molekulafajták bevétele a modellbe valóban szignifikánsan javítja-e a színképi egyezést. e) A meghatározott ESR-paraméterek alapján azonosítottam a koordinálódó donorcsoportokat, valószínűsítettem azok elrendeződését az első koordinációs szférában, és esetenként a fém-ligandum kötésjellegre és geometriai torzulásokra következtettem.

A kétdimenziós értékelő módszer érzékenységeinek köszönhetően valamennyi rendszerben ki tudtam mutatni és jellemezni az irodalomban fel nem tételezett, új független komplexeket (elsősorban a savas tartományban olyan protonált komplexeket, amelyekben a ligandum(ok) protonszám változás nélkül kötődik(nek), néhány esetben a lúgos tartományban képződő deprotonált komplexeket; továbbá ESR-aktív és -inaktív oligomereket). Vizsgálataink felhívják a figyelmet arra is, hogy a legtöbb biszkomplex és egyes monokomplexek esetén izomeregyensúlyok alakulnak ki. (Fémkomplexek oldatbeli izomeregyensúlyai más módszerekkel rendkívül nehezen vagy nem vizsgálhatók.)

1. A réz(II) - oligoglicin rendszerekben nagyon változatos koordinációs módok alakulnak ki: a diglicin, triglicin és tetraglicin ligandumok esetén egyaránt 14-14 fémkomplexet mutattam ki.

a) Spektroszkópiai bizonyítékot találtunk arra, hogy az egymás utáni peptid-NH-csoportok lépcsőzetes deprotonálódásával kialakuló monokomplexekben a csatolt kelátgyűrűs szerkezetekeket erősen kovalens réz(II) - N síkbeli σ -kötések stabilizálják.

b) A csatolt kelátgyűrűs struktúrák a biszkomplexekben is kedvezményezettek: (i) az LH_1 ligandum stabil háromfogú ekvatoriális koordinációja a diglicin $[CuL_2H_1]^+$ komplexét széles pH-tartományban dominánssá teszi, gátolva a $[CuL_2H_2]^{2-}$ komplex képződését, amihez vagy szükség van a második kelátgyűrű felszakadására (ez valósul meg a 2. izomerben), vagy a második ligandum fémion-indukált deprotonálódását elősegítő horgonycsoport axiális helyzetbe kényszerül (ez alakul ki az 1. izomerben). (ii) A tetraglicin $[CuL_2H_1]^+$ komplexének nagyobb mennyiségben képződő izomerjében (LH_2+LH) koordináció jön létre. (iii) A triglicin és tetraglicin esetében a $[CuL_2H_2]^{2-}$ komplex mindkét izomerjében (LH_2+L)-típusú a koordináció.

2. A réz(II) - glicil-L-hisztidin rendszerben a C-terminális helyzetű oldalláncbeli donorcsoport eltérő koordinációs szerepet játszik savas és közel semleges, illetve lúgos oldatokban.

a) Kevésbé lúgos és savas oldatokban, $\text{pH}=10$ alatt az egyszerű dipeptidkomplexeikkel megegyező vagy azokkal analóg koordinációs módok alakulnak ki a glicil-L-hisztidin kötődésekor; az oldalláncbeli imidazolcsoport csupán a $[\text{CuLH}_{-1}]$ komplexben és a biszkomplexeik LH_{-1} összetételű ligandumában koordinálódik: a karboxilátocsoportot szorítja ki a harmadik ekvatoriális pozícióból. A $[\text{CuL}_2]$ és $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]$ biszkomplexeik megfelelő izomerjeinek koordinációs módjai azonosak; az LH és L ligandumok amino-N és peptid-O atomjaikkal kapcsolódnak a fémionhoz, az izomerpárokban e donoratomok ekvatoriális, ill. axiális helyzete felcserélődik.

b) Lúgos oldatokban, $\text{pH}=10$ felett a pirrol-NH deprotonálódása jelentősen megváltoztatja a koordinációs sajátosságokat. Ekvimoláris oldatban három részecske van egyensúlyban: a monomer $[\text{CuLH}_{-2}]$ komplex, amelyben az imidazolgyűrű deprotonálódott, kis koncentrációban képződik; az imidazoláto-hidakkal összekapcsolt $[\text{Cu}_4\text{L}_4\text{H}_{-8}]^{4-}$ ESR-inaktív, ciklikus tetramer van jelen legnagyobb mennyiségben, és kevés $[\text{CuLH}_{-1}(\text{OH})]^-$ vegyes hidroxokomplex is kialakul a rendszerben.

3) A réz(II) - L-hisztidil-glicin rendszerben a peptidváz és a hisztaminszerű N-terminális rész versengése a réz(II)ion körüli helyekért változatos koordinációs módokat hoz létre. A csatolt kelátgyűrűs szerkezetek nagy stabilitása ebben a rendszerben is megnyilvánul: majdnem minden körülmények között kialakul a váz-donorcsoportok dipeptidszerű háromfogú koordinációja (kivéve az erősen savas oldatokat, továbbá a ligandumfelesleget tartalmazó közel semleges oldatokat).

a) Erősen savas közegben az oldallánc játszik meghatározó szerepet, egyfogú imidazol, majd hisztaminszerű koordináció jön létre a $[\text{CuLH}_2]^{3+}$, ill. $[\text{CuLH}]^{2+}$ komplexekben.

b) A peptidcsoport deprotonálódása is bekövetkezik mérsékelten savas oldatban, $\text{pH}=3$ fölött, valamivel nagyobb valószínűséggel, mint a hisztaminszerű kötődés (a $[\text{CuL}]^+$ két izomerjében alakul ki e kétféle koordináció). Ligandumfeleslegben, a $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$ molekulafajtában a két ligandum kapcsolódása révén egyidejűleg van jelen a dipeptidszerű háromfogú, ill. az egyfogú imidazol kötés mód.

c) Ekvimoláris oldatban semleges és lúgos közegben pH 12-ig az egyszerű dipeptidek háromfogú ekvatoriális koordinációja a meghatározó. Az oldallánc csak híd szerepet tölt be (az aktív $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-2}]$ dimerben), amely erősen lúgos oldatban felbomlik, és kialakulnak a szokásos $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_{-3}]^-$ és $[\text{CuLH}_{-2}]^-$ vegyes hidroxokomplexeik.

d) Ligandumfeleslegnél, közel semleges oldatban az N-terminális rész hisztaminszerű koordinációja felülkerekedik a peptidszerű kötődésen: az egyik L ligandum diekvatoriálisan

kapcsolódik mindkét $[\text{CuL}_2]$ izomerben, míg a másik ligandum az egyik izomerben két ekvatoriális, a másik izomerben egy ekvatoriális és egy axiális pozíciót foglal el.

e) pH=9 felett ligandumfeleslegben is a váz donoratomjai veszik át a főszerepet, a c) pontban ismertetett molekulafajtákban, továbbá a $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ komplexben is. Utóbbiban a második ligandum N-terminális donorcsoportjainak ekvatoriális-axiális kapcsolódása révén jelen van a hisztaminszerű koordináció is.

4) A N-en szubsztituált bisz(aminometil)foszfinátok réz(II)-komplexeinek koordinációs módjai és stabilitása több tényező együttes hatása alapján értelmezhető (egy, két, ill. három donorcsoport erős koordinációs képessége a ligandum mindkét végén, a csatolt kelátgyűrűs szerkezetek merevsége és feszülése, amit eltérő mértékben befolyásolnak a nem koordinálódó szubsztituensek, a ligandumok donorcsoportjainak eltérő bázicitása, a foszfinát- és karboxilátcsoportok közötti versengés a rézion kötőhelyeiért).

a) Ha az aminocsoportokon nincsenek szubsztituensek (L1 ligandum), különböző mono- és biszkomplexek képződnek. A deprotonált ligandum diaminszerűen kötődik, míg az egyik aminocsoportján protonált ligandum aminofoszfináto-típusú koordinációt alakít ki.

b) Amikor mindkét aminocsoporton van egy-egy karboximetil-szubsztituens (L2, L3 és L4 ligandumok), az aminokarboxiláto kötésmód és a monokomplexek kedvezményezettek. A terminális donorcsoportok egyidejű koordinációja nagy stabilitást biztosít a CuL komplex számára, különösen az L2 ligandumnál. Ugyanakkor a nem koordinálódó szubsztituensek szterikus hatása (L3) vagy a ligandum merev szerkezete, ha a N egy merev gyűrű része (L4) ellensúlyozza a fenti effektust: a CuL komplex képződése magasabb pH-kra tolódik, nő a dimerizációs hajlam; fémfeleslegben jelentős mennyiségű Cu_2L alakul ki.

c) Ha mindkét nitrogénatomon két karboximetil-csoport helyezkedik el (L5), mindkét láncvég háromfogú koordinációra képes, ami nagy stabilitású kötésmódnak bizonyult. Kétmagvú és dimer komplexekben valósul meg, geometriai torzulások kíséretében.

5B. Summary

In biological systems, copper(II) is mainly bound to proteins, and it catalyses various bioredox processes; in most cases, it is in the active centres of these metalloenzymes. In order to clarify the role of copper(II) in detail, the complexes of smaller ligands as models are frequently investigated instead of the complexes of large biomolecules. Various oligopeptide complexes, e.g., can be good models for the active centres of metalloenzymes. The histidine side-chains of various metalloproteins frequently take part in the copper(II) coordination. Accordingly, I studied the coordination of copper(II) to some oligoglycines, and to the ligands L-histidylglycine and glycyl-L-histidine in aqueous solution in order to model the ligation of the backbone and side-chain donor groups, important in metalloenzymes and other biological systems. The above and related small ligands and their copper(II) complexes themselves also show biological activity. Copper(II) complexes of bis(aminomethyl)phosphinic acid and of its N-substituted derivatives were also investigated because of the great biological activity of the ligands.

The donor groups of the ligands are in competition for the binding sites of the metal ion, and a number of complexes of different composition and structure can be formed, depending on the metal and ligand concentrations and pH. Frequently, the alternative structures coexist. If we want to elucidate the natures and positions of the donor groups around the central ion, which determine the biological effects of the complexes, we have to apply spectrum decomposition techniques in order to obtain the individual spectra of various species from the experimental curves. For paramagnetic complexes, the electron spin resonance (ESR) spectra recorded in fluid solution offer an excellent possibility for spectrum decomposition. A great advantage of this method is, in contrast to other methods, that we can easily distinguish the microspecies or isomers (metal complexes of identical compositions but different coordination modes), and oligomerization processes can be detected easily.

I applied a new spectrum decomposition method, the so-called "two-dimensional" ESR simulation which involves the simultaneous analysis of series of ESR spectra recorded at various concentrations and pH's. It gives the formation constants of the metal complexes including isomers; furthermore, it furnishes the magnetic parameters of the ESR-active species, which inform about the nature of the coordinating groups and additional details concerning the coordination modes. I followed the procedure outlined below. a) On the basis

of preliminary pH potentiometric data, I chose the optimum conditions (concentrations and pH's) for data acquisition. b) I recorded the spectra in a circulating system at identical settings of the ESR spectrometer in order to ensure the linear relationship between the signal intensity and concentration. c) After some numerical preparation of spectra, I carried out matrix rank analysis (by the method of residual intensities) on the series of spectra. By this model-free, purely mathematical method which does not use any chemical assumption, I obtained the minimum number of independent, ESR-active species. In this way, I could check the pH potentiometric model, and complete it by considering new independent species if necessary. d) Then I carried out the two-dimensional analysis on the spectrum package. When the spectral fit was poor for a smaller group of spectra, I further refined the equilibrium model by taking into account an isomeric (micro) or an oligomerization equilibrium for the complex represented in relatively high concentration in the respective spectra. After the spectral fit could not be further improved, I checked whether each minor complex causes a significant improvement of spectral fit. e) On the basis of the magnetic parameters, I drew conclusions on the natures of coordinating donor groups and other features of coordination modes for the various species.

The sensitivity of the two-dimensional ESR evaluation method allowed to identify and characterize a number of new independent species in the systems studied. The majority of them are protonated mono and bis complexes formed in acidic solutions, where one or two ligand(s) is/are bound to the metal ion by weak donor(s) (mostly by carboxylate group(s)), without any change in protonation state. In alkaline media, new deprotonated species were detected in some cases. Equilibria of monomeric and oligomeric complexes could be shown in several systems as well. Furthermore, I have concluded that isomeric equilibria occur very frequently for both mono and, particularly, for bis complexes.

1. The two-dimensional ESR evaluation method allowed an insight in the great structural variety of the copper(II) - oligoglycine complexes, offering data on the microspeciation and coordination modes for 14 metal complexes in each of the copper(II) - diglycine, copper(II) - triglycine and copper(II) - tetraglycine systems.

a) For the mono complexes formed by the stepwise deprotonation of the subsequent peptide groups, structures involving coupled chelate rings are stabilized by particularly strong copper(II) - N in-plane σ -bonds.

b) For the bis complexes, the formation of coupled chelate rings is also favored: i) The tridentate equatorial ligation of the ligand LH_{-1} makes the complex $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$ of diglycine

predominant in a wide pH range, inhibiting the microprocesses leading to the formation of $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$. ii) In the major isomer of $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ of tetraglycine, (LH_2+LH) coordination occurs. iii) The predominant mode of coordination in both isomers of $[\text{CuL}_2\text{H}_2]^{2-}$ of triglycine and tetraglycine is (LH_2+L) .

2. For the copper(II) - glycyl-L-histidine system, the side-chain imidazole group in C-terminal position plays different role in acidic and nearly neutral solutions than in alkaline media.

a) Below pH 10, the presence of the side-chain imidazole group in the glycyl-L-histidine complexes only slightly affects the mode of coordination compared to the simple dipeptides: it is bound to the metal ion only in the $[\text{CuLH}_1]$ complex, and in the 'LH₁' ligand of the bis complexes; in these species it displaces the carboxylate group from the third equatorial site. The 'LH' and 'L' ligands in the $[\text{CuL}_2]$ and $[\text{CuL}_2\text{H}_1]^-$ complexes, respectively, are ligated through the amino nitrogen and the peptide oxygen donors, either with the first in equatorial and the second in axial position, or inversely.

b) Over pH 10, the deprotonation of the pyrrolic nitrogen causes dramatic changes in the coordination. In equimolar solution, up to pH 12, an equilibrium of three species occurs: the minor monomer $[\text{CuLH}_2]^-$ with a deprotonated and equatorially-bound imidazole nitrogen, the corresponding ESR-inactive cyclic tetramer $[\text{Cu}_4\text{L}_4\text{H}_{-8}]^{4-}$ as major species, and the minor mixed hydroxo complex $[\text{CuLH}_1\text{OH}]^-$ are formed.

3. For the copper(II) - L-histidylglycine system, it has been shown that the competition between the histamine-like N-terminal part and the dipeptide backbone of the ligand results in a variety of coordination modes. The great stability of structures with coupled chelate rings can be observed for this system, too: the dipeptide-like tridentate coordination by the backbone donors is present almost under any conditions (except for strongly acidic media and nearly neutral solutions at ligand excess).

a) In strongly acidic media, the side-chain plays a decisive role by participating in monodentate imidazole binding, and then histamine-like equatorial ligation through the amino and imidazole donors ($[\text{CuLH}_2]^{3+}$ and $[\text{CuLH}]^{2+}$, respectively).

b) Over pH 3, deprotonation of the peptide group also occurs, with somewhat higher probability than that for histamine-like coordination (in the isomers of $[\text{CuL}]^+$). At a ligand excess, in the complex $[\text{CuL}_2\text{H}]^+$, both the dipeptid-like tridentate coordination and the monodentate imidazole ligation occur in the equatorial sites.

c) At equal metal and ligand concentrations, in the neutral and alkaline region up to pH 12, peptide-like tridentate equatorial coordination by the backbone donors takes over the leading role from the histamine-like binding mode. Here, the side-chain is only a bridging group, though a strong one (active dimer $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_2]$), and even this role ceases in strongly alkaline solution (hydroxo complexes $[\text{Cu}_2\text{L}_2\text{H}_3]^-$ and $[\text{CuLH}_2]^-$).

d) At a ligand excess, in nearly neutral media, the N-terminal part and histamine-like coordination achieves an advantage over the backbone: the diequatorial coordination of the first ligand L is accompanied by diequatorial or equatorial-axial ligation of the second ligand (isomers of $[\text{CuL}_2]$).

e) At a ligand excess above pH 9, the backbone again predominates in the deprotonated ligands of the above-mentioned mono complex and binuclear species, and $[\text{CuL}_2\text{H}_{-1}]^-$). In the latter case, histamine-like binding of the second ligand also takes place.

4. The coordination modes and stabilities of the copper(II) complexes of N-substituted bis(aminomethyl)phosphinates can be interpreted as the resultants of a number of various effects such as strong coordination ability of one, two or three donor groups on both ends of the ligands, tension and rigidity of structures with coupled chelate rings influenced differently by the non-coordinating substituents, different basicities of the N donors, competition between the phosphinate and carboxylate groups for the copper binding sites.

a) In the event of nonsubstituted terminal amino groups (ligand L1), various mono and bis complexes are formed, where the deprotonated ligand is bound in a diamine-like way, while aminophosphinate-type coordination occurs for the ligand with one amino group protonated.

b) When each amino group bears a carboxymethyl substituent, mono complexes and the aminocarboxylate binding mode are favored (ligands L2, L3 and L4). Simultaneous coordination of all terminal donors appreciably enhances the stability of the complex CuL , particularly for L2. At the same time, the steric effect of the noncoordinating substituents on the N atoms (L3), or the rigidity of the ligand with the amino group built into a ring (L4), in part counterbalance the former effect: at a ligand excess dimerization occurs, while at a metal excess the binuclear complex Cu_2L is formed in significant amounts.

c) Two carboxymethyl substituents on each N atom (L5) make tridentate coordination of the terminal parts favoured. This binding mode is observed mainly in the binuclear and dimer species, and is accompanied by considerable distortion of the complexes.

Irodalomjegyzék

1. R. Malkin and B. G. Malmström, *Adv. Enzymol.*, **33**, 177 (1970)
2. R. J. P. Williams, *Inorg. Chim. Acta Rev.*, **5**, 137 (1971)
3. J. A. Fee, *Struct. Bonding Berlin*, **23**, 1 (1975)
4. A. G. Sykes, *Chem. Soc. Rev.*, **14**, 283 (1985)
5. K. D. Karlin and Y. Gultneh, *J. Chem. Educ.*, **62**, 983 (1985)
6. J. M. McCord, *Science*, **185**, 529 (1974)
7. M. Rister, K. Bauermeister, U. Gravert and E. Glatke, *Lancet*, 1094 (1976)
8. J. J. Rubin and L. J. Willmore, *Exptl. Neurol.*, **67**, 472 (1980)
9. L. W. Oberley and G. R. Buettner, *Cancer Res.*, **39**, 1141 (1979)
10. J. R. J. Sorenson, in *"Metal Ions in Biological Systems"*, Vol. **14**, Ed., H. Sigel, Marcel Dekker, New York, 77 (1982)
11. B. Sarkar, *Chem. Scripta*, **21**, 101 (1983)
12. R. Pogni, M. C. Baratto, E. Busi, R. Basosi; *J. Inorg. Biochem.* **73**, 157-165 (1999)
13. C. M. Perkins, N. J. Rose, B. Weinstein, R. E. Stenkamp, L. H. Jensen and L. Pickart; *Inorg. Chim. Acta*, **82**, 93 (1984)
14. J. Kehler, B. Ebert, O. Dahl, P. Krogsogaard-Larsen, *Tetrahedron* 1999, **55**, 771-780 (1999);
15. M. Chebib, G. A. R. Johnston, *J. Med. Chem.*, **43**, 1427-1447 (2000); (c) G. A. R. Johnston, *Curr. Topics in Med. Chem.* **2**, 903-913 (2002).
16. P. Hermann, I. Lukes, P. Vojtisek, I. Cisarova, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2611-2618 (1995).
17. M. Collinsova, I. Jiráček, *Curr. Med. Chem.* **7**, 629-647 (2000);
18. I. A. Natchev, *Liebigs Ann. Chem.* 861-867 (1988);
19. M. A. Hussain, M. S. L. Lim, K. S. Raghavan, N. J. Rogers, R. Hidalgo, C. Kettner, A. *Pharm. Res.* **9**, 626-628 (1992);
20. N. Valiaeva, D. Bartley, T. Konno, J. K. Coward, *J. Org. Chem.* **66**, 5146-5154 (2001).
21. A. Peyman, K. Budt, J. Spanig, B. Stowasser, D. Ruppert, *Tetrahedron Lett.* **33**, 4549-4552 (1992).
22. M. A. Dhansay, P. W. Linder, R. G. Torrington, T. A. Modro, *J. Phys. Org. Chem.* **3**, 248-254 (1990);

23. M. A. Dhansay, P. W. Linder, *J. Coord. Chem.* **28**, 133-145 (1993);
24. Maier, L. *J. Organomet. Chem.* **1979**, 178, 157-169;
25. Gy. Tircsó, A. Cs. Bényei, E. Brücher, I. Lázár, R. Király, R. Pál, előkészületben
26. M. L. Brader, D. Borchardt, M. F. Dunn, *J. Am Chem. Soc.* **114**, 4480-4486 (1992)
27. L. D. Pettit, W. Bal, M. Bataille, C. Cardon, H. Kozłowski, M. Leseine-Delstanche, S. Pyburn, A. Scozzafava, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1651-1656 (1991)
28. J. F. Galey, B. Decock-Le Reverend, A. Lebkiri, L. D. Pettit, S. I. Pyburn H. Kozłowski, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2281-2287 (1991)
29. S. Panwen, Z. Yongqia, W. Aheyi, C. Yunxia, *Inorganica Chimica Acta*, **169**, 161-166 (1990)
30. L. Xiao, M. Jouini, B. T. Fan, G. Lapluye, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1137-1146 (1990)
31. B. Mrabet, M. Jouini, J. Huet, G. Lapluye, *J. Chim Phys.* **89**, 2187-2205 (1992)
32. R. S. Krishanan, V. N. Sankaranarayanan, K. Krishnan, *J. Indian Inst. Sci.*, **55**, 66 (1973)
33. C. W. Moszczenski, R. J. Hooper, *Inorg. Chim. Acta*, **70**, 71-75 (1983)
34. D. A. Thornton, *Coord. Chem. Rev.* **55**, 113-149 (1984)
35. A. Eriksson, J. Lindgren, K. Stojanoski, *J. Mol. Struct.*, **143**, 167-170 (1986)
36. M. Bacci, S. Cannistraro, *Appl. Magn. Reson.*, **1**, 369-378 (1990)
37. P. Drevensek, I. Turel, N. P. Ulrih, *J. Inorg. Biochem.*, **96**, 407-415 (2003)
38. E. J. Nelson, K. J. M. Blobaum, M. A. Wall, P. G. Allen, A. J. Schwartz, C. H. Booth, *Phys. Rev.*, **67**, 224206 (2003)
39. H. T. Langhammer, T. Muller, R. Bottcher, H. P. Abicht, *Sol. State Sci.*, **5**, 965-971 (2003)
40. S. E. Shadle, J. E. Penner-Hahn, H. J. Schugar, R. Hedman, K. O. Hodgson, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 767-776 (1993)
41. P. Chutia, M. Sharma, P. Das, N. Kumari, J. D. Woollins, A. M. Z. Slawin, D. K. Dutta, *polyhedron*, **22**, 2725-2730 (2003)
42. A. I. Shestavin, S. N. Bolotin, V. A. Volynkin, V. T. Panyushkin, *J. Mol. Liq.*, **107**, 69-75 (2003)
43. G. Micera, D. Sanna, R. Dallochio, A. Dessi, *J. Coord. Chem.* **25**, 265-270 (1992)
44. C. Luchinat, Z. Xia, *Coord. Chem. Rev.*, **120**, 281-307 (1992)
45. M. Strásák, Z. Durcová, *J. Coord. Chem.* **22**, 99-107 (1990)

46. M. M. Shoukry, W. M. Hosny, *Transition Met. Chem.* **14**, 69-72 (1989)
47. Y. Zou, F. T. Greenaway, J. P. Pease, *Macromolecules*, **22**, 4437-4441 (1989)
48. A. Rockenbauer,, T. Szabó-Plánka, Zs. Árkosi, L. Korecz; *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 7646-7654 (2001)
49. G. Peintler, I. Nagypál, A. Jancsó, I. R. Epstein, K. Kustin; *J. Phys. Chem.*, **101**, 8013-8020 (1997)
50. M. T. Beck, I. Nagypál, Chemistry of Complex Equilibria, Akadémiai kiadó, Budapest
51. R. M. Wallace; *J. Phys. Chem*, **68**, 3890-3892 (1964)
52. R. M. Wallace, S. M. Katz; *J. Phys. Chem.*, **64**, 899-901 (1960)
53. S. Ainsworth; *J. Phys. Chem.*, **65**, 1968-1972 (1961)
54. D. Kivelson, *J. Chem. Phys.*, **27**, 1087 (1957)
55. B. A. Goodman, J. B. Raynor; *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.*, **13**, 135-362 (1970)
56. B. A. Goodman, D. B. McPhail; *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1717-1718 (1985)
57. B. A. Goodman, McPhail; *J. Chem. Research*, (S), 276, (M), 2901 (1985)
58. A. Rockenbauer, É. Budó-Záhonyi, L. I. Simándi; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1729 (1975)
59. A. H. Maki, B. R. McGarvey; *J. Chem. Phys.*, **29**, 31-35 (1958)
60. H. R. Gersmann, J. D. Swalen; *J. Chem. Phys.*, **36**, 3221 (1962)
61. T. Szabó-Plánka, A. Rockenbauer, L. Korecz, D. Nagy; *Polyhedron*, **19**, 1123-1131 (2000)
62. H. Siegel, R. B. Martin, *Chem. Rev.* **82**, 385-426 (1982)
63. J. Peisach, W. E. Blumberg; *Arch. Biochem, Biophys*, **165**, 691-708 (1974)
64. A. Rockenbauer; *J. Magn. Reson.* **35**, 429-438 (1979)
65. M. Iwaizumi, T. Kudo, S. Kita; *Inorg. Chem.* **25**, 1546-1550 (1986)
66. T. Varga, *Synth. Commun.* **1997**, 27, 2899-2902.
67. L. Zékány, I. Nagypál, G. Peintler; PSEQUAD for Chemical Equilibria, Technical Software Distributors, Baltimore, MD, (1991)
68. M. Kim, A. E. Martell; *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 914-918 (1966)
69. H. Siegel, R. Griesser, B. Z. Prijs; *Naturforsch*, **B27**, 353-358 (1972)
70. A. Hanaki, T. Kawashima, T. Konishi, T. Takao, D. Mabuchi, A. Odani, O. Yamauchi; *J. Inorg. Biochem*, **77**, 147-155 (1999)

71. I. Sóvágó, D. Sanna, A. Dessi, K. Várnagy, G. Micera, *J. Inorg. Biochem.* **63**, 99-117 (1996)
72. G. Brookes, L. D. Pettit, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2112-2117 (1975)
73. R. B. Martin, L. Mosoni, B. Sarkar, *J. Biol. Chem.*, **246**, 5944-5947 (1972)
74. W. Bal, H. Kozłowski, M. Lisowski, L. D. Pettit, *J. Inorg. Biochem.* **55**, 41-45 (1994)
75. B. A. Goodman, D. B. McPhail, H. K. J. Powell; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 822-827 (1981)
76. G. Valensin, R. Basosi, W. E. Antholine, E. Gaggelli; *J. Inorg. Biochem.*, **23**, 125-130 (1985)
77. M. Pasenkiewicz-Gierula, W. Froncisz, R. Basosi, W.E. Antholine, J. S. Hyde; *Inorg. Chem.* **26**, 801-805 (1987)
78. R. Pogni, G. Della Lunga, R. Basosi; *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 1546-1550 (1993)
79. A. Gergely, I. Nagypál; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2106-2109 (1977)
80. E. Farkas, T. Kiss, *Polyhedron*, **8**, 2463-2467 (1989)
81. V. G. Shtyrin, E. L. Gogolashvili, A. V. Zakharov, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1293 (1989)
82. W. S. Kittl, B. M. Rode, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 409-414 (1983)
83. M. Lukas, M. Kyvala, P. Hermann, I. Lukes, D. Sanna, G. Micera, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2850-2857 (2001)
84. T. Szabó-Plánka, A. Rockenbauer, L. Korecz, *Magn. Reson. Chem.*, **37**, 484-492 (1999)
85. I. Sóvágó, E. Farkas, A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2159 (1982)
86. G. Arena, V. Cucinotta, *Ann. Chim. Rome*, **74**, 399 (1984)
87. A. Ensuque, A. Demaret, L. Abello, G. Lapluye, *J. Chim. Phys.*, **84**, 1013 (1987)
88. R. P. Agarwal, D. D. Perrin, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 268, (1975)
89. M. J. A. Rainer, B. M. Rode, *Inorg. Chim. Acta*, **92**, 1 (1984)
90. D. B. McPhail, B. A. Goodman, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **83**, 3683 (1987)
91. P. G. Daniele, O. Zerbinati, V. Zelano, G. Ostacoli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2711 (1991)
92. T. Gajda, B. Henry, J. J. Delpuech, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1301 (1993)
93. M. J. A. Rainer, B. M. Rode, *Inorg. Chim. Acta*, **107**, 127 (1985)
94. A. Gergely, E. Farkas, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 381 (1982)

95. J. F. Blount, K. A. Fraser, H. C. Freeman, J. T. Szimansky, C. H. Wang, *Acta Crystallogr.*, Sect. **B 22** 396 (1967)
96. T. Szabó-Plánka, G. Peintler, A. Rockenbauer, M. Győr, M. Varga-Fábián, L. Ináltórisz, Balázspiri, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1925 (1989)
97. R. P. Agarwal, D.D. Perrin, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2159-2163 (1982)
98. P. G. Daniele, O. Zerbinati, R. Aruga, G. Ostacoli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 1115-1120 (1988)
99. W. Mori, A. Nakahara, Y. Nakao, *Inorg. Chim. Acta*, **37**, L507-L508 (1979)
100. H. Aiba, A. Yokoyama, H. Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **47**, 136-142 (1974)
101. T. Szabó-Plánka, Zs. Árkosi, A. Rockenbauer, L. Korecz, *Polyhedron*, **20**, 995-1003 (2001)
102. T. Szabó-Plánka, A. Rockenbauer, L. Korecz, *Polyhedron*, **18**, 1969-1974 (1999)
103. T. R. Varga, R. Király, E. Brücher, V. Hietapelto, *Models in Chem.* 431-439 (1999).
104. Zs. Árkosi, T. Szabó-Plánka, A. Rockenbauer, N. V. Nagy, L. Lázár, F. Fülöp, *Inorg. Chem.*, **42**, 4842-4848 (2003)

Függelék

1. táblázat A diglicin, triglicin és tetraglicin réz(II)-monokomplexeinek ESR paramétereir^a

Komplex	Paraméter	Ligandum		
		Diglicin	Triglicin	Tetraglicin
Cu²⁺	$g_0, A_0/G$	2.1945(4), 34.5(4)	2.196(1), 34.2(9)	2.1966(2), 34.5(4)
	$\alpha, \beta, \gamma/G$	51.1(4), -1.8(2), 0.5(2)	52.(2), -1.9(6), 0.2(5)	50.6(4), -1.8(3), 0.6(3)
[CuLH]²⁺	$g_0, A_0/G$	2.1795(7), 41.(2)	2.181(2), 41.(2)	2.1828(1), 40.(1)
	$\alpha, \beta, \gamma/G$	47.7(8), -2.2(7), 1.2(7)	56.(5), -2.(1), 0.1(9)	49.2(7), -3.1(6), 1.5(5)
[CuL]⁺	$g_0, A_0/G$	2.1606(5), 45.8(6)	2.1647(8), 43.8(7)	2.1633(2), 42.6(5)
	a_N/G	8.(1)	8.(1)	9.0(9)
	$\alpha, \beta, \gamma/G$	30.4(1), -6.7(1), 0.9(1)	34.(1), -8.4(1), 1.1(4)	34.6(1), -10.3(1), 1.2(1)
[CuLH₁]	$g_0, A_0/G$	2.1198(1), 66.8(1)	2.1273(3), 59.6(3)	2.1280(1), 58.4(2)
	a_N/G	13.6(1), 11.7(1)	12.4(5), 12.2(5)	12.4(3), 12.2(3)
	$\alpha, \beta, \gamma/G$	17.9(1), -5.4(1), 0.9(1)	20.5(1), -8.5(1), 1.7(1)	23.0(2), -11.0(2), 1.8(2)
[CuLH₂]⁻	$g_0, A_0/G$	2.1164(1), 37.0(1)	2.0971(1), 80.9(2)	2.1057(1), 79.3(1)
	a_N/G	12.1(1), 12.1(1)	17.1(3), 14.6(2), 8.6(4)	15.8(2), 12.4(3), 10.6(2)
	$\alpha, \beta, \gamma/G$	18.7(1), -5.5(1), 0.3(1)	12.5(1), -5.6(1), 1.3(1)	19.5(1), -11.1(1), 2.4(1)
[CuLH₃]²⁻	$g_0, A_0/G$		2.1019(3), 78.6(4)	2.0864(1), 86.6(1)
	a_N/G		14.7(6), 13.(1), 11.9(7)	16.9(1), 15.1(1), 10.6(1), 10.8(1)
	$\alpha, \beta, \gamma/G$		14.3(1), -7.8(1), 1.7(1)	14.3(1), -7.7(1), 1.8(1)

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3 σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél.

2. táblázat A réz(II) - diglicin, réz(II) - triglicin és réz(II) - tetraglicin rendszerek biszkomplexeinek ESR paramétereit^a

Komplex	Paraméter	Ligandum		
		Diglicin	Triglicin	Tetraglicin
[CuL₂H₂]²⁺	g _o , A _o /G	2.1794(7), 34(2)	2.181(2), 35(2)	2.1797(2), 35(1)
	α, β, γ/G	41.3(1), -14.0(1), 0.1(1)	43.9(1), -13.9(1), 0.1(1)	46.2(1), -18.5(1), 1.8(1)
[CuL₂H]⁺	g _o , A _o /G	2.1463(7), 41(2)	2.153(1), 43(2)	2.1583(1), 46(1)
	a _N /G	9(5)	10(3)	11(4)
	α, β, γ/G	44.5(1), -15.9(1), 0.1(1)	45.7(1), -15.7(1), 0.1(1)	44.8(9), -15.7(8), 1.0(5)
[CuL₂]				
LH₁, LH izomer	g _o , A _o /G	2.1167(7), 56(2)	2.120(1), 47(2)	2.1238(1), 51(1)
	a _N /G	9(2), 9(2)	9(4), 9(4)	8(4), 8(4)
	α, β, γ/G	28.1(1), -11.0(1), 3.3(1)	38.0(1), -14.0(1), 2.6(1)	37.4(1), -11.2(1), 3.8(1)
L, L izomer	g _o , A _o /G	2.1386(7), 36(2)	2.144(2), 31(1)	2.1414(1), 29.4(9)
	a _N /G	9(1), 9(1)	9(1), 9(1)	9(1), 9(1)
	α, β, γ/G	18.5(1), -7.0(1), 0.1(5)	24.4(1), -8.7(1), 0.5(1)	29.6(1), -13.9(1), 1.9(1)
[CuL₂H₁]⁻				
1. izomer	g _o , A _o /G	2.1148(1), 52.0(1)	2.1138(4), 68.8(4)	2.1159(1), 68.0(4)
	a _N /G	12.2(2), 10.6(3)	10.4(8), 8.0(6), 8.0(6)	12.7(8), 9.9(8), 7.5(9)
	α, β, γ/G	23.8(1), -10.4(1), 1.9(1)	34.1(1), -16.7(1), 4.7(1)	30.6(1), -18.7(1), 3.0(1)
2. izomer	g _o , A _o /G	2.1034(2), 44.1(2)	2.1130(6), 44.2(5)	2.0983(1), 44.9(5)
	a _N /G	12.3(6), 12.3(6), 12.3(6)	14.8(6), 8.(2), 8.(2)	14.(1), 12.(2), 9.0(3)
	α, β, γ/G	24.0(1), -9.8(1), 0.04(1)	22.4(1), -13.2(1), 3.5(1)	38.4(1), -11.2(1), 4.0(1)
[CuL₂H₂]²⁻				
1. izomer	g _o , A _o /G	2.1033(4), 66.7(6)	2.1004(2), 77.1(2)	2.1002(1), 76.5(2)
	a _N /G	11.(1), 6.9(6), 6.9(6)	13.5(4), 12.4(7), 10.4(4)	13.8(5), 12.3(3), 9.8(3)
	α, β, γ/G	24.8(1), -10.7(1), 4.3(1)	21.0(1), -13.3(1), 2.7(1)	29.0(1), -20.2(1), 4.1(1)
2. izomer	g _o , A _o /G	2.0932(2), 64(1)	2.081(2), 71(3)	2.0805(3), 70(1)
	a _N /G	13(1), 13(1), 9(1), 9(1)	13(3), 13(3), 11(3), 11(3)	12(3), 12(3), 9(4), 9(4)
	α, β, γ/G	28.6(1), -11.3(1), 1.6(1)	39(4), -13.0(3), 0.1(1)	37(2), -13.3(2), 0.1(6)

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél.

3. táblázat A glicil-L-hisztidin réz(II)-komplexeinek ESR-paraméterei^a

Állapot	$g_{\parallel}$	$g_{\perp}$	$A_{\parallel}/G$	$A_{\perp}/G$	g_{iso}	A_{iso}/G
$2+$						
$[Cu^{2+} \cdots H_2O]^{2+}$	2.1070(8)	2.34(1)			52(3)	-1.8(7)
$[Cu^{2+} \cdots H_2O]^{2+}$	2.182(3)	2.37(3)			42(5)	-5(2)
$[Cu^{2+} \cdots H_2O]^{2+}$	2.155(1)	2.39(2)	8(3)	37(3)	-13.6(2)	5(1)
$2+$	2.1175(6)	2.33(1)	9(3)	33.5(3)	3.3(3)	3.1(3)
$2+$	2.1111(6)	2.33(1)	12.3(7)	13.6(4)	3.3(3)	3.1(3)
			8.1(7)			
$2+$	2.100(1)	2.32(4)		58(8)	0.1(6)	8(3)
$2+$	2.103(3)	2.31(3)	12(6)	33.1(3)	3.3(3)	5(1)
			12(5)			
$2+$	2.103(3)	2.33(3)	12.9(5)	15.1(4)	3.3(3)	3.1(3)
			12.9(5)			
$2+$	2.103(3)	2.34(3)	13(1)	33.5(3)	15.3(3)	5.1(3)
			11(1)			
$2+$	2.093(3)	2.33(3)	13.5(5)	31.5(3)	15.5(3)	3.3(3)
			13.5(5)			
			13.5(5)			
$2+$	2.103(3)	2.33(3)	13(1)	33.3(3)	15.3(3)	5.3(3)
			9.8(6)			
$2+$	2.095(3)	2.33(3)	13.9(4)	31.3(3)	15.3(3)	3.5(3)
			13.9(4)			
			13.9(4)			

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél.

4. táblázat Az L-hisztidil-glicin réz(II)-komplexeinek ESR-paraméterei^a

Komplex	^o g	^o A	No a	α	β	γ
Cu ²⁺	2.1956 (3)	34.6 (4)	—	49.5 (8)	-1.8 (3)	0.6 (2)
[CuLH ₂] ³⁺	2.172 (3)	40. (5)	7. (8)	52.8 (9)	-5. (3)	1. (2)
[CuLH] ²⁺	2.1500 (8)	64.3 (7)	9.1 (7) 9.1 (7)	38.1 (1)	-13.4 (1)	2.6 (1)
[CuL] ⁺	<i>h izomer</i>	2.1491 (3)	12.7 (3) 9.8 (4)	26.5 (1)	-11.1 (1)	0.4 (1)
	<i>p izomer</i>	2.1323 (9)	14. (2) 13. (1)	41.0 (1)	-5.5 (1)	0.6 (1)
[Cu ₂ L ₂ H ₂]	2.1041 (3)	25. (5)		55.2 (4)	-7.4 (7)	3.0 (5)
[CuLH ₂] ⁺	2.1160 (1)	36.4 (1)	12.4 (3) 12.4 (3)	19.2 (1)	-9.5 (1)	2.0 (1)
[CuL ₂ H] ⁺	2.1214 (9)	66.1 (5)	13.7 (9) 7. (2) 6. (2)	44.7 (8)	-26.2 (2)	6.6 (2)
[CuL ₂]	<i>4N izomer</i>	2.1068 (2)	9.6 (6) 9.6 (6) 9.6 (6) 7.8 (8)	45.7 (2)	-19.7 (1)	0.1 (1)
	<i>3N izomer</i>	2.1228 (3)	9.2 (6) 7.2 (8) 7.0 (8)	31.7 (1)	-17.2 (1)	5.3 (1)
[CuL ₂ H ₂] ⁺	2.1123 (7)	41.2 (8)	16. (1) 13. (2) 11. (1)	21. (1)	-9.2 (1)	1.7 (1)
[CuL ₂ H]	2.071 (4)	46. (3)	15. (6) 15. (6) 8. (6) 8. (6)	35. (7)	-8. (4)	0.0 (1)

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervallum (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél.

5. táblázat A réz(II) - szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav rendszerekben képződő mono- és kétmagvú komplexek ESR-paramétereir^a

Komplex	Paraméter	Ligandum				
		L1	L2	L3	L4	L5
Cu²⁺	g _o	2.1967(2)	2.1956(3)	2.1968(9)	2.1954(5)	2.196(3)
	A _o /G	34.3(3)	34.8(1)	34(3)	35.2(6)	36(1)
	α,β	55(1),	51.6(1), -1.5(1),	48.8(9), -1.1(8),	48.7(1), -2.4(4),	49(3), -1.3(2),
	γ	-1.5(1), 0.4(2)	1.0(1)	0.1(5)	1.4(4)	0.1(1)
[Cu₂L]	g _o			2.149(3)	2.153(3)	2.1486(5)
	A _o /G			34(3)	36(2)	36.4(5)
	α,β			78.5(4), -1.4(3),	67(3), -2(2),	53(1), -5.3(5),
	γ			0.1(3)	0.1(2)	4.8(5)
[CuLH₂]	g _o				2.1911(9)	2.1421(6)
	A _o /G				37.8(7)	49.7(6)
	a _N /G					11(1)
	α,β				43(2), -3.0(6),	45.2(1), -14.8(1),
	γ				0.8(5)	0.01(4)
[CuLH]	g _o	2.1646(5)		2.1457(4)	2.1496(2)	2.1468(4)
	A _o /G	44.9(5)		59.6(4)	56.9(2)	47.9(4)
	a _N /G	6(1)		10.9(6)	11.7(3)	9.8(6)
	α,β	40.0(8),		45.4(1), -20.6(1),	33.0(3), -2.4(4),	38.2(2), -14.5(1),
	γ	-6.3(4), 0.1(3)		2.8(2)	1.4(4)	2.6(2)
[CuL] 1. izomer	g _o	2.1463(3)	2.1249(1) 73.1(3)	2.1228(1)	2.1206(1)	2.125(6)
	A _o /G	60.2(3)		73.4(1)	76.8(4)	40(3)
	a _N /G	10.7(6), 11.9(5)	10.5(1), 10.5(1)	9.6(1), 9.6(1)	10.9(1), 10.9(1)	11(3), 11(3)
	α,β	25.1(1),	21.4(1), -9.4(1),	29.0(1), -17.8(1),	22.8(1), -12.1(1),	38.2(3), -12.6(1),
	γ	-6.4(1), 0.9(1)	1.8(1)	4.1(1)	2.5(1)	3.3(1)
2. izomer	g _o		2.1199(1)	2.1095(4)	2.1178(1)	
	A _o /G		71.9(2)	73.3(3)	71.2(1)	
	a _N /G		10.6(2), 10.6(2)	6.0(4), 6.0(4)	10.7(1), 10.7(1)	
	α,β		23.3(1), -6.6(1),		18.3(1), -7.8(1),	
	γ		0.55(1)		0.7(1)	

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervallum (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél.

6. táblázat A réz(II) - szubsztituált bisz(aminometil)foszfinsav rendszerekben képződő bisz- és dimer komplexek ESR-paramétere^a

Komplex	Paraméter	Ligandum			
		L1	L3	L4	L5
[Cu ₂ L ₂ H ₂]	g _o				2.138(1)
	A _o /G				48(1)
	α,β				43.9(8), -6.7(1),
	γ				3(1)
[Cu ₂ L ₂]	g _o		2.153(1)	2.1508(7)	2.1463(9)
	A _o /G		31(1)	35.4(6)	41.9(8)
	α,β		38.0(1), -17.2(1),	40.1(8), -8.5(4),	65(2), -6.0(5),
	γ		0.10(2)	0.1(3)	0.3(5)
[CuL ₂ H ₃]	g _o			2.1500(2)	
	A _o /G			56.3(1)	
	a _N /G			10.9(2), 10.9(2)	
	α,β			32.8(2), -12.8(2),	
	γ			1.7(1)	
[CuL ₂ H ₂] 1. izomer	g _o	2.1398(7)			
	A _o /G	39(2)			
	a _N /G	10(5), 8(5)			
	α,β	39(3), -4(2),			
	γ	0.1(1)			
2. izomer	g _o	2.1430(6)			
	A _o /G	62(2)			
	a _N /G	8(2), 8(2)			
	α,β	27.1(2),			
	γ	-5.3(1), 0.6(1)			
[CuL ₂ H]	g _o	2.1249(2)			
	A _o /G	64.4(2)			
	a _N /G	10.2(4),			
		9.2(6), 9.2(6)			
	α,β	25.1(1),			
γ		-8.9(1), 1.5(1)			
[CuL ₂] 1. izomer	g _o	2.1122(1)			
	A _o /G	68.8(2)			
	a _N /G	9.0(2), 9.0(2)			
		8.2(2), 8.2(2),			
	α,β	24.5(1),			
γ		-8.0(1), 1.1(1)			
2. izomer	g _o	2.1246(2)			
	A _o /G	69.2(2)			
	a _N /G	9.2(2), 9.2(2),			
		8.2(2)			
	α,β	15.9(1),			
γ		-6.2(1), 1.6(1)			

^a A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél.

11. táblázat. ESR paraméterek és koordinációs módok az L-hisztidil-glicin, L-hisztidin, hisztamin és diglicin réz(II)-komplexeiben^a

Komplex	Ligandum											
	L-hisztidil-glicin			L-hisztidin ^b			hisztamin ^b			diglicin ^c		
	g_a	A_a	a_{N_a}	g_a	A_a	koordináció ^d	g_a	A_a	koordináció ^d	g_a	A_a	koordináció ^d
Cu²⁺	2.1956(3)	34.6(4)										
CuLH₂	2.172(3)	40(5)	7.0(8)	2.189	37	karb						
CuLH	2.1500(8)	64.3(7)	9.1(7), 9.1(7)	2.154	57	am, karb	2.175	35	im	2.180	41	karb
CuL												
h izomer	2.1491(3)	61.1(2)	12.7(3), 9.8(4)	2.146	60	am, im	2.144	63	am, im	-	-	-
p izomer	2.1323(9)	54.5(8)	14.0(2), 13.0(1)	-	-	-	-	-	-	2.161	46	am, pept-O
CuLH₁				2.119	66	am, im ⁻				2.120	67	am, pept-N ⁻ , karb
Cu₂L₂H₂	2.1041(3)	25(5)										
CuLH₂	2.1160(1)	36.4(1)	12.4(3), 12.4(3)	2.119	76	am, im ⁻ OH ⁻	2.116	78	am, im ⁻ OH ⁻	2.116	37	am, pept-N ⁻ , karb OH ⁻
CuL₂H	2.1214(9)	66.1(5)	13.7(9), 7(2) 6(2)	2.119	72	am, im am, karb	2.132	62	am, im im			
CuL₂												
4N izomer	2.1068(2)	60.7(2)	9.6(6), 9.6(6) 9.6(6), 7.8(8)	2.114	63	am, im am, im	2.101	70	am, im am, im			
3N izomer	2.1228(3)	64.9(3)	9.2(6), 7.2(8) 7.0(8)	2.122	67	am, im am, karb (im ax)	2.115	74	am, im am (im ax)			
CuL₂H₁												
3N izomer	2.1123(7)	41.2(8)	16.0(1), 13.0(2) 11.0(1)							2.103	44	am, pept-N ⁻ , karb am (pept-O ax)
2N izomer	-	-	-							2.115	52	am, pept-N ⁻ , karb pept-O (am ax)
CuL₂H₂	2.071(4)	46.0(3)	15.0(6), 15.0(6) 8.0(6), 8.0(6)									

^a Az L-hisztidin és diglicin semleges proton komplexeit HL-lel, a hisztaminét L-lel jelöltük. Mivel a különböző ligandumok analóg komplexeinek töltései eltérnek a töltéseket elhagytuk. A zárójelben szereplő szám az utolsó jegy konfidencia intervalluma (3 σ) 99.7%-os szignifikancia szintnél. A vonalszélességre jellemző relaxációs paraméterek a Függelék 4. táblázatában találhatók. ^b [61] irodalom adatai. ^c Az 5. táblázatból vett adatok. ^d Jelölések: karb: karboxilát-O, am: amino-N, im: imidazol-N, pept: peptid, ax: axiális pozíció.