

Az Al(III) kölcsönhatása kis biomolekulákkal.

Az idő hatása a részecskeeloszlásra

Doktori értekezés

Lakatos Andrea

**Magyar Tudományos Akadémia, Biokoordinációs Kémiai Kutatócsoport
Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék**

Szeged, 2001

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	1
2. Az alumínium bioszervetlen kémiája	3
2.1. Az alumínium előfordulása és felhasználása	3
2.2. Az alumínium toxikus hatásai	5
2.3. Kelátterápia az alumíniummérgezésben	9
2.4. Az Al(III) felvétele és metabolizmusa	10
2.5. A részecskeeloszlás jelentősége az Al(III) toxicitásában	13
3. Az alumínium koordinációs kémiája	14
3.1. Az Al(III)ion hidrolízise	14
3.2. Az Al(III)ion koordinációja biomolekulákkal	15
4. A mérések elvi alapjai	21
4.1. A potenciometriás mérések elve	21
4.2. Az NMR-spektroszkópiás mérések elvi alapjai	23
5. Kísérleti körülmények	24
6. Eredmények és értékelésük	27
6.1. Az aminosavak Al(III)komplexei	27
6.1.1. A kétfogú α -aminosavak Al(III)komplexei	27
6.1.1.1. Potenciometriás vizsgálatok	27
6.1.1.2. NMR-spektroszkópiás mérések	30
6.1.2. A háromfogú aminosavak Al(III)komplexei	34
6.1.2.1. Potenciometriás vizsgálatok	34
6.1.2.2. NMR-spektroszkópiás mérések	39
6.2. Az L-foszfoserin és az L-foszfotirozin Al(III)komplexei	41
6.2.1. Potenciometriás vizsgálatok	41
6.2.2. NMR-spektroszkópiás mérések	45
6.3. Az Al(III)–citrát rendszer	49
6.3.1. Potenciometriás vizsgálatok	49
6.3.2. NMR-spektroszkópiás mérések ekvimoláris Al(III)–citrát oldatokban	56
6.3.3. NMR-spektroszkópiás mérések ligandumfelesleg esetén	64
6.4. Az Al(III)–citrát–L-foszfoserin vegyes ligandumú rendszer	73
6.4.1. Potenciometriás vizsgálatok	73

6.4.2. NMR-spektroszkópiás mérések	77
6.5. Az Al(III)–citrát–szervetlen monofoszfát vegyes ligandumú rendszer	81
6.5.1. Potenciometriás vizsgálatok	81
6.5.2. NMR-spektroszkópiás mérések	85
6.5.3. A hárommagvú citrátokomplex viselkedése foszfát jelenlétében	89
6.5.4. A vészérum Al(III)kötésének modellezése	90
7. Összefoglalás	93
8. Summary	96
9. Irodalomjegyzék	101
Köszönetnyilvánítás	108

1. Bevezetés

Bár vannak korai adatok az Al(III) fitotoxicitásáról, az élő szervezetek számára hosszú időn keresztül ártalmatlannak tekintették. Humán toxikusságát csak a 70-es években sikerült egyértelműen bizonyítani. Azóta számos káros hatását fedezték fel, úgy a növényeknél, mint az állatoknál és az embernél is. Az emberi szervezetben a megnövekedett alumíniumszint súlyos károsodást okozhat az idegrendszerben, a csontképző és vérképző rendszerben. Olyan betegségek okozója, mint a dialízis demencia, a D-vitamin rezisztens csontlágyulás és a nem vashiányos vérszegénység, de felvetődött a közvetett szerepe egyéb neurológiai elváltozások — pl. az Alzheimer-kór — kialakulásában is. Ezen okok miatt az elmúlt 20–30 évben az alumínium koordinációs és bioszervetlen kémiájának, valamint biológiai és élettani hatásainak vizsgálata a kémikus és biológus kutatók érdeklődésének középpontjába került. A Szegedi Tudományegyetem (illetve a Debreceni Egyetem) Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékének Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportjában is már régóta tanulmányozzák az Al(III)-nak biológiai jelentőségű molekulákkal való kölcsönhatását és a képződő komplexek oldategyensúlyi és oldatszerkezeti viszonyait.

Munkánk során megvizsgáltuk az Al(III) kölcsönhatását olyan biológiai jelentőségű kismolekulákkal, mint az aminosavak, a foszforilált aminosavak, a citrát és a szervetlen foszfát. Az aminosavak és a foszforilált aminosavak — mint a peptidek és proteinek alkotórészei — az Al(III) számára fontos célmolekulák lehetnek az emberi szervezetben. Az Al(III) toxikus hatásának egyik oka lehet, hogy erősebb kötődése miatt képes a Mg(II) és a Ca(II) ionok helyettesítésére.^{1,2} Például, az agyba bejutott Al(III) helyettesítheti a Ca(II)-ot peptidekkel és fehérjékkel képzett, biokémiai szempontból jelentős komplexeiben, így számos Ca(II)-függő enzim és protein működését is megzavarja. Az Alzheimer-kóros betegek agyában, a túlfoszforilált fehérjéket tartalmazó neurofibrilláris fonadékok és az amiloid plakkok jelentős mennyiségű alumíniumot tartalmazhatnak. A foszforilált peptidek és fehérjék esetén az elsődleges kötési hely a foszforilált szerin, treonin és tirozin foszfátcsoportja lehet.^{3,4} Ezért ezen kismolekulák Al(III)-kötő képességének kvantitatív jellemzése segítséget nyújthat az Al(III)–fehérje rendszerek sajátosságainak értelmezésében, mely vizsgálatok még folyamatban vannak laboratóriumunkban. Azért, hogy jellemezni tudjuk az Al(III)–foszforilált aminosav rendszerben képződő komplexek stabilitását, megvizsgáltuk az Al(III)–foszforilált

aminosav–citrát vegyes rendszert, hiszen a citrát az egyik legelterjedtebb és legjobb Al(III)kötő biomolekula az emberi szervezetben.

A környezetből felszívódva, az Al(III) a véráram útján jut el az agyba és az egyéb szervekhez, ezért ismernünk kell, hogy a vérszérumban milyen ligandumokhoz kötődik. A vérplazmában az Al(III) részecskeeloszlása tehát alapvető fontosságú.⁵ A nagy molekulatömegű proteinek közül a transferrin a legfontosabb Al(III)kötő,^{6–9} a kis molekulatömegű biomolekulák esetében viszont az irodalom nem szolgáltat egyértelmű választ. Egyes kutatók a citrátot,^{10–12} mások a szervesetlen foszfátot^{8,13,14} találták a jelentősebbnek. Ezen eltérő eredményeket a vizsgálati nehézségek okozzák, amelyek az Al(III)–citrát esetében a lassú oligomerizációs folyamatoknak, az Al(III)–foszfát rendszerben pedig a korai csapadékkiválásnak tulajdoníthatók.¹⁵ Azért, hogy pontosabban leírjuk a rendszerben végbemenő folyamatokat és kvalitatív képet kapjunk a komplexképződés időbeni lefolyásáról, megvizsgáltuk az Al(III)–citrát rendszert és az idő szerepét az oldategyensúlyi és szerkezeti viszonyok alakulásában. Az időfüggés azért is adhat hitelesebb képet olyan rendszerek esetén, amelyekben lassú komplexképződési reakciók játszódnak le, mert a biológiai folyamatokban általában nincs idő a termodinamikai egyensúly beállítására és nyitott rendszerek lévén a termodinamikai egyensúly csak a halállal áll be. Ezért ezekben az esetekben valószínűleg a nemegyensúlyi részecskeeloszlási modellek adják a jobb leírást.

Mivel a vérplazmában a két kismolekula együtt van jelen, így nem hagyhatjuk figyelmen kívül a vegyes ligandumú komplexek képződésének lehetőségét. A két kismolekula egymáshoz viszonyított komplexképzési hajlamát csak így lehet pontosan megbecsülni. Az irodalomban nem találtunk erre vonatkozó adatokat, ezért célul tűztük ki az Al(III)–citrát–szervesetlen foszfát rendszer tanulmányozását. Mindezek fényében munkánk célja az volt, hogy:

1. meghatározzuk az Al(III) és az említett ligandumok vizes oldataiban a részecskeeloszlást és a képződő komplexek stabilitási állandóit;
2. multinukleáris NMR-spektroszkópia (^1H , ^{13}C , ^{31}P és ^{27}Al) alkalmazásával közvetlenül is alátámasztjuk az egyensúlyi adatok alapján számolt részecskeeloszlást;
3. a stabilitási adatok, valamint NMR-spektroszkópia segítségével, amennyiben lehetséges, meghatározzuk a képződő komplexek kötőmódját;
4. azokban a rendszerekben ahol lassú oligomerizációs folyamatok játszódnak le, potenciometria és NMR-spektroszkópia segítségével kimutassuk a részecskeeloszlás időbeli változását.

2. Az alumínium bioszervetlen kémiája

2.1. Az alumínium előfordulása és felhasználása

Az alumínium a földkéreg leggyakoribb féme és a harmadik leggyakoribb elem az oxigén és a szilícium után. Nagy negatív redukciós potenciáljának köszönhetően a természetben kizárólag vegyületek formájában fordul elő. Mintegy 714 ásványban található meg, elsősorban oxidok, oxi-hidroxidok és szilikátok alakjában.¹⁶ A földkéregbeli nagy gyakorisága ellenére a Föld vízkészlete nagyon kis mennyiségű alumíniumot tartalmaz. Az óceánokban például, csak 1 µg/l koncentrációban fordul elő. Ezen látszólagos kettősségnek az az oka, hogy a talajt alkotó alumínium-ásványok vízdoldhatósága semleges pH-tartományban igen kicsi, valamint, hogy az elsődleges ásványaiból Al(III)ion formájában felszabaduló alumínium hidroxidcsapadék alakjában szinte azonnal kiválik. Ezért hozzáférhetősége a biológiai rendszerek számára normális körülmények között nagyon korlátozott. Savas és lúgos közegben a gibbszit és általában az alumíniumvegyületek oldhatósága nő és ezzel párhuzamosan nő a természetes vizek alumínium-koncentrációja is. Ezzel magyarázható, hogy az emberi tevékenység eredményezte savas esők, a tavak és folyók vizeinek elsavanyodása jelentősen megnövelik az alumínium mobilitását, így egyre gyakrabban jelenik meg számottevő koncentrációban a felszíni és felszín alatti vizekben valamint a talajvízben.^{15,17,18}

A természetes vizekben az Al(III) elsősorban oldható szervetlen és szerves komplexek formájában van jelen. A vizek összes alumíniumtartalma tehát, a pH mellett, nagymértékben függ a jelen levő szervetlen és szerves ligandumok mennyiségétől és milyenségétől. Az Al(III) iránt nagy affinitást mutató ligandumok képesek oldatban tartani a fémiont, megnövelve ezzel a vizes közeg Al(III)koncentrációját és hozzáférhetővé téve a fémiont a biológiai rendszerek számára. A szervetlen anionok közül a hidroxid- és a fluoridion képezi a legstabilabb komplexet az alumíniummal.¹⁹⁻²² Sokkal gyengébb kölcsönhatást mutattak ki a szulfáttal^{23,24} és a karbonáttal,^{25,26} a klorid-, bromid-, iodid- és szulfidionok esetén pedig mérhető kölcsönhatásra nem utalnak az irodalmi adatok.²¹ A természetes vizekben előforduló vagy velük érintkező kis molekulatömegű szerves ligandumok közül az alifás és aromás karbonsavak, hidroxikarbonsavak, aminokarboxilátok és aminoszfónátok jó alumíniumkötők. A nagy molekulatömegű ligandumok közül a humin- és fulvosavakhoz kötötten fordul elő.²⁷⁻³⁰

A növények általában kis mennyiségű Al(III)-ot tartalmaznak. Kivételt képez néhány alumíniumtűrő fajta, mint például a tea, amely egyes esetekben 10000 ppm mennyiségben is képes az Al(III)-ot felhalmozni.

A természetben megtalálható alumíniumvegyületek számos felhasználása ismeretes. Gazdasági szempontból a legjelentősebb ásvány a fémalumínium előállítására szolgáló bauxit ($\text{AlO}_x(\text{OH})_{3-2x}$ $0 < x < 1$). Az alumíniumgyártásra történő felhasználása mellett a bauxitot alkalmazzák tűzálló anyagok előállítására, továbbá kisebb mennyiségben szárítószerként és katalizátorként, a petrokémiai iparban. Másik fontos alumíniumásvány, a korund (Al_2O_3), egyike a legkeményebb anyagoknak, amit csiszolóanyagként használnak.³¹

Fontos az alumíniumvegyületek katalizátorként történő alkalmazása. Az AlCl_3 kiváló Lewis-sav és mint ilyen, különböző típusú Friedel-Crafts-reakciók katalizátoraként használják. Az alumíniumorganikus vegyületek, elsősorban az $\text{Al}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$, a sztereospecifikus polimerizációkban használt Ziegler-Natta-katalizátorok fontos alkotórésze.³¹

A $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ összetételű timsót – melynek latin nevéből (alumen) származik az alumínium elnevezés – már az ókori görögök és rómaiak is használták víztisztításra. A zavaros vizekhez a kolloidok kicsapására ma is kristályvizet $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ -ot adnak. A szennyvíztisztítás mellett a timsókat alkalmazzák a papírgyártásban, cserzésnél és ruhafestésnél marószerként, valamint az élelmiszeriparban állományjavítóként.³²

Az alumíniumsók élelmiszeripari adalékanyagként való hasznosítása egyik jelentős felhasználásuk közé tartozik. Például a $\text{Na}_3\text{Al}(\text{PO}_4)_2$ -ot sajtokban és sajtkészítményekben használják emulgeátorként, a savanyúsóját pedig kekszek és péksütemények gyártásánál élesztőként. A $\text{NaAl}(\text{SO}_4)_2$ a sütőporok fontos összetevője.^{33,34}

Néhány alumíniumvegyület jelentős gyógyászati alkalmazással bír. A hidroxidokat, a hidroxikarbonátokat, néhány szerves komplexet és szervesetlen sókat alkalmazhatják mint antacidokat, puffereket, gyomor-bélrendszeri védőanyagokat, pepszin inaktívátorokat, foszfátmegkötőket és vérzéscsillapítókat.³⁵ A dezodorok és izzadásgátlók gyártása ezertonnás mennyiségben igényli az alumínium-klorohidrátot ($\text{Al}(\text{OH})_{2,5}\text{Cl}_{0,5}$).³²

Az alumíniumvegyületek ezen alkalmazásai révén a fémion viszonylag könnyen bejut az emberi szervezetbe, ahol nagy része kiválasztásra kerül, egy része azonban felszívódik és kifejezheti toxikus hatását.

2.2. Az alumínium toxikus hatásai

Hosszú időn keresztül az volt az általánosan elfogadott nézet, hogy az alumíniumnak nincs semmiféle biológiai szerepe és nem tartották toxikusnak az élőszervezetek számára. A múlt század végén azonban már voltak olyan eredmények, amelyek ennek az ellenkezőjét mutatták.

A század elejére az alumínium fitotoxicitása például, már jól ismert volt. Az Al(III)-ban gazdag talajokban a növények fejlődése lelassul, ami elsősorban a gyökerek elcsökevényesedésében nyilvánul meg. Bár a fitotoxicitás mechanizmusa nagyon összetett és még nem teljesen tisztázott, a kísérletek arra utalnak, hogy a talajban levő szabad Al(III)ionok kompetitív reakcióban gátolják a növények kalciumfelvételét és többek között hatással vannak a kalcium és a foszfát metabolizmusára is.³⁶ Kimutatták, hogy a növények gyökere által kiválasztott szerves savak, mint a citromsav, oxálsav vagy malonsav fontos szerepet játszanak az Al(III) toxikus hatásának semlegesítésében.³⁷ A növények alumíniumtűrő képessége igen eltérő. Míg egyes növényfajták nagyon érzékenyek az alumíniumra, addig mások nagy alumíniumtartalmú talajokban is megélnek. Ez utóbbi csoportba tartozik a tea, amely a leveleiben raktározza el a talajból felszívott Al(III)-ot, csökkentve ezzel a talajban a fémion koncentrációját. Az idősebb tealevelek 3% Al(III)-ot míg a fiatal hajtások csak 0,01%-nyit tartalmaznak.³²

A savas esők hatásainak vizsgálata során, összefüggést állapítottak meg a természetes vizek megnövekedett Al(III)tartalma és a halállomány pusztulása között. A vizek 4–8 $\mu\text{mol/l}$ -nél nagyobb Al(III)koncentrációja toxikus a halakra nézve. Elsősorban a szerves ligandumokhoz történő koordináció jelentős mértékben csökkenti az Al(III) toxicitását. Az Al(III) szerepet játszik a halak ozmotikus egyensúlyának megbontásában és olyan légzési problémák kialakulásában, amelyeket a kopoltyúban található nyálka koagulálása okoz.^{38,39} Más vízi élőlényekre gyakorolt káros hatásairól kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. Egyes algafajtákról kimutatták, hogy szokatlanul érzékenyek a vízben oldott szerves Al(III)-ra, amely már 0,18 $\mu\text{mol/l}$ koncentrációban is gátolja növekedésüket.³⁸

Klinikai és epidemiológiai vizsgálatok tömkelege bizonyítja az összefüggést az alumíniumnak az emberi szervezetben való felhalmozódása és egyes betegségek kialakulása között. Az alumínium toxikus hatását először a hosszan tartó hemodialízissel kezelt vesebetegeken észlelték. Elsődlegesen a dialízis demenciának (DD) nevezett

idegrendszeri betegség jelentkezett, majd ehhez társult a D-vitamin rezisztens csontlágyulás és a nem vashiányos vérszegénység.

A dialízis demencia

A dialízis demencia neurológiai tüneteit először Alfrey és munkatársai írták le.⁴⁰ A betegség során a beteg elveszíti beszélőképességét, memóriáját és nem képes tudatosan irányítani mozgását.^{41–43} A betegeken végzett vizsgálatok magas Al(III)szintet mutattak ki a vérplazmában (100–300 µg/l, a 2,4 µg/l normál értékhez képest) és a szövetekben, különösképpen az agyban (25 mg/kg a 2,2 mg/kg normál értékhez képest).⁴⁴ Megállapították, hogy a fő alumíniumforrás a dialízishez használt csapvíz, valamint az orálisan adagolt alumíniumtartalmú foszfátmegkötő-szerek voltak. Az elégtelen veseműködés következtében az Al(III) felhalmozódott a betegek szervezetében, mivel az Al(III) kiürítése elsősorban a vesén keresztül történik. Al(III) mentes csapvíz alkalmazásával a megbetegedések száma jelentősen csökkent.^{40–42} Az Al(III) hatásának mechanizmusa a dialízis demenciában még nem tisztázott, de igen összetett. Azt megállapították, hogy a nagy Al(III)koncentráció ellenére, ellentétben az Alzheimer-kórral, a DD-betegek agya semmilyen neurofibrillaris elváltozást nem mutat.⁴⁵

A D-vitamin rezisztens csontlágyulás

Jellemzői, hogy Al(III) halmozódik fel a csontban és a csontmátrix hiányos kalcifikációját — ellentétben a legtöbb csontlágyulással (osteomalacia) — nem a D-vitamin hiánya okozza. A betegség során a csont mineralizálódásának sebessége csökken, az osteoid (nem mineralizálódott csontmátrix) főlegben képződik és AlPO_4 rakódik le az osteoid és a kalcifikálódott csontmátrix határfelületén. A mineralizálódás hiánya következtében gyakori csonttörések és csontfájás jelentkezik a betegeknél.^{43,46,47} Több elmélet létezik arról, hogy az Al(III) miként hat a csontképzésre. Kimutatták például, hogy az Al(III) rendkívül hatásos inhibitora lehet a kalcium-foszfát képződésének, mivel *in vivo* koncentrációviszonyok mellett is (legalábbis termodinamikailag) képes kiszorítani a Ca^{2+} -iont a foszfáttal képzett vegyületéből.⁴⁸ Egy másik feltételezés szerint az Al(III), a paratiroid hormon kiválasztását gátolva, indirekt módon hat a csontképzésre.⁴³ Egyes szerzők azt tartják, hogy az Al(III) felhalmozódása a csontszövetekben önmagában nem elég az osteomalacia kialakulásához. Ehhez olyan egyéb tényezők is szükségesek, mint a hypoparatiroidizmus vagy olyan terápia alkalmazása, amely csökkenti a csontsejtek aktivitását.⁴⁷

A nem vashiányos vérszegénység

A betegség kialakulása a vérplazma és a vörös vérszettek Al(III)koncentrációjával mutat korrelációt.⁴⁶ Morfológiai megjelenése hasonlít a vashiányos vérszegénységhez, azaz a vörösvértestek zsugorodottak, de a vasterápia nem hoz semmiféle javulást, ami vagy azt jelenti, hogy a vasszint normális, vagy, hogy az Al(III) beavatkozik a Fe(III) metabolizmusába.⁴³ A hatásmechanizmus még nem teljesen tisztázott. Az egyik elmélet szerint a vérplazmában levő Al(III) a transferrin üres kötőhelyeihez kötődve, a transferrin–transzferrin receptorokon keresztül, a Fe(III)-al együtt bejut a sejtekbe. A szervezet esetleges vashiánya, amely a vesebetegeknél elég gyakori, még inkább fokozza a sejtek Al(III)-felvételét. *In vitro* vizsgálatok alapján megállapították, hogy az Al(III) gátolja a hem-szintetizáló enzimeket (ferrokelatáz, uroporfirin dekarboxiláz). A vörös vérszettekbe jutott Al(III) tehát, valószínűleg úgy idéz elő vérszegénységet, hogy gátolja a hem szintézisét.^{46,49}

Az Alzheimer-kór

Az Al(III)-ot kapcsolatba hozzák korunk egyik legelterjedtebb, elsősorban az öregedő társadalmat érintő betegségével, az Alzheimer-kórral. A betegség okai nem ismertek, de valószínűleg több tényező együttes hatása szükséges a kialakulásához, mint például: genetikai okok, fehérjelerakódás, fertőzés, környezeti toxin (alumínium), neurokémiai zavar, vérkeringési elégtelenség, oxidatív stressz.

Az Alzheimer-kóros betegek agyának jellemző patológiai elváltozásai: (i) neurofibrilláris fonadékok (NFT) megjelenése a neuronokon belül és (ii) amiloidban gazdag plakkok felhalmozódása a neuronok közötti térben. A neurofibrilláris fonadékok abnormális és túlfoszforilált neurofilamentum-fehérjéket (NF) és tau-fehérjét tartalmaznak, amelyek spirálisan egymás köré csavarodnak páros spirális filamentumokat (PSF) képezve. Az amiloidot egy β -amiloid elnevezésű polipeptid alkotja, amely az amiloid prekursor protein (APP) abnormális lebontásából származik. Ezek a patológiai elváltozások a neuronok pusztulásához vezetnek, amely idővel a beteg teljes szellemi leépülését eredményezi. Kimutatták, hogy a NFT-k és az amiloid-plakkok alumínium-oxid és alumínium-szilikát lerakódásokat is tartalmaznak.^{50,3} Ennek alapján felvetődött, hogy az Al(III)-nak köze lehet a betegség kialakulásához. Az Al(III)-hipotézis mellett a következő érvek szólnak:

- A dialízis demenciáról egyértelműen kimutatták, hogy az Al(III) okozza, amely a betegek agyában nagy koncentrációban van jelen.⁴⁴

- Kísérleti állatokon végzett vizsgálatok során kimutatták, hogy az Al(III) *in vivo* képes az állatokon neurológiai rendellenességeket és – állatfajtól függően – NF aggregátumokat létrehozni.⁵¹
- *In vitro* vizsgálatok mutatják, hogy a foszforilált NF-fragmensek és a szintetikus β -amiloid Al(III) hatására a plakkokra és fonadékokra jellemző β -redőzött konformációt vesz fel. Az Al(III) a fehérjék foszforilált szerin oldalláncaihoz kötődve intermolekuláris kötéseket alakít ki, amely a fehérjeláncok aggregálódásához vezet.^{3,4}
- A DFO (dezferrioxamin) — egy Al(III)- és Fe(III)-szelektív kelátképző — gyógyszerként történő alkalmazása lassítja az Alzheimer-kór előrehaladását.⁵²
- Az Al(III) számos enzim aktivitását befolyásolja. *In vivo* és *in vitro* vizsgálatok mutatják, hogy: (i) az Al(III) csökkenti a kolin acetiltranszferáz és növeli az acetilkolineszteráz enzimek aktivitását.^{51,54} (Az Alzheimer-kóros betegek agyában alacsony a neurotranszmitterek, főként az acetilkolin mennyisége.) (ii) gátolja a hexokináz és a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz enzimek működését, beavatkozva ezzel a glukóz metabolizmusába.⁵¹ (Az Alzheimer-kóros betegeknél csökken az agy glukózfogyasztása.) (iii) koncentrációtól függően inhibitora lehet azon foszfatáz és proteáz enzimeknek amelyek az NF defoszforilációját illetve lebontását végzik.⁵¹ (iv) növeli a szerin proteázok aktivitását, amelyek részt vesznek a β -amiloid képződésben.^{51,52}
- Az Al(III) képes a Mg(II)-ot helyettesíteni az ATP-vel képzett komplexében felborítva ezzel a szervezet Ca(II)-egyensúlyát.⁵³
- Egereken végzett kísérletek valamint számos *in vitro* vizsgálat mutatja, hogy az Al(III) fokozza a Fe(III)-indukálta lipid peroxidációt. (A Fe(III) fontos szerepet játszik az oxidatív stressz okozta neuronpusztulásban).^{50–52}

Ellenérvként a következő megállapítások szolgálnak:

- Nincs egyetértés az Alzheimer-kóros beteg agyi Al(III)koncentrációját illetően, ugyanis az alkalmazott mérési technikától függően más-más értékeket kaptak.⁵²
- A dialízis demenciában a megemelkedett Al(III)szint az agy egész területére kiterjed, míg az Alzheimer-kóros betegeknél csak bizonyos területeken lokalizálódik.⁵⁵
- A DD-betegeknél és a kísérleti állatok egy csoportjánál az Al(III) nem képes az Alzheimer-kórra jellemző patológiai elváltozásokat létrehozni.^{52,55} Ezt a tényt egyes szerzők azzal magyarázzák, hogy míg az előbbi két esetben viszonylag nagy Al(III)koncentráció rövid távú hatását figyelhetjük meg, addig az Alzheimer-kórban az

Al(III)koncentráció kisebb és a betegség tünetei hosszú idő (évtizedek) alatt alakulnak ki.^{53,56}

- A kísérleti állatok másik csoportjánál az Al(III) hatására kialakuló neurofibrilláris fonadékok szerkezeti szempontból eltérnek az Alzheimer-kór fonadékaitól. Amiloid plakkok az állatok ezen csoportjánál sem alakulnak ki.^{51,55,57}

Legnagyobb valószínűség szerint az Al(III) önmagában nem képes az Alzheimer-kór tüneteit kiváltani, de neurotoxikus hatása miatt hozzájárulhat a betegség súlyosbodásához.

2.3. Kelátterápia az alumíniummérgezésben

Az Al(III) okozta megbetegedések kezelése a szervezetben felhalmozódott fémion kelátképzőkkel történő eltávolításán alapszik. A klinikai gyakorlatban jelenleg használt egyetlen ilyen kelátképző a dezferrioxamin (DFO). Hatásosan alkalmazzák a dialízis demencia és társult betegségei kezelésére.⁵⁸ Kimutatták azt is, hogy alacsony dózisban tartósan adagolva lassítja az Alzheimer-kór előrehaladását.⁵² A DFO egy bakteriális eredetű triszhidroxamát sziderofor. Terápiás hatása azon alapszik, hogy rendkívül stabilis komplexeket képez az Al(III)-mal ($\lg K = 22$). Egészen pH ~ 8-ig, tehát fiziológiás pH-n is, kizárólagosan az $[Al(HDFO)]^+$ kelátkomplex képződik a három hidroxamát koordinálódásával.¹⁵ A DFO stabilisabban köti az Al(III)-ot, mint a citrát és a transferrin. Kinetikai okok miatt azonban a vérplazmában nem képes a transferrinhez kötött Al(III)-ot elvonni.³² Mobilizálja viszont az Al(III)-ot a szövetekből, megnövelve a vérplazma Al(III)-koncentrációját a $[Al(HDFO)]^+$ komplex képződése révén, amely dialízissel eltávolítható.⁶⁰ A DFO előnye, hogy jobban komplexálja a (+3) töltésű fémionokat mint a létfontosságú (+2) töltésűeket, így nem zavarja jelentősen ez utóbbiak anyagcseréjét.¹⁵ Mivel azonban sokkal erősebben köti a Fe(III)-at mint az Al(III)-ot, a kezelés során vashiány lép fel, ami a DFO adagolás átmeneti szüneteltetése és/vagy vaspótlás útján könnyen orvosolható.^{58,59} Számos mellékhatása mellett a DFO nagy hátránya, hogy csak injekció formájában adagolható. Ezért kiterjedt kutatások folynak alternatív kelátképzők kifejlesztése céljából. Ígéretesnek tűnnek a 3-hidroxipiridin-4-on származékok, amelyeknek előnye a DFO-val szemben, hogy szájon át is adagolhatók, olcsóbb az előállításuk és stabilabb az Al(III)-komplexük.^{58,59,60}

2.4. Az Al(III) felvétele és metabolizmusa

Az Al(III) alapvetően három úton juthat be az emberi szervezetbe: (i) az étrend által (beleértve a vizet és a gyógyszereket) az emésztőrendszeren keresztül, (ii) alumínium-szilikát por belélegzése által a tüdőn keresztül, valamint (iii) alumíniumtartalmú dezodorok használata során a bőrön keresztül.⁶¹ Az egészséges emberi szervezetbe általában nagyon kevés Al(III) szívódik fel, egyrészt, a környezetből csak viszonylag kis mértékben hozzáférhető (ásványainak oldhatatlansága miatt), másrészt a szervezet hatékony védekezése következtében.⁴⁴ Az Al(III)-felvétel három lehetséges módja közül talán a második a legjelentősebb (ezt látszik igazolni az a tény, hogy a szövetek közül a tüdő alumíniumtartalmát találták a legmagasabbnak),⁴⁴ az emésztőrendszeren keresztül a szervezetbe bevitt Al(III)-nak csak 1%-a szívódik fel. A felszívódás mechanizmusa egyik esetben sem teljesen ismert, de talán az utóbbiról van a legtöbb irodalmi adat.

A táplálékkal felvett Al(III) a gyomor savas pH-ján oldott formában van jelen, a belekben azonban, ahol a $\text{pH} = 7,5\text{--}8$ $\text{Al}(\text{OH})_3$ vagy AlPO_4 formájában általában kicsapódik és a széklettel kiürül a szervezetből.^{62,63} Kimutatták azonban, hogy az étrenddel bevitt szerves savak (citromsav, borkősav, oxálsav, borostyánkősav, tejsav, glükonsav, stb.), amelyek semleges pH-tartományban oldható komplexet képeznek az Al(III)-mal, elősegítik a fémion felszívódását a bélrendszeren keresztül. Például citrát jelenlétében jelentősen megnövekszik a vér Al(III)tartalma. Ezt hosszú időn keresztül annak tulajdonították, hogy az Al(III)-mal semleges $[\text{AlCit}]^0$ komplexet képez, amely képes passzív transzport révén átjutni a sejtmembránon.⁶⁴ Az Al(III)–citrát rendszerben végzett részecskeeloszlási számítások szerint, azonban semleges pH-n ez a komplex jelentéktelen mennyiségben van jelen. Akeson és Munns⁶⁵ azt is kimutatták, hogy a semleges $[\text{AlCit}]^0$ komplex olyan lassan hatol át a sejtmembránon, hogy ez a mechanizmus nem magyarázhatja meg a vérplazma és a szövetek magas alumíniumtartalmát.

A felszívódott fémiont a véráram szállítja a test minden részébe, ezért fontos ismernünk a vérplazmában az Al(III) részecskeeloszlását. A vérplazma legfontosabb Al(III)kötő molekulája a transferrin. *In vitro* az albuminnal is kimutattak gyenge kölcsönhatást,⁶⁶ de *in vivo* az albumin nem volt képes komplexbe vinni az Al(III)-ot.^{1,32,8} A transferrin a fő vasszállító fehérje, de normál körülmények között csak 30%-ban telített Fe(III)-al, így van elegendő üres kötőhely az Al(III) számára is. Az Al(III)–transzferrin kölcsönhatás vizsgálata kvantitatív spektrofotometriás mérésekkel történt. Martin és

munkatársai⁶⁷ a következő stabilitási állandókat határozták meg: $\lg K_1 = 12,9$ és $\lg K_2 = 12,3$ ($\text{pH} = 7,4$, 27 mM HCO_3^- és $t = 25 \text{ }^\circ\text{C}$); Harris és Sheldon⁶⁸ pedig $\lg K_1 = 13,5$ és $\lg K_2 = 12,5$ ($\text{pH} = 7,4$, 100 mM NaCl , 25 mM Tris , 10 mM HCO_3^- és $t = 37 \text{ }^\circ\text{C}$) értékeket találtak. Az első érték a transferrin C-, míg a második az N-terminális kötőhelyére vonatkozik. Némi ellentmondás van a két kötőhely kötéserősségét illetően. Martin⁶⁷ stabilitási állandói alapján, a két kötőhely nagyjából ugyanolyan mértékben képes az Al(III)-ot komplexálni, míg Harris és Sheldon⁶⁸ szerint a C-terminális vég hatékonyabb az N-terminálisnál. Röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint a fémiont mindkét kötési helyen, két tirozin, egy hisztidin, egy aszparaginát és egy kétfogúként koordinálódó karbonáton köti.⁶⁹ A vérplazmában lévő Al(III) legnagyobb része a transferrinhez kötődik, kisebb hányada pedig kis molekulatömegű biomolekulákhoz kapcsolódik, melyek közül a citrátot és a foszfátot tartják a jelentősebbnek. Az Al(III)-nak citráthoz való kötődését natív vérplazma mintában ^1H NMR-módszerrel közvetlenül is kimutatták.⁷⁰ Ennek ellenére nem eldöntött, hogy a két kismolekula közül döntően melyikhez kötődik az Al(III) fiziológias körülmények között. Az 1. táblázat az Al(III)-nak a vérérszumbeli eloszlására vonatkozó,

1. táblázat A vérérszumban levő Al(III) részecskeeloszlására közölt modellek¹⁵

Fehérjéhez kötött Al(III)	Kis molekulatömegű Al(III)-frakció ^a	Hivatkozás
57%	Al(OH) ₃ : 51% Al(PO ₄): 41,5% Al ₂ (PO ₄)(OH) ₂ : 7,2%	13
50%	Al(PO ₄): 62% Al(CitH ₁): 23% Al(HPO ₄)(Cit): 10%	14
83%	Citrát: 98% Hidroxid: 2%	10
80%	Al(CitH ₁)(OH): 94% Al(CitH ₁): 3% Al(PO ₄): 1,5% Al(Ox)(OH) ₂ : 1,4%	11
81%	Al(PO ₄)(OH): 80% Al(CitH ₁): 10% Al(OH) ₃ : 4% Al(OH) ₄ : 3% Al(PO ₄): 2%	8

^a Csak a kis molekulatömegű frakció %-os eloszlása, összegük 100%



az irodalomban eddig megjelent, modelleket mutatja be. Az ellentmondó eredmények oka, az Al(III)–citrát és Al(III)–szervetlen monofoszfát rendszerek vizsgálatának nehézségében keresendő. Az Al(III)–foszfát rendszerben az *in vitro* vizsgálatok ezredmólos koncentrációsintjén pH 3 felett csapadék válik ki, ezért nem állnak rendelkezésre megbízható adatok a fiziológias pH-n képződő komplexek milyenségére és stabilitására vonatkozóan. Az Al(III)–citrát rendszer vizsgálatát pedig lassú oligomerizációs folyamatok nehezítik meg. Ezen rendszerekben kapott eddigi részecskeeloszlási eredményeket a 3.2. fejezetben foglaltam össze. A vérplazma Al(III)kötésében indokolt lehet a vegyes ligandumú komplexek képződésének feltételezése is. Munkánkkal ezen kérdés tisztázásához szerettünk volna hozzájárulni, ezért vizsgáltuk az Al(III)–citrát törzs- és az Al(III)–citrát–szervetlen monofoszfát vegyes ligandumú rendszereket.

Az Al(III) felhalmozódhat a vörös vérszövetekben, ahol az ATP mellett a mM koncentrációban lévő 2,3-difoszfó-glicerát lehet a fő Al(III)kötő molekula.⁷¹

Az, hogy az Al(III) hogyan jut be a vérből a különböző szövetekbe és szövetekbe nem teljesen tisztázott. Az agyba a vér–agy gáton keresztül kerül be, feltehetően két úton: transzferrinhez kötődve a transzferrin–transzferrin receptoron keresztül, vagy citráthoz kötötten a monokarboxilát transzporteren keresztül. Feltehetően ez utóbbi mechanizmus szerint ürül is ki az Al(III) az agyból.⁷² Az agy cerebrospinális folyadékában, ahol alacsony a citrát- és a transzferrin szint, az Al(III) döntően katecholaminokhoz kötődik. Az ATP, annak ellenére, hogy 400-szor kisebb koncentrációban fordul elő mint a katecholaminok, szintén jelentős Al(III) megkötő lehet az agyszövetekben és –folyadékokban.^{15,73} Az idegszövetekbe bejutva az Al(III) elsősorban foszforilált és nemfoszforilált fehérjékhez kapcsolódik.¹⁵

Egyéb biológiai folyadékokban, mint a nyál, az anyatej, a gyomor- és bélnedvek, melyek gazdagok citráttal és foszfáttal, szintén ez a két molekula tűnik a legvalószínűbb kis molekulatömegű Al(III)kötőnek.^{15,62}

A felszívódott Al(III) nagy része a vesén keresztül ürül ki a szervezetből. A mechanizmus ebben az esetben sem tisztázott, valószínű azonban, hogy a kis biomolekulákhoz kötött Al(III) tud a vesén keresztül kiürülni, míg a nagy molekulatömegű frakciók az epén keresztül hagyják el a szervezetet.^{61,62} Kimutatták, hogy pl. a citrát és a szilikát (amely az Al(III)-nak fontos természetes ellenanyaga) elősegítik az Al(III)-nak a vesén keresztül történő kiürülését, bár a szilikát esetében az újabb kutatások ezt nem támasztják alá egyértelműen.⁷⁴ Az, tehát, hogy az Al(III) milyen úton jut ki a szervezetből

nagymértékben függ a szervezet Al(III)-speciációjától, valamint a nagyszámú kompetitív reakció kinetikájától.⁶¹

2.5. A részecskeeloszlás jelentősége az Al(III) toxicitásában

Az előző fejezetekben részben már utaltam azokra az összefüggésekre, amelyek az Al(III) különböző kémiai formái, a fémion felszívódása, metabolizmusa és toxikus hatásai között fennállnak. Az Al(III) hatásainak megértésében kulcskérdés a fémion hozzáférhetősége a biológiai rendszerek számára. Ismernünk kell tehát, hogy a fémion milyen formában van jelen a természetes vizekben és a talajvízben, valamint azokat a körülményeket (pH, ligandum koncentráció) amelyek lehetővé teszik, hogy a táplálékkal és a gyógyszerekkel felvett Al(III) felszívódhasson a szervezetben. Sem az Al(III) metabolizmusa, sem toxikus hatásának mechanizmusa nem teljesen ismert. Ennek megértéséhez és tisztázásához elengedhetetlenül fontos a fémion részecskeeloszlásának ismerete a fontosabb biológiai nedvekben és szövetekben. Számos, a fémion szállítására alkalmas ligandum van a szervezetben, de azt, hogy fiziológiás körülmények között melyik lesz a kitüntetett molekula, a képződő komplexek stabilitása, valamint a kinetikai tényezők határozzák meg.

A kísérleti toxikológiában is jelentős a részecskeeloszlás szerepe. Kimutatták, hogy a különböző Al(III)komplexek nem egyformán toxikusak.^{75,76} Értékelhető dózis-válasz összefüggések így csak akkor nyerhetők, ha a vizsgálatokhoz használt Al(III)oldatok részecskeeloszlása pontosan ismert, a komplexek hidrolitikusan stabilak és el is jutnak a biológiai célszervhez.⁷⁶ A kapott eredmények jelentősen függenek a fémion analitikai koncentrációjától és a fém–ligandum aránytól is.⁶³

3. Az alumínium koordinációs kémiája

3.1. Az Al(III)ion hidrolízise

A 53 pm ionsugarú Al(III)ion kis mérete és nagy töltése miatt nagyon hard karakterű, könnyen hidrolizáló fémion.⁷⁷ Ezért, ha az Al(III)ion komplexképző sajátságait vizes oldatban vizsgáljuk, ismernünk kell az Al(III) hidrolízise során képződő hidroxokomplexeket, mivel már enyhén savas oldatban is a ligandumnak a hidroxidionnal kell versengenie a fémionért, hogy komplexet képezzen. A témában megjelent nagyszámú publikáció^{25,26,77-88} ellenére még mindig sok az ellentmondás a képződő hidroxokomplexek összetételét és stabilitását illetően.

A legnagyobb nehézséget a rendszer egyértelmű leírásában a többmagvú hidroxokomplexek lassú képződése jelenti. Éppen a folyamatok lassúsága következtében szinte korlátlan ideig létezhetnek az oldatban metastabilis hidroxokomplexek, olyan körülmények között amikor az Al(OH)₃ lenne a termodinamikailag stabilis állapot.^{15,78} Az Al(III) analitikai koncentrációja szintén befolyásolja a részecskeeloszlást.^{84,86,88}

Savas közegben, pH 4 alatt, kizárólagosan az oktaédes [Al(H₂O)₆]³⁺-ion létezik. Lúgos pH-tartományban (pH > 9) pedig a tetraédes [Al(OH)₄]⁻ komplex formájában van jelen az Al(III). A különböző részecskeeloszlási modellek azokban a komplexekben térnek el, amelyek gyengén savas vagy semleges oldatokban léteznek, ahol az Al(OH)₃ csapadék mellett oldható többmagvú komplexek is képződhetnek.

Az egymagvú hidroxokomplexek közül az pK~5,5-el képződő [Al(OH)]²⁺ részecske a legjobban definiált, a legtöbb részecskeeloszlási modellnek része. Létezését ²⁷Al NMR-spektroszkópiás módszerrel is igazolták.⁸¹ A pH növelésével további vízmolekula deprotonálódik az [Al(OH)₂]⁺ komplex képződése közben. Ezt a részecskét csak igen híg oldatokban, > 10⁻⁴ mol dm⁻³ Al(III)koncentrációnál sikerült potenciometriásan kimutatni.^{77,78,82} A potenciometriás adatok kiértékelése során nagyon változatos összetételű többmagvú komplexeket feltételeztek. Ezek közül a legelfogadottabbak és a legtöbbet vizsgáltak az [Al₂(OH)₂]⁴⁺, [Al₃(OH)₄]⁵⁺ és [Al₁₃O₄(OH)₂₄·4H₂O]⁷⁺ (a továbbiakban [Al₁₃(OH)₃₂]⁷⁺) részecskék. A kétmagvú [Al₂(OH)₂]⁴⁺ komplex egy dihidroxohidas dimer. Szerkezetét szilárd fázisban röntgendiffrakcióval határozták meg.⁷⁷ Akitt és munkatársai⁸⁰ nagyterű NMR-rel vizes oldatban is kimutatták, de azt is megállapították, hogy ezredmólos vagy ennél hígabb

oldatokban jelentéktelen mennyiségben képződik.⁸⁶ Ezzel magyarázható, hogy feltételezése a modellszámítások során, általában alig javította a kísérleti potenciometriás adatok illeszkedését és stabilitási állandóját csak viszonylag nagy hibával tudták meghatározni.^{25,26,79,88} Egyértelműbbek az adatok a $[\text{Al}_3(\text{OH})_4]^{5+}$ részecske esetén, amely szintén csak nagyobb Al(III)koncentrációknál, de szélesebb pH-tartományban képződik, ezért a legtöbb egyensúlyi modellben figyelembe veszik.^{25,26,77–79,82,88} A különböző laboratóriumokban kapott potenciometriás eredmények jól megegyeznek az $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$ többmagvú részecske képződése tekintetében, bár a számolt stabilitási állandók néha nagyságrendekkel is különbözhetnek. A komplex létezését szilárd állapotban röntgendiffrakciós módszerrel,⁷⁸ oldatban pedig ^{27}Al és ^{17}O NMR-technikával^{83,86} is egyértelműen bizonyították. Szimmetrikus szerkezete van: egy központi tetraédes geometriájú Al(III)-ot és 12 oktaédesen koordinált Al(III)-ot tartalmaz, amelyeket hidroxó- és oxohidak kötnek össze. Akitt és Elders⁸⁶ NMR-spektroszkópia alkalmazásával megállapították, hogy $2 \cdot 10^{-2}$ mol dm^{-3} -nél hígabb koncentrációknál, gyengén savas pH-tartományban kizárólagosan az $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$ képződik; töményebb oldatokban pedig $\{[\text{Al}(\text{OH})_{2,5}]^{1/2+}\}_n$ sztöchiometriájú oligomer komplexek keverékét is kimutatták, nem egyensúlyi körülmények között. Ezek a metastabilis többmagvú hidroxokomplexek lassú folyamatban valószínűleg még nagyobb oligomer részecskékké alakulnak, amelyek a makromolekuláris $\text{Al}(\text{OH})_3$ prekursorainak tekinthetők.¹⁵

A fenti eredmények világosan mutatják, hogy az Al(III)–OH rendszerben nehéz a megfelelő modell kiválasztása. Leggyakrabban a Baes és Mesmer⁷⁸ vagy az Öhman és munkatársai⁷⁹ által javasolt modellt fogadják el. Egyensúlyi rendszereink leírásakor mi az Öhman által javasolt modellt használtuk (zárójelben az adott komplex stabilitási szorzatának tízes alapú logaritmusát adjuk meg, amelyeket 25°C-ra és 0,2 mol dm^{-3} ionerősségre a Davies-egyenlet segítségével számoltunk): $[\text{AlOH}]^{2+}$ (–5,49), $[\text{Al}_3(\text{OH})_4]^{5+}$ (–13,54), $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$ (–97,2), $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ (–23,40).

3.2. Az Al(III)ion koordinációja biomolekulákkal

Az Al(III) hard jellegű kation és mint ilyen, elsősorban oxigéndonor-atomokat tartalmazó funkciócsoportokkal lép erős kölcsönhatásba. Kedvező szterikus helyzetben, koordinációra képes O-donor funkciócsoport mellett elhelyezkedő N- vagy S-

donorcsoportok is koordinálódhatnak az Al(III)-hoz, kelátkomplex képződése közben. Az Al(III)ion koordinációs kémiai sajátosságait az általunk vizsgált ligandumok Al(III)komplexeivel kapcsolatban megjelent irodalmak összefoglalásán keresztül szeretném bemutatni. Elsősorban az oldategyensúlyi eredményeket ismertetem, a komplexek szilárd fázisú sajátosságaira csak abban az esetben térek ki, ha azt az oldatkémiai leírás indokolja.

Az Al(III) koordinációs kémiai vizsgálatai a fémionnak olyan ligandumokkal történő kölcsönhatásának jellemzésére irányulnak, amelyek a természetben és a biológiai rendszerekben előfordulnak és amelyek kapcsolatba hozhatók az Al(III) toxikus hatásaival. Ilyen bioligandumok pl. az aminosavak, a fehérjék és peptidek alkotóelemei.

Az aminosavak α -aminocsoportja gyengén bázikus $pK \sim 2,4$, ami meglehetősen gyenge Al(III)kötő képességre utal. Potenciometriás vizsgálatok során ezredmólos koncentrációknál 1:5-nél kisebb fém–ligandum aránynál nem tudtak komplexképződést kimutatni.^{89,90} Ennél sokkal nagyobb ligandumfelesleg mellett azonban Djurdjevic és munkatársai⁸⁹ egyértelműen kimutatták az Al(III) kölcsönhatását glicinnel és alaninnal. Mindkét aminosav esetén az Al(III) hidroxokomplexei mellett az $Al(OH)_3A$ és $Al_2(OH)_2A_2$ komplexek képződését valószínűsítették. Daydé⁹¹ nagyobb koncentrációknál ($0,02 \text{ mol dm}^{-3}$) vizsgálta a glicin, szerin és treonin hatását az Al(III) részecskeeloszlására. Döntően egymagvú AlA és $Al(OH)A$ komplexeket talált. Számításai során az 1:1 komplexek stabilitási állandóit együtt finomította az Al(III) hidroxokomplexei stabilitási állandóival. A kapott $\lg K_{AIL}$ értékek 5,7–6,2 tartományba esnek, ami jó egyezést mutat a LFER (lineáris szabadentalpia összefüggés: lineáris kapcsolat van a koordinálódó donorcsoport bázicitása és fémionkötő képessége között) számításokból származtatott 5,8-as értékkel.¹ Ezzel szemben Yavada és munkatársai⁹² ionoforetikus technikát alkalmazva AlA , AlA_2 és AlA_3 részecskék képződését mutatták ki szerinnel, leucinnal és treoninnal.

A háromfogú aminosavak, mint az aszparaginsav és a glutaminsav, jóval hatékonyabb Al(III)kötők. Különböző protonáltságú egymagú 1:1 és kétmagú vegyes hidroxokomplexek képződését mutatták ki.⁹¹

Lényegesen erősebb kölcsönhatás várható, ha az aminosavak oldalláncán levő hidroxilcsoportot foszforiláljuk. A foszforilált aminosavak a foszforilált fehérjék fontos összetevői. Általában, a bázikus ($pK = 6-7$), monosubsztituált szerves foszfátok foszfátcsoportja egyike a leggyakoribb és a legjelentősebb Al(III) kötési helyeknek a biológiai rendszerekben. Fasman és munkatársai⁴ kimutatták, hogy az Al(III)ion a foszforilált fehérjék foszfát oldalláncához kötődve intermolekuláris fehérjekomplexeket

hoz létre, amely a fehérjék aggregálódásához vezet. Bár az irodalom nem szolgáltat kvantitatív információt a foszforilált aminosavak Al(III)-mal való kölcsönhatásáról, ezen ligandumok Al(III)kötő képessége az egyszerű szerves monofoszfátokéval vethető össze. Atkári és munkatársai⁹³ részletesen vizsgálták a szerves monofoszfátok valamint a nukleozid monofoszfátok Al(III)-mal való kölcsönhatását és azt találták, hogy döntően egymagvú 1:1 törzskomplexek és vegyes hidroxokomplexek képződnek. pH 6 felett azonban a foszfátcsoport nem volt képes oldatban tartani az Al(III)iont még 10-szeres ligandumfeleslegnél sem.

2. táblázat A szerves monofoszfát savi disszociációs állandói és Al(III)komplexei stabilitási szorzatainak logaritmusai különböző szerzők munkáiban

	Ref. 93 ^a	Ref. 13 ^b	Ref. 94 ^c	Ref. 11 ^b
H ₃ A	1,86	1,96	1,2	2,0
H ₂ A	6,63	6,61	6,51	6,68
HA	11,48	11,39	11,80	11,54
AlAH ₂	19,65(6)	22,25(4)	26,18(1)	20,93(4)
AlAH	17,40(3)	19,1(1)	23,25(1)	17,79(1)
AlA	–	15,7(4)	–	15,32(5)
AlA ₂ H	–	–	37,95(10)	–
Al ₂ A	17,42(2)	20,9(1)	–	18,72(5)
Al ₂ AH ₂	11,05(2)	15,80(6)	–	12,58(5)
Al ₂ AH ₃	6,9(1)	6,7(2)	–	–

^aI = 0,2 mol dm⁻³ KCl, t = 25 °C

^bI = 0,15 mol dm⁻³ NaCl, t = 37 °C

^cI = 0,15 mol dm⁻³ NaCl, t = 25 °C

Az általunk vizsgált foszforilált aminosavak közül a foszfortirozinnal hasonló erősségű kölcsönhatás várható, a hárommagvú koordináció kialakítására is képes foszfoszerin azonban várhatóan magasabb pH-n is oldatban tudja tartani az Al(III)-ot.

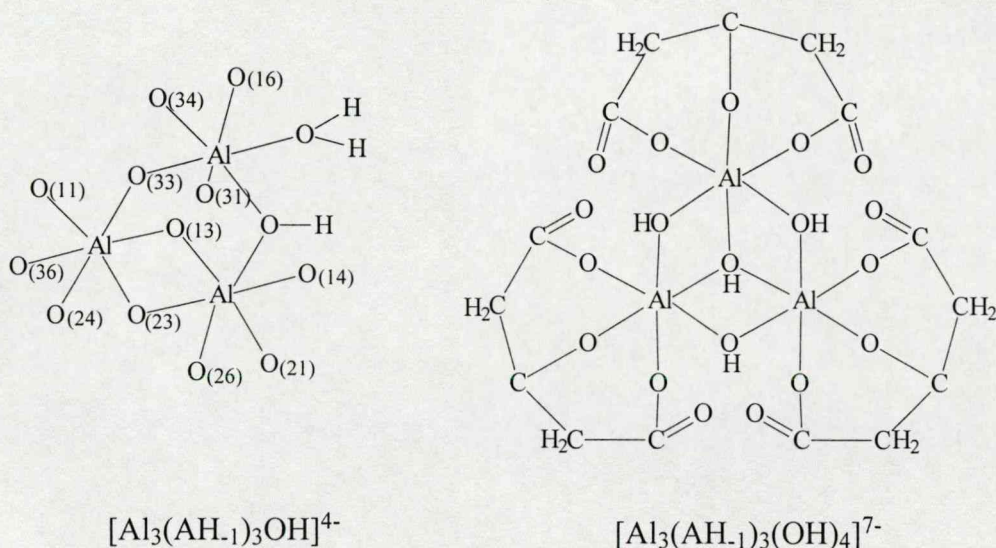
A vérplazma fontos kis molekulája a szerves monofoszfát. Al(III)-mal, koncentrációtól függően pH 4 felett AlPO₄ csapadékot képez, ezért az Al(III)–foszfát rendszer oldategyensúlyi viszonyai csak savas közegben vizsgálhatók közvetlenül. A részecskeeloszlás leírását megnehezítik még a többmagvú komplexek képződése lassú reakcióban. Potenciometriás és különböző spektrális technikákat (IR, Raman, ²⁷Al és ³¹P NMR) alkalmaztak a rendszer leírása érdekében,^{11,13,93–98} de még számos ellentmondás van a képződő komplexek összetételét és stabilitását illetően. A 2. táblázat az irodalomban megjelent különböző részecskeeloszlási modelleket, valamint a komplexek stabilitási állandóit foglalja össze. A két- vagy egyszeresen protonált egymagvú 1:1 komplexek

mellett a potenciometriás mérések kétmagvú, többnyire vegyes hidroxokomplexek képződésére utlanak, mint pl. Al_2A , $\text{Al}_2\text{A}(\text{OH})_2$, $\text{Al}_2\text{A}(\text{OH})_3$. Ezekben a kétmagvú komplexekben a foszfátion és/vagy a hidroxidion hídligandumként szolgál. ^{31}P NMR- és Raman-spektroszkópia alkalmazásával Feng és Waki⁹⁵ egy biszkomplex képződését is kimutatta, ezt a komplexet potenciometriásan csak Jackson és Voyi³ tudta meghatározni. Akitt és munkatársai^{96,97} ^{27}Al és ^{31}P NMR alkalmazásával erősen savas közegben az $\text{Al}(\text{III})$ és a H_3PO_4 -molekula között is kimutattak kölcsönhatást. A teljesen protonált H_3PO_4 -molekula a foszforiloxigénen keresztül koordinálódhat igen gyenge kötést képezve.⁹⁸ A részlegesen deprotonált H_2PO_4^- -ion elsősorban egyfogúként, míg a HPO_4^{2-} -ion egyfogúként és kétfogúként is koordinálódhat, kötési izomereket képezve.

A vizsgálati nehézségek kiküszöbölésére a lineáris szabad energia összefüggést alkalmazták az $\text{Al}(\text{III})$ -foszfát kölcsönhatás kvantitatív jellemzésére. Harris⁸ lineáris kapcsolatot mutatott ki az öttagú kelátgyűrűt képező kétfogú O-donor ligandumok bruttó bázicitása és $\text{Al}(\text{III})$ -kötő képessége között. Feltételezve, hogy a foszfát is kétfogúként koordinálódik az $\text{Al}(\text{III})$ -hoz Harris a következő stabilitási állandókat határozta meg: $\lg \beta_{\text{AlPO}_4} = 14,10$, $\lg \beta_{\text{Al}(\text{PO}_4)(\text{OH})} = 8,37$. Atkári és munkatársai⁹³ a szerkezetileg inkább hasonló szerves monofoszfátok és foszfonátok stabilitási adataival szerkesztette meg a lineáris szabad energia összefüggést és ez alapján a protonált AlHPO_4 komplexre $\lg \beta = 17,60$, a vegyes $\text{Al}(\text{HPO}_4)(\text{OH})$ és $\text{Al}(\text{PO}_4)(\text{OH})$ komplexekre $\lg \beta = 13,50$ illetve 7,20 értékeket kapott.

Az élőszervezetben igen elterjedtek és igen jó $\text{Al}(\text{III})$ -kötők a több potenciális oxigéndonorcsoportot tartalmazó hidroxikarbonsavak, ezek közül is egyik legjelentősebb a citromsav. Az $\text{Al}(\text{III})$ -citromsav rendszert számos technikával igen kiterjedten vizsgálták, ennek ellenére még sok a megválaszolatlan kérdés a részecskeeloszlást és a képződő komplexek szerkezetét illetően. Az ellentmondások oka: egyrészt a donorcsoportok számtalan koordinációs és protonálódási lehetősége (a citromsav három karboxilát- és egy alkoholos hidroxilcsoportja közül egyszerre csak három tud a fémionhoz kötődni), másrészt a vizes oldatban lejátszódó lassú oligomerizációs folyamatok. A korai potenciometriás vizsgálatok kizárólag az AlAH , AlA és AlAH_1 egymagvú 1:1 komplexek képződésével írták le a rendszert, ekvimoláris oldatban és ligandum feleslegnél egyaránt.^{99,100} Ezzel ellentétben Gregor és Powell¹⁰¹ azt találták, hogy nagy ligandumfelesleg esetén döntően biszkomplexek képződnek a rendszerben. Az AlAH és AlA egymagvú 1:1 komplexek mellett savas pH-tartományban az AlA_2H és AlA_2 ,

semleges és lúgos pH-kon pedig az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ és $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ részecskék képződését feltételezték. Öhman és Sjöberg¹⁰² 1:1 fém–ligandum arány titrálása során gyengén savas és semleges oldatokban 6 órát vártak az egyensúly beállítására és kimutatták, hogy ebben a pH-tartományban egy hárommagvú $\text{Al}_3(\text{AH}_{-1})_3(\text{OH})$ összetételű részecske képződik. Öhman⁸⁵ időfüggő potenciometriás vizsgálatokkal is alátámasztotta ennek a hárommagvú részecskének a létezését és lúgos tartományban egy másik, $\text{Al}_3(\text{AH}_{-1})_3(\text{OH})_4$ összetételű hárommagvú komplexet is talált. Az alacsonyabb pH-n képződő hárommagvú komplex ammóniumsóját $(\text{NH}_4)_4[\text{Al}_3(\text{AH}_{-1})_3(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})]$ semleges vizes oldatból kikristályosították és NMR-spektroszkópiás és röntgendiffrakciós módszerrel jellemezték. Az aszimmetrikus szerkezetű komplexanion egy hárommagvú alkoholáthidas Al_3O_4 magból áll, mindegyik citrát két vagy három Al(III) centrumhoz koordinálódik.¹⁰³ A másik hárommagvú részecskére Öhman szimmetrikus szerkezetet javasolt, amelyben mindegyik citrátmolekula egy Al(III)ionhoz koordinálódik a két terminális karboxilát- és a deprotonált hidroxilcsoportjával, az Al(III)ionokat pedig hidroxohidak kapcsolják össze (1. ábra).⁸⁵



1. ábra A hárommagvú Al(III)–citrát komplexek egyszerűsített szerkezete

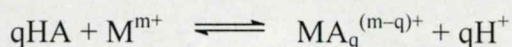
Sokkal ellentmondásosabb a kép az egymagvú komplexek szerkezetét illetően. Az AlA részecskére kétféle háromfogú koordinációt feltételeztek: a centrális és az egyik terminális karboxilát- valamint a deprotonált hidroxilcsoport részvételével,^{99,104} vagy, ¹³C NMR-mérések alapján, egy szimmetrikus elrendeződést a két terminális karboxilát és a deprotonált hidroxilcsoport koordinációjával.^{85,101} Mindkét esetben a nemkötő karboxilcsoport protonálva van. Ettől valamelyest eltér Jackson javasolt szerkezete, aki

úgy képzelte el a szimmetrikusan kötődő citrátmolekulát, hogy a koordinálódó hidroxilcsoport protonált, a nemkötő centrális karboxilcsoport pedig deprotonált állapotban van.¹⁰⁰ Az AlAH komplex esetén is a lehetséges háromfogú koordináció egyikét feltételezték, csak itt a koordinálódó hidroxilcsoport protonálva van.^{85,100,101} Ezzel ellentétben Motekaitis és Martell⁹⁹ szerint az AlAH részecskében kétfogú (COO^- , O^-) koordináció valósul meg a centrális karboxilát részvételével, miközben a két terminális karboxilcsoport protonált és szabadon van.

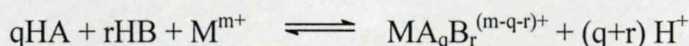
4. A mérések elvi alapjai

4.1. A potenciometriás mérések elve

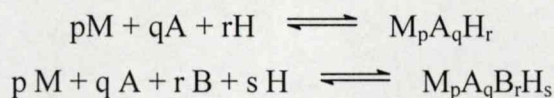
Az oldatfázisban végzett komplexkémiail vizsgálatok legáltalánosabb kísérleti módszere a pH-metria. A potenciometria alkalmazására az ad lehetőséget, hogy a fémion–ligandum kölcsönhatás befolyásolja a H^+ –ligandum kölcsönhatást. A ligandumok gyenge bázisok, ezért a komplexképződés kompetitív reakciót jelent a H^+ és a központi fémion között. A fémion és a H^+ a ligandum kötőhelyeiért versengenek. Tehát a H^+ koncentrációjának méréséből következtetni lehet a képződő komplexek stabilitására. A kompetíciós reakció a következő egyenlettel írható le:



Vegyes ligandumú rendszerekben pedig:



Valamely fémet (M), teljesen deprotonált ligandumot (A) és protont (H) tartalmazó rendszer esetén a következő általános komplexképződési egyensúly írható fel (a töltéseket az egyszerűség kedvéért elhagytuk):



A fenti egyenletek alapján a képződő részecskék stabilitási szorzatát a következő összefüggéssel definiálhatjuk:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_pA_qH_r]}{[M]^p[A]^q[H]^r} \quad \text{illetve} \quad \beta_{pqrs} = \frac{[M_pA_qB_rH_s]}{[M]^p[A]^q[B]^r[H]^s}.$$

A pH-metriás titrálási görbék felvétele azt jelentette, hogy a ligandum és a fémion oldatához kis részletekben lúgot adagoltunk és az egyensúly beállta után rögzítettük a cm^3 –pH adatpárokat. A titrálási adatokból a stabilitási szorzatokat a PSEQUAD számítógépes programmal számítottuk ki.¹⁰⁵ A számításokhoz a komponensek és asszociátumok összetételét, a komponensek kiindulási teljes koncentrációját és az ismert és az ismeretlen

– közelítő – stabilitási szorzatokat adjuk meg. A keresett stabilitási szorzatokat a reaktánsokra felírt anyagmérlegeket jelentő következő egyenletrendszer megoldása adja:

– törzrendszeres esetén:

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

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

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

– vegyes ligandumú rendszerek esetén:

$$c_H = [H] + \sum_{i=1}^n s_i \beta_{pqrs} [M]_i^p [A]_i^q [B]_i^r [H]_i^s,$$

$$c_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{pqrs} [M]_i^p [A]_i^q [B]_i^r [H]_i^s$$

$$c_A = [A] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqrs} [M]_i^p [A]_i^q [B]_i^r [H]_i^s$$

$$c_B = [B] + \sum_{i=1}^n r_i \beta_{pqrs} [M]_i^p [A]_i^q [B]_i^r [H]_i^s$$

ahol n a rendszerben képződő asszociátumok számát, p, q, r, s a sztöchiometriai együtthatókat jelöli.

A program az általunk feltételezett asszociátumok és közelítő stabilitási szorzatok figyelembevételével, Newton–Raphson iterációval végzi a közelítést addig, míg a titráló oldatra nézve a $\Sigma(V_{\text{mért}} - V_{\text{számított}})^2$ értéke minimumot ad (V a titráló mérőoldat térfogata). A program minden megadott pH-értéknél kiszámolja az összes képződő részecske egyensúlyi koncentrációját és az adott pontokhoz tartozó standarddeviáció értékét. Az iteráció végén megadja a finomított stabilitási szorzatokat, azok hibáját (a kvantitatív eredmények közlésekor a zárójelben szereplő szám a közölt érték utolsó számjegyét terhelő hibát jelenti), a kísérleti és a számított titrálási görbék pontjaihoz tartozó ($V_{\text{mért}} - V_{\text{számított}}$) abszolút értékeinek átlagát (ezt nevezzük illesztési paraméternek), és egy adott komponensre vonatkozóan kirajzolja az asszociátumok koncentráció-eloszlási görbéjét a pH függvényében. A feltételezett asszociátumok egy adott összességét nevezzük a rendszer modelljének. Azt a modellt tekintjük a rendszert leírónak, amely kémiai megfontolások alapján értelmezhető és amelynél az illesztési paraméter a legkisebb. A pH-metria által szolgáltatott információk alapvető fontosságúak a komplexkémiai vizsgálatokban, de sok esetben nem lehet csak ez alapján egyértelmű következtetéseket levonni. Vannak olyan esetek például, amikor csak pH-metriával nem lehet különbséget tenni két részecske között, mert a képződésük azonos pH-effektussal jár. Előfordulhat az is, hogy ugyanaz a rendszer kettő vagy több kémiai reális modellel is egyformán jól leírható. Ilyen esetekben és általában a pH-metriás méréseink eredményeinek a megerősítésére más vizsgálati módszereket is alkalmazni kell.

4.2. Az NMR-spektroszkópiás mérések elvi alapjai

Az NMR-spektroszkópia igen hatásos eszköz az Al(III) oldatkémiájában és sok hasznos információt szolgáltat a részecskeeloszlásra és a komplexek szerkezetére vonatkozólag. Az Al(III) komplexképződési reakcióinak nyomonkövetésére alkalmazhatjuk a ^{27}Al magot valamint a ligandum NMR-aktív magjait: ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{17}O stb.

Az alumínium látszólag nagyon alkalmas elem az NMR-spektroszkópiás vizsgálatokra, mert a ^{27}Al -izotóp 100%-os gyakoriságú és nagy NMR-érzékenységgű: receptivitása az ^1H -hoz viszonyítva 0,206, a ^{13}C -hez viszonyítva pedig 1170. Rezonanciafrekvenciája is nagy: 26,077 MHz, olyan mágneses térnél ahol a TMS protonjai 100 MHz-nél rezonálnak és az alumínium $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ formában van. A mag spinquantumszáma 5/2, giromágneses hányadosa (γ) $6,9763 \cdot 10^7 \text{ rad} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}$. Hátránya azonban, hogy kvadrupólusmomentummal rendelkezik ($Q = 0,149 \cdot 10^{-28} \text{ m}^2$), így az NMR-sávszélesség igen érzékeny a ^{27}Al mag körüli szimmetriára. Minél szimmetrikusabb a komplex, annál keskenyebbek a rezonanciavonalak. Az Al(III)komplexek sávszélessége általában 3-6000 Hz között változik, de ennél nagyobb sávszélesség sem ritka, ami ahhoz vezethet, hogy a jel teljesen beolvad az alapvonalba. A legkeskenyebb vonalakat ($\omega_{1/2} \sim 2 \text{ Hz}$) az olyan nagy szimmetriájú részecskék eredményezik, mint az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ és az $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$. A ^{27}Al jel kémiai eltolódása (δ) igen széles, mintegy 300 ppm, tartományt fed le. A kémiai eltolódás függ a ligandum típusától és a koordinációs számtól. Az oktaéderes komplexek jelei -25 és +40 ppm tartományban jelentkeznek, míg a tetraéderes komplexek nagyobb tereknél, +40 és +140 ppm között, adnak jelet. Referenciaként az $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ -ion jelét ($\delta = 0 \text{ ppm}$) vagy lúgos oldatokban a tetraéderes $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ -ionét ($\delta = 80 \text{ ppm}$) használják. A $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$ komplex tetraéderes Al-atomja 62,5 ppm-nél jelentkezik míg a 12 oktaéderes Al-atom $\sim 12 \text{ ppm}$ -nél ad egy nagyon széles ($\omega_{1/2} \sim 8000 \text{ Hz}$) jelet.¹⁰⁶

Sok esetben, a ^{27}Al jel nagy sávszélessége és így a komplexek nehézkes kimutatása következtében a komplexképződés nyomonkövetésére célszerűbb az NMR-aktív ligandum-magokat használni. Ezért vizsgálataink során a ^{27}Al mellett ^1H , ^{13}C és, valamint a foszfortartalmú ligandumoknál ^{31}P NMR-spektroszkópiát alkalmaztunk.

5. Kísérleti körülmények

Felhasznált anyagok

Munkánk során kizárólag nagy tisztaságú anyagokat alkalmaztunk. Az Al(III) törzsoldat készítéséhez használt $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ az Aldrich cég terméke volt. A ligandumokat a Sigma, Fluka vagy Aldrich cégektől szereztünk be. A potenciometriás mérések kivitelezéséhez szükséges egyéb anyagok (KOH, KCl, 37%-os HCl oldat, kálium-hidrogén-ftalát) a Reanal és Fluka jóvoltából álltak rendelkezésünkre. Az NMR-spektroszkópiás mérésekhez a D_2O -t, valamint a pH beállítására használt NaOD és DCl oldatokat a Sigmától vásároltuk.

A $(\text{NH}_4)_5[\text{Al(III)(CitH}_{-1})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_4[\text{Al(III)(Cit)(CitH}_{-1})] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ és $\text{K}_4[\text{Al(III)(Cit)(CitH}_{-1})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Al(III)-citrát kristályokat Salifoglou és munkatársai állították elő. 0,20 g (0,53 mmol) $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ -t és 0,20 g (1,05 mmol) citromsavat 10 ml desztillált vízben oldottak. Az oldatot 40–50 °C-on egy éjszakán át kevertették, majd szárazra párolták. Az így nyert ragadós, nyúlós anyagot minimális mennyiségű desztillált vízben feloldották, az oldat pH-ját ammónia- vagy kálium-hidroxid-oldattal ~ 8 illetve ~ 4,5-re állították. Az oldathoz 4 °C-on abszolút etanolt adtak, amely kristályos anyag kiválását eredményezte. A hozam 49,6%, 88,4% illetve 30% volt. A szilárd komplexeket elemanalízissel és FT-IR-spektroszkópiával jellemezték. Kristályszerkezetüket Terzis és munkatársai határozták meg röntgendiffrakciós módszerrel.

Potenciometriás mérések

A ligandumok protonálódási állandóit és a fémkomplexek stabilitási állandóit pH-metriás egyensúlyi titrálásokkal határoztuk meg. A méréseket $25,0 \pm 0,1$ °C hőmérsékleten, állandó ionerősség mellett (0,2 mol dm^{-3} KCl) végeztük. A szén-dioxid eltávolítása céljából nagy tisztaságú argongázt buborékolattunk át az oldatokon. A titrálásokhoz 0,2 mol dm^{-3} koncentrációjú karbonátmentes kálium-hidroxid-oldatot használtunk, amelynek pontos koncentrációját kálium-hidrogén-ftalátra határoztuk meg, a pH-metriás titrálási görbék Gran-féle linearizálásával¹⁰⁷. A mérőoldat adagolásához és az adatok rögzítéséhez számítógép vezérelt Metrohm Dosimat 665 típusú titrátort, a pH mérésére Orion 710A pH/mV pH-mérőt és Metrohm-típusú kombinált üvegelektrodot használtunk. Az egyes titrálások előtt a pH-mérő-elektrod rendszert 0,05 mol dm^{-3} kálium-hidrogén-ftalát-oldatra (pH = 4,005) kalibráltuk. A pH-metriás mérőrendszer kalibrálására erős sav erős bázis

titrálást végeztük, ennek segítségével meghatároztuk a mérési körülményeinkre jellemző víziionszorzatot ($13,756 \pm 0,005$) és az Irving-féle kalibrációs tényezőt, amely a mért pH-k H^+ -ion koncentrációjává alakítására szolgál.¹⁰⁸ A titrálásokhoz használt $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ sósav-oldatot koncentrált sósavból, hígítással készítettük, pontos koncentrációját a már ismert töménységű lúgoldattal határoztuk meg, Gran módszerével.

A ligandumok törzsoldatait naponta frissen készítettük, a szilárd anyag pontos bemérésével. A csak ligandumot tartalmazó minták titrálási adataiból a ligandumok tisztaságát és protonálódási állandóit a SUPERQUAD¹⁰⁹ nevű számítógépes programmal határoztuk meg.

Az Al(III)-ionnal történő komplexképződés tanulmányozásához $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ Al(III)-klorid-oldatot használtunk, amit szilárd $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ sóból készítettünk. A törzsoldat pontos koncentrációját gravimetriásan, oxinátcsapadék leválasztásával határoztuk meg. A hidrolízis visszaszorítására a törzsoldat $0,02 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl-t tartalmazott. A fémiont tartalmazó minták titrálásánál azt az állapotot tekintettük egyensúlynak, amikor 40 sec alatt 0,002-nél kevesebbet változott a pH. Egy-egy pontban az egyensúly beállítására a maximálisan 10 percet vártunk, ha 10 perc múlva nem állt be az egyensúly a program felírta a mért pH-t és a lúgoldat adagolását tovább folytatta. A fémes rendszerek titrálási adatait a PSEQUAD¹⁰⁵ nevű számítógépes programmal értékeltük ki (lásd a 4.1. fejezetet).

Az Al(III)-aminosav rendszerekben 25 cm^3 mintákban $0,02$ és $0,04 \text{ mol dm}^{-3}$ aminosav koncentrációt és 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:40 fém–ligandum arányokat alakalmaztunk. Az aszparaginsav esetén, a ligandum kisebb oldhatósága miatt $0,016 \text{ mol dm}^{-3}$ aminosav koncentrációnál mértünk. A vizsgált aminosavtól és a fém–ligandum aránytól függően 4,5–5,8 pH-tartományban csapadékkiválást észleltünk.

Az Al(III)-foszforilált aminosav rendszereket 25 cm^3 oldatokban $0,002$ és $0,004 \text{ mol dm}^{-3}$ ligandum koncentrációknál mértük 1:1, 1:2, 1:4, 1:5 és 1:10 fém–ligandum arányoknál. A méréseket 2–9 pH tartományban vagy csapadékkiválásig végeztük.

Az Al(III)-citrát és a vegyes ligandumú rendszerekben a lassú oligomerizációs folyamatok következtében a hagyományos pH-metriás titrálások során gyengén savas és semleges pH-tartományban az egyes titrálási pontokban több órára lett volna szükség az egyensúly beállítására. Ezért a titrálási görbéket egyedi minták készítésével vettük fel. 30–35 különböző pH-jú, 10 cm^3 térfogatú mintát készítettünk 1:1 és 1:3 fém–ligandum arányoknál a törzsrendszer és 1:1:1 és 1:1:4 arányoknál a vegyes ligandumú rendszer esetén. Az egyensúly beállítására 30 órát vártunk. A rendszerben végbemenő időbeli változások minőségi jellemzése céljából időben követtük a minták pH-jának változását.

Ezen méréseket úgy végeztük, hogy a fémion, a ligandumok és a lúg oldatainak összekeverésétől számítva meghatározott időpillanatokban megmértük az oldatok pH-ját egészen az egyensúly beálltáig. Ezt különböző induló pH-kon megismételtük. Az azonos időpillanatokhoz tartozó pontokat összekötve megkaptuk az ezeket jellemző titrálási görbéket. Titrálási görbénként ~ 20 mintát készítettünk. A pH-idő adatsorokból 0-ra extrapolálva megkaptuk a „0 időpillanatra” jellemző titrálási görbéket, amelyekből következtetni tudtunk arra, hogy milyen lehet a részecskeeloszlás a reaktánsok összekeverésének pillanatában.

NMR-spektroszkópiás mérések

A ^1H NMR spektrumokat 200, 360 és 500 MHz-en, a ^{13}C NMR-spektrumokat 80 és 125 MHz-en, a ^{27}Al NMR-spektrumokat 52 és 130 MHz-en és a ^{31}P NMR-spektrumokat 145 illetve 202 MHz-en működő Bruker AC200, AM360 és DMX500 spektrométereken vettük fel 25 °C-on, D_2O -t tartalmazó mintákban. A ^{13}C és ^{31}P NMR-spektrumok felvételénél a heteronukleáris HC- illetve HP- csatolás megszüntetése céljából kompozit impulzus lecsatolást alkalmaztunk. A kémiai eltolódások ppm értékeinek meghatározására a ^1H NMR-spektrumban DSS-t használtunk belső referenciaként. A ^{13}C , ^{31}P és ^{27}Al kémiai eltolódásokat a TMS-hez, a 85%-os ortofoszforsavhoz illetve az $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ -hoz, mint külső referenciákhoz, viszonyítottuk. A spektrumokat a WINNMR program segítségével értékeltük ki. A ^1H és ^{13}C jelek azonosítására sok esetben két dimenziós korrelációs technikákat is alkalmaztunk (COSY, HSQC, HMBC).

A minták pH-ját tömény NaOH- és sósav-oldatokkal vagy ezek deuterált formáival állítottuk be. A pH-t kalibrált üvegelektóddal mértük. Az időfüggést úgy végeztük, hogy — a minták összetevőinek összekeverésétől számítva — meghatározott időpillanatokban felvettük az NMR-spektrumokat. Egyensúlyi állapotnak azt tekintettük, amikor két egymást követő spektrum azonos volt.

6. Eredmények és értékelésük

6.1. Az aminosavak Al(III)komplexei

A kétfogú, α -aminosavak közül vizsgáltuk a glicint (Gly), a szerint (Ser), a treonint (Thr), a glutamint (Gln) és az aszparagint (Asn), a háromfogú aminosavak közül pedig az aszparaginsavat (Asp) és a glutaminsavat (Glu). Ezen kívül vizsgáltunk még két modell vegyületet az N-acetil-aszparaginsavat (Ac-Asp) és a borostyánkősavat (H_2succ) az amino-N koordinációjának igazolására, valamint a merkaptó-borostyánkősavat (H_3Ssucc).

6.1.1. A kétfogú α -aminosavak Al(III)komplexei

6.1.1.1. Potenciometriás eredmények

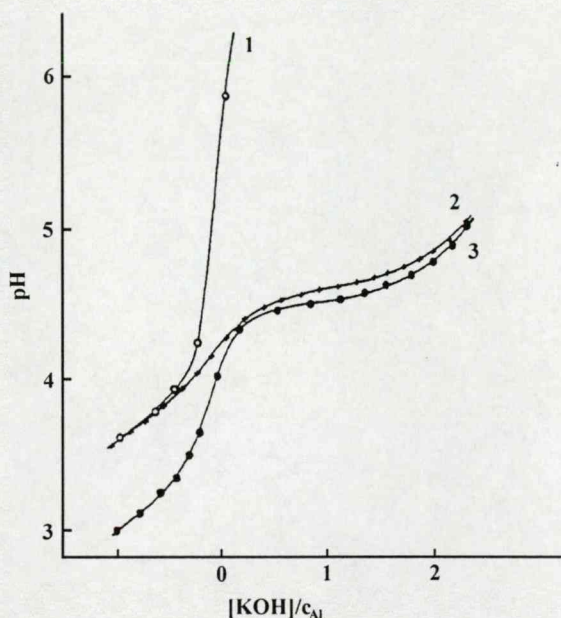
Az egyszerű aminosavak pH-metriásan meghatározott protonálódási és Al(III)komplex stabilitási állandóit az 3. táblázat tartalmazza. Az α -karboxilátcsoport gyengén bázikus ($pK \sim 2,4$), ami meglehetősen gyenge Al(III)kötő képességre utal. Komplexképződést csak nagy ligandumfelesleg (1:10-től 1:40 arányig) mellett tudtunk

3. táblázat A vizsgált α -aminosavak protonálódási állandói ($\lg K$) és Al(III)komplexeik stabilitási szorzatai ($\lg \beta$). $I = 0,2 \text{ mol dm}^{-3} \text{ KCl}$, $t = 25 \pm 0,01^\circ\text{C}$

	Gly	Ser	Thr	Gln	Asn
$\lg K(NH_2)$	9,57(1)	9,02(1)	8,91(1)	8,99(1)	8,71(1)
$\lg K(CO_2^-)$	2,34(2)	2,16(2)	2,15(2)	2,16(2)	2,14(2)
AlA	5,91(10)	5,66(11)	5,51(12)	5,61(13)	5,50(28)
$AlAH_{-1}$	1,08(9)	0,62(13)	0,94(15)	1,33(4)	1,31(8)
Al_2AH_{-1}	4,35(9)	3,75(11)	–	–	–
Illesztési paraméter ^a	0,0108	0,0109	0,0130	0,0058	0,0134
pH-tartomány	2,6–4,9	2,3–5,4	2,6–4,8	2,3–4,7	2,3–5,2
$Al + HA \rightleftharpoons AlA + H$	–3,66	–3,36	–3,40	–3,38	–3,21
$AlA \rightleftharpoons AlAH_{-1} + H$	–4,83	–5,04	–4,57	–4,28	–4,19
$Al + H_2A \rightleftharpoons AlA + 2H$	–6,00	–5,52	–5,55	–5,54	–5,35
$Al + H_2A \rightleftharpoons AlAH_{-1} + 3H$	–10,83	–10,56	–10,12	–9,82	–9,54

^aA számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés cm^3 -ben kifejezve

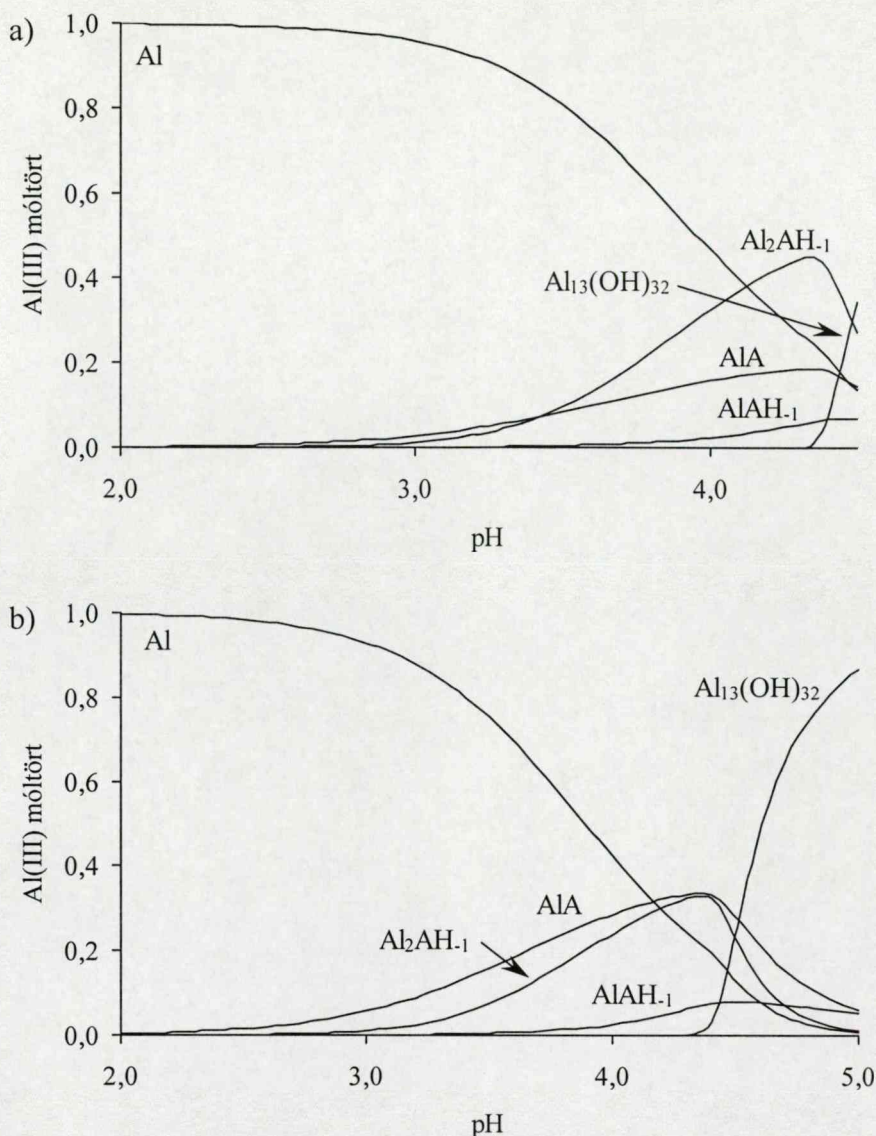
kimutatni. A gyenge kölcsönhatást mutatja az 2. ábra, amelyen az Al(III)–Gly (2) 1:15 arányú rendszerben mért titrálási görbét hasonlítottuk össze a szabad ligandum (1) és a szabad fém (3) titrálási görbéivel. Az Al(III) hidrolízisgörbéjétől való kicsi, de következetes eltérés (2 és 3 görbe) utal a komplexképződésre, amely a következő reakció szerint játszódik le: $\text{Al}^{3+} + \text{HA} \rightleftharpoons \text{AlA} + \text{H}^+$. A ligandum puffertartománya és a fémkomplexek képződési pH-tartománya elég jól elkülönül (1 és 2 görbe), így a nagy ligandumfelesleg pufférhatása elhanyagolható ebben a pH-tartományban, a fém protonkiszorítási reakciója tisztán mérhető. Így lehetséges volt, a nagy ligandumfelesleg ellenére, a komplexek stabilitási állandóinak viszonylag pontos meghatározása.¹¹⁰



2. ábra Az Al(III)-ot és/vagy glicint tartalmazó oldatokban mért titrálási görbék: 1(o): $c_{\text{Gly}} = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$, 2(+): $c_{\text{Gly}} = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{Al}} = 0,0027 \text{ mol dm}^{-3}$, 3(•): $c_{\text{Al}} = 0,0027 \text{ mol dm}^{-3}$

Mind az öt ligandum esetén pH~5 környékén csapadékkiválást észleltünk. Számításaink során csak a 3. táblázatban feltüntetett pH-tartományokat vettük figyelembe, tehát egészen a csapadékkiválásig.

Minden esetben az AlA és AlAH₁ 1:1 komplexekkel lehetett legjobban leírni a rendszert. Az AlAH részecskét valamint az 1:2 komplexeket a program kiszórta. Mivel az Al(III) affinitása az N-donoratomokat tartalmazó csoportokhoz nagyon kicsi,¹ nem valószínű, hogy az aminos csoport részt vesz az Al(III)-al való koordinációban. Savas pH-n tehát az aminos csoport protonált $[-\text{NH}_3^+]$ formában van. Ennek megfelelően az AlA



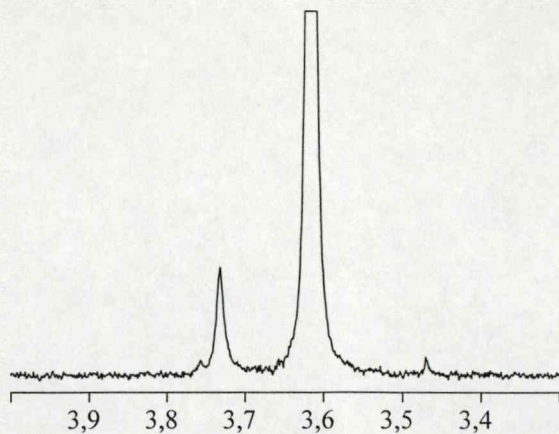
3. ábra Részecskeeloszlási görbék: a) az Al(III)–Gly és b) Al(III)–Ser rendszerekben. $c_{\text{lig}} = 0,16$, $c_{\text{Al}} = 0,008 \text{ mol dm}^{-3}$

részecske vegyes hidroxokomplex $\text{Al}(\text{HA})(\text{OH})$. A komplex másik szerkezeti izomere, amely az NH_2 -csoport kötődése révén egy öttagú kelátgyűrűt tartalmaz, valószínűleg elhanyagolható koncentrációban képződik. Az AIA részecske $\sim 4,2\text{--}5,0$ pK-val protont veszít, úgy, hogy az Al(III) koordinációs szférájában még egy vízmolekula ionizálódik, vagy az aminocsoport deprotonálódik és az Al(III)-hoz koordinálódik. Az AIA részecske meglehetősen alacsony pK-ja ($0,5\text{--}1,0$ lg egységgel kisebb, mint az $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6$ 5,52-es pK-ja) jelentheti (i) az aminocsoport részvételét a koordinációban vagy (ii) a vízmolekulák deprotonálódása közben lejátszódó geometriaváltást, oktaédresből tetraédresbe. Az

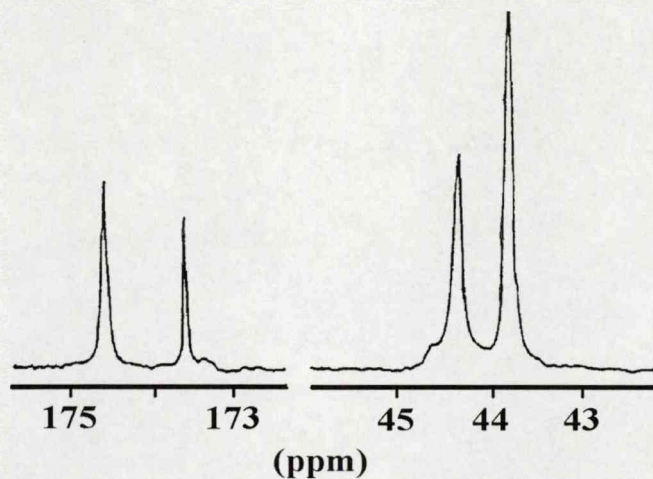
aminocsoport gyenge kötődése miatt (lásd feljebb) az utóbbi lehetőség a valószínűbb. A koordinálódó vízmolekulák savasságának növekedését észlelték az Al(III)–adenozin 5'-foszfát komplexek esetén is.⁷³ A Ser komplexeiben elvileg lehetőség van az alkoholos OH-csoport deprotonálódására és koordinálódására is, egy hattagú kelátgyűrű, vagy, az aminocsoport részvételével, egy még stabilabb (5+6)-tagú csatoltkelát képződése közben. A Ser AlA és AlAH₁ komplexei esetén számolt protonkiszorítási állandók — amelyek figyelembe veszik a koordinálódó donorcsoportok bázicitása közötti különbséget — nem különböznek a többi aminosav hasonló állandóitól (lásd a 3. táblázat utolsó két sorát), így a feltételezett kötésmód alárendelt szerepet játszhat. A Ser esetén is a háromfogú karboxilát koordináció a legjelentősebb. A Gly és Ser rendszerekben (3. ábra) az AlA részecskével párhuzamosan képződik egy kétmagvú komplex az Al₂AH₁. A két részecske részben helyettesítheti egymást a modellszámítások során. A legjobb illeszkedést mégis akkor kaptuk, amikor az AlAH₁ mellett AlA-t és Al₂AH₁-et is feltételeztük. Az Al₂AH₁ komplexben legvalószínűbben karboxilát és dihidroxohidas koordináció valósul meg. Hasonló kötésmódot találtak az Al(III)–monokarbonsav¹¹¹ és Al(III)–karbonát²⁵ rendszerekben. Öhman megállapította, hogy a ligandum karboxilcsoportja pK-jának növekedésével nő ezen Al(III)komplex képződésére való hajlam. Közelítőleg lineáris összefüggést találtak a $2\text{Al} + \text{A} \rightleftharpoons \text{Al}_2\text{AH}_2 + 2\text{H}^+$ folyamat egyensúlyi állandója és a karboxilcsoport savi disszociációs állandója között.¹¹¹ Mivel a Gly és Ser karboxilcsoportja gyengén bázikus (pK ~ 2,1–2,3) a kétmagvú komplex stabilitása kisebb mint a karbonát és a monokarbonsavak esetén.

6.1.1.2. NMR-spektroszkópiás mérések

Az Al(III)ion és az aminosavak között létrejövő gyenge kölcsönhatást ¹H, ¹³C és ²⁷Al NMR-módszerrel is kimutattuk. Nagy koncentrációjú (c_{Al} = c_{Gly} = 0,5 mol dm⁻³) Al(III)–Gly pH = 2,5-ös oldatában felvett ¹H NMR-spektrumban két jel figyelhető meg: a 3,69 ppm-nél levő a szabad aminosav jele, míg a 3,76 ppm-nél megjelenő csúcs a komplexben kötött ligandumhoz rendelhető. Hígabb oldatban a komplex disszociációja jelentősebb, de 0,05 mol dm⁻³ koncentrációnál még egyértelműen bizonyítható a komplexképződés (4. ábra). Lassú ligandumcserére utal az a tény, hogy a szabad ligandum és a komplexben kötött ligandum jelei elkülönülten jelennek meg a spektrumban.



4. ábra Az Al(III)–Gly rendszerben mért ^1H NMR-spektrumok. $\text{pH} = 3,5$; $c_{\text{Al}} = 0,05$, $c_{\text{Gly}} = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$



5. ábra Az Al(III)–Gly rendszerben 2,4-es pH-n mért ^{13}C NMR-spektrum; $c_{\text{Al}} = 0,05$, $c_{\text{Gly}} = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$

Hasonlóan, a többi α -aminosavak ^1H NMR-spektrumában is elkülönülten jelentkeznek a komplex és a szabad ligandum jelei.

Az oldat ^{13}C NMR-spektrumában szintén két jelcsoport figyelhető meg. A komplexképződés eredményeként a CH_2 -szén jele 0,46 ppm-el kisebb terek felé tolódik a szabad ligandum jeléhez képest, a CO-szén pedig 1,0 ppm ellentétes irányú eltolódást mutat (5. ábra).

Ahhoz, hogy magasabb pH-kon is ki tudjuk mutatni a komplexképződést ezredmólos koncentrációt és nagyobb (1:20) Al(III)–aminosav arányt alkalmaztunk. A nagy ligandumfelesleg miatt ^{27}Al NMR alkalmazása tűnt célszerűnek. A minták koncentrációja megegyezett a potenciometriában alkalmazott koncentrációkkal. Azért, hogy értelmezni tudjuk az Al(III)–aminosav rendszerben kapott eredményeket ugyanazokon a pH-kon felvettük a csak Al(III)-ot tartalmazó oldatok spektrumait.

Mivel az Al(III) kvadrupólusmag, ezért bármilyen kis aszimmetria az Al(III) koordinációs szférájában jelkiszélesedéshez vezet, olyannyira, hogy a jelek akár bele is olvadhatnak az alapvonalba. A nagy szimmetriával bíró oktaéderes $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ komplex egy keskeny jelet ad az ^{27}Al NMR-spektrumban, amely az alumíniumnak $8 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, pH = 1,26 oldatában 0,5 ppm-nél jelenik meg és 4Hz széles (4. táblázat). pH = 4,08-nál 0,71 ppm-nél kapunk egy sokkal szélesebb jelet. A pH emelésével a $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ komplex jelének szélesedését és kis mértékű eltolódását Akitt és munkatársai⁸¹ a $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ és az $\text{Al}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5$ részecske között lejátszódó gyors cserefolyamatoknak tulajdonították.

4. táblázat ^{27}Al NMR-spektroszkópiás adatok az Al(III)– α -aminosav rendszerekben

C_{Al} (mol dm ⁻³)	pH	δ	$\Delta\nu_{1/2}$ (Hz)	Terület
Al ³⁺ oldat				
0,008	1,26	0,50	4	100
0,008	4,08	0,71	50	101
0,008	4,51	1,14	100	60
		63,6	12	10
		30	>1000	30
0,008	5,00	csapadék		
Al(III)–Gly 1:20 arány				
0,008	3,09	0,55	6	100
0,008	4,08	0,96	79	90
0,008	4,49	1,20	120	40
		63,6	24	2
0,008	5,02	63,5	40	4
Al(III)–Ser 1:20 arány				
0,008	3,01	0,50	5	110
0,008	3,96	0,86	73	100
0,008	4,47	0,93	144	41
		63,7	26	3
0,008	5,00	63,7	35	4

Tovább emelve az oldat pH-ját 4,5-nél már három jelet figyelhetünk meg. A 63,6 ppm-nél levő éles jel az $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}$ hidroxokomplex központi tetraédes szimmetriájú Al(III) ionjához rendelhető, míg a többi, kevésbé szimmetrikus környezetben levő Al(III) ionok adják a több mint 1000 Hz vonalszélességű jelet.⁷⁷ A jelek integrálásából kiderül, hogy az Al(III) -nak ~ 60%-a tartozik az első, 1,14 ppm-nél levő jelhez, ~ 10%-a adja a 63,6 ppm-nél megjelenő jelet, a fennmaradó Al(III) jele pedig beleolvad az alapvonalba. Tovább emelve a pH-t az Al(III) Al(OH)_3 csapadék formájában kiválik az oldatból.

Az Al(III) –Gly és Al(III) –Ser rendszerben, különböző pH-kon felvett spektrumok jellemző adatai a 4. táblázatban szerepelnek. pH ~ 3-nál a nagy ligandumfelesleg még nincs hatással a ^{27}Al NMR-spektrumra, az Al(III) egy oktaédes szimmetriájú részecske, elsősorban $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ formájában található. pH ~ 4-nél a $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ komplex mennyisége kis mértékben csökken, de új jel nem jelenik meg a spektrumban. pH ~ 4,5-nél sem jelenik meg új csúcs a hasonló pH-jú, ligandumot nem tartalmazó Al(III) oldathoz képest. A jel alatti területeket összehasonlítva viszont látható, hogy ligandumfelesleg jelenlétében 20%-kal kevesebb Al(III) található az oktaédes szimmetriájú részecske formájában és a $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}$ komplexben kötött Al(III) mennyisége is csökken. A „hiányzó” Al(III) aminosavhoz kötötten, feltehetően kis szimmetriájú komplexben található, amely nagyon széles, nehezen kimutatható jelet ad. Megfigyelhető, hogy a $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ jelének sávszélessége sokkal nagyobb a ligandumot tartalmazó oldatokban, mint a ligandummentes mintákban, ugyanazokon a pH-kon. Ennek magyarázata valószínűleg a szabad és a komplexben kötött Al(III) között lejátszódó relatív lassú cserefolyamatokban rejlik. Hasonló jelkiszélesedést tapasztalt Garrison és Crumblis¹¹² az Al(III) –hidroxámsav rendszerek vizsgálata során. pH ~ 5-nél, ellentétben a csak Al(III) -ot tartalmazó rendszerrel, nem észleltünk csapadékkiválást. Ez a tény aminosavkomplexek jelenlétére utal. A spektrum kvantitatív értékelése alapján az $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}$ részecske sokkal kisebb, az Al(III) –aminosav komplexek pedig sokkal nagyobb mennyiségben képződnek, mint ahogy azt a részecskeeloszlás alapján várnánk. Ez a számottevő különbség valószínűleg olyan metastabilis polimer Al(III) hidroxokomplexek képződésével magyarázható (lásd 3.1. fejezet), amelyek nehezen mutathatók ki ^{27}Al NMR-el, az Al(III) ionok aszimmetrikus környezete következtében.

6.1.2. A háromfogú aminosavak Al(III)komplexei

6.1.2.1. Potenciometriás vizsgálatok

Az aszparaginsav (Asp) és a glutaminsav (Glu) a második karboxilcsoport jelenléte miatt jóval hatékonyabb Al(III)kötők mint az előbb tárgyalt α -aminosavak. A potenciometriás mérések kiértékelése során kapott proton és alumínium(III) komplexképződési állandókat az 5. táblázat tartalmazza.

5. táblázat A tridentát aminosavak és rokon vegyületeik savi disszociációs állandói (lg K) és Al(III)komplexeik stabilitási állandói (lg β). I = 0,2 mol dm⁻³ KCl, t = 25 ± 0,01°C

	Glu	Asp	Ac-Asp	H ₂ succ	H ₃ Ssucc
lg K (NH ₂)	9,50(1)	9,62(1)	–	–	10,20(3)
lg K (CO ₂ ⁻)	4,09(2)	3,66(1)	4,49(2)	5,24(2)	4,47(2)
lg K (CO ₂ ⁻)	2,04(3)	1,94(5)	3,04(2)	3,96(2)	3,05(2)
AlAH	10,88(22)	11,76(6)	6,15(3)	7,03(15)	12,99(2)
AlA	7,29(4)	7,87(4)	2,24(9)	3,63(8)	8,63(9)
AlAH ₁	2,55(3)	3,30(3)	-1,91(14)	-0,53(5)	4,05(4)
AlAH ₂	–	-2,32(7)	–	-5,55(9)	–
Al ₂ A	9,46(15)	–	–	–	–
Illeszkedési paraméter ^a	0,0092	0,0128	0,0075	0,0086	0,0128
pH tartomány	2,6–5,0	2,5–5,9	2,0–4,6	2,0–5,9	2,5–5,0
Al + HA $\rightleftharpoons$ Al(HA)	1,38	2,14	1,66	1,79	2,79
AlHA $\rightleftharpoons$ AlA + H	-3,59	-3,89	-3,91	-3,40	-4,36
AlA $\rightleftharpoons$ AlAH ₁ + H	-4,74	-4,57	-4,15	-4,16	-4,58
AlAH ₁ $\rightleftharpoons$ AlAH ₂ + H	–	-5,62	–	-5,02	–
Al + H ₂ A(H) $\rightleftharpoons$ AlA(H) + 2H	-4,75	-3,46	-5,29	-5,57	-4,73
Al + H ₂ A(H) $\rightleftharpoons$ AlA(H)L ₁ + 3H	-8,34	-7,35	-9,44	-9,73	-9,09

^aA számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés cm³-ben kifejezve

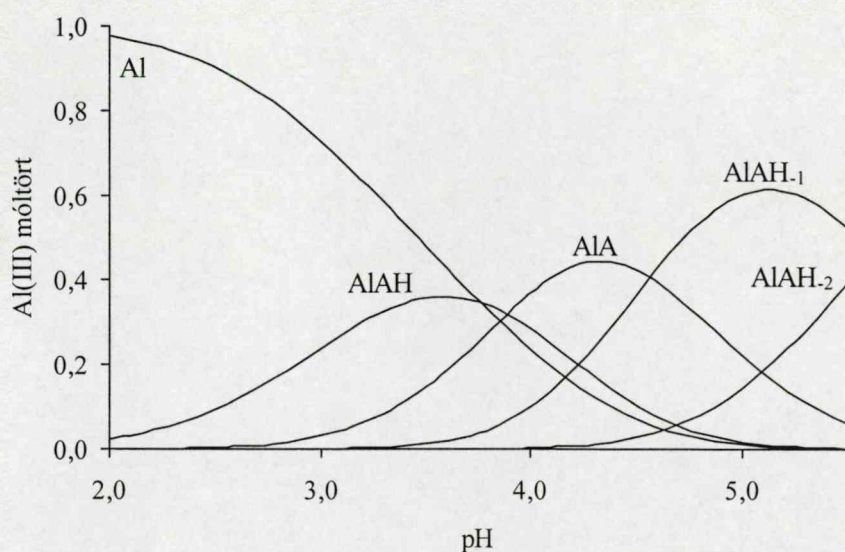
Az Al(III)–Glu rendszer jól kiértékelhető volt az egyszerű α -aminosavaknál elfogadott modellel, figyelembe véve a Glu második karboxilcsoportján levő protont is. Ugyanezzel a modellel az Asp esetében sokkal rosszabb volt az illeszkedés a számolt és a mért titrálási görbék között, elsősorban nagyobb pH-n. (Megjegyzendő, hogy az Asp esetén pH ~ 6-ig tudtunk mérni, míg az Al(III)–Glu rendszerben már pH ~ 5-ön csapadék vált ki.) Egy következő deprotonált részecske, az AlAH₂ feltételezésével az illeszkedés

nagyságrendekkel javult, így ezt a modellt fogadtuk el. Az Al(III)–Asp rendszerben számolt eloszlásgörbét az 6. ábra szemlélteti.

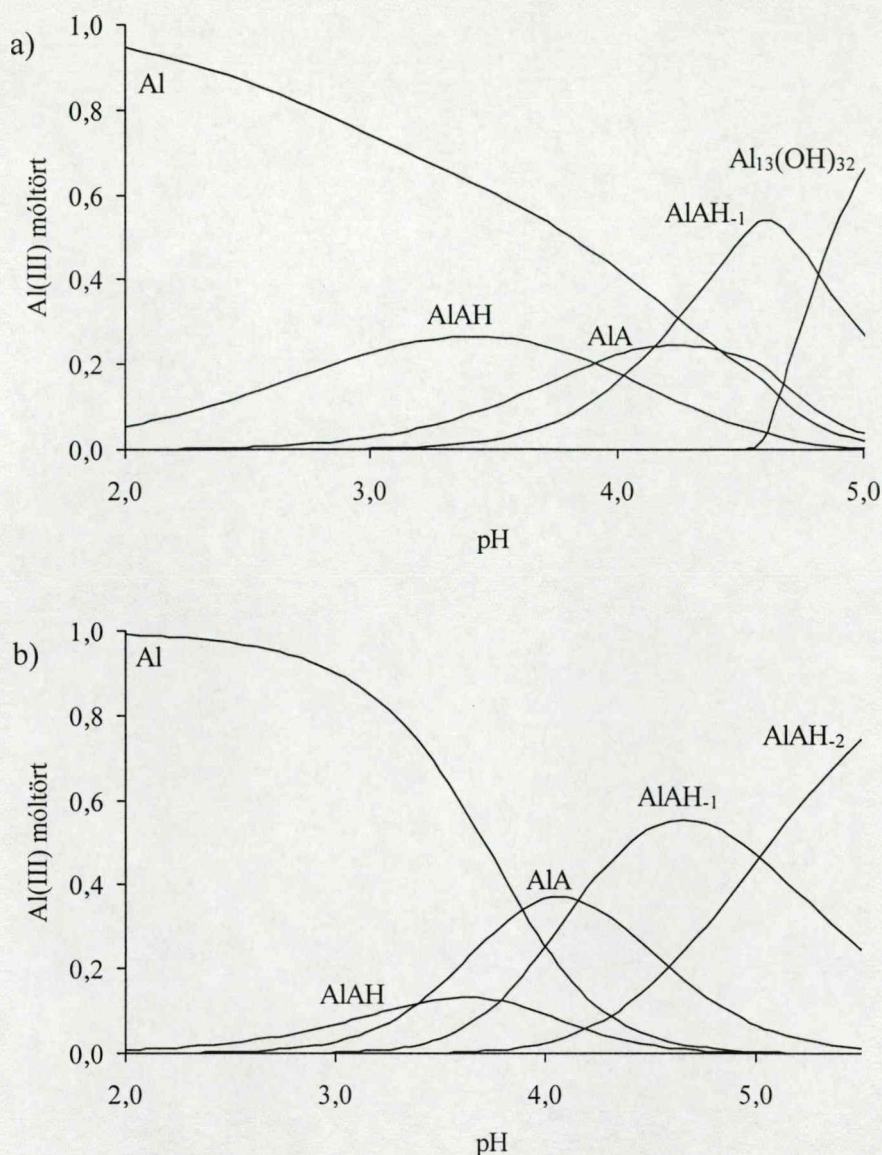
A képződő komplexek szerkezetének megállapításánál több szempontot is figyelembe vettünk.

Az Asp átmenetifémekkel képzett komplexeiben háromfogúként koordinálódik, (5+6)-tagú (COO^- , NH_2 , COO^-)-típusú csatoltkelátot képezve. A Glu esetében inkább kétfogú koordináció valósul meg, a háromfogú koordináció során létrejövő 7-es gyűrű kisebb stabilitása miatt. Hard fémionokkal az Asp (COO^- , COO^-) típusú kelátkomplexet képez, héttagú kelátgyűrű létrejöttével.¹¹³ Habár az Al(III) kis affinitást mutat az N-donoratomot tartalmazó funkciócsoportokkal szemben, az Asp-ban, ahol az aminos csoport két szomszédos karboxilát között foglal helyet, elképzelhető az NH_3^+ fémion által indukált deprotonálódása és az Al(III)-hoz való koordinálódása. Az alkoholos OH-csoport és az amid NH-csoport esetén már tapasztalták, hogy az illető funkciócsoportok fémionkötő képessége nő, ha ezek centrális helyet foglalnak el egy molekulán belül.^{114,115}

Annak eldöntésére, hogy az aminos csoport résztvesz-e a koordinációban, megvizsgáltuk az aszparaginsav N-acetilszármazékát (Ac-Asp), ahol az aminos csoport blokkolva van, valamint a borostyánkőssavat (H_2succ), ahol hiányzik az aminos csoport. A potenciometriás titrálások eredményei a 5. táblázatban láthatók. Az AlAH komplexben mind a H_2succ mind pedig az Ac-Asp esetében egyfogú karboxilát koordináció valósul



6. ábra Részecskeeloszlási görbék az Al(III)–Asp rendszerben; $c_{\text{Asp}} = 0,015$, $c_{\text{Al}} = 0,003 \text{ mol dm}^{-3}$

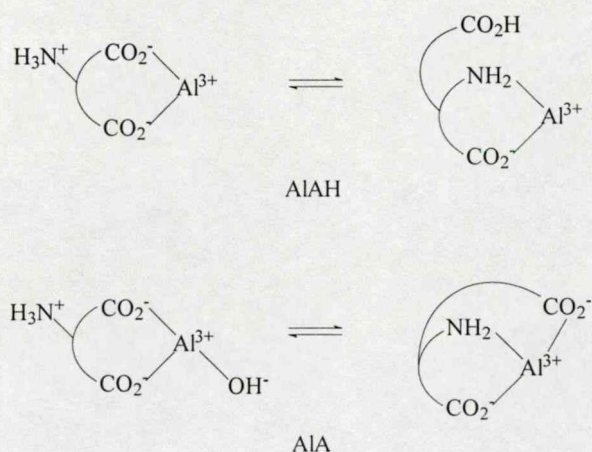


7. ábra Részecskeeloszlási görbék a) az Al(III)-Ac-Asp és b) Al(III)-H₂succ rendszerekben.
 $c_{\text{lig}} = 0,015$, $c_{\text{Al}} = 0,003 \text{ mol dm}^{-3}$

meg. Ezen komplex képződési állandója ($\text{Al}^{3+} + \text{HA} \rightleftharpoons \text{AlAH}$) jó egyezést mutat az alifás és aromás monokarbonsavak hasonló állandóival.¹¹¹ Itt nincs jelen a pozitív töltésű NH_3^+ -csoport, amely elektrosztatikus taszítása miatt megakadályozhatná az egyfogú karboxilát koordinációt. A továbbiakban az AlAH részecske két protont veszít, két lépésben. Az egyik proton a második karboxilcsoportról disszociál, hétagú (COO^- , COO^-) kelát képződése közben. A másik deprotonálódás az Al(III)-hoz koordinálódó egyik vízmolekulán játszódik le. A két ligandum esetében számolt protonkiszorítási állandók gyakorlatilag megegyeznek, ami azt jelenti, hogy a ligandumok megfelelő komplexeiben

ugyanolyan kötésmód valósul meg. A 7. ábrán feltüntetett eloszlásgörbéket összehasonlítva láthatjuk, hogy az $\text{Al(III)}\text{--Ac-Asp}$ rendszerben a nagy térkitöltésű N-acetilcsoport jelenléte következtében hamarabb válik ki csapadék mint az $\text{Al(III)}\text{--H}_2\text{succ}$ ugyanolyan fém–ligandum arányú és koncentrációjú oldatában. Ez a csapadék lehet az Al(OH)_3 vagy a semleges töltésű AlAH_1 részecske, amely a túltelített oldatban kiválhat.

Összehasonlítva az előbb tárgyalt modellvegyületek Al(III) kötő képességét az Asp-val, látható, hogy az $\text{Al(III)}\text{--Asp}$ rendszerben nem képződik egyfogú karboxilát koordinációjú részecske a protonált aminocsoport elektrosztatikus tasztító hatása következtében. Ez a komplex AlAH_2 összegképletű lenne. Az első képződő részecske az AlAH , amelyben az Asp már kétfogúként koordinálódik. Ha az AlAH és az AlA komplexekben tisztán kétfogú (COO^- , COO^-) koordinációt feltételezünk az így számolt protonkiszorítási állandók körülbelül két nagyságrenddel nagyobbak mint a borostyánkősav és az N-acetil-asparaginsav megfelelő komplexei esetében (lásd az 5. táblázat utolsó két sorát). Ez az aminocsoport kötésben való részvételét valószínűsíti. Ennek alapján feltételeztük, hogy az AlAH és az AlA részecskéhez két szerkezeti izomer tartozhat (8. ábra). Az egyikben (COO^- , COO^-) koordináció valósul meg héttagú kelátgyűrű létrejöttével, az aminocsoport pedig protonálva van. Az AlA részecske ebben az esetben egy vegyes hidroxokomplex, amelyben az Al(III) koordinációs szférájában levő



8. ábra Az $\text{Al(III)}\text{--Asp}$ rendszerben képződő AlAH és AlA részecskék feltételezett szerkezete

egyik vízmolekula deprotonálódik. A másik szerkezeti izomerben a deprotonált aminocsoport és a β -karboxilát kötődik az alumíniumhoz hatos kelátot képezve. Az AlAH részecskében a másik karboxilcsoport protonált és nemkötött formában van. Az AlA

komplexben pedig (5+6)-tagú csatolt kelát jön létre a második karboxilát funkcióscsoport koordinálódása révén. A további deprotonálódás mindkét szerkezeti izomer esetében a fémionhoz koordinálódó vízmolekulák ionizációjával játszódik le.

Még egy bizonyíték az aminocsoport kötésben való részvételére az AlAH_2 részecske képződése. Ez a komplex csak a ligandum háromfogú (COO^- , NH_2 , COO^-) koordinációjával és két vízmolekula deprotonálódásával képzelhető el. Kétfogú (COO^- , COO^-) koordinációt feltételezve három vízmolekulának kellene ionozálódni, de az Al(III) -nak még nem mutattak ki olyan vegyes hidroxokomplexét, amely három hidroxilcsoportot tartalmaz. Más ligandumok esetén is kimutatták, hogy kedvező szterikus helyzetben levő aminocsoport esetén az Al(III) indukálhatja ennek deprotonálódását és koordinálódását a fémionhoz. Az iminodiecetsav Al(III) -mal képzett komplexében az N-donorcsoport koordinálódását a karboxilát funkcióscsoportok mellett röntgendiffrakciós^{116,117} és NMR-módszerrel^{116,118} egyértelműen bizonyították.

A merkaptó-borostyánkősav (H_3Ssucc), amely az Asp tioanalógja (az NH_2 -csoport helyet egy SH -csoportot tartalmaz), hasonló Al(III) kötő képességgel bír mint a borostyánkősav. A 5. táblázat utolsó két sorában közölt protonkiszorítási állandók értékei azt mutatják, hogy a H_3Ssucc AlA és AlAH_1 komplexei valamivel stabilabbak, mint a H_2succ hasonló komplexei, az állandók értékei azonban még így is jócskán a alulmaradnak a Glu esetében számolt állandókhoz képest. Ez arra utal, hogy az $\text{Al(III)}\text{-H}_3\text{Ssucc}$ komplexekben kétfogú (COO^- , COO^-) koordináció valósul meg.

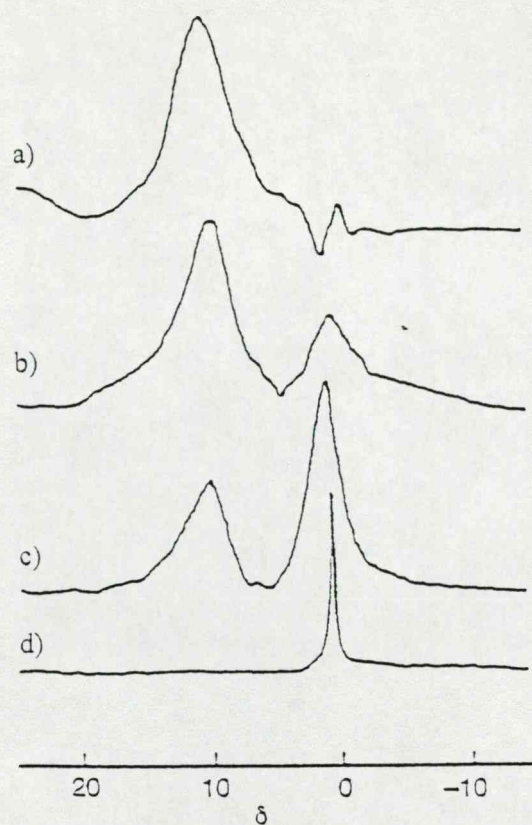
A Glu megfelelő komplexeinek protonkiszorítási állandói is a komplexek megnövekedett stabilitására utalnak. Így a Glu esetében sem zárható ki a háromfogú koordináció a deprotonált aminocsoport részvételével, melynek során (5+7)-tagú csatolt kelátrendszer jön létre. Ezek a komplexek azonban kevesbé stabilak mint az Asp esetén.

6.1.2.2. NMR-spektroszkópiás mérések

Az Al(III)–Asp rendszerben végzett ^{27}Al NMR-spektroszkópiás vizsgálatok is sokkal erősebb kölcsönhatásra utalnak mint a kétfogú α -aminosavak esetében. Ez az erős kölcsönhatás jellemző ^{27}Al NMR-jelet eredményez: egy viszonylag éles ($\Delta\nu \sim 130\text{--}180$ Hz) rezonanciajel ~ 10 ppm-nél, ami viszonylag szimmetrikus környezetben elhelyezkedő oktaéderes Al(III)iont jelez pH ~ 4 -nél (9. ábra). A spektrumban $\sim 0,8$ ppm-nél megjelenő másik jel a szabad Al(III)-nak tulajdonítható. Hasonló spektrumot eredményeztek az Al(III)–Hsucc rendszerben végzett ^{27}Al NMR-mérések. pH = 4,2-n két jel figyelhető meg 0,5 illetve 4,6 ppm-nél. Az előbbi a szabad Al(III) jele, míg az utóbbi szélesebb jel a (COO^- , COO^-) koordinációjú részecskékhez rendelhető.

Karweer és munkatársai¹¹⁸ az amino-polikarboxilátok egy sorára lineáris összefüggést találtak az egymagvú 1:1 komplexek ^{27}Al NMR-kémiai eltolódása és a ligandum fogszáma között. Megállapították, hogy egy vízmolekula nitrogén- vagy oxigéndonorra történő kicserélése, öttagú kelát képződése közben, átlagosan 6-7 ppm-nyi pozitív eltolódást eredményez a ^{27}Al NMR-spektrumban. Ha a vízmolekulát egy OH^- -csoportra cseréljük, az észlelt eltolódás ~ 2 ppm lesz. Arról ugyan nincs információ, hogy a hat- vagy héttagú kelát képződése milyen mértékű eltolódását okozza a ^{27}Al NMR-jeleknek, de feltételezhetjük, hogy az eltolódás mértéke csökken a gyűrű tagszámának növekedésével, mivel ugyanilyen irányban csökken a képződő kelátkomplex stabilitása. Ennek alapján, ha a H_2succ héttagú kelátgyűrűt tartalmazó Al(III)komplexeinek jele 4,6 ppm-nél jelenik meg bátran mondhatjuk, hogy az Asp Al(III)komplexe, amely 10,0 ppm-nél ad jelet, (5+6)-tagú csatolt kelátgyűrűt tartalmaz.

A fenti eredmények tehát egyértelműen bizonyítják az aszparaginsav esetén az aminocsoport részvételét a koordinációban. A merkaptó-borostyáksavnál azonban a SH-csoport, kedvező térbeli helyzete ellenére sem tud az Al(III)ionhoz kötődni.



9. ábra Az $\text{Al(III)}\text{--Asp}$ 1:5 arányú rendszerében különböző pH-kon felvett ^{27}Al NMR-spektrumok: a) pH = 1,0; b) pH = 4,0; c) pH = 4,5; d) pH = 5,0. $c_{\text{Al}} = 0,0027 \text{ mol dm}^{-3}$

6.2. Az L-foszfoserin és az L-foszfotirozin Al(III)komplexei

Az Alzheimer-kóros betegek agyában levő túlfoszforilált fehérjék Al(III)-hidakon keresztül összekapcsolódva plakkokat és fonadékokat alkotnak. Ezen fehérjék Al(III)kötőhelye lehet az L-foszfoserin (PSer) és az L-foszfotirozin (PTyr) egység, ezért a foszfátoldallánc Al(III)kötő sajátságának jellemzésére megvizsgáltuk az említett két aminosav Al(III)-mal való kölcsönhatását.

6.2.1. Potenciometriás vizsgálatok

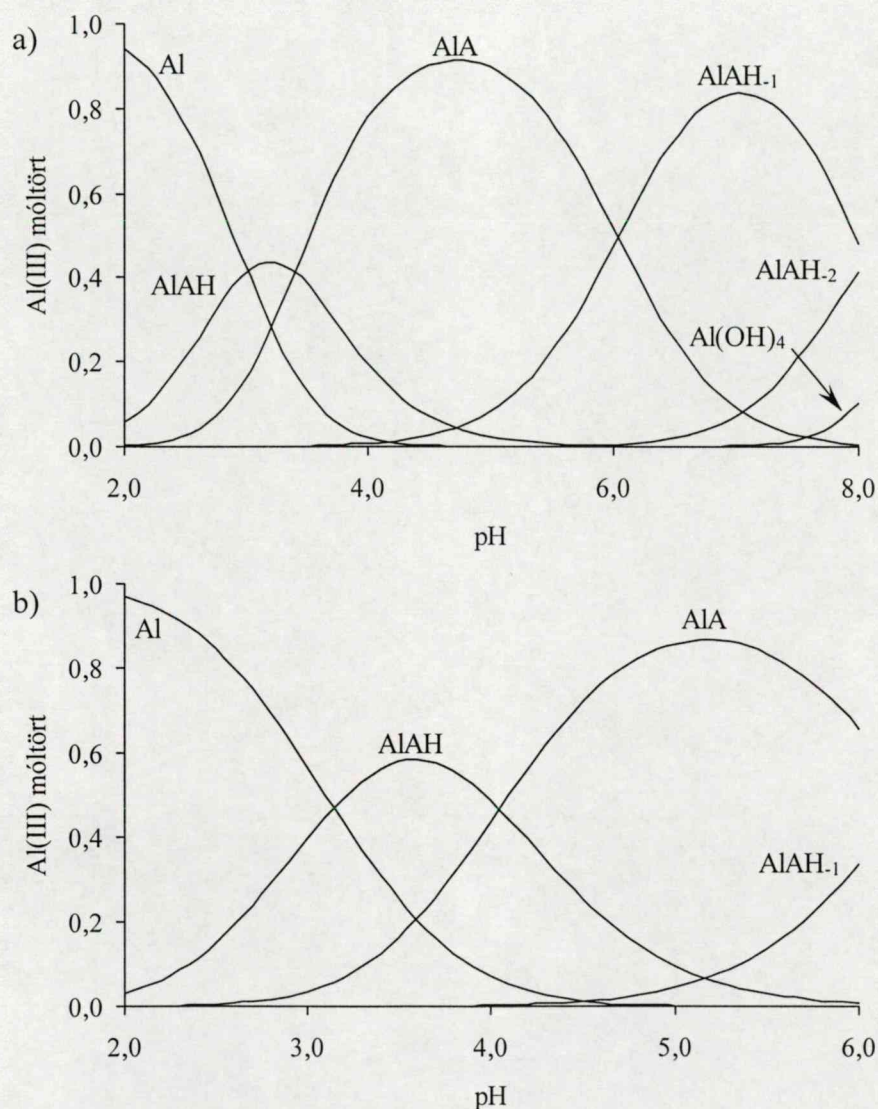
A ligandumok foszfátcsoportjának első disszociációs állandója nagyon kicsi ($pK < 2$) ezért a foszfátcsoport már a potenciometriás titrálás kezdetén ($pH \sim 2$) $-OPO_3H^-$ deprotonált formában van. A további deprotonálódás a karboxilcsoporton, a $-OPO_3H^-$ -és az NH_3^+ -csoporton lépcsőzetesen játszódik le. Figyelembe véve a kísérleti körülmények közötti különbségeket, az általunk mért protonálódási állandók (6. táblázat) jó egyezést mutatnak az irodalomban közölt értékekkel (PSer: 2,11, 5,62, 9,72, $I = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ KNO_3 , $t = 25 \pm 0,01^\circ C^{119,120}$).

6. táblázat A PSer és PTyr protonálódási állandói és Al(III)komplexeinek stabilitási szorzatai. $I = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ KCl, $t = 25 \pm 0,01^\circ C$

	PSer	PTyr
$\lg K(NH_2)$	9,70(3)	9,42(1)
$\lg K(OPO_3^{2-})$	5,68(5)	5,63(1)
$\lg K(CO_2^-)$	2,15(8)	2,28(3)
AlAH	14,88(4)	14,42(2)
AlA	11,48(3)	10,37(3)
AlAH ₁	5,44(6)	4,08(8)
AlAH ₂	-2,63(14)	-
Illesztési paraméter ^a	0,0131	0,0095
$Al + H_3A \rightleftharpoons AlAH + 2H$	-2,65	-2,91
$Al + H_3A \rightleftharpoons AlA + 3H$	-6,05	-6,96
$Al + H_3A \rightleftharpoons AlAH_1 + 4H$	-12,09	-13,25

^aA számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés cm^3 -ben kifejezve

Az Al(III)–ligandum rendszerekben különböző fém–ligandum aránynál mért titrálási görbék egymagvú 1:1 komplexek feltételezésével tudtuk legjobban kiértékelni. 1:2 komplexek mérhető koncentrációban való képződésére nem utaltak a titrálási adatok 1:10 fém–ligandum arányig. A képződő komplexek stabilitási állandóit az 6. táblázat tartalmazza. A két rendszer esetében 1:4 aránynál számolt részecskeeloszlási görbék a 10. ábrán láthatók.



10. ábra Részecskeeloszlási görbék az a) Al(III)–Pser és b) Al(III)–PTyr rendszerekben.
 $c_{\text{lig}} = 0,004$, $c_{\text{Al}} = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$

A komplexképződés mindkét ligandum esetén a foszfátcsoport koordinálódásával kezdődik, az AlAH összetételű részecske képződésével. Az aminocsoport protonált, a karboxilcsoport deprotonált formában van. Az $\text{Al}^{3+} + \text{HA}^{2-} \rightleftharpoons \text{AlAH}^+$ folyamatra vonatkozó egyensúlyi állandó $\log K_{\text{AlAH}} = \lg \beta_{\text{AlAH}} - \lg K(\text{NH}_3^+)$ értéke a PSer esetén 5,18 a PTyr esetén pedig 5,00. Ezek az értékek jó egyezést mutatnak a 4-nitro-fenil-foszfát ($\lg \beta_{\text{AlA}} = 4,80$) és a fenil-foszfát ($\lg \beta_{\text{AlA}} = 5,29$) megfelelő komplexének stabilitási állandójával⁹³. Még egyértelműbb az egyezés, ha figyelembe vesszük a koordinálódó foszfátcsoportok eltérő bázicitását és az $\text{Al}^{3+} + (\text{H})\text{AH}^- \rightleftharpoons \text{AlA}(\text{H}) + \text{H}^+$ folyamathoz tartozó protonkiszorítási állandókat hasonlítjuk össze (7. táblázat). Ezen állandók egyezése arra utal, hogy a foszforilált aminosavak AlAH komplexében tisztán foszfátkoordináció valósul meg, tehát a deprotonált karboxilcsoport nem vesz részt az Al(III) megkötésében. Ez a foszfátkoordináció a foszfátcsoport egy- illetve kétfogúként történő kötődésével egyaránt megvalósulhat.

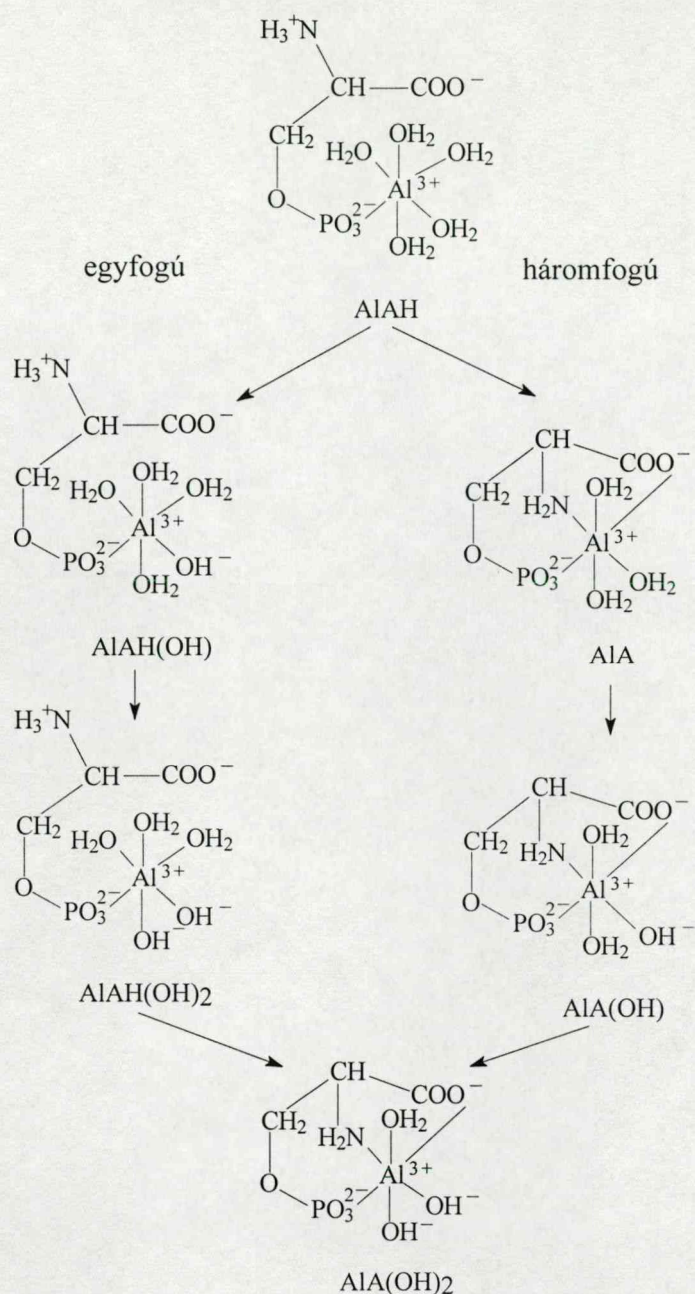
7. táblázat Al(III) –szerves foszfát kölcsönhatásra jellemző származtatott egyensúlyi állandók.
 $I = 0,2 \text{ mol dm}^{-3} \text{ KCl}$, $t = 25 \pm 0,01^\circ\text{C}$

	$\lg K_{\text{AlA}(\text{H})}^a$	$\lg K_{\text{AlA}(\text{H})} - \lg K_{\text{OPO}_3\text{H}^-}^b$
$\text{Al(III)}\text{--}L\text{-foszfoszerin}$	5,16	– 0,50
$\text{Al(III)}\text{--}L\text{-foszfotirozin}$	5,00	– 0,63
$\text{Al(III)}\text{--}fenil\text{-foszfát}$	5,29	– 0,47
$\text{Al(III)}\text{--}4\text{-nitro-fenil-foszfát}$	4,80	– 0,21
$\text{Al(III)}\text{--}ribóz\text{-}5\text{-monofoszfát}$	5,63	– 0,47

^a $\lg K_{\text{AlA}(\text{H})} = \lg \beta_{\text{AlAH}} - \lg K_{\text{NH}_3^+}$, az $\text{Al} + (\text{H})\text{A} \rightleftharpoons \text{AlA}(\text{H})$ egyensúlyi folyamatot jellemzi

^b Az $\text{Al} + (\text{H})\text{AH} \rightleftharpoons \text{AlA}(\text{H}) + \text{H}$ proton-kiszorítási reakciót jellemző érték

A pH emelésével az AlAH részecske tovább deprotonálódik, a PSer esetén 3,40; 6,04 és 8,07 míg a PTyr esetén 4,05 és 6,29 pK értékekkel. A PSer-nél ez a deprotonálódás két úton mehet végbe (lásd 11. ábra): az első lépésben vagy az aminocsoport deprotonálódik és koordinálódik az Al(III) -hoz, vagy a fémion koordinációs szférájában levő egyik vízmolekula ionizálódik. Az AlA összetételű komplexnek tehát két kötési izomere lehetséges. Az első esetben a ligandum háromfogúként koordinálódik a fémionhoz, a foszfát-, az amino- és a karboxilátcsoporton keresztül. Így egy (5+7)-tagú kelátkomplex jön létre. Ennek a komplexnek a molekulamodellje feszülésmentesen kirakható, ez is alátámasztja ezt a kötésmódot. A második esetben megmarad a



11. ábra Az Al(III)–PSer rendszerben képződő komplexek feltételezett szerkezete

foszfátkoordináció. A további deprotonálódás mindkét izomer esetében a fémion koordinációs szférájában levő egyik vízmolekulán játszódik le. A stabilabb, háromfogú koordináció kialakulását bizonyítják az AlA és AlAH₁ komplexek protonkiszorítási állandói (6. táblázat utolsó sorai), amelyek a PSer esetén egy nagyságrenddel nagyobbak, mint a megfelelő PTyr komplexek hasonló állandói. Az utolsó lépésben képződő AlAH₂ részecskének csak egyetlen szerkezeti izomere van, amelyben a ligandum háromfogúként

koordinálódik az Al(III)-hoz. A pH további emelésével az OH⁻-ionok kiszorítják a ligandumot az Al(III) koordinációs szférájából és az Al(OH)₄⁻ komplex keletkezik. Megjegyzendő, hogy az egyszerűség kedvéért a 11. ábrán a háromfogú kötődés mellett csak az egyfogú foszfátkoordinációjú izomert tüntettem fel.

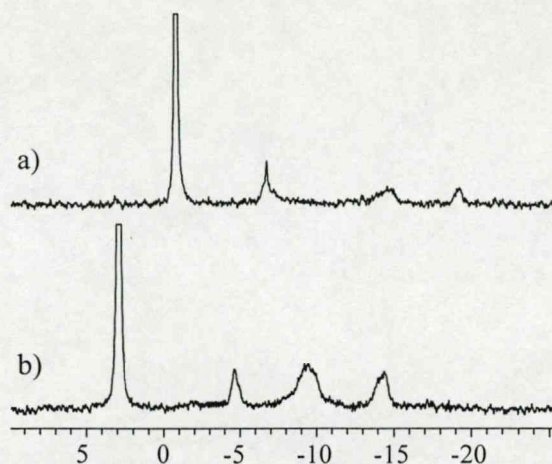
Az Al(III)–PSer rendszer ismét egy jó példa arra, hogy a hard jellegű Al(III)iont nem kedvelő aminocsoport is lehet kötési hely kedvező szterikus elrendeződés esetén. Jelen esetben az aminocsoport az Al(III)ionhoz nagy affinitású foszfát- és karboxilátcsoporthoz között helyezkedik el.

A PTyr-ban a fenilcsoport jelenléte miatt az α-aminokarboxilát rész szterikusan elkülönül az elsődleges Al(III) kötési helytől, a foszfátcsoporthoz, így a donorcsoportok egyidejű koordinálódása nem valósulhat meg. Ez lehet az oka annak, hogy az Al(III)–PTyr rendszerben már pH ~ 6-nál csapadék válik ki, míg a háromfogú koordinációra képes PSer még pH > 8-nál is oldatban tartja az Al(III)-ot. A csapadék valószínűleg nem tisztán Al(OH)₃, hanem foszfátcsoporthoz is tartalmazó komplex. A PTyr esetén a komplex oldhatóságát a hidrofób fenilcsoport jelenléte is csökkenti. Az Al(III)–PTyr komplexekben tehát csak foszfátkoordináció valósul meg. Ennek alapján az AlAH részecske deprotonálódása során a koordinálódó vízmolekulákról disszociál egymás után két proton.

6.2.2. NMR-spektroszkópiás mérések

A komplexképződés kimutatására ³¹P NMR-spektroszkópiás méréseket végeztünk. A spektrumok értelmezése céljából először megvizsgáltuk a szabad ligandum foszfátcsoporthoz kémiai eltolódásának pH-függését. A proton lecsatolt ³¹P NMR-spektrumban a foszfátcsoporthoz egy szingulett jelet ad. A pH emelésével ez a jel kisebb terek felé tolódik, mivel változik a foszfátcsoporthoz protonáltsági állapota. A PSer esetén a szabad ligandum jelének kémiai eltolódását a pH függvényében ábrázoltuk és meghatároztuk a foszfátcsoporthoz pK-ját, amelyet 5,88-nak találtuk. Figyelembe véve, hogy a mintákban ionerősséget nem állítottunk és az elektród kalibrálási tényezővel sem korrigáltuk a kapott értékeket, az így számolt pK jól egyezik a pH-metrián meghatározott pK-val.

A 12. ábrán az Al(III)–PTyr és az Al(III)–PSer rendszerekben, pH ~ 2,3-nél felvett ³¹P NMR-spektrumok láthatók. Mivel potenciometrián csak egymagvú 1:1 komplexek képződését tudtuk kimutatni, a spektrumokban megjelenő jelek feltehetően több kötési izomer jelenlétére utalnak. Általában az Al(III)–szerves foszfát vagy foszfonát rendszerek



12. ábra Az Al(III)–foszforilált aminosav rendszerekben 1:4 fém–ligandum aránynál, pH ~ 2,3-nál mért ^{31}P NMR-spektrumok: a) Al(III)–PTyr, $c_{\text{Al}} = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$, b) Al(III)–PSer $c_{\text{Al}} = 0,025 \text{ mol dm}^{-3}$

^{31}P NMR-spektrumai igen összetettek, a jelek azonosítását nagy mértékben megnehezítik a komplexben kötött foszfát- vagy foszfonátsoportok számos koordinációs lehetősége és többmagvú komplexek képzésére való hajlamuk.^{93,95,121} Még a legtöbbet vizsgált Al(III)–szervetlen monofoszfát komplexek jeleinek azonosítása sem egyértelmű. A különböző szerzők abban megegyeznek, hogy ezekben a rendszerekben, a szabad ligandum jelétől 5–7 ppm-el kisebb kémiai eltolódásoknál megjelenő jelek egyfogú foszfátkoordinációra utalnak. Kisebb kémiai eltolódásoknál a kétfogú foszfátkoordinációjú izomerek jelei jelentkeznek, amely egymagvú komplexek esetén egy négytagú gyűrű létrejöttével, kétmagvú komplexek esetén pedig a foszfátsoport hídszerű koordinációjával valósul meg.^{93,95–97} Massound és Sigel¹²² szerint a négytagú gyűrűnél kedvezményezettebb egy olyan hattagú kelátgyűrű kialakulása, amelyben a foszfátsoport egyik oxigénjével közvetlenül kapcsolódik a fémionhoz, míg a másikkal egy a fémion koordinációs szférájában levő vízmolekula vagy OH^- -ionnal kialakított hidrogénkötésen keresztül, külső szférásan kötődik. Ezen megfontolások alapján a 12. ábrán bemutatott spektrumokban a –6,7 ppm-nél (PTyr) illetve a –4,3 ppm-nél (PSer) megjelenő jelet az AlAH komplex egyfogú foszfátkoordinációjú izomeréhez, míg a –14,6 ppm-nél (PTyr) illetve a –9,6 ppm-nél (PSer) levőt a kétfogú foszfátkoordinációjú komplexhez rendelhetjük. –19,1 (PTyr) illetve –14,4 ppm-nél (PSer), az Al(III)–szervetlen foszfát rendszerben mért ^{31}P NMR-spektrumokkal való összehasonlítás alapján, egy többmagvú (feltehetően oligomer) hídszerű koordinációt tartalmazó komplex okoz jelet.⁹⁷ Ez a komplex hígabb oldatokban nem képződik (jelét nem tudtuk kimutatni).

8. táblázat Az Al(III)–PSer rendszer ^{31}P NMR-adatai. $c_{\text{Al}} = 0,0025$, $c_{\text{PSer}} = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$

pH	δ (ppm)	Hozzárendelés
2,14	2,91	szabad ligandum
	–4,1	AlAH (egyfogú foszfát)
	–9,3	AlAH (kétfogú foszfát)
2,97	2,99	szabad ligandum
	–2,77	AlA (háromfogú)
	–9,4	AlAH + AlA (kétfogú)
4,06	3,09	szabad ligandum
	–2,8	AlA (háromfogú)
	–9,2	AlAH + AlA (kétfogú)
5,05	3,43	szabad ligandum
	~ – 2,0	AlA + AlAH ₁ (háromfogú)

Magasabb pH-kon, ilyen koncentrációknál csapadékkiválás miatt nem tudunk mérni. Ahhoz, hogy az Al(III)–ligandum rendszerekben megvizsgáljuk a ^{31}P NMR-spektrumok pH-függését $0,0025 \text{ mol dm}^{-3}$ Al(III)koncentrációt és 1:4 fém–ligandum arányt kellett alkalmaznunk. Ilyen híg oldatokban a rendelkezésünkre álló 360 MHz-es NMR-készüléken mintánként ~ 10000 „scan”-t gyűjtöttünk ahhoz, hogy értelmezhető spektrumokat kapjunk. Ez spektrumonként egy–egy éjszakát vett igénybe. A sok, nemcsak anyagilag értékes, mérési idő felhasználásával az Al(III)–PSer rendszer vizsgálata során a következő eredményekhez jutottunk.

A pH~2,1-nél mért spektrum csak annyiban különbözik a nagyobb koncentrációjú, hasonló pH-n felvett spektrumtól, hogy a –14,4 ppm-nél levő jel, ilyen kis koncentrációnál nem jelenik meg. Az AlAH részecske két izomerje külön jelet ad, tehát a köztük lejátszódó ligandumcsere folyamatok lassúak az NMR-időskálán. pH~3-nál az egyfogú foszfátkoordinációjú komplex jele –2,77 ppm értékre tolódik. Ez a nagymértékű eltolódás a kisebb terek felé (a szabad ligandum jele nem mutat hasonló mértékű eltolódást ezen a pH-n) feltehetően az aminos csoport deprotonálódásával és a fémionhoz történő koordinálódásával, azaz a háromfogú (OPO_3^{2-} , NH_2 , CO_2^-) koordinációjú komplex kialakulásával van összhangban. A foszfátcsoport továbbra is egyfogúként koordinálódik, a ligandum maga azonban már háromfogúként köt az Al(III)-hoz. A pH további emelésével a komplexek jele kis mértékű eltolódást mutat, ami arra utal, hogy a hasonló kötésmódú, de különböző deprotonáltságú komplexek között gyors a protoncsere az NMR-időskálán. pH $\sim 5,1$ -nél a szabad ligandumon kívül már csak a háromfogú kötésmódú

izomer képződésére utal az NMR-spektrum. A pH növelésével ez a stabilisabb koordináció válik kedvezményezetté. A komplex jele kiszélesedik az alacsonyabb pH-n mért jelekhez képest és nehezebben detektálható, ami a ligandumcsere folyamatok felgyorsulásával magyarázható. Az Al(III) koordinációs szférájában jelen levő OH^- ionnak (az a AlAH_{-1} már egy vegyes hidroxokomplex) ligandumcsere-sebességet növelő hatását más Al(III)-ligandum rendszerekben is tapasztalták.⁷³

Gyengén savas illetve lúgos pH-tartományban ($\text{pH} > 6$) a ^{31}P NMR csak a szabad ligandum jelét mutatja. Ha nem volna komplexképződés, akkor ezen a pH-n $\text{Al}(\text{OH})_3$ csapadék válna le. Csapadékképződést azonban $\text{pH} \sim 8$ -ig nem észleltünk. A komplexek valószínűleg olyan széles jelet okoznak, amelyek ilyen kis koncentrációknál nehezen kimutathatók. Az Al(III)-citrát-PSer vegyes ligandumú rendszerben (6.4. fejezet), ahol a citrátnak köszönhetően semleges pH-tartományban töményebb oldatokban sem válik le csapadék, sikerült az Al(III)-PSer komplexeket kimutatni.

6.3. Az Al(III)–citrát rendszer

6.3.1. Potenciometriás vizsgálatok

A ligandum potenciometriás titrálása során a karboxilcsoportok átfedő, lépcsőzetes egyensúlyi folyamatban deprotonálódnak. A kapott protonálódási állandók a 9. táblázatban láthatók.

9. táblázat A citromsav protonálódási állandói (lg K) és Al(III)komplexei stabilitási szorzatai (lg β). I = 0,2 mol dm⁻³ KCl, t = 25 ± 0,01°C

85 hivatkozás ^a		
lg K(HL)	5,57(1)	5,22
lg K(H ₂ L)	4,27(1)	4,08
lg K(H ₃ L)	2,87(2)	2,77
AlLH	10,18(8)	9,39
AlL	7,85(5)	7,15
AlLH ₁	4,27(27)	3,54
AlLH ₂	-1,77(5)	-2,64
AlL ₂ H	–	–
AlL ₂	12,73(31)	11,61
AlL ₂ H ₁	7,81(19)	–
AlL ₂ H ₂	0,4	–
Al ₃ L ₃ H ₄	16,34(8)	14,44
Al ₃ L ₃ H ₇	–	-10,90
illesztési paraméter (Δ cm ³ 10 ³)	7,39	

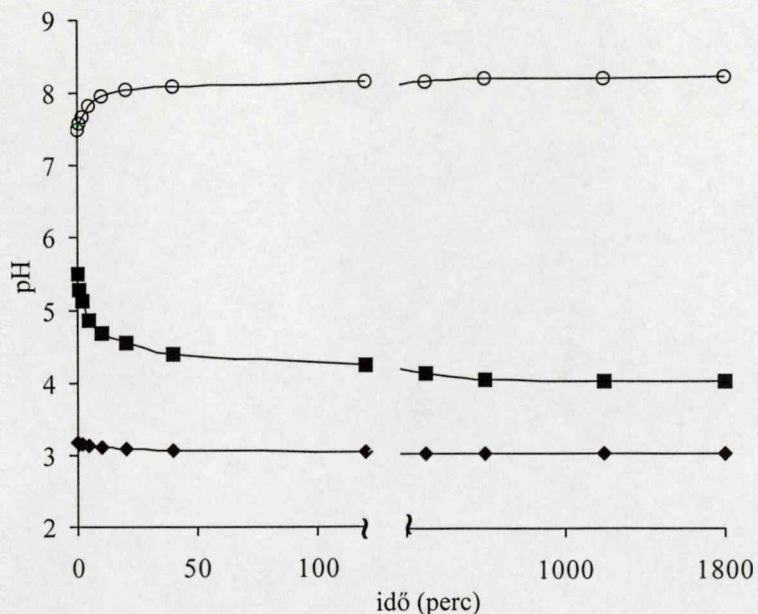
^a I = 0,6 mol dm⁻³ (NaCl); t = 25 °C.

Az Al(III)–citrát rendszer vizsgálatát megnehezítik a rendszerben végbemenő lassú komplexképződési reakciók. Öhman és Sjöberg¹⁰² azt találták, hogy gyengén savas és semleges pH-n, 1:1 fém–ligandum arányú minta titrálása esetén több mint 6 óra szükséges az egyensúly beállításához. Kimutatták, hogy a titrálás során a pH lassú stabilizálódása az [Al₃(AH₁)₃(OH)]⁴⁻ (a továbbiakban Al₃A₃H₄) hárommagvú részecske képződésének tulajdonítható.⁸⁵ Ez a részecske az egymagvú komplexek lassú oligomerizációja révén keletkezik. Gregor és Powell¹⁰¹ vizsgálataik során nagy ligandumfelesleget (Al(III):citrát>4) alkalmaztak, így módon sikerült részben visszaszorítaniuk az

oligomerizációs folyamatokat. Az általuk számolt egyensúlyi modell csak egymagvú 1:1 és 1:2 komplexeket tartalmaz: AlAH , AlA , AlA_2H , AlA_2 , $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$, és $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$.

Ha, az Al(III) –citrát rendszer potenciometriás titrálási adatainak kiértékelésekor, csak a nagy ligandumfelesleg mellett mért titrálási görbékből számoltunk, akkor az egymagvú 1:1 és 1:2 komplexek jól leírták a rendszert. Amikor figyelembe vettük az 1:1, 1:2 és 1:4 fém–ligandum aránynál kapott titrálási adatokat is, jelentősen javult az illesztés, ha a hárommagvú részecske képződését is feltételeztük. Az így kapott stabilitási állandók viszont nem teljesen megbízhatóak, mivel 5-7 pH-tartományban nem biztos, hogy minden pontban beállt a termodinamikai egyensúly (minden egyes pontban maximum 10 percet vártunk az egyensúly beállítására, ez után a program tovább lépett). A számításaink során nem vettük figyelembe azokat a pontokat, ahol 10 perc nem volt elegendő az egyensúly beállítására.

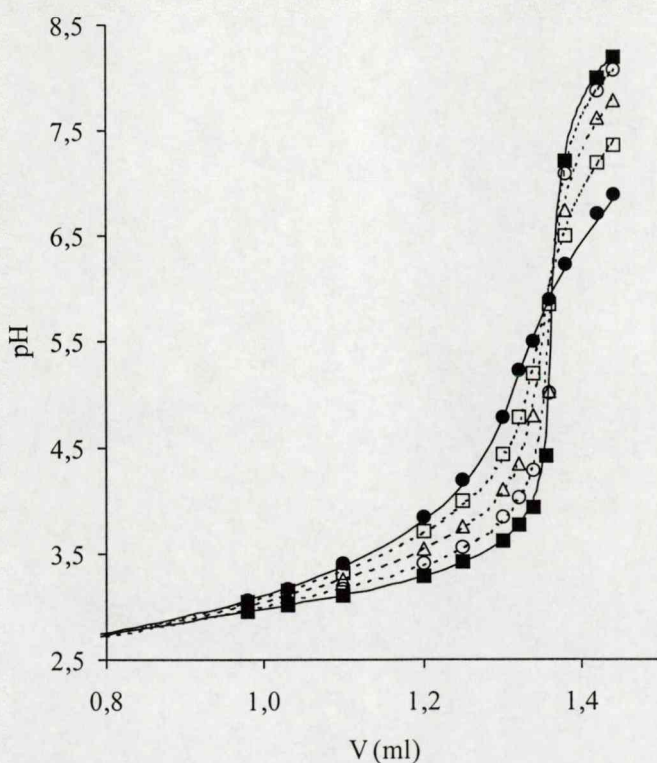
Azért, hogy pontosabban leírjuk a rendszer részecskeeloszlását a potenciometriás méréseket különböző pH-jú egyedi minták készítésével végeztük. Ezt a vizsgálati módszert javasolja Beck és Nagypál¹²⁷ is olyan rendszerek esetén, ahol lassú komplexképződési folyamatok játszódnak le. Minden minta esetében 30 órát vártunk az egyensúly beállítására. Méréseink során 1:1 és 1:3 fém–ligandum arányt alkalmaztunk. Bizonyos mintáknál követtük a pH időbeli változását (az 5. fejezetben ismertetett módon), hogy minőségi



13. ábra A pH változása az idő függvényében (◆) 3,16, (■) 5,51, (O) 7,49 induló pH-jú minták esetén. $c_{\text{citrát}} = 0,004$, $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$

információt nyerjünk a komplexképződés időbeli lefolyásáról. Öhman is alkalmazta ezt a vizsgálati módszert, de csak 1:1 arányú rendszerben.⁸⁵ Így az irodalomból nem sokat tudunk az egymagvú 1:2 komplexek és a hárommagvú részecske viszonyáról.

A 13. ábra a pH változását mutatja az idő függvényében, három különböző induló pH-jú minta esetén. A pH-változás csak a reaktánsok összekeverésétől számított első órában jelentős, a valódi termodinamikai egyensúly eléréséhez azonban ~ 30 óra szükséges. A pH változásának iránya függ a minta induló pH-jának értékétől: pH ~ 6,5 alatt a pH időben csökken, míg ezen érték felett növekszik. Ennek az a magyarázata, hogy az induló pH-tól függően más-más protonáltságú egymagvú komplexek képződnek, amelyek protonáltsági állapotuknak megfelelően vagy H^+ vagy OH^- -ion felszabadulással oligomerizálódnak a hárommagvú részecskévé (lásd a későbbiekben). Minden minta esetén a pH-változás első 3 percének adataiból 0-ra extrapolálva kiszámoltuk, hogy mennyi lehetett a rendszer pH-ja az úgynevezett „0 időpillanatban”, azaz a reaktánsok összekeverésének pillanatában.



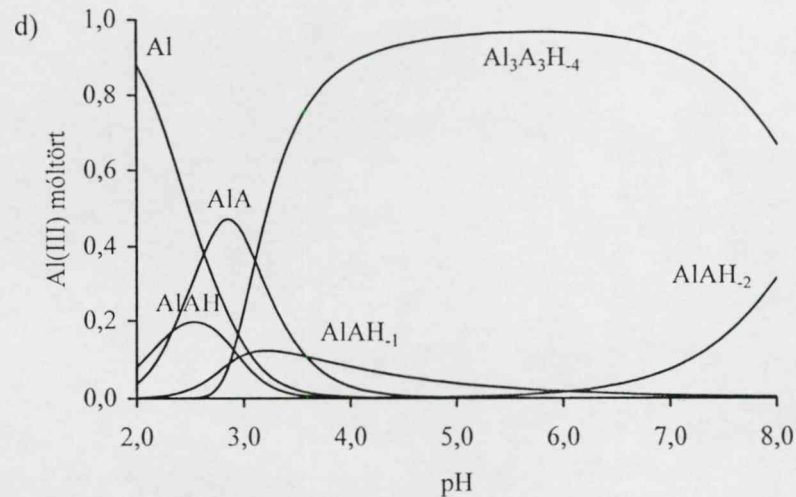
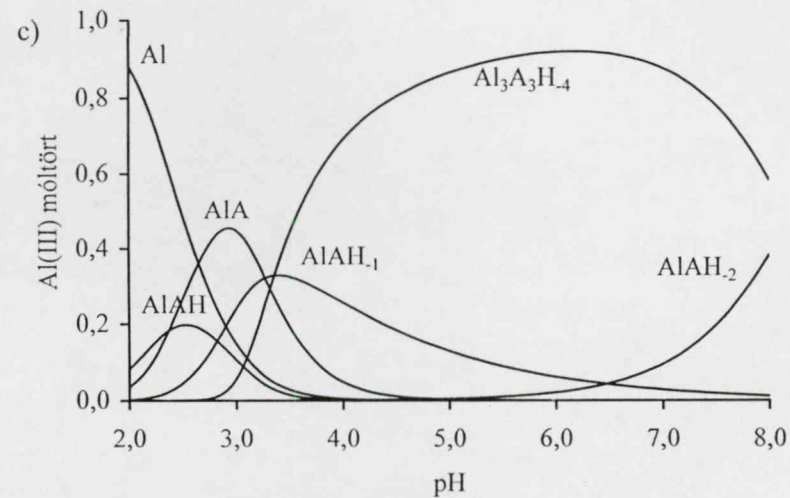
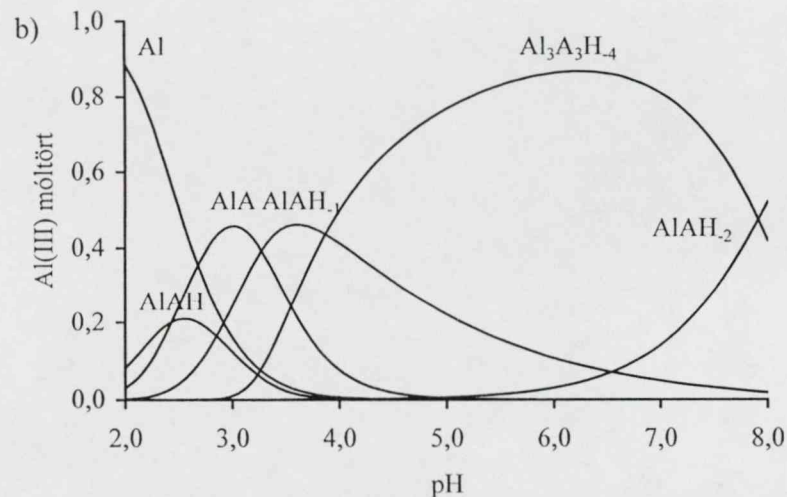
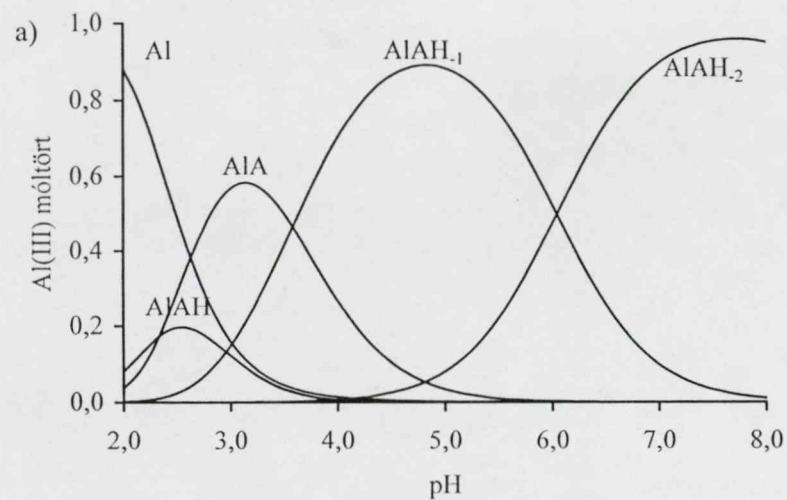
14. ábra Az Al(III)–citrát 1:1 molarányú rendszerében mért titrálási görbék. A folytonos vonallal összekötött pontok (●) a 0 időpillanatot illetve (■) az egyensúlyi állapotot jelölik. Szaggatott vonal ábrázolja a köztes állapotokat, a komponensek összekeverésétől számítva (□) 1 perc, (Δ) 10 perc, (O) 40 perc elteltével. $c_{\text{citrát}} = 0,004$, $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$

Ha az ugyanazon időpillanathoz tartozó pH-értékeket ábrázoljuk a hozzáadott KOH térfogatának függvényében, megkapjuk az egyes időpillanatokhoz tartozó titrálási görbéket. Az 1:1 fém–ligandum aránynál kapott titrálási görbék közül a 14. ábrán tüntettem fel néhányat. Látható, hogy az idő előrehaladtával a görbék egyre meredekebbé válnak, ami utal az oligomer komplexek képződésére. Az egyensúlyi állapotot a 30 óránál kapott titrálási görbe jelöli. 1:3 Al(III)–citrát aránynál a változás mértéke kisebb, mivel az oligomerizációt kísérő pH-hatást részben elfedik a szabad citrát protonálódási folyamatai.

Az irodalmi adatok figyelembevételével az egyensúlyi állapothoz tartozó titrálási görbéket az egymagvú AlAH , AlA , AlAH_{-1} , és AlAH_{-2} , AlA_2 , $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$, és $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ komplexek valamint a hárommagvú $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ komplex feltételezésével értékeltük ki. A „0 időpillanathoz” tartozó titrálási adatok jól leírhatók voltak, ha csak az egymagvú komplexek képződését feltételeztük. A komplexek stabilitási állandóit a 9. táblázat tartalmazza. A táblázatból kitűnik, hogy az általunk illesztett modell viszonylag jól egyezik az Öhman által javasolttal^{79,85}, azzal a különbséggel, hogy ő nem vette figyelembe az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$, és $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ 1:2 komplexek képződésének lehetőségét, mi pedig nem találtuk a lúgosabb pH-n képződő, $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_7$ azaz $[\text{Al}_3(\text{AH}_{-1})_3(\text{OH})_4]^{7-}$ összegképletű hárommagvú részecskét. Ez utóbbi komplex pH ~ 8 alatt gyakorlatilag nem képződik, ez volt méréseink felső határa. A megfelelő komplexek stabilitási állandója közötti különbség oka a kísérleti körülmények különbözősége ($I = 0,6 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaCl}$ és $I = 0,2 \text{ mol dm}^{-3} \text{ KCl}$).

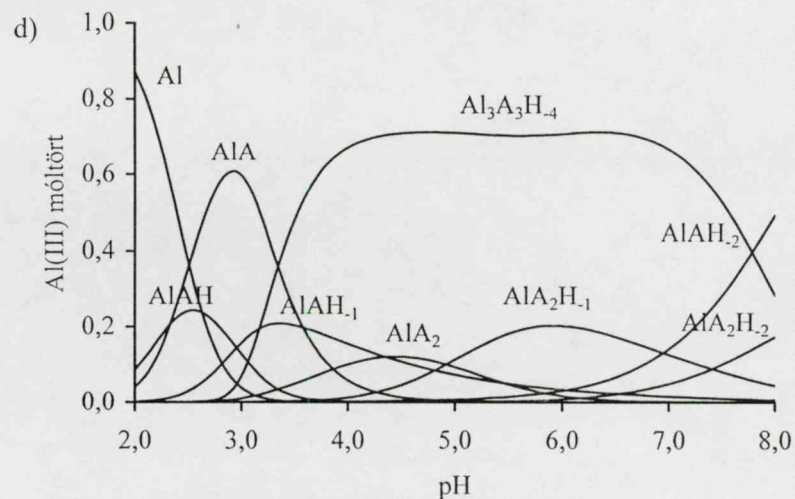
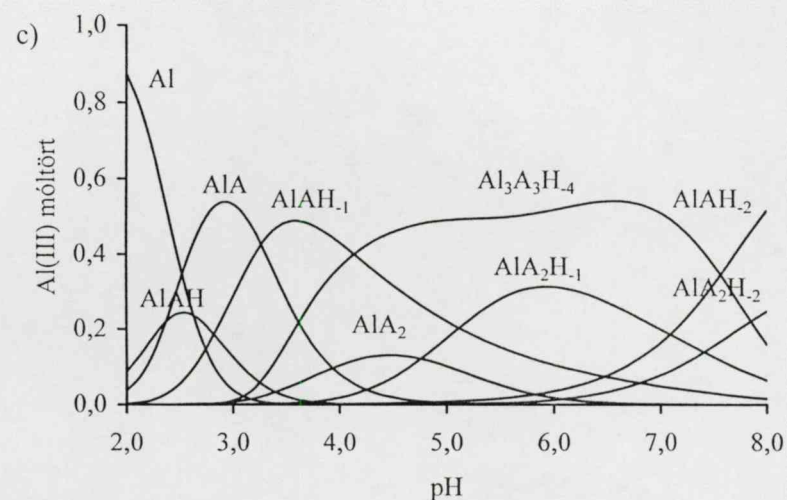
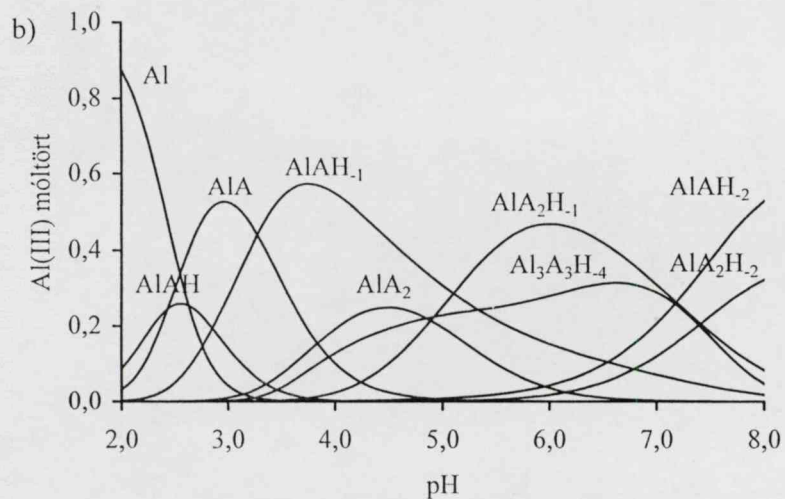
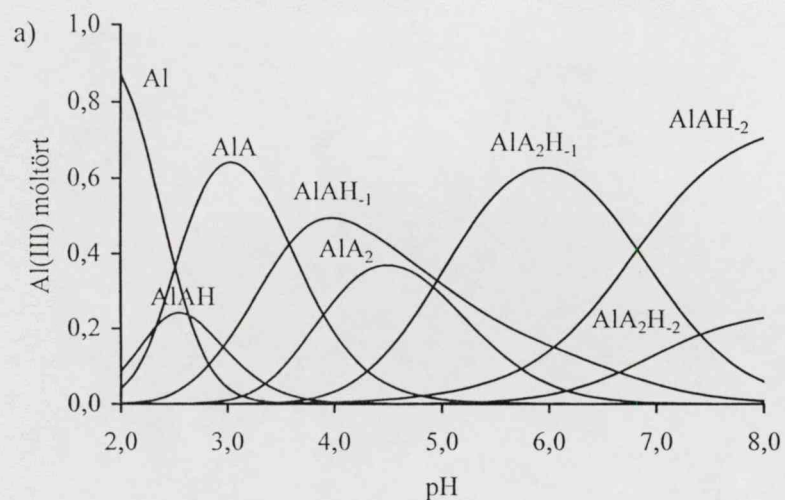
A „0 időpillanatra” és az egyensúlyi állapotra számolt részecskeeloszlási görbék a 15. és 16. ábrákon láthatók. A komplexképződés időbeli lefolyásának szemléltetésére, néhány köztes állapot részecskeeloszlását is ábrázoltuk. Nemegyensúlyi állapotban, ugyanazon időpillanatban, de különböző pH-jú oldatban jelen levő részecskék nincsenek ugyanabban a kinetikai állapotban, a nemegyensúlyi adatokhoz valódi termodinamikai állandók nem rendelkezhetők, de segítségükkel kvalitatív képet nyerhetünk a részecskeeloszlás időbeli változásáról.

1:1 fém–ligandum aránynál (15. ábra) a kezdetben gyors egyensúlyi folyamatban kialakult egymagvú komplexek mennyisége időben csökken, ezek lassú folyamatban a hárommagvú komplexszé alakulnak. Ez a változás jellemzi a rendszert 3-tól 8-ig terjedő pH-tartományban. 1:3 fém–ligandum aránynál (16. ábra) jelentős mértékben képződnek 1:2 komplexek is, ezek az 1:1 komplexekkel együtt részt vesznek az oligomerizációban. Az egyensúlyban a hárommagvú komplex még ligandumfelesleg esetén is jelentős mennyiségben van jelen.



15. ábra

Részecskeeloszlási görbék az Al(III)–citrát 1:1 arányú rendszerben: a) a reaktánsok összekeverésének pillanatában (0 időpillanatban), b) a reaktánsok összekeverésétől számítva 10 perc, c) 40 perc, d) 30 óra elteltével (egyensúlyi állapotban). $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$.



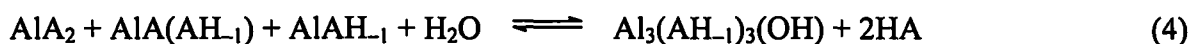
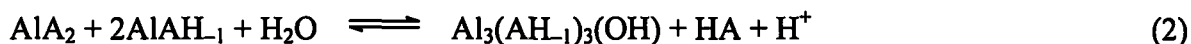
16. ábra

Részecskeeloszlási görbék az Al(III)–citrát 1:3 arányú rendszerben: a) a reaktánsok összekeverésének pillanatában (0 időpillanatban), b) a reaktánsok összekeverésétől számítva 10 perc, c) 40 perc, d) 30 óra elteltével (egyensúlyi állapotban). $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$.

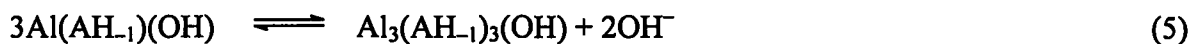
pH ~ 5-nél az AlAH_{-1} részecske képződik gyors egyensúlyi folyamatban és időben ez oligomerizálódik a hárommagvú részecskét képezve. Az oldat pH-ja időben növekszik a következő egyensúly alapján:



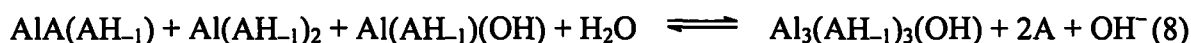
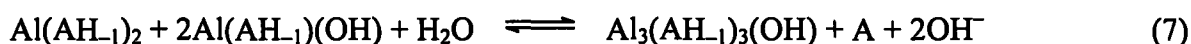
Ligandumfelesleg esetén az AlA_2 és az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ is jelen van a rendszerben és részt vesznek az oligomerizációban.



Amikor pH ~ 7-ről indulunk a domináns egymagvú komplex az AlAH_{-2} . Ennek átalakulása hidroxidion felhasználással jár:



Ligandumfelesleg esetén az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ és $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ egymagvú 1:2 komplexek átalakulását is figyelembe kell vennünk.

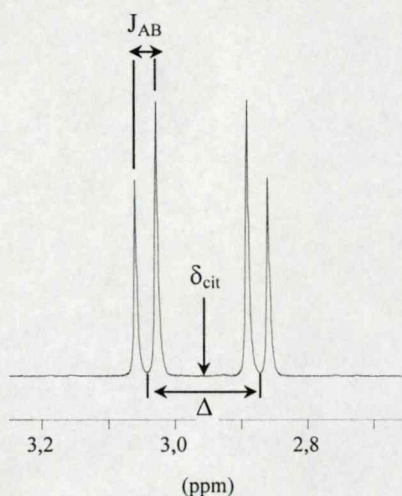


pH ~ 3-nál csak nagyon kis mértékű a pH-változás. Ezen a pH-n friss oldatban az AlA részecske dominál és ennek csak kis mennyisége alakul át a hárommagvú komplexszé. Így a pH csökkenése nem számottevő.

Meg kell jegyeznünk, hogy ezen folyamatokat leegyszerűsített formában írtuk fel. Az NMR-spektroszkópiás mérések alapján látni fogjuk, hogy az egymagvú komplexek oligomerizációja köztitermékeken keresztül játszódik le.

6.3.2. NMR-spektroszkópiás mérések ekvimoláris Al(III)–citrát oldatokban

A citromsav két metilénsoportjának kémiai és mágneses környezete azonos, a metilénsoportok két protonja, azonban mágneses szempontból nem egyenértékű. Ezek egy AB spinrendszert alkotnak. A szabad citromsav ^1H NMR-jele tehát egy AB kvartett. Ennek jellemzői, a J_{AB} , δ_{cit} és Δ (17. ábra) a pH függvényében változnak. 1–12 pH-tartományban, 0,1 mol dm $^{-3}$ oldatban a J_{AB} 15,9-ről 15,2 Hz-re csökken, a $\delta_{\text{cit}} \sim 0,4$ ppm-nyit tolódik el a nagyobb terek felé, a Δ távolság pedig ~ 30 Hz-el nő¹²⁴. Kísérletileg kimutattuk, hogy a Δ értéke függ a koncentrációtól is, éspedig, növekszik a koncentráció növekedésével. Ennek oka valószínűleg intermolekuláris hidrogénkötések kialakulása. A citromsav ^{13}C NMR-spektrumában 4 jel jelentkezik, sorrendben (kisebb terek felé haladva): a két CH $_2$ -, a kvaternerszén, a két terminális COO- és a centrális COO- jelei.

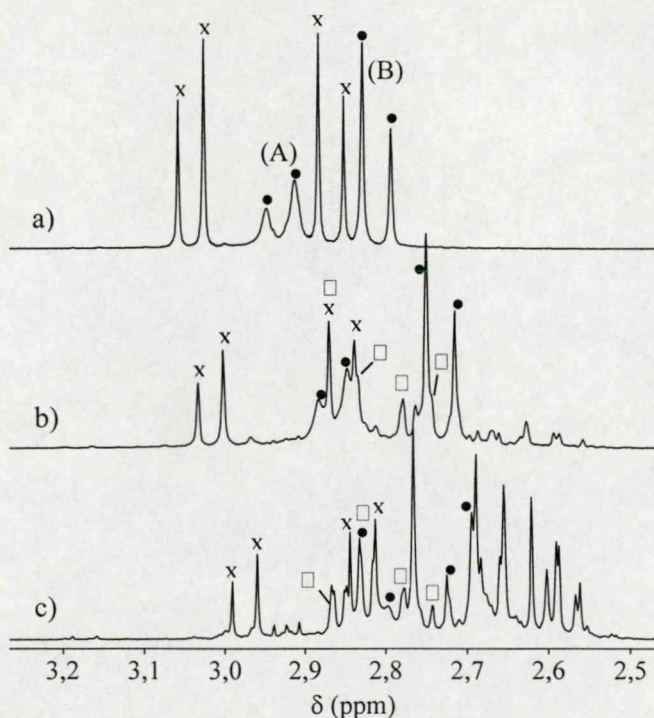


17. ábra A citromsav ^1H NMR spektruma és jellemző paraméterei (J_{AB} , δ_{cit} és Δ)

Az Al(III)–citrát rendszer legjobban jellemzett részecskéje a hárommagvú $\text{Al}_3(\text{AH}_{-1})_3(\text{OH})$ komplex. Az Al(III)–citrát rendszerben a részecskeeloszlás egyik fő meghatározója és a későbbiekben is találkozunk ezzel a részecskével, ezért érdemes néhány szót szólni az NMR-spektrális tulajdonságairól. Aszimmetrikus szerkezete következtében a citrátmolekulák szénatomjai külön jelet adnak, a ^{13}C NMR-spektrumban tehát 6 metilén-, 4 kvaterner- és 9 karbonilszén jel jelentkezik 42,80, 42,90, 43,67, 44,98, 45,95, 46,24, 73,37, 75,51, 75,68, 177,18, 177,64, 177,89, 177,92, 178,19, 178,45, 180,78, 182,75, 182,89 ppm kémiai eltolódásoknál.¹⁰³ Hasonlóan a ^1H NMR-spektrum is összetett, 2,9–2,4 ppm tartományban 5 AB kvartett és 1 szingulett, azaz 21 jel jelenik meg többé-

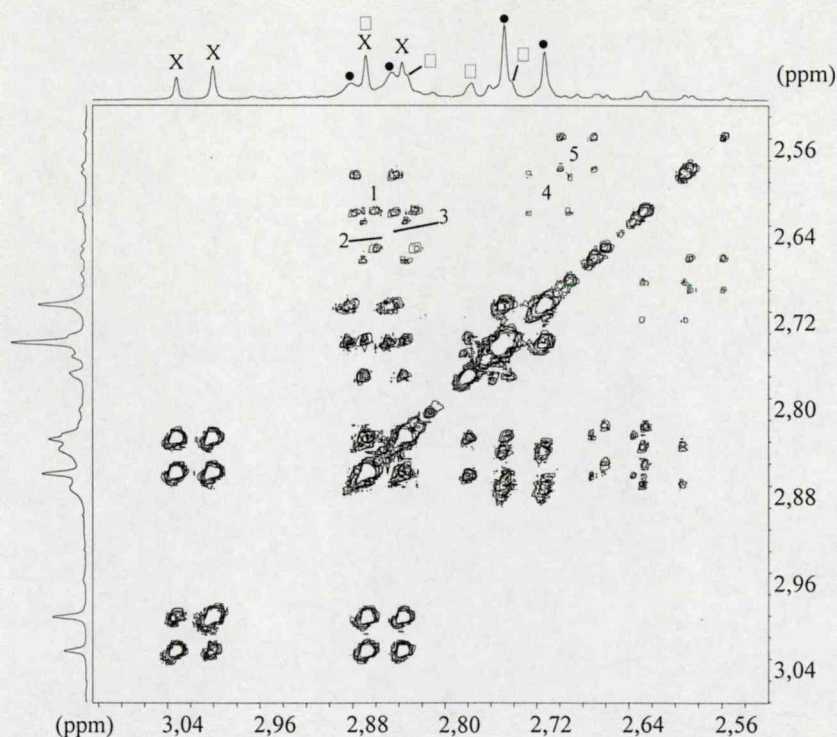
kevésbé egymással átfedésben.^{125,126} A spektrum felbontása – az, hogy a 21 jelből, hányat látunk – nagy mértékben függ az alkalmazott mágneses tér erősségétől, így a spektrum képe ennek függvényében kis mértékben változhat.

A $0,04 \text{ mol dm}^{-3}$ Al(III)–citrát 1:1 mólarányú oldatában, pH = 2,08-nál felvett ^1H NMR-spektrumban (18a. ábra) a szabad ligandum AB kvartettje (x) (3,06, 3,03, 2,89, 2,86 ppm, $J_{AB} = 15,7 \text{ Hz}$) mellett megjelenik két széles jel (A) ($\Delta\nu_{1/2} = 7,9 \text{ Hz}$) 2,95 és 2,92 ppm-nél valamint két keskenyebb jel (B) ($\Delta\nu_{1/2} = 2,3 \text{ Hz}$) 2,83 és 2,80 ppm kémiai eltolódás értékeknél. ^1H COSY mérések bizonyították, hogy a két jelpár egy AB kvartettet képez (•), 17,7 Hz-es csatolási állandóval. A potenciometria alapján ez az aszimmetrikus AB kvartett az AlAH részecskéhez rendelhető. A hőmérséklet növelésével az (A) jelpár sávszélessége csökken, amely intramolekuláris cserefolyamatokra utal. 50 °C-on a komplex jeleinek sávszélessége már azonosan $\nu_{1/2} = 5,1 \text{ Hz}$. A (B) jelpár valamint a szabad citrát jelének szélesedése a 25 °C-on mért értékekhez képest (az utóbbi 1,5 Hz-ről 4,8 Hz-re változik) jelzi, hogy a szabad citrát és az AlAH komplex cserekapcsolatban vannak. Mind az inra- mind az intermolekuláris cserefolyamatok sebessége nő a hőmérséklet növekedésével, ami a spektrumokban a fentebb tárgyalt változásokat eredményezi.



18. ábra 1:1 Al(III)–citrát arányú, különböző pH-jú minták ^1H NMR-spektrumai: (a) pH = 2,08, (b) pH = 2,60, (c) pH = 3,05. A spektrumokat a termodinamikai egyensúly állapotában vettük fel. $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{Al}} = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$. Jelölések: (•) fluxionális egymagvú 1:1 komplex, (□) nem fluxionális egymagvú 1:1 komplex, (x) szabad citrát.

pH = 2,60-nál a ^1H NMR-spektrum (18b. ábra) sokkal bonyolultabb, mint az az eloszlásgörbék alapján várható (15. ábra). A spektrumban megjelenő jelek közül a szabad citrát AB kvartettje (x) egyértelműen azonosítható 3,03, 3,00, 2,87 és 2,84 ppm-nél ($J_{AB} = 15,7$ Hz). A jelek a nagyobb terek felé tolódnak az alacsonyabb pH-n felvett spektrumhoz képest, ami a ligandum egyik karboxilcsoportja deprotonálódásának a következménye. A pH = 2,08-nál látott aszimmetrikus AB kvartett jelei (●) szintén nagyobb tereknél jelentkeznek. Ez két részecske egyensúlyára utal, melyek között gyors a protoncsere az NMR-időskálán, ezért egy átlagolt jelet adnak. Az egyik részecske az AlAH a másik pedig ennek deprotonált formája, az AlA komplex. A mintában mért ^1H COSY NMR-spektrum (19. ábra), alapján egy harmadik, a szabad citrát és az egymagvú 1:1 komplexek jelével összevethető intenzitású AB kvartettet (□) lehet azonosítani, 2,87, 2,83, 2,78 és 2,74 ppm-nél, melynek jelei részben átfednek a szabad citrát és az aszimmetrikus AB kvartett jeleivel. Mivel 1:1 fém–ligandum aránynál ezen a pH-n, egyensúlyban, csak egymagvú 1:1 komplexek vannak jelen ezért ez a harmadik jel valószínűleg az AlA részecskének egy másik kötési izomeréhez rendelhető (lásd később). A spektrumban megjelenő kis

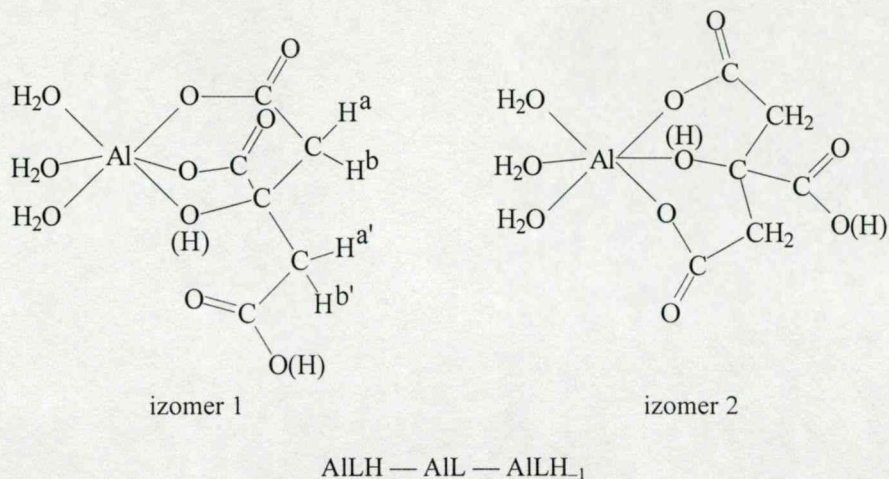


19. ábra Al(III)–citrát 1:1 molarányú, pH = 2,60-os oldatában felvett ^1H COSY NMR-spektrum. $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{Al}} = 0,04$ mol dm $^{-3}$. Jelölések: (●) fluxionális egymagvú 1:1 komplex, (□) nem fluxionális egymagvú 1:1 komplex, (x) szabad citrát.

intenzitású jelek arra utalnak, hogy $0,04 \text{ mol dm}^{-3}$ oldatban már ezen a pH-n megkezdődnek az oligomerizációs folyamatok, amelyek a potenciometriás mérések koncentrációviszonyai mellett ($0,004 \text{ mol dm}^{-3}$) csak $\text{pH} \sim 3$ környékén kezdődnek el (lásd a 15. ábrát). A kis intenzitású jelek 5 AB kvartett képeznek (a 19. ábrán ezeket számok jelölik), ami a képződő oligomer komplex aszimmetrikus szerkezetére utal. Az 5 AB kvartett 3 citrátmolekula 5 metilénprotonjához rendelhető, a hatodik metilénproton az $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ részecskéhez hasonlóan, feltehetően egy szingulett jelet ad. A COSY-spektrumból ezt a jelet nem tudtuk egyértelműen azonosítani. A képződő oligomer komplex szerkezete hasonló, de nem azonos az $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ részecskéjével.

$\text{pH} = 3,06$ -nál az oligomerizációs folyamatok még jelentősebbek (18c. ábra). A spektrumban az oligomer részecske dominál, de kisebb mennyiségben megtaláljuk még az egymagvú komplexek jeleit is, amelyeket ezen a pH-n az AlA és AlAH_1 komplexekhez rendelhetjük. 4–8 pH-tartományban a hárommagvú $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ komplex képződésére utalnak az NMR-spektrumok.

Mit mondhatunk az egymagvú 1:1 komplex oldatbeli szerkezetéről? Az AlAH komplex jelszegény NMR-spektruma alapján a citrátmolekula szimmetrikus koordinálódását feltételezhetnénk, ez azonban nem magyarázná a komplex jelének aszimmetrikus jellegét és a hőmérséklet emelésével bekövetkező változásokat. Ezért a citrátmolekula olyan háromfogú koordinációját feltételeztük, amely az egyik terminális karboxilát-, a centrális karboxilát- és a hidroxilcsoport részvételével valósul meg. Az AlAH komplexben a hidroxilcsoport és a nem-kötő karboxilcsoport protonálva van, a pH emelésével ezek lépcsőzetes deprotonálódása megy végbe. Ezen (5+6)-os kelát típusú koordináció során a ligandum két metilén csoportja különböző kémiai környezetbe kerül, így ezek a protonok két AB kvartettet kellene adjanak a ^1H NMR-spektrumban. Ha azonban feltételezzük, hogy a molekula fluxionális, azaz a citrátnak hol az egyik, hol a másik terminális karboxilcsoportja kötődik az Al(III) -hoz, akkor a spektrumban a kiátlagolt jelet látjuk. Így megmagyarázható az AB kvartett aszimmetrikus jellege: az a és a' protonok (20. ábra) feltehetően úgy helyezkednek el a térben, hogy az intramolekuláris mozgás során kémiai környezetük jobban változik mint a b és b' protonoké, tehát az a és a' protonok okozta jel szélesebb lesz mint a b és b' protonoké, ha a fluxionális mozgás sebessége megfelelő. Magasabb hőmérsékleten ez az intramolekuláris mozgás gyorsabb, az a , a' és a b , b' protonok közti különbség kevésbé érzékelhető, az előbbiek jele keskenyebbé válik. A fluxionalitást látszik alátámasztani a ^{13}C NMR-spektrum is,



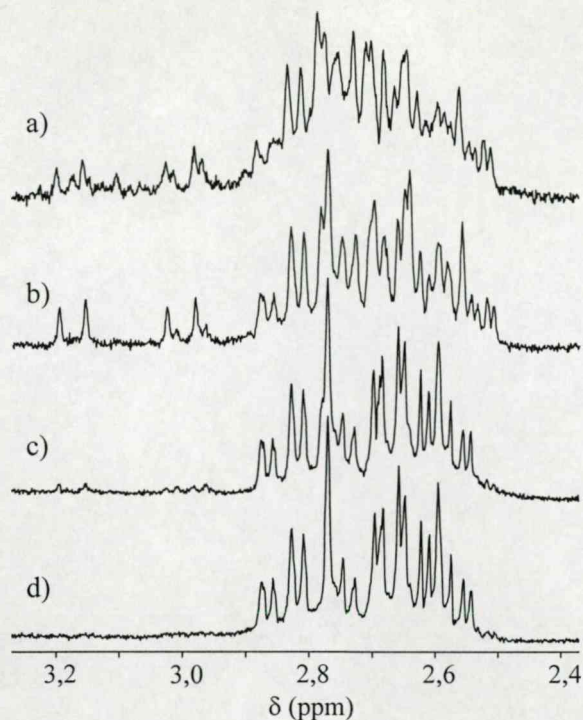
20. ábra Az egymagvú 1:1 Al(III)–citrát komplexek feltételezett szerkezete

amelyben a komplex metilén- és terminális karboxilcsoportjának jele kiszélesedést mutat a kvaternerszén és a centrális karboxilátcsoportéhoz jeleihez képest.

Az AIA és AIAH₋₁ részecskék másik kötési izomerének ¹H és ¹³C NMR jelei a természetes vonalszélességet mutatják, semmi sem utal belső mozgásra. A jelszegény NMR-spektrumok alapján szimmetrikus koordináció valószínűsíthető (6+6)-os kelátkomplex képződése révén, ami a két terminális karboxilát- és a deprotonált hidroxilcsoport részvételével történik.

Az AIAH részecske alkoholos hidroxilcsoportjának koordinálódását igazolja a komplex megnövekedett stabilitása a malonsav és a borostyánkősav megfelelő Al(III)komplexéhez képest. Az $\text{Al}^{3+} + \text{H}_3\text{A} \rightleftharpoons \text{AlAH}^+ + 2\text{H}^+$ egyensúlyra jellemző protonkiszorítási állandók ($\lg K^* = \lg K([\text{AlAH}]^+) - \lg \beta(\text{H}_3\text{L})$) értéke a citrátokomplex esetén –2,53, míg a borostyánkősav AIA komplexe esetén, amely egy héttagú (COO^- , COO^-) kelátot tartalmaz, –5,57. Ugyanakkor a malonsav – amely az AIA komplexben hatos kelátgyűrűt képez – protonkiszorítási állandója $\log K^* = -1,51$.

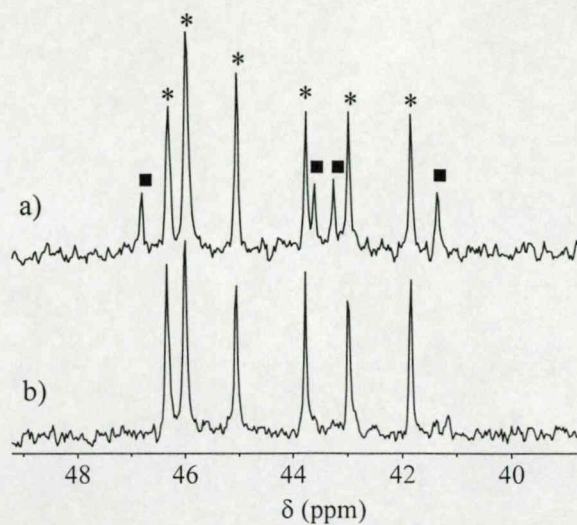
A részecskeeloszlás időfüggését, azaz a hárommagvú részecske lassú időbeni képződését 3–8 pH tartományban, NMR-spektroszkópián is egyértelműen kimutattuk. A citromsav és az Al(III)-oldatokat a választott pH-kon (pH ~ 5 és 7) összekevertük és meghatározott időpillanatokban felvettük a minták NMR-spektrumait egészen az egyensúly beálltáig. Egyensúlyi állapotnak azt tekintettük amikor két egymást követő spektrum megegyezett.



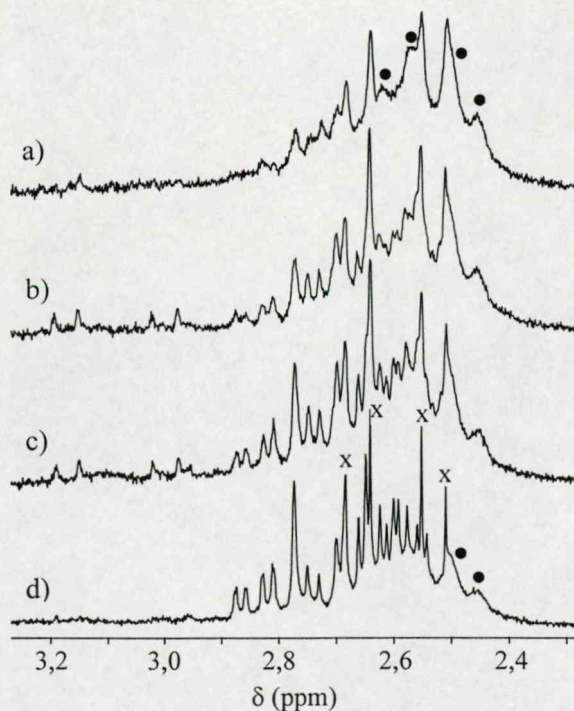
21. ábra Al(III)–citrát 1:1 molarányú oldatában, pH ~ 5-nél felvett ^1H NMR-spektrumok változása az idő függvényében, a komponensek összekeverésétől számítva (a) 15 perc, (b) 40 perc, (c) 10 óra, (d) 30 óra elteltével. $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{Al}} = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$

A 21. és 23. ábrák a fent említett pH-kon felvett ^1H NMR-spektrumok időfüggését mutatják. Kezdetben a jelek szélesek, összemosódottak, a spektrumok felbontása kicsi, ami utal a rendszerben végbemenő dinamikai változásokra. A komplexképződési reakciók valamint az egymagvú részecskék és az átmeneti komplexek között lejátszódó ligandumcserefolyamatok sebessége meglehetősen gyorsnak tűnnek.

pH ~ 5-nél, egyensúlyi állapotban a hárommagvú citrátokomplex jellegzetes, bár igen bonyolult spektruma látható (21d. ábra). Ez jól alátámasztja a potenciometriás eredményeket, hiszen a részecskeeloszlási görbék is azt mutatják, hogy ezen a pH-n kizárólagosan az oligomer komplex képződik. A 40 percnél és 10 óránál felvett spektrumokban (21b. és 21c. ábrák) 3,0–3,2 ppm tartományban négy jelet figyelhetünk meg, melyek intenzitása időben maximumot ér el, az egyensúlyi állapotban pedig teljesen eltűnnek. Ezek a jelek megjelennek pH ~ 7-nél, valamint az 1:2 Al(III)–citrát komplexek átalakulása során is és valószínűleg olyan átmeneti komplexekhez rendelhetők amelyek az egymagvú Al(III)–citrát részecskék oligomerizációja során képződnek.



22. ábra Al(III)–citrát 1:1 mólarányú oldatában, pH ~ 5-nél mért ^{13}C NMR-spektrumok metilén tartománya, (a) a komponensek összekeverésétől számítva 12 óra múlva, (b) egyensúlyi állapotban. $c_{\text{citrát}} = 0,2$, $c_{\text{Al}} = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$
Jelölések: (■) köztitermék, (*) hárommagvú komplex

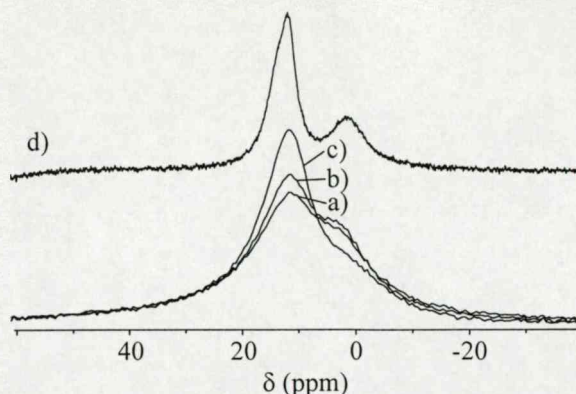


23. ábra Al(III)–citrát 1:1,1 mólarányú oldatában, pH ~ 7-nél felvett ^1H NMR-spektrumok változása az idő függvényében, a komponensek összekeverésétől számítva (a) 15 perc, (b) 40 perc, (c) 10 óra, (d) 30 óra elteltével. $c_{\text{citrát}} = 0,044$, $c_{\text{Al}} = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$
Jelölések: (•) AlAH_2 , (x) szabad citrát

Az átmeneti komplexek képződését ^{13}C NMR-spektroszkópiával is igazoltuk. Mivel a ^{13}C mag érzékenysége kisebb mint az ^1H magé, azért, hogy jó minőségű spektrumot kapjunk $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ -ra növeltük az oldatok koncentrációját. Egyensúlyi állapotban a hárommagvú részecske ^{13}C NMR-spektruma látható. A $\text{pH} \sim 5$ -ös oldatban, nemegyensúlyi állapotban mért spektrumban a hárommagvú részecske jellegzetes ^{13}C NMR-jelei mellett (*) 12 kisebb intenzitású jelet figyelhetünk meg: 41,26, 43,16, 43,54, 46,78, 75,34, 76,42, 177,21, 177,71, 178,10, 178,56, 182,20, 182,51 ppm értékeknél (22a. ábra). Ezek a jelek az egyensúlyi spektrumban egyáltalán nem jelentkeznek (22b. ábra). A potenciometriás eredmények azt mutatják, hogy $\text{pH} \sim 5$ -nél az AlAH_1 komplex oligomerizálódik a hárommagvú részecske képződése közben, az előbb említett négy jelet azonban nem rendelhetjük ehhez a részecskéhez, hanem azokhoz az átmeneti komplexekhez amelyek képződésére a ^1H NMR-spektrumok is utalnak.

Amikor az induló $\text{pH} \sim 7$ (23. ábra), az egyensúlyi spektrum a hárommagvú részecske, szabad citrát és egy olyan komplex jelenlétére utal amely a 2,62, 2,59, 2,49 és 2,46 ppm-nél megjelenő szélesebb vonalakat adja. A részecskeeloszlás alapján ez a komplex az AlAH_2 , egy vegyes hidroxokomplex. A szabad citrát megjelenése azzal magyarázható, hogy $\text{pH} \sim 7$ -nél az oligomerizációt OH^- -ionok felszabadulása kíséri. Az egyensúlyi pH tehát nagyobb mint a kiinduló pH , és az NMR-méréseknél alkalmazott koncentrációknál ($0,04 \text{ mol dm}^{-3}$) eléri a 8,5-es értéket. Ezen a pH -n az OH^- -ionok kezdik kiszorítani a citrátot az Al(III) koordinációs szférájából, miközben $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ képződik és szabad citrát jelenik meg a rendszerben. Ahogy már említettem, a $\text{pH} \sim 7$ -es oldat nemegyensúlyi spektrumaiban is megjelennek az átmeneti részecske jelei, 3,0 és 3,2 ppm között.

Az Al(III) –citrát 1:1 arányú rendszerében végbemenő változásokat ^{27}Al NMR-spektroszkópiával is követtük (24. ábra). A frissen készített oldatban, $\text{pH} \sim 5$ és 7-nél felvett spektrumok egy széles jelet tartalmaznak 11,5 ppm-nél, aminek van egy 0 ppm körül megjelenő válla. A fő jel intenzitása időben növekszik, míg a 0 ppm-nél levő vállé először növekszik, majd csökken, egészen az egyensúly beálltaig. Az utóbbi jelnek ez a viselkedése valószínűleg ismét a fent említett átmeneti komplexek képződésével és átalakulásával van összefüggésben. Az a tény, hogy gyakorlatilag ugyanazt az egyensúlyi spektrumot látjuk $\text{pH} \sim 5$ és 7-nél arra utal, hogy ebben a pH -tartományban ugyanaz a lassan képződő részecske dominál. Karlik és munkatársai ezt a spektrumot egy egymagvú részecskéhez, az AlAH_1 -hez rendelték. A ^1H és ^{13}C NMR-spektroszkópiás eredményeket



24. ábra Al(III)–citrát 1:1 molarányú oldatában, pH ~ 7-nél 200 MHz-en mért ^{27}Al NMR spektrumok változása az idő függvényében, a komponensek összekeverésétől számítva (a) 10 perc, (b) 1 óra, (c) 30 óra elteltével. (d) Ugyanaz mint a (c) csak 500 MHz-en mérve. $c_{\text{citrát}} = 0,1$, $c_{\text{Al}} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$

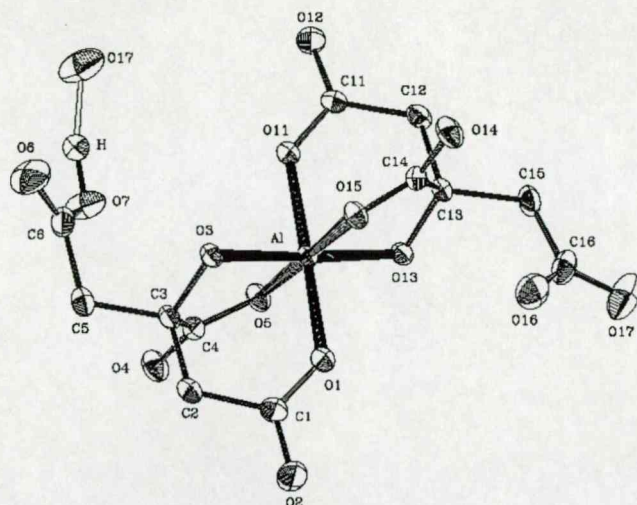
is figyelembe véve most már egyértelmű, hogy ez a ^{27}Al NMR-spektrum a hárommagvú részecske spektruma.

Annak az oldatnak a ^{27}Al NMR-spektrumában, amit úgy készítettek, hogy a kristályos $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ vízben oldották, három jel jelenik meg: 0,2 ppm-nél, 10,7 ppm-nél és az utóbbi jel vállaként 12,6 ppm-nél. A mi esetünkben, a készülék kisebb felbontása következtében, a 10,7 és 12,6 ppm-nél levő jelek összemosódnak a szélesebb 11,5 ppm-nél levő jelet eredményezve, a 0,2 ppm-nél megjelenő jel pedig ennek a válla. Az irodalomban leírt spektrális adatokat akkor kaptuk, amikor ugyanazt az oldatot, amely a 24c. ábrán bemutatott spektrumot eredményezte 500MHz-es készüléken mértük meg (24d. ábra).

6.3.3. NMR-spektroszkópiás mérések az Al(III)–citrát rendszerben ligandumfölösleg esetén

A potenciometriás eredmények alapján, 1:3 fém–ligandum aránynál, friss oldatban, az egymagvú 1:1 komplexek mellett jelentős mértékben képződnek 1:2 komplexek is, melyek az 1:1 komplexekkel együtt részt vesznek az oligomerizációs folyamatokban.

Salifoglou és munkatársai (kooperációs partnereink) kristályos formában előállították pH~8-nál az AlA_2H_2 és pH~6-nál az AlA_2H_1 komplexeket. Kristályszerkezetük mutatja (25. ábra), hogy szilárd fázisban a citromsavmolekulák a deprotonált hidroxil-, a centrális karboxilát-, és az egyik terminális karboxiláts csoportjukkal koordinálódnak az Al(III)-hoz, míg a másik terminális karboxilcsoport szabadon marad. Ez a kötésmód megegyezik az egymagvú 1:1 komplexeknél feltételezett koordinációs móddal.

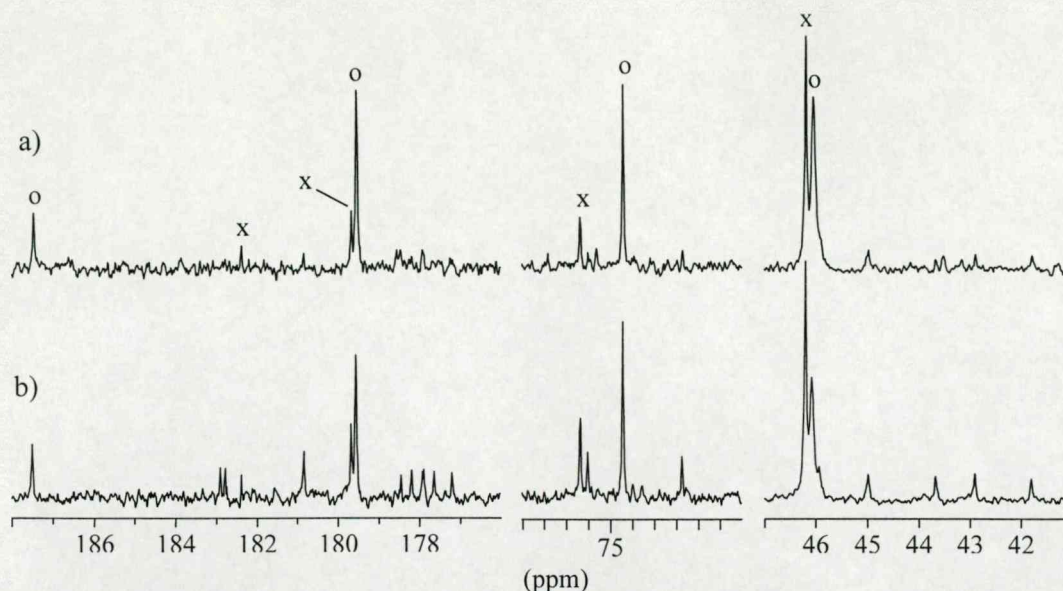


25. ábra Az $(\text{NH}_4)_4 [\text{Al}(\text{III})(\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7)(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ formában előállított AlA_2H_1 komplex kristályszerkezete

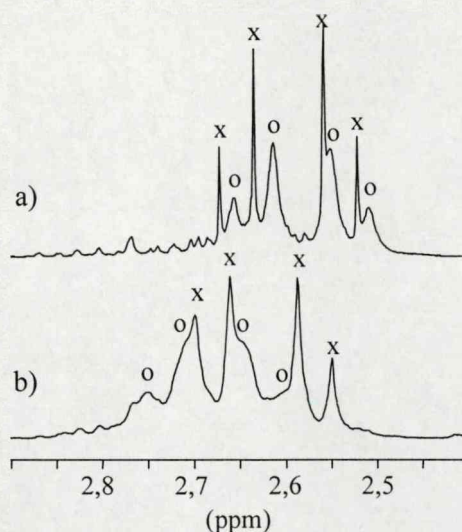
A két 1:2 komplex azonos szerkezetű, azzal a különbséggel, hogy az AlA_2H_2 komplexben mindkét citrátmolekula nemkötő karboxilcsoportja deprotonált, míg az AlA_2H_1 részecskében az egyik ilyen karboxilcsoport protonálva van.

A korábbi részecskeeloszlási vizsgálatok és az általunk kapott eredmények egyaránt azt mutatják, hogy gyengén savas és semleges pH-tartományban az egyensúlyi állapot meghatározó részecskéje, kis fém–ligandum arányoknál, az $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ komplex, a biszkomplexek jelentősebb mennyiségben csak nagy ligandumfeleslegnél képződnek. Ezzel szemben, Salifoglou és munkatársai, 4,5–8,5 pH tartományban, szinte minden esetben (fém–ligandum aránytól függetlenül) az 1:2 $\text{Al}(\text{III})$ –citrát komplexeket tudták izolálni. A látszólagos ellentmondás tisztázása végett megvizsgáltuk ezen szilárd komplexek vizes oldatbeli viselkedését, NMR-spektroszkópiás módszerrel. Mint ahogy az hasonló szerkezetük alapján várható volt, vizes oldatbeli viselkedésük is hasonlóan bizonyult, ezért a két komplex esetén kapott eredményeket a továbbiakban együtt tárgyalom. Bár mindkét komplex esetén elvégeztük ugyanazokat az NMR-spektroszkópiás méréseket itt csak a reprezentatívabb spektrumokat mutatom be, függetlenül attól, hogy melyik komplex oldatában készültek.

A D_2O -ban oldott szilárd komplexek ^{13}C NMR-spektrumában, 2 fő jelcsoportot figyelhetünk meg, az egyik mindig a szabad citrát (x), míg a szélesebb rezonanciavonalak (O) komplexben kötött citrát jelenlétére utalnak. A 26a. ábra az AlA_2H_2 komplex spektrumát szemlélteti. Hasonló spektrumokat kapott Gregor és Powell¹⁰¹ 1:4 $\text{Al}(\text{III})$ –citrát aránynál, 2–8 pH-tartományban, amely spektrumokat a szabad citrát és a biszkomplexek



26. ábra Az $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ komplex vizes oldatában mért ^{13}C NMR-spektruma a) a komplex feloldása után 1 órával, b) egyensúlyi állapotban. $c_{\text{komplex}} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$
Jelölések: (o) $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$, (x) szabad citrát.



27. ábra A biszkomplexek vizes oldatában mért ^1H NMR-spektrum a komplex feloldása után ~ 10 perccel. a) $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$, $c_{\text{komplex}} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, b) $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ $c_{\text{komplex}} = 0,06 \text{ mol dm}^{-3}$
Jelölések: (o) biszkomplex, (x) szabad citrát

jelenlétének tulajdonították. A komplex jeleinek kiszélesedését koordinációs izomerek egyensúlyával magyarázták, a mono- és biszkomplexek egyidejű jelenlétét, mint lehetőséget, elvetették. Ennek alapján a kötött citrát jeleit a biszkomplexekhez rendeltük.

Az $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ komplex nehézvizes oldatában mért ^1H NMR-spektrumban két AB kvartett dominál (27a. ábra). Az intenzívebb, keskenyebb jeleket a szabad citráthoz (x), míg a másíkszélesebb jelekből álló AB kvartett a biszkomplexhez (o) rendelhetők. Ugyanezt a

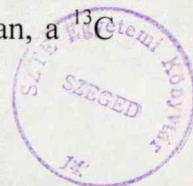
képet mutatja a másik szilárd komplex, az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ ^1H NMR-spektruma (27b. ábra). A szabad citrát és a biszkomplex AB kvartettjei protonáltsági fokuknak megfelelően kisebb tereknél jelentkeznek a $\text{pH} \sim 8$ -as oldathoz képest. Az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ jelei közelebb vannak a szabad citrátéihoz mint az $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ komplex esetén, ezért ennek a spektrumnak rosszabb a felbontása. Hasonló AB kvartetteket tartalmaznak azok a ^1H NMR-spektrumok, amelyeket a citromsavoldattal titrált vizes Ga(III) -oldatokban vettek fel^{128,129}. A szerzők az 1:2 összetételű Ga(III) -citrát komplexek és a szabad ligandum jelenlétét igazolták ezekben a rendszerekben. A két biszkomplex jellemző NMR-adatait a 10. táblázat foglalja össze.

10. táblázat Az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ és $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ komplexek NMR-paraméterei vizes oldatban

	$\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$	$\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$
^1H NMR	$\sim 2,75$ $\sim 2,71$ $\sim 2,65$ $\sim 2,60$	$2,65$ $2,61$ $2,55$ $2,51$ $J_{AB} = 16,9 \text{ Hz}$
^{13}C NMR		
-CH ₂	$\sim 43,8$ (nagyon széles)	46,04
-C _(k)	75,15	74,72
-CO _(t)	177,9 (széles)	179,54
-CO _(c)	183,40	187,46

Pontosításként megjegyezzük, hogy a potenciometria alapján $\text{pH} \sim 8$ -nál az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ és az $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ is jelen van az oldatban, a szilárd $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ komplex feloldásakor ennek egy része az $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ -vé alakul és a spektrumban észlelt jel a két biszkomplex kiátlagolt jele. Ez egyben azt is jelenti, hogy a biszkomplexek között gyors a protoncsere az NMR időskálán.

Az a tény, hogy a biszkomplexben a citrátmolekulák CH_2COO^- -csoportjainak metilén- valamint karbonilszenei egy-egy jelet adnak a ^{13}C NMR-spektrumban, valamint, hogy a ^1H NMR-spektrumban csak egyetlen AB kvartett rendelhető a komplexhez, azt sugallja, hogy a ligandum szimmetrikus módon koordinálódik az Al(III) -hoz. A szilárd komplex kristályszerkezete ellenben nem szimmetrikus koordinációt mutat. A két citrátmolekula egymásra nézve ugyan szimmetrikusan helyezkedik el, de egy molekulán belül az egyik terminális karboxilcsoport koordinálódik, a másik pedig nem. A két metilénproton így két külön AB kvartettet kellene adjon a ^1H -NMR spektrumban, a ^{13}C



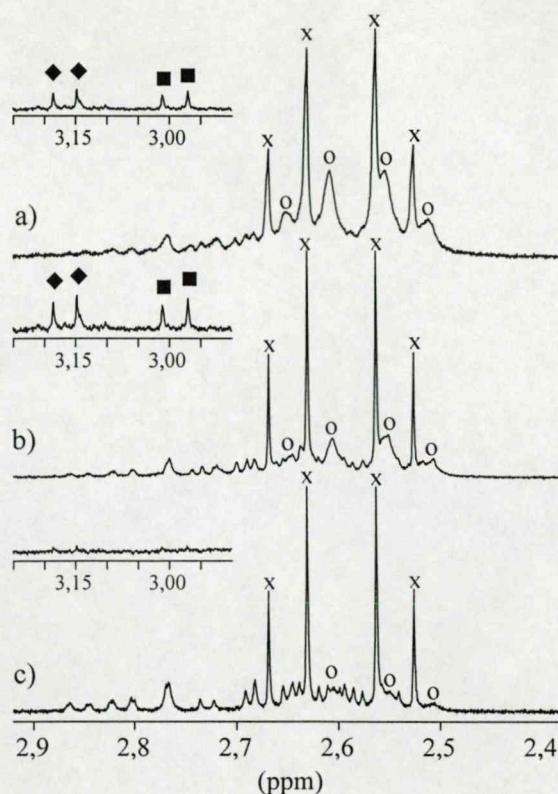
NMR-spektrumban pedig két terminális karbonilszén jelnek és két metilénszén jelnek kellene megjelenni. Az, hogy mégsem látunk külön jeleket elvileg kétféleképpen magyarázható: feloldás után a komplex izomerizálódik, azaz, olyan (COO^- , O^- , COO^-) típusú koordináció jön létre, amelyben a két terminális karboxilcsoport vesz részt. A másik lehetséges magyarázat a kötő és a nemkötő CH_2COO^- egységek gyors intramolekuláris cseréje, amelynek következtében a két szélsőállapot átlagát látjuk a spektrumban. Figyelembe véve az egymagvú 1:1 komplexeknél kapott eredményeket az utóbbi magyarázat tűnik valószínűbbnek. A fluxionalitás mellett szól a komplexek NMR-jeleinek kiszélesedése, miközben a szabad citrát jelei természetes vonalszélességűek. Ezt a viselkedést a hasonló Ga(III)–citrát komplexnél azzal magyarázzák, hogy a Ga(III) és a ligandum karboxilátcsoportja közötti kötés gyengébb mint az, amely a centrális alkoxioxigénnel jön létre. Így az alkoxioxigén horgonyként szolgál a fémion számára, míg a fém(III)–karboxilát kötések sokkal gyorsabban bomlanak és alakulnak újra¹³⁰. Az Al(III) és a Ga(III) koordinációs kémiai hasonlósága miatt ez a magyarázat az Al(III)–citrát rendszerre is átültethető. A spektrumokban a szabad és a kötött ligandum jelei elkülönülten jelentkeznek, ami a citrátmolekulák lassú intermolekuláris kicserélődésére utal.

Mindkét biszkomplex D_2O -s oldatának ^1H és ^{13}C NMR-spektruma jelentős időbeni változást mutat. A spektrum jobb felbontása miatt itt az AlA_2H_2 komplex oldatában mért ^1H NMR-spektrumokat mutatom be, azzal a megjegyzéssel, hogy a másik komplex ^1H NMR-spektruma is ugyanazokat a sajátságokat mutatja. A 28. ábrán látható, hogy a szabad citrát (x) jeleinek intenzitása időben növekszik, míg a biszkomplexé (o) csökken. Az egyensúlyi spektrum igen bonyolult: az említett két AB kvartett mellett megtaláljuk a hárommagvú $\text{Al}_3(\text{AH}_{-1})_3(\text{OH})$ részecske jeleit is. A hárommagvú részecske képződését mutatja az egyensúlyi mintában felvett ^{13}C NMR-spektrum is (26b. ábra). Ez a komplex már kezdetben is jelen van kis mennyiségben és jelei időben növekednek (28. ábra). A spektrumsorozatban viszont látjuk 3,0 és 3,2 ppm tartományban azt a négy kis intenzitású jelet (◆,■), amelyeket az 1:1 fém–ligandum arányú rendszerek vizsgálatánál a hárommagvú részecske képződését kísérő köztitermékhez rendeltük.

Az észlelt változásokat feltehetően a következő egyensúlyi folyamatokkal jellemezhetjük:

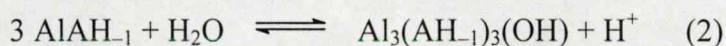
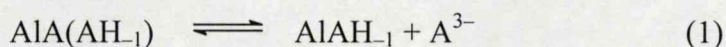
– az AlA_2H_2 komplex esetén:





28. ábra Az AlA_2H_2 komplex vizes oldatában végbemenő időbeni változások ^1H NMR-spektroszkópiával követve: a) a komplex feloldása után ~ 10 perccel, b) 3 órával, c) egyensúlyi állapotban. $c_{\text{komplex}} = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$
Jelölések: (o) AlA_2H_2 komplex, (x) szabad citrát, (◆) és (■) köztitermék

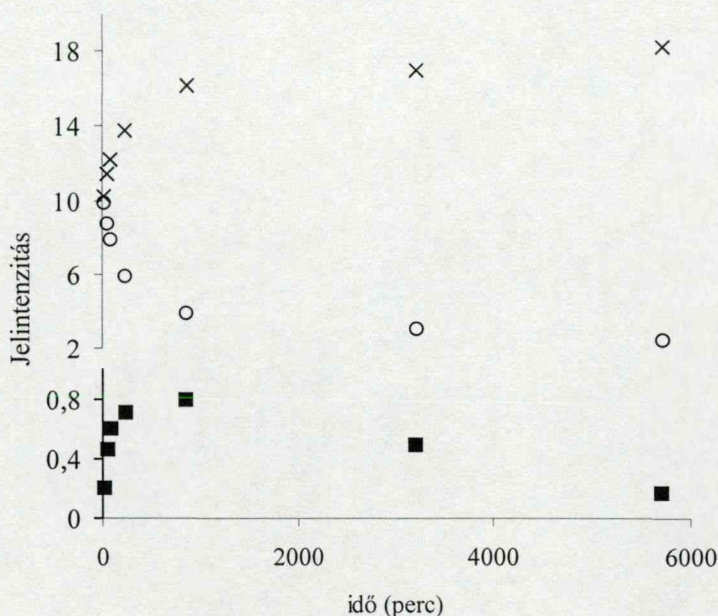
– az AlA_2H_1 komplex esetén:



A második folyamat természetesen nem ilyen egyszerűen, hanem, mint ahogyan azt az NMR-spektrumok mutatják, köztitermékeken keresztül játszódik le. A minták pH-jának kis mértékű időbeni változása – az AlA_2H_2 komplex oldatában pH $\sim 7,8$ -ról $8,3$ -ra, az AlA_2H_1 -ében pedig pH $\sim 6,2$ -ről $5,9$ -re – szintén alátámasztja a javasolt globális folyamatokat.

Az egyensúlyi folyamatokban szereplő részecskék közül az egymagvú 1:1 komplexek jelei nem láthatók az NMR-spektrumokban, sem friss oldatban, sem egyensúlyi állapotban. Az 1:2 fém–ligandum aránynál, az NMR-minták koncentrációinál számolt eloszlásgörbék mutatják, hogy ilyen koncentrációviszonyok mellett, egyensúlyi állapotban az egymagvú 1:1 komplexek képződése visszaszorul, a rendszerben gyakorlatilag csak az 1:2 komplexek és a hárommagvú részecske van jelen. Friss oldatokban, amikor a

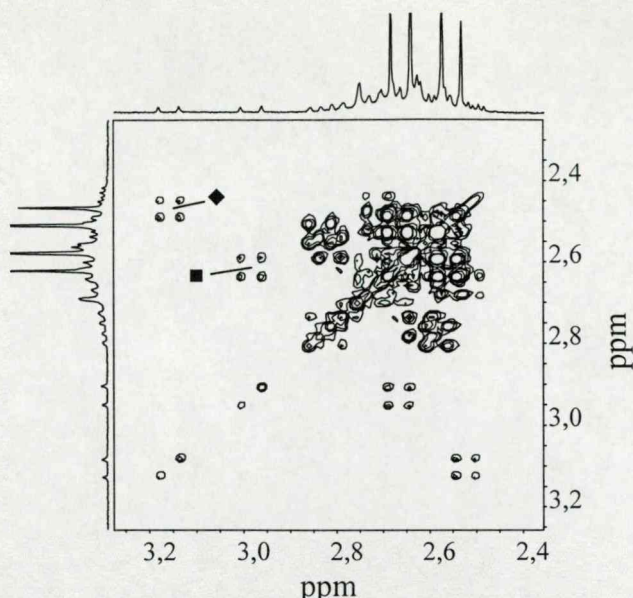
hárommagvú komplex képződése még nem indul meg, az egymagvú 1:1 komplexek koncentrációjának egyenlőnek kellene lenni a szabad citrát koncentrációjával, hiszen



29. ábra Néhány kiválasztott ^1H NMR jel intenzitásának változása az idő függvényében az AlA_2H_2 komplex vizes oldatában. (x) szabad citrát, (o) AlA_2H_2 , (■) köztitermék

mindkettő az 1:2 komplex disszociációja során képződik. Az a tény, hogy az 1:1 komplexek jelét mégsem találjuk a spektrumokban valószínűleg azzal magyarázható, hogy amint ezek az 1-es folyamatban képződnek azonnal tovább is alakulnak, gyors folyamatban az átmeneti komplexeket képezve, amelyek aztán lassú reakcióban a hárommagvú részecskévé oligomerizálódnak.

Ha az egyensúlyban részt vevő komplexek jeleinek intenzitását ábrázoljuk az idő függvényében (29. ábra) láthatjuk, hogy a szabad citrát (x) jelei ugyanolyan mértékben növekednek, amilyen mértékben az 1:2 komplex (o) jelei csökkennek. Ez közvetlen bizonyíték arra, hogy a szélesebb jelekből álló AB kvartett, amelyet irodalmi adatok alapján rendeltünk az 1:2 komplexhez, valóban az 1:2 komplex jele, hiszen disszociációja során citrátot ad le. A két dublett (◆, ■) – amelyeket az átmeneti komplexekhez rendeltünk – intenzitása pedig ugyanolyan mértékben növekszik mint a szabad citráté és amikor csökkeni kezd, akkor a citrát jelei gyakorlatilag már nem növekednek. Tehát, az átmeneti komplex citrátfelszabadulás nélkül oligomerizálódik a hárommagvú részecskévé, ami azt jelenti, hogy a komplexben ugyanannyi fémion, mint ligandummolekula található.



30. ábra A nehézvízben oldott $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$ komplex ^1H COSY NMR-spektruma a feloldás után 26 órával. $c_{\text{komplex}} = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$

Az átmeneti komplex jellemzése céljából a pH ~6-os mintán, 26 órával a komplex feloldása után H-H korrelációs mérést végeztünk (30. ábra). A COSY-spektrum egyértelműen mutatja, hogy a két dublett párja nagyobb tereknél jelentkezik, a hárommagvú komplex jeleivel átfedésben (11. táblázat: $\text{CH}_2(1)$ és $\text{CH}_2(2)$). Ha az egyik dublett (◆) jeleit szelektíven telítjük akkor a másik dublett (■) jeleinek intenzitása csökken, ami azt jelenti, hogy ezek csere kapcsolatban vannak, így a négy dublett, nem tartozhat ugyanazon citrátmolekula metilén protonjaihoz. A köztitermék tehát, két citrátmolekulát tartalmaz. Ugyanebben az oldatban mért ^{13}C NMR-spektrumban a szabad citrát, a biszkomplex és a hárommagvú részecske jeleit azonosítva, a megmaradt jeleket az átmeneti komplexhez rendeltük. Ugyanazt a 12 jelet találtuk, amit az 1:1 fém–ligandum

11. táblázat Az egymagvú komplexek oligomerizációja során képződő köztitermék jellemző ^1H és ^{13}C NMR-paraméterei

^1H NMR	δ (ppm)	^{13}C NMR	δ (ppm)
$\text{CH}_2(1)$	3,17 és 2,51 ($J_{\text{H-H}} = 16,1 \text{ Hz}$)	CH_2	41,26 43,16 43,54 46,78
$\text{CH}_2(2)$	2,99 és 2,65 ($J_{\text{H-H}} = 15,2 \text{ Hz}$)	$\text{C}_{(\text{k})}$	75,34 76,42
$\text{CH}_2(3)$	2,72 és 2,55 ($J_{\text{H-H}} = 17,1 \text{ Hz}$)	$\text{CO}_{(\text{t})}$	177,21 178,10 178,10 178,56
$\text{CH}_2(4)$	nem tudtuk azonosítani	$\text{CO}_{(\text{c})}$	182,20 182,51

arányú rendszerekben is kimutattunk (6.3.2. fejezet). A 12 jel (11. táblázat) két aszimmetrikusan kötődő citrátmolekulára utal. Ennek alapján az ^1H NMR-spektrumban négy dublett pár (nyolc dublett) tartozik az átmeneti komplexhez. Heterokorrelációs méréssel megtaláltuk a harmadik dublett párt (11. táblázat $\text{CH}_2(3)$), a negyediket azonban nem tudtuk egyértelműen azonosítani, mivel jelei átfedésben vannak a hárommagvú részecske jeleivel.

Összegezve a köztitermékre vonatkozó eddigi adatokat megállapíthatjuk, hogy az egy dimer komplex, amely – bár a mechanizmus pontosan nem ismert – feltehetően egy egymagvú 1:1 komplex felvételével a hárommagvú részecskévé alakul. Venturini és Berthon¹³¹ az Al(III) –citrát rendszer vizsgálata során kimutatták egy $\text{Al}_2\text{A}_2\text{H}_2$ összetételű részecske képződését. A szerzők a potenciometriás titrálás során 2 percet vártak minden pontban az egyensúly beállítására. Ennyi idő alatt 3–8-ig terjedő pH-tartományban a rendszer nem éri el egyensúlyi állapotát, azt mondhatjuk tehát, hogy az általuk számolt részecskeeloszlás egy kváziegyensúlyi állapotot ír le. Az $\text{Al}_2\text{A}_2\text{H}_2$ részecske így lehet az általunk NMR-spektroszkópiásan kimutatott köztitermék. A hárommagvú komplex analógiájára az $\text{Al}_2\text{A}_2\text{H}_2$ részecske egy alkoxohidas aszimmetrikus szerkezetű dimer lehet, amelyben a citrátmolekulák teljesen deprotonáltak.

A fenti eredmények azt mutatják, hogy méréseink koncentrációviszonyai mellett semleges és gyengén savas egyensúlyi oldatokban a hárommagvú részecske dominál 1:1 és 1:2 fém–ligandum aránynál egyaránt. Gregor és Powell¹⁰¹ ^{13}C NMR-mérésekkel 0,25 mol dm^{-3} Al(III) koncentrációnál és 1:4 fém–ligandum aránynál kizárólag biszkomplexek és szabad citrát jelenlétét tudták kimutatni. A közleményből nem derül ki, hogy a spektrumok frissen készített vagy egyensúlyi oldatban készültek-e. 0,04 és 0,25 mol dm^{-3} Al(III) koncentrációknál, de 1:3 fém–ligandum aránynál, pH ~ 5 és 7-nél végzett ^1H NMR-mérésekkel egyértelműen igazoltuk a hárommagvú részecske képződését egyensúlyi állapotban. Azt is kimutattuk, hogy nagyobb koncentrációknál lassabban áll be a termodinamikai egyensúly mint 0,04 vagy 0,004 mol dm^{-3} oldatokban. 0,25 mol dm^{-3} koncentrációjú oldatban egy hét volt szükséges az egyensúly eléréséhez. Ennek alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy Gregor és Powell¹⁰¹ valószínűleg friss oldatokban végezték méréseiket és egyensúlyi állapotban ebben az esetben is képződnie kell a hárommagvú részecskének, bár kétségtelenül sokkal kisebb mennyiségben mint a hasonló koncentrációjú 1:3 fém–ligandum arányú oldatban. Millimólos koncentrációknál és nagyobb ligandumfelesleg mellett azonban az oligomerizációs folyamatok valóban elhanyagolhatók.

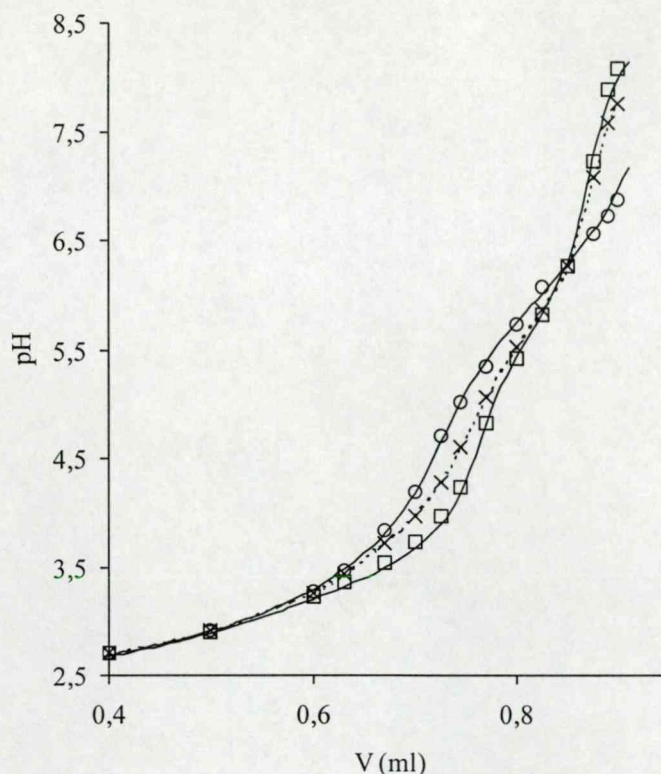
6.4. Az Al(III)–citrát–L-foszfoserin vegyes ligandumú rendszer

Azért, hogy jobban megbecsülhessük az L-foszfoserin (PSer) Al(III)kötő képességét megvizsgáltuk ezen ligandum Al(III)-al való kölcsönhatását citromsav jelenlétében, amely köztudottan egy nagyon jó Al(III)kötő kismolekula.

6.4.1. Potenciometriás vizsgálatok

Az Al(III)–citrát(A)–PSer(B) rendszerek potenciometriás titrálása során a pH lassú stabilizálódása lassú oligomerizációs folyamatok lejátszódására utalt 3–7 pH-tartományban. A kisebb fém–ligandum arányoknál a szokásos titrálási feltételek mellett (minden pont esetén maximum 10 percet vártunk a pH stabilizálódására) nem minden pontban állt be a termodinamikai egyensúly. Ezekben a rendszerekben tehát, a szokásos titrálási technikát alkalmazva, megbízható stabilitási adatok csak pH ~ 3-ig nyerhetők. A rendszer pontosabb leírása érdekében az Al(III)–citrát rendszerrel ismertetett módszerrel gyűjtöttük a titrálási adatokat, azaz a titrálási görbék minden pontját külön minták készítésével vettük fel. Az egyensúly beállására 30 órát vártunk mintánként. Méréseinket 1:1:1 és 1:1:4 Al(III)–citrát–PSer arányoknál végeztük. Azért, hogy kvalitatív képet kapjunk a komplexképződés időbeli lefolyásáról minden minta esetében időben követtük a pH változását, úgy ahogyan az Al(III)–citrát rendszer esetében is végeztük. A pH-változás mértéke kisebb mint az Al(III)–citrát rendszerben. A pH változásának iránya itt is a minta induló pH-jának függvénye: 6,2-es érték alatt a pH időben csökken, míg ezen érték felett növekszik. A hasonló viselkedést az Al(III)–citrát rendszer esetén azzal magyaráztuk, hogy a képződő egymagvú komplexek a protonáltsági állapotuktól függően vagy H^+ vagy OH^- -ion felszabadulással oligomerizálódnak a hárommagvú $Al_3(AH_{-1})_3(OH)$ részecskévé. A pH-változás első 3 percének adataiból 0-ra extrapolálva ebben az esetben is kiszámoltuk a rendszer pH-ját az reaktánsok összekeverésének pillanatában.

Ezen adatokból minden időpillanathoz egy-egy titrálási görbe szerkeszthető. Az 1:1:1 fém–ligandum aránynál nyert titrálási görbék jól szemléltetik a rendszerben végbemenő időbeli változásokat (31. ábra). 1:1:4 fém–ligandum aránynál az észlelt változás mértéke kisebb, a feleslegben lévő PSer pufferhatása következtében.



31. ábra Az Al(III)–citrát–L-foszfoserin 1:1:1 molarányú rendszerében mért titrálási görbék, a komponensek összekeverésétől számítva (O) a 0 időpillanatban, (x) 20 perc, (□) 30 óra (egyensúlyi állapot) elteltével. $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$

Az egyensúlyi titrálási görbék kiértékelése során az Al(III)–citrát és az Al(III)–PSer rendszerben számolt komplexek stabilitási állandóit ismertnek tekintettük (lásd 6.2. és 6.3. fejezet). A törzskomplexek mellett vegyes ligandumú komplexek képződését feltételeztük. Gyengén savas pH-n az AlABH_2 és AlABH vegyes ligandumú komplexeket találtuk. Ezen két komplexnek a feltételezése 65%-kal javította az illesztést a modellszámítások során. A lúgos pH-tartományban képződő, nagyobb deprotonáltságú vegyes ligandumú komplexeket viszont a program kiszórta. Ugyanezzel a modellel megpróbáltuk kiértékelni a „0 időpillanathoz” tartozó titrálási görbéket, feltételezve, hogy az összekeverés pillanatában a hárommagvú citrátokomplex még nem képződik. Semleges pH-tartományban azonban csak egy harmadik vegyes ligandumú komplex, az AlAB feltételezésével kaptunk jó illesztést a mért és a számolt titrálási görbék között. A vegyes ligandumú komplexek stabilitási állandóit a 12. táblázatban tüntettem fel.

Az AlABH_2 vegyes ligandumú komplexben valószínűleg mindkét ligandum egyszeresen protonált formában koordinálódik az Al(III)-hoz. A PSer egyfogúként köt, a deprotonált foszfátcsoporton keresztül (az aminocsoport protonálva van). Ha feltételezzük,

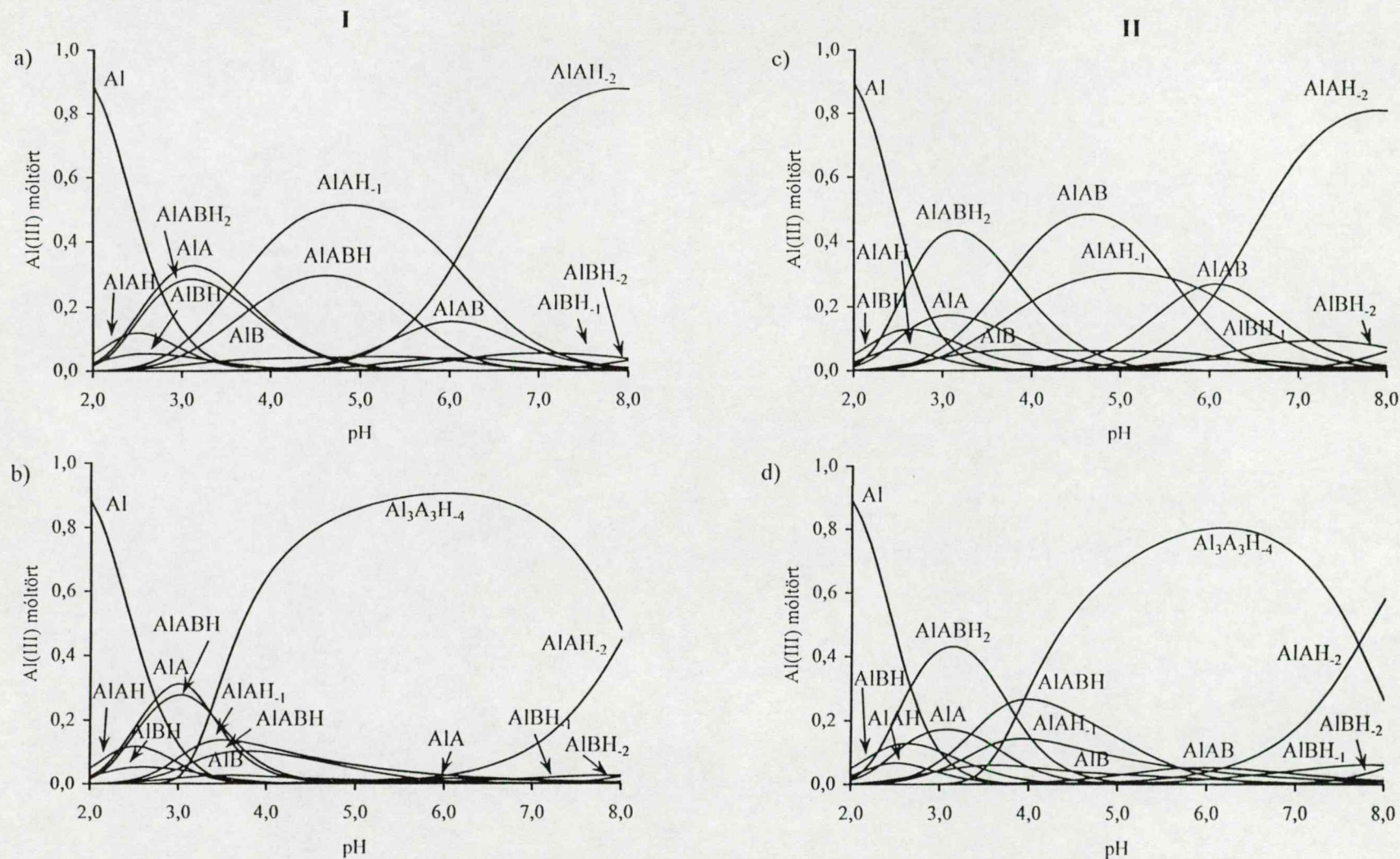
12. táblázat Az Al(III)–citrát–L-foszfoszerin vegyes ligandumú komplexek stabilitási állandói. I = 0,2 mol dm⁻³ KCl, t = 25 ± 0,01°C

	lg β
AlABH ₂	26,12 (4)
AlABH	22,38 (9)
AlAB	16,65 (8)

hogy a citrát kétfogúként koordinálódik az egyik terminális karboxilát- és a hidroxilcsoporton keresztül (a másik terminális karboxilát protonálva van), akkor a PSer nemkoordinálódó NH₃⁺-csoportja és a citrát nemkoordinálódó COO⁻-csoportja között fellépő elektrosztatikus vonzás stabilizálja a komplexet. A citrát esetén a feltételezett kötésmód öttagú kelátgyűrűt eredményez (hasonlóképpen koordinálódik a tejsav is a kétszeresen protonált vegyesligandumú komplexében), amely stabilabb mint az a hattagú kelátgyűrű, amely a két terminális karboxilát egyidejű koordinációjával jönne létre. Ebben a rendszerben az AlABH₂ részecske képződése kedvezményezett, mivel az AlAH + AlBH = AlABH₂ + Al folyamathoz tartozó Δlg β érték: Δlg β = lg β_{AlABH₂} - lg β_{AlAH} - lg β_{AlBH} = 26,12 - 14,88 - 10,18 = 1,06. Kétfogú ligandumokkal a vegyes ligandumú komplexek képződése akkor kedvezményezett, ha Δlg β > -0,4 oktaéderes komplex esetén vagy Δlg β > -0,6 tetraéderes komplex esetén.¹³² Az egymagvú 1:1 Al(III)–citrát komplexek analógiájára a citrát koordinálódhat háromfogú ligandumként is, az egyik terminális karboxilát-, a centrális karboxilát- és a hidroxilcsoport részvételével. Az így kialakuló (5+6)-tagú csatolt kelát stabilabb, mint a kétfogú koordináció során létrejövő öttagú kelátgyűrű, ezért feltehetően a háromfogú kötésmód a valószínűbb. A pH emelésével ez a részecske 3,76-os és 5,71-es pK-val két lépésben két protont veszít, amely nagy valószínűséggel a citrát hidroxilcsoportjáról, illetve a nemkötő karboxilcsoportjáról disszociál. Így a képződő komplexek Al(HAHL₁)(BH), illetve Al(AHL₁)(BH) képlettel jellemezhetők.

A „0 időpillanatban” és egyensúlyi állapotban számolt eloszlásgörbéket a 32. ábra szemlélteti.

1:1:1 fém–ligandum aránynál az összekeverés pillanatában a citráto törzskomplexek dominálnak a rendszerben, de gyengén savas pH-tartományban a vegyes ligandumú komplexek is jelentős mennyiségben képződnek. Az Al(III)–PSer törzskomplexek képződése gyakorlatilag elhanyagolható. Ha a PSer feleslegben van, a



32. ábra.

Részecskeeloszlási görbék az Al(III)–citrát–L-foszfoserin rendszerben: I.) 1:1:1 fém–ligandum arányoknál, a) a komponensek összekeverésének pillanatában (0 időpillanatban), b) egyensúlyi állapotban, $c_{\text{Al}} = 0,002 \text{ mol dm}^{-3}$; II.) 1:1:4 fém–ligandum arányoknál, c) a komponensek összekeverésének pillanatában (0 időpillanatban), d) egyensúlyi állapotban, $c_{\text{Al}} = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$.

vegyes ligandumú komplexek képződése válik leginkább kedvezményezetté, az Al(III)–PSer komplexek is nagyobb mértékben képződnek, de a citráto törzskomplexekhez képest még mindig sokkal kisebb mennyiségben. A rendszerben lejátszódó lassú oligomerizációs folyamatok során, mind 1:1:1 mind 1:1:4 fém–ligandum arányoknál a vegyes ligandumú részecskék és a citráto törzskomplexek mennyisége csökken, az egyensúlyban 4–8 pH-tartományban a hárommagvú citrátokomplex a domináns részecske. 1:1:4 fém–ligandum aránynál savas pH-n még jelentős mértékben képződnek a vegyes ligandumú komplexek, pH > 5 felett azonban a citrát kezdi kiszorítani a PSer-t az Al(III) koordinációs szférájából az oligomer $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ részecske képződése révén. Egyensúlyi állapotban az AlAB komplex jelentéktelen mennyiségben van jelen.

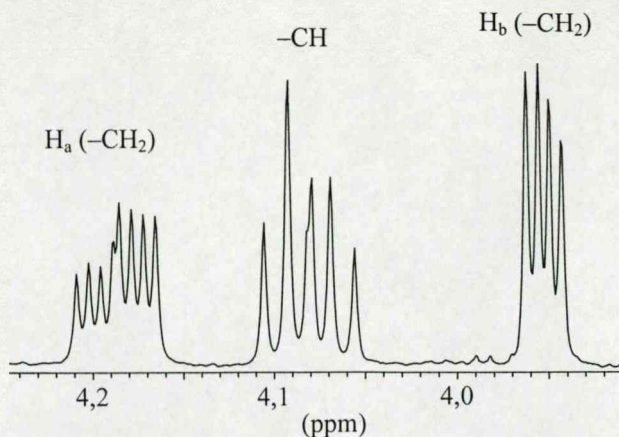
Ennek alapján elmondhatjuk, hogy ezredmólos koncentrációk esetén fiziológiás pH-n a citrát hatékonyabb az Al(III) megkötésében, mint a foszforilált aminosavak bázikus foszfátcsoportja. Fiziológiás körülmények között, amikor az Al(III) μmol mennyiségben van jelen, a hárommagvú Al(III)–citrát komplex képződése valószínűleg nem kedvezményezett és a ligandumok egymáshoz viszonyított Al(III)-affinitása eltérhet a modellkörülmények között mérttől.

Ezt látszanak igazolni Fasman és munkatársainak^{4,133} eredményei, akik azt találták, hogy a citrát nincs hatással a foszforilált NF-proteinek Al(III)-indukálta konformációváltozásaira, azaz, nem képes kiszorítani a protein foszfátcsoportját az Al(III) koordinációs szférájából és ezzel megszüntetni a fehérjeláncok között létrejövő Al(III)hidakat.

6.4.2. NMR-spektroszkópiás mérések

A vegyes ligandumú komplexek képződésének igazolására ^{31}P és ^1H NMR-spektroszkópiás méréseket végeztünk.

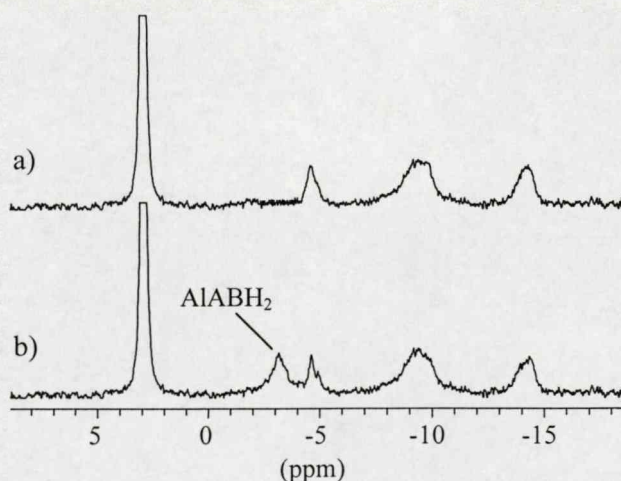
A PSer ^1H NMR-spektrumában három jelcsoportot figyelhetünk meg (33. ábra). A jelek azonosítását ^1H COSY NMR-segítségével végeztük. A PSer metilén csoportjának két protonja mágnesesen nem ekvivalens, így két külön jelet adnak: a $\text{H}_\text{a}(\text{CH}_2)$ 4,19 ppm-nél, a $\text{H}_\text{b}(\text{CH}_2)$ 3,95 ppm-nél jelentkezik. A középső, 4,07 ppm-nél levő jelcsoport a CH-protonhoz tartozik. Ha P–H csatolást telítjük, a $\text{H}_\text{a}(\text{CH}_2)$ és H(CH) jelek szerkezete egyszerűsödik, mivel a P-al való csatolásuk megszűnik; a $\text{H}_\text{b}(\text{CH}_2)$ jelének szerkezete viszont nem változik, tehát ez a proton nem csatol a foszfátcsoport P-atomjával. A



33. ábra Az L-foszfoserin ^1H NMR-spektruma pH ~ 7 -nél, 500 MHz-es készüléken.

$\text{H}_b(\text{CH}_2)$ a $\text{H}_a(\text{CH}_2)$ és $\text{H}(\text{CH})$ protonokkal csatol, ezért jele egy dublett dublettje. A $\text{H}_a(\text{CH}_2)$ proton jele a $\text{H}_b(\text{CH}_2)$, $\text{H}(\text{CH})$ és P-al való csatolás következtében 8-jelre hasad (dublett dublettjének dublettje). Hasonló felhasadás várható a $\text{H}(\text{CH})$ esetében is, mivel azonban a $J_{\text{P-H}} = J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_b(\text{CH}_2)}$ így a 8 jel közül kettő egybeesik. A csatolási állandók értékei a következők: $J_{\text{P-H}} = 6,6 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_a(\text{CH}_2)} = 11,7 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_b(\text{CH}_2)} = 6,6 \text{ Hz}$, $J_{\text{H}_a(\text{CH}_2)-\text{H}_b(\text{CH}_2)} = 3,3 \text{ Hz}$.

Az Az $\text{Al}(\text{III})$ –citrát–PSer egyensúlyi oldataiban felvett ^{31}P NMR-spektrumok is igazolják a vegyes ligandumú komplexek képződését. A 34. ábrán szemléltetésképpen az $\text{Al}(\text{III})$ –PSer 1:4 és az Az $\text{Al}(\text{III})$ –citrát–PSer 1:1:4 arányú rendszerekben, $0,025 \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{Al}(\text{III})$ -koncentrációnál, pH $\sim 2,3$ -n mért ^{31}P NMR-spektrumok láthatók.



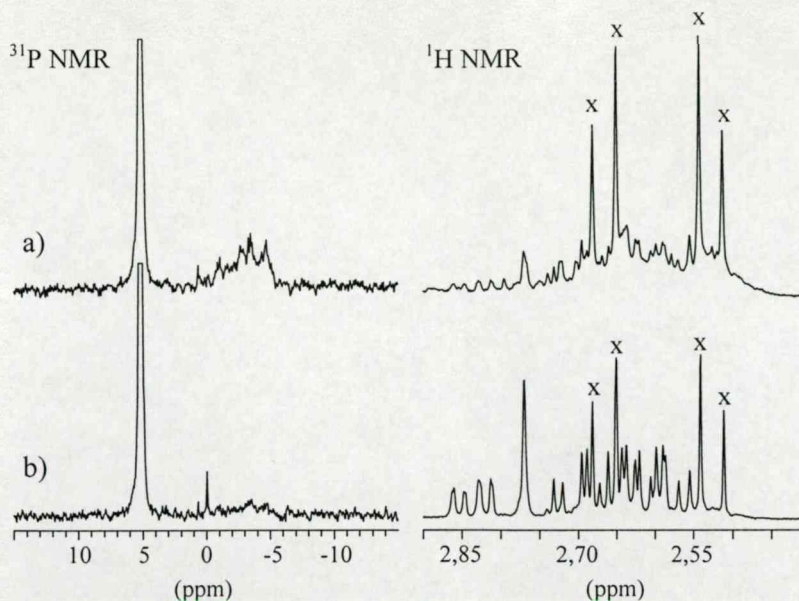
34. ábra ^{31}P NMR-spektrumok a) $\text{Al}(\text{III})$ –L-foszfoserin 1:4 és b) $\text{Al}(\text{III})$ –citrát–L-foszfoserin 1:1:4 fém–ligandum arányú, pH $\sim 2,3$ -as oldataiban. $c_{\text{Al}} = 0,025$, $c_{\text{citrát}} = 0,025$, $c_{\text{PSer}} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$

13. táblázat Az Al(III)–citrát–L-foszfoserin rendszer ^{31}P NMR-adatai. $c_{\text{Al}} = 0,0025$, $c_{\text{PSer}} = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$

pH	δ (ppm)	Hozzárendelés
2,0	2,82	szabad ligandum
	–3,0	AlABH ₂
	–4,1	AlAH (egyfogú foszfát)
	–9,3	AlAH (kétfogú foszfát)
3,0	2,95	szabad ligandum
	–2,77	AlA (háromfogú)
	–3,2	AlABH ₂ + AlABH
	–9,4	AlAH + AlA (kétfogú)
4,06	3,09	szabad ligandum
	–3,4	AlABH ₂ + AlABH
5,05	3,43	szabad ligandum
	–3,2	AlABH ₂ + AlABH
6,0	5,69	szabad ligandum
7,0	6,85	szabad ligandum
8,0	6,93	szabad ligandum

Az Al(III)–PSer törzsrendszerrel való jobb összehasonlítás érdekében a pH-függést a törzsrendszerrel alkalmazott koncentrációknál végeztük (13. táblázat). A savas pH-jú minták ^{31}P NMR-spektrumában a szabad ligandum valamint az Al(III)–PSer törzskomplexek jelei mellett, –3,0 – –3,4 ppm-nél megjelenő jelet a vegyes ligandumú komplexekhez rendeltük. 3–5 pH-tartományban az AlABH₂ és AlABH komplexek képződnek. A PSer törzskomplexekhez hasonlóan a két vegyes ligandumú komplex között is gyors ligandumcsere folyamatok játszódnak le, ezért adnak egy jelet a ^{31}P NMR-spektrumban.

pH ~ 6 felett ^{31}P NMR-spektrumokban csak a szabad ligandum jelei láthatók. Ez alátámasztani látszik a potenciometriás eredményeket, melyek alapján ebben a pH-tartományban 90%-ban a hárommagvú citrátokomplex képződik. Mivel azonban semleges és gyengén bázikus oldatokban az Al(III)–PSer törzsrendszerben sem tudtuk kimutatni a komplexek jeleit, az ellentmondások tisztázása céljából – kihasználva azt, hogy a citrát jelenléte miatt magasabb pH-n nagyobb koncentrációknál sem válik ki csapadék – pH ~ 7-nél töményebb oldatban is elvégeztük az NMR-méréseket. A 35. ábrán ugyanabban a mintában mért ^1H és ^{31}P NMR-spektrumok és azok időfüggése látható. A ^1H NMR-



35. ábra Az Al(III)–citrát–L-foszfoserint 1:1:4 fém–ligandum arányú oldatában, pH ~ 7,2-nél mért ^{31}P NMR és ^1H NMR-spektrumok a) frissen készített oldatban, b) egyensúlyi állapotban (2 nap múlva). $c_{\text{Al}} = 0,04$, $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{foszfát}} = 0,16 \text{ mol dm}^{-3}$
Jelölések: (x) szabad citrát

spektrumoknak csak azt a tartományát mutatom be, ahol a citrátokomplexek jelei jelentkeznek, kisebb tereknél ugyanis csak a szabad PSer jeleit tudtuk kimutatni, amelyek nem mutatnak jelentős időbeni változást. A friss oldatban felvett ^1H NMR-spektrumban a szabad citrát AB kvartettje dominál, de kis mennyiségben megjelennek a hárommagvú citrátokomplex jelei is. Párhuzamosan, a ^{31}P NMR-spektrumban a 0–5 ppm tartományban egy nagyon széles jelet mutattunk ki. Mivel ebben a kémiai eltolódás tartományban jelentkeznek a vegyes ligandumú komplexek és a háromfogú koordinációjú PSer törzskomplexek jelei, az előbbi széles jel feltehetően az AlAB és AlBH₂ részecskék átfedő jeleiként azonosítható. Az egyensúlyi spektrumban ez a széles jel alig észlelhető, az ^1H NMR-spektrumban pedig döntően a hárommagvú citrátokomplex jellegzetes protonjelei vannak jelen. Ez alátámasztja a potenciometriás eredményeinket, mely szerint semleges pH-n a citrát kiszorítja a PSer-t törzskomplexeiből, de főként az AlAB részecskéből, a hárommagvú Al(III)–citrát komplex képződése közben. Mivel az Al(III) és a citromsav 1:1 arányban van az oldatban, a szabad citrát jelenléte, mind a friss oldatban, mind pedig egyensúlyi állapotban arra utal, hogy az ezzel ekvivalens mennyiségű Al(III) PSer-hez kötötten fordul elő. Ez ismét egy közvetett bizonyíték a PSer törzskomplexek képződésére, amelyeket az Al(III)–PSer rendszerben nem tudtunk ezen a pH-n NMR-spektroszkópián kimutatni.

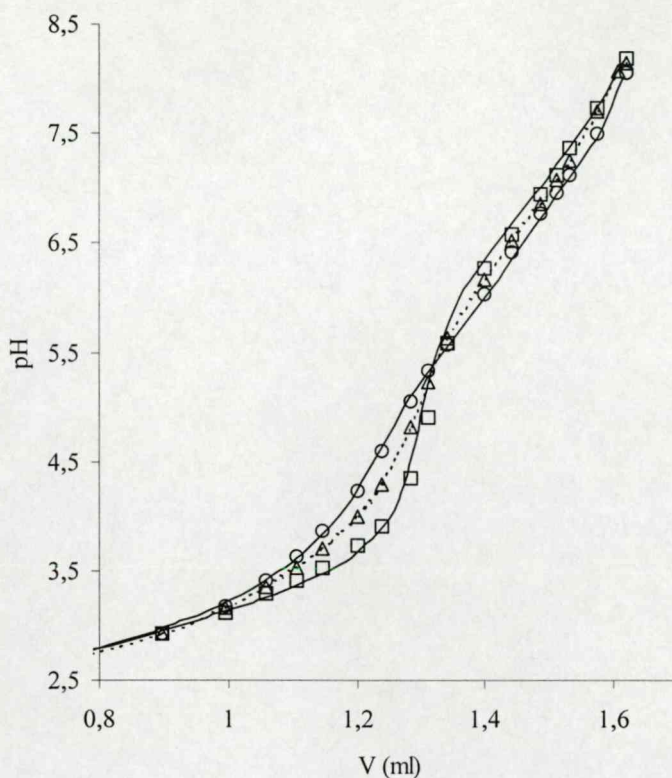
6.5. Al(III)–citrát–szervetlen monofoszfát vegyes ligandumú rendszer

Az Al(III)–citrát(A)–szervetlen monofoszfát(B) (a továbbiakban foszfát) vegyes ligandumú rendszer vizsgálatának célja, hogy kvantitatívan jellemezni tudjuk a két kismolekula egymáshoz viszonyított Al(III)kötő képességét. Ezek az eredmények a vérszérum Al(III)-speciációjának tisztázására szolgálhatnak.

6.5.1. Potenciometriás vizsgálatok

Az Al(III)–citrát–foszfát vegyes ligandumú rendszer vizsgálatához is szükségesek a megfelelő törzskomplexek stabilitási szorzatai, valamint a ligandumok protonálódási állandói. A citrátot és annak Al(III)komplexeit illetően a 6.3. fejezetben ismertetett eredményeket használtuk fel. A foszforsavnak meghatároztuk a protonálódási állandóit: 11,46, 6,63 és 1,83. Figyelembe véve a kísérleti körülmények különbözőségeit (hőmérséklet, ionerősség) ezek az értékek jó egyezést mutatnak az irodalomban korábban közöltekkel: 1,96; 6,61; 11,39 ($I = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$, $t = 37 \text{ }^{\circ}\text{C}$)¹³, 2,00; 6,68; 11,54 ($I = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$, $t = 37 \text{ }^{\circ}\text{C}$)¹¹, 1,20; 6,51; 11,80 ($I = 0,15 \text{ mol dm}^{-3}$, $t = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$).⁹⁴ Az Al(III)–foszfát törzskomplexek tekintetében irodalmi adatokra támaszkodtunk.

Az Al(III)–citrát törzs- és az Al(III)–citrát–L-foszfoszerin vegyes ligandumú rendszerekhez hasonlóan az Al(III)–citrát–foszfát rendszerben is számolnunk kellett a lassú oligomerizációs folyamatokkal, amelyek semleges és gyengén savas pH-tartományban játszódnak le. Ezért a potenciometriás méréseket ebben az esetben is egyedi minták készítésével végeztük, 1:1:1 és 1:1:4 Al(III)–citrát–foszfát arányoknál. Minden minta esetén 30 órát vártunk az egyensúly beállítására. A vizsgált pH-tartományban (2–8,2), az alkalmazott fém–ligandum arányoknál csapadékkiválást nem tapasztaltunk. Az Al(III)–foszfát törzsrendszerben, az alkalmazott koncentrációtól függően már $\text{pH} \sim 4$ alatt kiválik az alumínium-foszfát csapadék, citrát jelenlétében azonban a foszfát semleges és gyengén lúgos pH-tartományban is oldatban marad. A rendszerben végzett időfüggő pH-metriás mérések azt mutatják, hogy a pH-változás mértéke az első órában lényegesen kisebb mint az előzőleg vizsgált két rendszer esetében, úgy 1:1:1 mint 1:1:4 Al(III)–citrát–foszfát arányoknál. Az "inflexióspont" $\text{pH} \sim 5,6$ -nál van, ezen érték alatt a minták pH-ja időben csökken, e felett pedig növekszik. A pH-változás első 3 percének adataiból 0-ra extrapolálva kiszámoltuk, a rendszer pH-ját a "0 időpillanatban".



33. ábra Az Al(III)–citrát–foszfát 1:1:1 molarányú rendszerében mért titrálási görbék, a komponensek összekeverésétől számítva (O) a 0 időpillanatban, (Δ) 40 perc, (□) 30 óra (egyensúlyi állapot) elteltével. $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$

Ha az ugyanazon időpillanathoz tartozó titrálási pontokat összekötjük, akkor a 33. ábrán látható titrálási görbéket kapjuk. Az ábra az 1:1:1 fém–ligandum aránynál mért adatok egy részét tartalmazza. Jelentős időbeni változás a 3–5,6 pH-tartományban jelentkezik, amely megegyezik az $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ hárommagvú citrátokomplex képződési tartományával. Magasabb pH-kon, ellentétben a korábban vizsgált rendszerekkel, a potenciometriás adatok nem utalnak jelentős időbeli változásra. A 30 órás titrálási görbe az egyensúlyi állapotot jelenti. Az Al(III)–citrát–foszfát 1:1:4 arányú rendszerében az időbeni változások mértéke kisebb, mivel a nagy foszfátfelesleg bizonyos mértékben visszاسzorítja az oligomerizációs folyamatokat és a szabad foszfát protonálódási folyamatai részben elfedik az oligomerizációt kísérő pH-hatást.

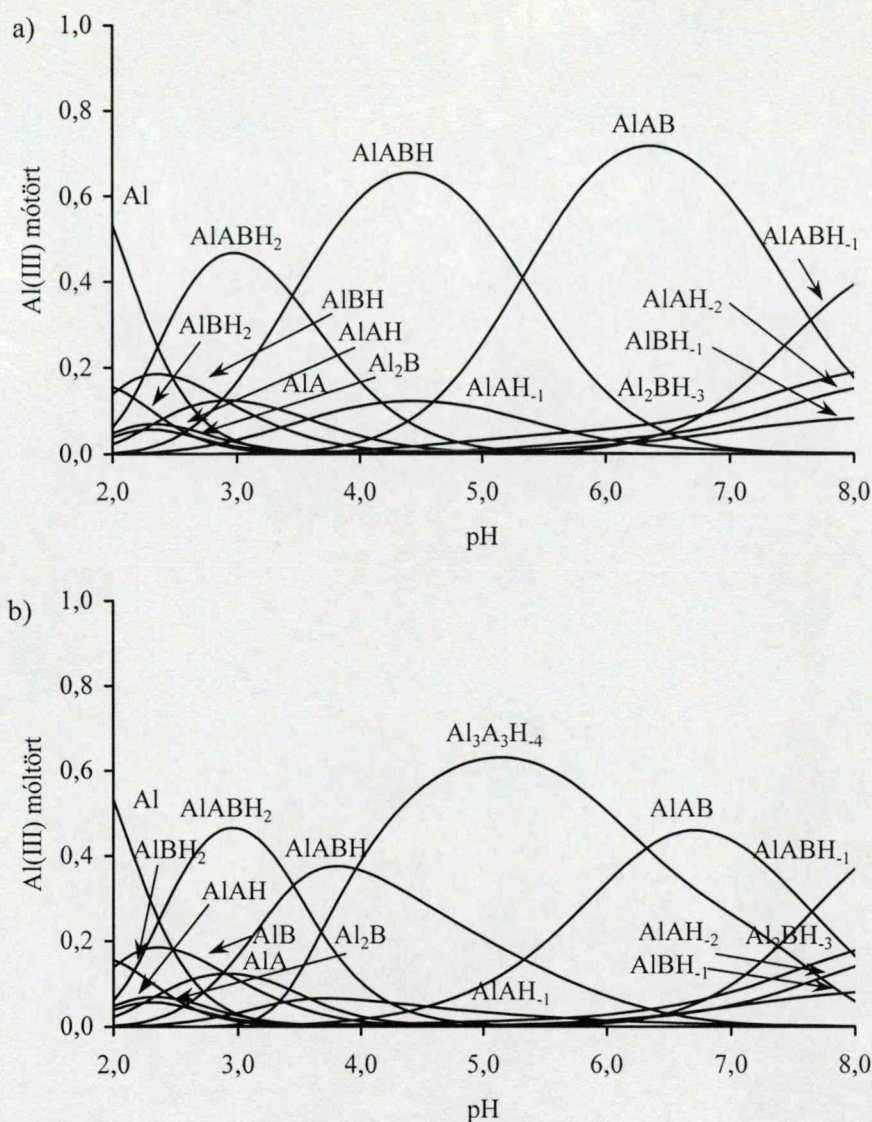
Az egyensúlyi görbék kiértékelésénél a 6.3. fejezetben meghatározott Al(III)–citrát törzskomplexeket és azok stabilitási szorzatait ismertnek tekintettük. Az Al(III)–foszfát törzskomplexek esetében az Atkári¹³³ által meghatározott részecskeeloszlási modellt vettük alapul. Ez a modell azonban csak savas pH-tartományban (2–4) képződő részecskékről szolgáltat biztos információt, mivel a képződő AlPO_4 csapadék nem teszi lehetővé nagyobb

14. táblázat Az Al(III)–foszfát törzs- és Al(III)–citrát–foszfát vegyes ligandumú komplexek stabilitási szorzatainak logaritmusai. $I = 0,2 \text{ mol dm}^{-3} \text{ KCl}$, $t = 25 \pm 0,01^\circ\text{C}$

	$\lg \beta$
AlBH ₂	19,65
AlBH	17,60
AlB	13,50
AlBH ₁	8,37
Al ₂ B	17,42
Al ₂ BH ₂	11,05
Al ₂ BH ₃	6,9
AlABH ₂	28,46 (4)
AlABH	25,02 (7)
AlAB	19,68 (6)
AlABH ₁	12,03 (7)
illesztési paraméter ($\Delta \text{ cm}^3 \cdot 10^3$)	8,33

pH-n a potenciometriás vizsgálatokat. Semleges és gyengén bázikus pH-tartományban a lineáris szabad entalpia összefüggéssel meghatározott AlB ($\lg \beta = 13,50$) és AlBH₁ ($\lg \beta = 7,2$) komplexeket vettük figyelembe.⁹³ A citráto- és foszfáto- törzskomplexek mellett vegyes ligandumú komplexeket feltételeztünk. Ezekkel az állandókkal nyert részecskeeloszlási görbék azt mutatták, hogy fiziológiás pH-n az AlBH₁ részecske elhanyagolható mennyiségben képződik. Ennek ellentmondani látszanak az ezen a pH-n felvett NMR-spektrumok (lásd később). Ebből arra következtettünk, hogy a lineáris szabad energia összefüggéssel számolt stabilitási állandó alá van becsülve. Harris szintén a lineáris szabad entalpia összefüggést alkalmazva egy nagyságrenddel nagyobb stabilitási állandót számolt erre a részecskére.⁸ Ha a modellszámítások során a Harris által az AlBH₁ részecskére kapott $\lg \beta = 8,37$ állandót használtuk, az illesztés is javult. A "0 időpillanathoz" tartozó titrálási görbe viszonylag jól leírható volt, ha a hárommagvú citrátokomplex képződését nem vettük figyelembe. A titrálási görbét legjobban leíró modellt a 14. táblázatban tüntettem fel. Az ezzel a modellel számolt koncentrációeloszlási görbét a 34. ábra szemlélteti.

A vegyes ligandumú komplexek közül pH ~ 2-n az AlABH₂ képződik, majd nagyobb pH-n ennek deprotonált formái, az AlABH, AlAB és AlABH₁ komplexek vannak jelen. Az AlABH₂ vegyes ligandumú komplexben valószínűleg mindkét ligandum egyszeresen protonált formában koordinálódik az Al(III)-hoz. Mivel ez a vegyes ligandumú részecske az AlAH komplexszel párhuzamosan képződik, az AlAH



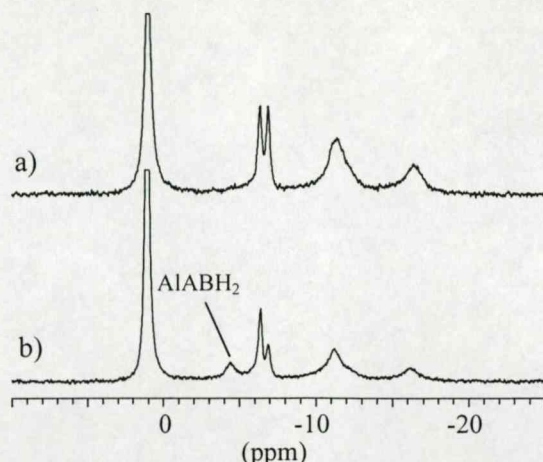
34. ábra Részecskeeloszlási görbék az 1:1:4 Al(III)–citrát–szervetlen foszfát arányú rendszerben
a) a reaktánsok összekeverésének pillanatában, b) egyensúlyi állapotban. $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$

citrátokomplex analógiájára az AlABH_2 komplexben a citrát háromfogú koordinációja valószínűsíthető, az egyik terminális karboxilát-, centrális karboxilát- és a protonált hidroxilcsoport részvételével. Az egyszeresen protonált foszfát akár egy, akár kétfogúként is koordinálódhat, kötési izomereket képezve. A vegyes ligandumú komplexekben a további deprotonálódás valószínűleg a citrátmolekula koordinálódó hidroxilcsoportján, majd a nem koordinálódó karboxilcsoportján játszódik le, míg végül az AlABH_{-1} -ben vagy a foszfátcsoport deprotonálódik, vagy egy vízmolekula ionizálódik az Al(III) koordinációs szférájából.

A 34. ábra jól szemlélteti a részecskeeloszlás időfüggését is, Al(III)–citrát–foszfát 1:1:4 aránynál. Az ábrán látható, hogy döntően a vegyes ligandumú komplexek vannak jelen az összekeverés pillanatától egészen az egyensúly beálltaig. Jelentős változást az Al(III)–citrát hárommagvú komplex mutat, lassan képződve az egymagvú Al(III)–citrát és a vegyes ligandumú komplexek rovására. Fiziológias pH-n, az AlAB, AlABH₁ vegyes ligandumú komplexek mellett, képződnek a foszfát törzskomplexek, AlBH₁ és Al₂BH₃ valamint az AlAH₂ és az Al₃A₃H₄ citrátokomplexek. Citrát távollétében a foszfát a termodinamikai egyensúly állapotában jelentős mértékben változó összetételű Al(PO₄)_f(OH)_{3(1-f)} (az *f* értéke függ a foszfátkoncentrációtól és a pH-tól) Al(III)-hidroxofoszfát csapadék formájában van jelen.¹³⁴ A citrát jelenlétében feltételezetten képződő AlBH₁ és Al₂BH₃ oldható foszfátokomplexek mellett az Al(III)–hidroxid-foszfát részben oligomerizálódva (az Al₂BH₃ ennek alapegysége lehet) elektrosztatikus és hidrogénhid kölcsönhatásokon keresztül külső szféráson kötődhet a citrátokomplexekhez. Ez összhangban van azokkal a tapasztalatokkal, hogy a potenciometria több vegyes ligandumú komplex képződését mutatja, mint amennyire az NMR-spektrumok utalnak (lásd később).

6.5.2. NMR-spektroszkópiás mérések

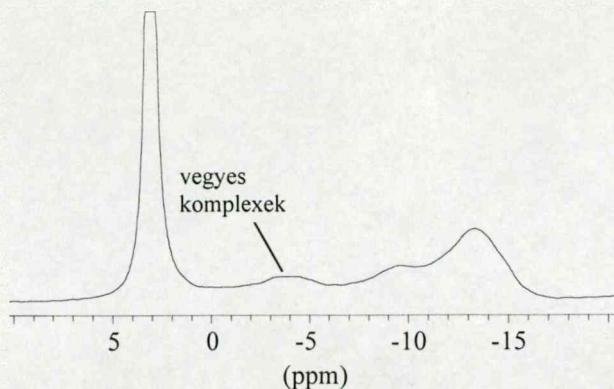
A vegyes ligandumú komplexek képződését NMR-spektroszkópiás módszerrel is kimutattuk. A 35a. ábrán a pH ~ 2,2-nél, Al(III)-ot és foszfátot 1:2 arányban tartalmazó oldatban mért ³¹P NMR-spektrum látható. Az 1,03 ppm-nél levő keskeny intenzív jel a szabad foszfát jele, míg a többi az Al(III)-hoz kötött foszfáthoz rendelhető. A komplexben kötött foszfát jeleinek azonosítását illetően az irodalom nem szolgáltat egyértelmű választ. Akitt és munkatársai^{96,97} különböző protonáltságú egymagvú 1:1 és 1:2 komplexekhez valamint egy többmagvú komplexhez rendelték a spektrumban észlelt jeleket. Feng és Waki⁹⁵ több kötési izomer jelenlétét feltételezte. A szerzők abban megegyeznek, hogy ligandumfelesleg esetén a szabad ligandum jeléhez legközelebb eső jel (– 6,34 ppm-nél), egy 1:2 fém–ligandum arányú komplexhez rendelhető. Ezt alátámasztja a nagyobb ligandumfeleslegnél (1:4 fém–ligandum arány) mért spektrum, amelyben a –6,34 ppm-nél levő jel intenzitása megnő a többi jeléhez képest. Az Al(III)–citrát–foszfát rendszerben, ahol a citráto törzskomplexek képződése következtében nagyobb foszfátfelesleg alakul ki, szintén tapasztalható a jel intenzitásának növekedése (35b. ábra). Akitt és munkatársai⁹⁷ savasabb pH-n is kimutatták ezt a jelet, amely feltehetően egy többszörösen protonált 1:2



35. ábra ^{31}P NMR spektrumok a) Al(III)–foszfát 1:2 és b) Al(III)–citrát–foszfát 1:1:2 arányú, pH ~ 2,2-es oldataiban. $c_{\text{Al}} = 0,04$, $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{foszfát}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$

komplexhez rendelhető. A szerzők egy AlB_2H_6 komplex jelenlétét feltételezték, amelynek képződése, különösképpen pH ~ 2-n erősen megkérdőjelezhető. Ezt a savas pH-n képződő 1:2 komplexet potenciometriásan még senki nem mutatta ki. Feng és Waki⁹⁵ szerint — az Al(III)–foszfinát rendszer analógiájára — az NMR-spektrumokban észlelt Al(III)–foszfát komplexek kötésmódja a szabad ligandum jelétől a nagyobb terek felé távolodva a következő sorrendben változik: egyfogú, kétfogú és hídszerű koordináció. Ennek alapján, valamint figyelembe véve az Al(III)–foszforilált aminosavak (6.2.2. fejezet) és az Al(III)–glukóz-6-foszfát¹²¹ rendszerekben kapott eredményeinek és a potenciometriás eredményeket, az Al(III)–foszfát rendszerben kapott jeleket a következőképpen azonosítottuk: szabad foszfát: 1,03 ppm; egyfogú foszfát koordinációjú AlBH_2 és AlBH komplexek: -6,91 ppm; kétfogú foszfátkoordinációjú AlBH komplex és kétmagvú foszfát és/vagy hidroxohidat tartalmazó Al_2B : -11,42 ppm (két átfedő jelre utal a jelalak). A -16,42 ppm-nél megjelenő jelet, amelyet 0,025 mol dm⁻³ koncentrációjú oldatban Feng és Waki⁹⁵ nem tudtak kimutatni, tízszer töményebb oldatokban Akitt és munkatársai⁹⁷ észlelték és egy további, két- vagy hárommagvú komplexhez rendelték. Ez a komplex, hasonlóan az Al(III)–foszforilált aminosav rendszerekben képződő többmagvú komplexhez, a potenciometriás méréseknél alkalmazott hígabb oldatokban valószínűleg nem képződik.

A citrátot is tartalmazó oldatban a fentebb tárgyalt jelek mellett egy új jel jelenik meg -4,41 ppm-nél (35b. ábra), amelyet pH ~ 2,2-nél a vegyes ligandumú AlABH_2

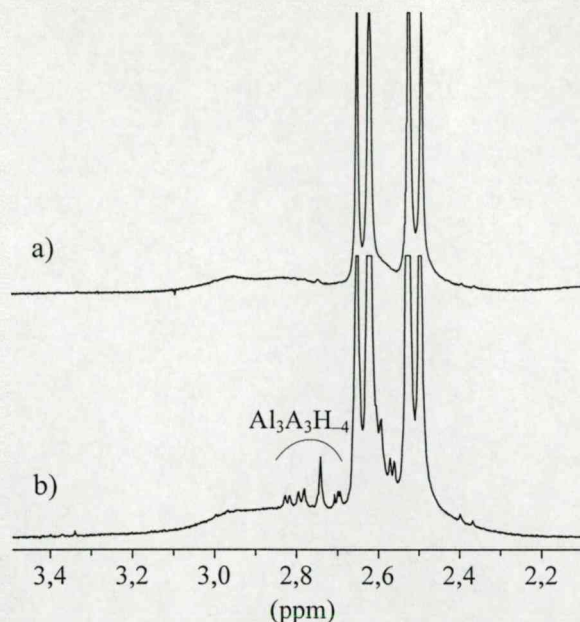


36. ábra Az Al(III)–citrát–foszfát 1:1:2 arányú rendszer pH ~ 7,4-nél mért ^{31}P NMR-spektruma az egyensúlyi állapot elérése után. $c_{\text{Al}} = 0,04$, $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{foszfát}} = 0,08$ mol dm $^{-3}$

komplexhez rendelhetünk. A kémiai eltolódás alapján ebben a komplexben a foszfát egyfogúként koordinálódik.

A pH emelésével a vegyes ligandumú komplexek jele a kisebb terek felé tolódik, amely arra utal, hogy a különböző deprotonáltságú vegyes ligandumú komplexek között gyors protoncsere-folyamatok játszódnak le. pH ~ 3-nál az AlABH és AlAB komplexek okozta jel, valamint az egyfogú foszfátkoordinációjú AlBH komplex jele egyértelműen azonosítható, de kisebb mennyiségben az Al₂B részecske is képződik. A pH emelésével a spektrumok felbontása romlik, a jelek kiszélesednek és összemosódnak, ezért nehezen azonosíthatók. Jól mutatja ezt a pH ~ 7,4-nél felvett spektrum (36. ábra), amelyben a –9,3 és –13,9 ppm-nél levő két nagyon széles jelet az egymagvú 1:1 illetve a kétmagvú foszfátotörzskomplexekhez rendeltük. Mivel ezen a pH-n már nem állnak rendelkezésre az Al(III)–foszfát rendszerben mért spektrumok, a jeleket relatív intenzitásuk alapján, a potenciometriás eredmények figyelembe vételével próbáltuk azonosítani. A jelek alakja azonban több komplex jelenlétére is utalhat, amelyek valószínűleg kötési izomerek lehetnek, beleértve esetleg a vegyes ligandumú komplexek kétfogú foszfát koordinációjú izomerét illetve a citrátokomplexekkel feltételezetten képződő külső szférás komplexeket is. A spektrumban az egyfogú foszfát koordinációjú AlAB és AlABH₁ vegyes ligandumú komplexek jele elég egyértelműen azonosítható –3,68 ppm-nél.

Ugyanezen minták ^1H NMR-spektrumában csak a szabad citrát AB kvartettje azonosítható egyértelműen. A többi részecske jele egy nagyon széles jellé olvad össze 3,0–2,4 ppm tartományban, valószínűleg a köztük lejátszódó gyors cserefolyamatok következtében. Az alacsony hőmérsékleten (5–10 °C) végzett ^1H NMR-mérések sem vezettek értékelhető spektrumokhoz. Azokon a pH-kon, ahol képződik, az Al₃A₃H₄



37. ábra ^1H NMR-spektrumok a) frissen készített 1:1:2 molarányú Al(III) –citrát–foszfát oldatban b) egyensúlyi állapotban. $\text{pH} \sim 7,4$, $c_{\text{Al}} = 0,04$, $c_{\text{citrát}} = 0,04$, $c_{\text{foszfát}} = 0,08 \text{ mol dm}^{-3}$

citrátokomplex jele egyértelműen kimutatható, mivel merev szerkezete miatt a ligandum és proton cserefolyamatai lassúak az NMR időskálán¹²⁵. Szemléltetésképpen a 37a. ábrán a $\text{pH} \sim 7$ -nél mért ^1H NMR-spektrum látható. Az ábra jól mutatja a hárommagvú citrátokomplex lassú időbeni kialakulását is.

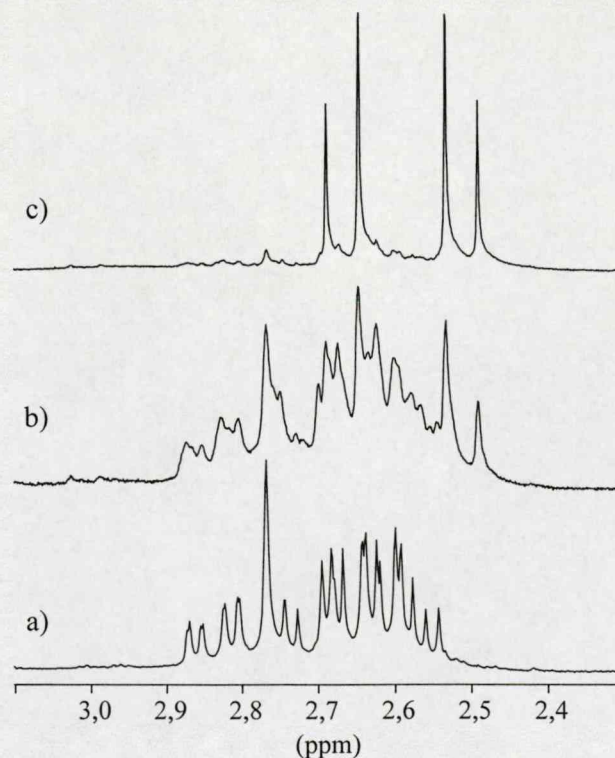
Annak eldöntésére, hogy semleges pH -n döntően milyen formában van jelen az Al(III) megpróbáltunk némi mennyiségi információt nyerni úgy az ^1H NMR- mint a ^{31}P NMR-spektrumokból. A $\text{pH} \sim 7,4$ oldathoz ismert mennyiségű dioxánt adtunk és ehhez viszonyítva kiszámoltuk (a dekonvolúció módszerét alkalmazva) a szabad citrát mennyiségét a ^1H NMR-spektrumból. Mivel az oldatokban az Al(III) –citrát arány 1:1 és, a potenciometria alapján, a rendszerben kizárólag 1:1 összetételű Al(III) –citrát törzskomplexek képződnek a szabad citráttal ekvivalens mennyiségű Al(III) csak foszfáthoz kötötten fordul elő. A számolt értékek azt mutatják, hogy a citrátnak körülbelül 43%-a van szabad formában és 57%-a komplexben kötve (citrát törzs- és egyes ligandumú komplexekhez) ami azt jelenti, hogy az Al(III) -nak 43%-a van csak foszfáthoz kötötten. A ^{31}P NMR-spektrumban a jelek külön-külön történő integrálása, azok széles volta következtében, igen megbízhatatlan eredményt ad, ezért a komplexben kötött foszfát jeleit együtt integráltuk. Eredményül azt kaptuk, hogy a foszfát $\sim 65\%$ -a szabad formában, 35%-a pedig kötött formában található. Mivel az oldatban az Al(III) –foszfát arány 1:2 volt, a fenti eredmény azt jelenti, hogy az Al(III) -nak mintegy 70%-a van foszfáttartalmú

részecskékben kötve, beleértve a vegyes ligandumú komplexeket is. A két spektrumból kapott eredményeket összevetve: az Al(III)-nak 43%-a van csak foszfáthoz, 30%-a csak citráthoz és 27%-a vegyes ligandumú komplexekben kötve.

Ezen eredmények, bár az Al(III)–citrát–foszfát rendszer teljes kvantitatív részecskeeloszlását nem tudtuk megadni, azt mutatják, hogy az NMR-méréseink körülményei mellett a két ligandum közel azonos mértékben köti a fémiont.

6.5.3. A hárommagvú citrátokomplex viselkedése foszfát jelenlétében

Mivel az Al(III)–citrát speciáció egyik fő meghatározója a hárommagvú Al(III)–citrát komplex, kíváncsiak voltunk arra, hogy mi történik, ezzel a stabil részecskével foszfát jelenlétében. A hárommagvú komplex oldatához (pH ~ 7,4) kétszeres feleslegben foszfátot adtunk és ^1H NMR-el követtük az időbeni változást. A 38a. ábrán a hárommagvú részecske spektruma látható, a másik két spektrum pedig már a foszfát jelenlétében végbemenő változásokat szemlélteti. Láthatjuk, ahogy időben a foszfát megbontja az



38. ábra Az $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ komplex viselkedése foszfát jelenlétében, pH ~ 7,4-nél: a) az $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ komplex ^1H NMR spektruma, b) foszfát hozzáadása után 10 órával, c) 5 nappal (egyensúlyi állapotban) mért ^1H NMR spektrumok. $c_{\text{komplex}} = 0,1$ $c_{\text{foszfát}} = 0,6 \text{ mol dm}^{-3}$

egyébként nagy stabilitású hárommagvú részecske szerkezetét, és az egyensúlyi spektrumban megjelenik a szabad citrát AB kvartettje, akárcsak az előző esetben, amikor a három komponenst egyszerre kevertük össze.

A fenti oldatban végbemenő változásokat ^{31}P NMR-spektroszkópiával is követtük. A szabad foszfát jele mellett, $-1,77$ ppm-nél egy keskeny jel jelenik meg, amelynek intenzitása időben csökken, míg az egyensúlyi állapotban teljesen eltűnik. Ezt a jelet egy olyan, valószínűleg vegyes ligandumú, komplexhez rendelhetjük, amely a hárommagvú részecske átalakulása során köztitermékként képződik. A köztitermék jelei a ^{13}C NMR-spektrumból is jól azonosíthatók. Foszfát hatására a hárommagvú részecske jelei gyakorlatilag megduplázódnak. Összesen 14, a köztitermékhez rendelhető jel azonosítható a spektrumból: 42,3, 44,2, 46,1, 46,7, 47,1, 73,7, 75,9, 178,0, 178,3, 178,5, 179,5, 180,1, 181,3 és 183,9 ppm-nél. Ez arra utal, hogy a köztitermék egy hárommagvú vegyes ligandumú részecske, amely valószínűleg úgy képződik, hogy a foszfátmolekula(k) beépül a hárommagvú citrátokomplexbbe kizorítva a citrátmolekulák egyik koordinálódó karboxilát- vagy alkoholos-OH-csoportját. Az egyensúlyi ^{13}C NMR-spektrumban szinte kizárólag a szabad citrát jelei mutatkoznak, de kis mennyiségben a hárommagvú citrátokomplex jelei is kimutathatók.

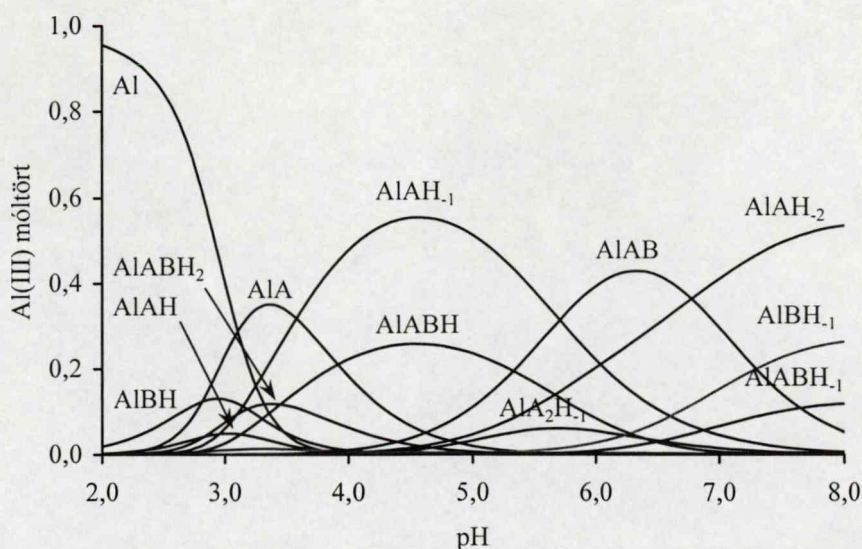
Ez a kísérlet arra enged következtetni, hogy a foszfátnak jelentős szerepe lehet az Al(III) megkötésében, hiszen már kétszeres fölöslege esetén is képes kizorítani a citrát egy részét a komplexből, ezzel szemben a plazmában 10-szeres fölöslegben van a citráthoz képest.

6.5.4. A vérérum Al(III) kötésének modellezése

Mivel munkánk eredeti célja annak eldöntése volt, hogy a citrát és a foszfát közül melyik a jelentősebb Al(III) kötő kismolekula a vérérumban, a potenciometriásan meghatározott részecskeeloszlási-modell és a komplexek stabilitási szorzatai felhasználásával kiszámoltuk a részecskeeloszlást vérérumbeli koncentrációviszonyok mellett. A vérplazma modellezésénél a kis molekulatömegű biomolekulák közül csak a citráttal és a foszfáttal számoltunk, mivel a vérplazmában levő többi kis molekula (laktát, oxalát, aminosavak, karbonát és egyéb szerves anionok), korábbi vizsgálatok során sokkal gyengébb Al(III) kötőnek bizonyult. A 13. táblázatban a vérplazma összetétele látható, a 8. irodalomból.

Albumin	630 μmol	Laktát	1,51 mmol
Transzferrin	37,0 μmol	Oxalát	9,20 μmol
Foszfát	1,10 mmol	Szulfát	330 μmol
Citrát	99,0 μmol	H^+ (szabad)	39,8 nmol
Karbonát	24,9 mmol	Al^{3+}	3,00 μmol
Cisztin	10,9 μmol	Ca^{2+} (szabad)	1,37 mmol
Cisztein	33,0 μmol	Mg^{2+} (szabad)	580 μmol
Glicin	2,30 mmol	OH^- (szabad)	417 nmol
Glutamát	60,0 μmol	Zn^{2+}	10,0 μmol
Hisztidin	77,0 μmol		

Modellszámításaink során figyelembe vettük, hogy az Al(III)-nak mintegy 80%-a a transferrinhez kötődik és csak 20% van kis molekulatömegű komplexek formájában, azaz a 13. táblázatban feltüntetett 3 $\mu\text{mol/l}$ Al(III)-ból, csak $\sim 0,6 \mu\text{mol/l}$ köt a kis molekulatömegű vérszérum komponensekhez. A 39. ábrán látható, hogy ilyen kis koncentrációknál az egymagvú komplexek dominálnak, az oligomerizációs folyamatok teljesen visszaszorulnak. Fiziológias pH-n az Al(III) döntően a citráthoz kötődik törzs- és



39. ábra Az Al(III)–citrát–foszfát rendszer részecskeeloszlása vérsérumbeli koncentrációknál: $c_{\text{Al}} = 6 \cdot 10^{-7}$, $c_{\text{citrát}} = 9,9 \cdot 10^{-5}$, $c_{\text{foszfát}} = 1,1 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³.

vegyes ligandumú komplexek formájában. Ezen számolások alapján, tehát $\text{pH} = 7,4$ -en a mobilisabb kis molekulatömegű komponensekhez kötött Al(III) -nak mintegy 51%-a citráto, 21%-a foszfáto és 28%-a pedig vegyes ligandumú komplexek formájában van. Ha figyelembe vesszük, hogy az Al(III) -nak mintegy 80%-a transferrinhez kötődik, a vérplazmában levő összes Al(III) részecskeeloszlása feltehetően a következőképpen alakul: 10,2% AlAH_2 , 4,2% AlBH_1 és 5,6% vegyes ligandumú AlAB és AlABH_1 komplex formájában van. Bantan és munkatársai emberi vérszérumból, folyadékkromatográfiás módszerrel kimutattak Al(III) -citrát és Al(III) -foszfát törzs- és Al(III) -citrát-foszfát vegyes ligandumú komplexekben kötött Al(III) -ot és arra a következtetésre jutottak, hogy ezen frakciók aránya egyedenként változhat.¹³⁵

7. Összefoglalás

Munkánk során megvizsgáltuk az Al(III) kölcsönhatását olyan biológiailag jelentős kismolekulákkal mint az aminosavak, a foszforilált aminosavak, a citromsav és a szervetlen monofoszfát. Meghatároztuk a képződő komplexek összetételét és vizes oldatbeli szerkezetét. Olyan rendszerekben, ahol lassú oligomerizációs folyamatok játszódnak le a részecskeeloszlás időbeni változását is szemlélítettük. Vizsgálataink során a potenciometria és a multinukleáris NMR-spektroszkópia módszerét alkalmaztuk. A korábban már vizsgált rendszerek esetében eredményeinkkel sikerült az ismereteket kiegészíteni, pontosítani és az ellentmondások egy részét feloldani.

Az egyszerű α -aminosavak a vártakozásnak megfelelően gyenge Al(III)kötőknek bizonyultak. A gyenge kölcsönhatást potenciometria és ^{27}Al NMR-spektroszkópia segítségével sikerült egyértelműen kimutatnunk — ezredmólos koncentrációknál, nagy ligandumfelesleg mellett egészen pH $\sim$ 5-ig. Alacsonyabb pH-kon a ^1H és ^{13}C NMR-spektrumok nagyobb fémkoncentráció ($0,5 \text{ mol dm}^{-3}$) és kisebb fém–ligandum arányok (1:1) mellett is mutatják a komplexképződést. Az Al(III)–aminosav rendszerek jól leírhatók az AlA és AlAH_2 egymagvú 1:1 valamint (a glicin és a szerin esetében) az Al_2AH_2 kétmagvú komplexek feltételezésével. Az egymagvú 1:1 komplexekben egyfogú karboxilát koordináció valósul meg. Öttagú kelátgyűrű kialakulása az aminocsoport részvételével az Al(III)-nak az N-donorokhoz való kis affinitása miatt kevésbé valószínű. Kelátképződésre még a szerin esetében sem – ahol elvileg van lehetőség (COO^- , O^-) vagy (COO^- , NH_2 , O^-)-típusú koordinációra – utalnak a stabilitási adatok. A kétmagvú Al_2AH_2 komplexben legvalószínűbben karboxilát- és dihidroxohidas koordináció valósul meg.

Az Al(III)–háromfogú aminosav (aszparaginsav, glutaminsav) rendszerekben döntően egymagvú 1:1 komplexeket mutattunk ki potenciometriásan. Ezek az aminosavak sokkal jobb Al(III)kötők mint kétfogú társaik. A komplexek szerkezetét tekintve, modellvegyületekkel (borostyánkősav, N-acetil-aszparaginsav) való összehasonlítás alapján igazoltuk, hogy az aszparaginsav esetén az aminocsoport deprotonálódásával és a fémionhoz való kapcsolódásával háromfogú (COO^- , NH_2 , COO^-) koordináció valósul meg. Ezt a kötémódot a komplexek ^{27}Al NMR-jeleinek kémiai eltolódás értékei is alátámasztják. A háromfogú koordináció a glutaminsavkomplexek esetén sem zárható ki, bár a képződő (5+7)-tagú csatoltkelát kétségtelenül kisebb stabilitással bír, mint az aszparaginsav (5+6)-tagú kelátkomplexei. Eredményeink egyértelműen mutatják, hogy a negatív töltésű karboxilátcsoportok mellett, kedvező szterikus elhelyezkedés esetén, az

aminocsoport – nemcsak az aminosavak, de valószínűleg a peptidek és fehérjék esetében is – résztvehet az Al(III) megkötésében. Hasonlóan kedvező térbeli helyzete ellenére, a merkaptó-borostyánkősav tiocsoportja megnövekedett Al(III)kötő képességére nem utaltak a stabilitási adatok.

Az Al(III)–foszforilált aminosav rendszerekben a potenciometriás titrálási görbéket egymagvú 1:1 komplexek feltételezésével tudtuk legjobban kiértékelni. 1:2 komplexek mérhető koncentrációban való képződésére a titrálási adatok 1:10 fém–ligandum arányig nem utaltak. Az L-foszfotirozin Al(III)komplexei stabilitási állandóinak értéke döntően foszfátkoordinációra utal. A jelgazdag ^{31}P NMR-spektrumok az 1:1 komplexek több kötési izomerének jelenlétét mutatják. A foszfát koordinálódhat egyfogúként, kétfogúként négytagú kelátot képezve vagy kialakíthat hattagú kelátkomplexet az egyik foszfátoxigén és a fémionhoz kapcsolódó egyik vízmolekula vagy OH^- -ion között kialakuló hidrogénkötés révén. Az L-foszfoserin komplexeinél (5+6)-tagú csatoltkelátot tartalmazó izomert is valószínűsítettünk, a foszfát-, a karboxilát- és a deprotonált aminocsoport egyidejű koordinációjával.

Az Al(III)–citrát rendszerben a lassú oligomerizációs folyamatok következtében a hagyományos titrálási technika nem volt alkalmas a képződő komplexek összetételének és stabilitási állandóinak pontos meghatározására, ezért a potenciometriás titrálási görbéket külön minták készítésével vettük fel — 1:1 és 1:3 fém–ligandum arányoknál. Az irodalomban közölt korábbi eredményeket alapul véve, a pH ~ 8-ig rendelkezésünkre álló potenciometriás adatok kiértékelése során a következő részecskéket találtuk: AlAH , AlA , AlAH_{-1} , AlAH_{-2} , AlA_2 , $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$, $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ és $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_{-4}$. A részecskeeloszlás időbeni változását követve kimutattuk, hogy kezdetben az egymagvú komplexek képződnek gyors egyensúlyi folyamatban, amelyek aztán lassú folyamatban a hárommagvú $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_{-4}$ részecskévé alakulnak. Az egyensúlyban a hárommagvú komplex még ligandumfelesleg esetén is jelentős mennyiségben van jelen.

Az egymagvú 1:1 és 1:2 komplexeket valamint a hárommagvú $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_{-4}$ részecskét ^1H , ^{13}C és ^{27}Al NMR-mérésekkel is azonosítottuk, illetve meghatároztuk az egymagvú komplexek oldatbeli szerkezetét. Az 1:1 komplexekben háromfogú koordináció valósul meg a citrát egyik terminális karboxilát-, a centrális karboxilát- és a hidroxilcsoportjának részvételével. Megállapítottuk, hogy a komplexek fluxionálisak, amit a jelszegény NMR-spektrumok is alátámasztanak. Az AlA és AlAH_{-1} esetén egy másik kötési izomer jelenlétére is utalnak az NMR-spektrumok, amelyben feltehetően (6+6)-os kelátkomplex jön létre, a két terminális karboxilát- és a deprotonált hidroxilcsoport koordinálódásával.

Az 1:2 komplexek vizes oldatban megőrzik a szilárd fázisban meghatározott szerkezetüket: a két citrátmolekula egymásra nézve szimmetrikusan, a terminális és a centrális karboxilát- valamint a deprotonált hidroxilcsoportjával kötődik az Al(III)-hoz. Az 1:2 komplexek is fluxionálisak, ami az NMR-spektrumok egyszerűségét és a jelek kiszélesedését okozza. Úgy az 1:1 mint az 1:2 komplexek esetén gyors a protoncsere a különböző deprotonáltságú részecskék között. A szabad citrát és az egymagvú komplexek cserekapcsolatban vannak. 25 °C-on a ligandumcsere folyamatok lassúak az NMR-időskálán.

A szilárd 1:2 komplexek vízben való oldása révén ^1H és ^{13}C NMR-mérésekkel bizonyítottuk ezek lassú oligomerizációját a hárommagvú $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ részecskevé. Az egyensúlyi spektrumban a megmaradt 1:2 komplex, a hárommagvú részecske és a szabad citrát jeleit látjuk. Az oligomerizáció során kimutattunk egy köztterméket és meghatároztuk jellemző ^1H és ^{13}C NMR-paramétereit. A jelgazdag NMR-spektruma alapján a köztterméket egy aszimmetrikus szerkezetű dimer komplexnek valószínűsítettük.

A vegyes ligandumú rendszerek potenciometriás vizsgálata során is az Al(III)-citrát rendszerben használt technikát alkalmaztuk. Az Al(III)-citrát-L-foszfoserin rendszerben a törzskomplexek mellett az AlABH_2 és AlABH , valamint friss oldatokban az AlAB vegyes ligandumú komplexek képződését mutattuk ki. Egyensúlyi állapotban ez utóbbi részecske elhanyagolható mennyiségben van jelen. Az Al(III)-citrát-foszfát rendszer egyensúlyi oldatában magasabb pH-kon is találtunk vegyes ligandumú komplexeket, az AlAB -t és az AlABH_{-1} -et. A vegyes ligandumú részecskék képződését ^{31}P NMR-mérésekkel is alátámasztottuk. Az irodalomban először azonosítottuk fiziológiás pH-n az Al(III)-foszfát törzskomplexeket, közvetlen, ^{31}P NMR-módszerrel. Mindkét rendszerben kimutattuk a hárommagvú részecske lassú időbeni képződését, potenciometriával és NMR-spektroszkópiával.

A vérérszérum legjelentősebb Al(III)kötő kismolekulájának kérdésében (a citrát vagy a foszfát-e a jelentősebb) az Al(III)-citrát-foszfát rendszer stabilitási adatait felhasználva, azt mondhatjuk, hogy fiziológiás pH-n, a vérérszérumbeli koncentrációviszonyok mellett a nem transzferrinhez kötött Al(III) döntő része AlAH_2 citrátokomplex formájában van jelen, de az AlBH_{-1} foszfátokomplex és a vegyes ligandumú komplexek képződése sem elhanyagolható.

8. Summary

Aluminium is the most abundant metal in the earth's crust and the most abundant element after oxygen and silicon. Due to its highly negative reduction potential, aluminium occurs in nature only in bound forms with other elements. It is the major component of 714 minerals, mainly oxides and silicates. In contrast to aluminium's abundance in the Earth's crust, the ocean concentration of aluminium is below 1 µg per liter, due to the low solubility of these minerals. Most natural waters contain insignificant amounts of Al(III). The bioavailability of Al(III) is, therefore, rather limited under normal conditions. Problems, however, arise when as a consequence of acid rain the pH of natural and soil waters decrease and hence, the mobility of this metal ion, i.e. the concentration of soluble Al(III) compounds, increases. These soluble inorganic and organic Al(III) complexes can easily enter living organisms, which have not thus far developed effective protection mechanisms against the toxicity of this metal ion.

The phytotoxicity of aluminium was already well known in the early part of the 20th century. It had been found that the Al(III) content of soils could hinder (antagonised) calcium uptake by plants. Calcium is essential for cell growth. This way, Al(III) could be responsible for root damage and plant death. Increased Al(III) concentration in streams and lakes is a causative factor for reduction in the fish population. Al(III) can cause respiratory problems and can affect the central nervous system of fish. Fish can tolerate only nanomolar Al(III) levels. A series of clinical and epidemiological studies have demonstrated the relationship between aluminium toxicity and the occurrence of some human disorders. The toxic effects of Al(III) were first detected on patients, with chronic renal failure, receiving long term hemodialysis based on untreated tap water. An increased Al(III) level was found in the brain of these patients, who developed neurological syndromes, like dialysis encephalopathy or dialysis dementia. Other recognised forms of Al(III) toxicity are manifested as osteomalacia, characterised by defective calcification of bone matrix due to the preferential deposition of AlPO_4 at the interface between osteoid (non-mineralised bone-matrix) and the calcified matrix; and microcytic anaemia, probably caused by the ability of Al(III) to inhibit haeme synthesis. Al(III) has likewise been implicated in the etiology of Alzheimer's disease.

The possible damaging effects of Al(III) on tissues may originate in its ability to replace Mg(II) and Ca(II) in their biologically important complexes.

In order to decrease the availability of Al(III) in natural waters, in medicinal drugs and medical treatments, the factors (pH, ligand type, and concentration) which can influence the bioavailability of Al(III) should be identified. In humans, neither the metabolism of Al(III) nor the mechanism of its toxicity is still elucidated. In order to understand the toxic effects of this metal ion in humans, it is important to know its speciation in the main biofluids and tissues. In light of this consideration, the aim of our work was to characterise the interaction of Al(III) with biologically important small molecules, like amino acids, phosphorylated amino acids, citrate, and inorganic phosphate.

Amino acids and phosphorylated amino acids, as constituents of peptides and proteins, could be important target molecules in the human body. Characterising, therefore, quantitatively the binding strength of Al(III) to these small bioligands may help in the elucidation of the properties of Al(III)–protein systems. Citrate and inorganic phosphate are possible carriers of Al(III). They are considered as the main low molecular weight Al(III) binders in blood plasma.

Once adsorbed in the human body, Al(III) is transported via the blood stream. The main carrier of Al(III) in blood plasma is transferrin. The picture, as far as the most important low molecular weight Al(III) binders in the plasma are concerned, is still controversial. Some authors proposed citrate and others consider inorganic phosphate as the main low molecular weight carrier. To clarify this problem, we investigated the Al(III)–citrate binary and Al(III)–citrate–phosphate ternary systems. As citrate and phosphate are present simultaneously in blood plasma, the possibility of ternary complex formation must be taken into account. Since, in these systems, slow oligomerization processes occur, we followed the changes in speciation over time by potentiometry and NMR-spectroscopy.

The following results were obtained:

In accordance with earlier reports, simple α -amino acids proved to be weak binders of Al(III). Their complexation, however, becomes distinguishable from the hydrolysis of Al(III) ion at high concentrations (0.5 mol dm^{-3}) at a 1:1 metal ion to ligand ratio or at mmol dm^{-3} concentrations, with amino acid concentrations greater than 20 mmol dm^{-3} . This could be detected unambiguously by means of potentiometric and ^1H , ^{13}C and ^{27}Al NMR measurements. The Al(III)–simple amino acid systems were well described with the presumed existence of species AlA , AlAH_{-1} , and in the case of glycine and serine, also, of species $\text{Al}_2\text{AH}_{-1}$. The main binding mode found in these complexes was the monodentate carboxylate coordination.

Much stronger interaction was observed in the case of Al(III) with tridentate amino acids (aspartic acid and glutamic acid), which contain two carboxylate and one central amino groups. No such strong interaction could be detected with either succinic acid or N-acetyl-aspartic acid, both of which lack the central amino binding site. These results strongly suggest that, in addition to the negatively charged COO^- donors, in the event of a favourable steric arrangement, the amino group – not only in amino acids, but probably also in peptides and proteins – can likewise participate in the binding to Al(III). The binding ability of thiolate S^- , however, could not be verified in 2-sulfanylsuccinic acid, although binding there occurs in a similarly favourable steric environment.

In the Al(III)–phosphorylated amino acid (L-phosphoserine and L-phosphotyrosine) systems, mononuclear 1:1 complexes were found by potentiometry. The formation of bis-complexes could not be ascertained up to a metal ion to ligand ratio of 1:10. The stability constants of these species suggest that complex formation takes place primarily via the phosphate moiety. The rather complicated pattern of ^{31}P NMR spectra, taken in these systems, indicates formation of different coordination isomers. The phosphate group can act as a mono- or bidentate ligand, and may also form a six-membered ring through hydrogen bonding originating from a metal ion bound hydroxide or water to a phosphate oxygen. In the case of L-phosphoserine, a tridentate (OPO_3^{2-} , NH_2 , COO^-) chelation was also demonstrated.

In the Al(III)–citrate system, due to slow oligomerization processes, the usual titration technique was not suitable for determination of the composition and stability constants of the complexes formed. Thus, titration data were collected using the so called "batch method" (every titration point was obtained from a different sample). On the basis of earlier results from the literature, these potentiometric data (available until $\text{pH} \sim 8$) were fit with the assumption of the following species present: AlAH , AlA , AlAH_{-1} , AlAH_{-2} , AlA_2 , $\text{AlA}_2\text{H}_{-1}$, $\text{AlA}_2\text{H}_{-2}$ and $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$. Following speciation changes over time, it was proven that in the beginning, both in equimolar solutions and at ligand excess, the mononuclear complexes formed in fairly fast reactions. The mononuclear complexes oligomerize slowly with time to form the trinuclear species $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$. At the equilibrium state, this trinuclear complex is present in a considerable amount, even at ligand excess.

The mononuclear complexes and the trinuclear species were detected by ^1H , ^{13}C and ^{27}Al NMR. The solution structure of the mononuclear complexes was also determined. In the 1:1 complexes citrate acts as a tridentate ligand, with the terminal and central carboxylate groups and the hydroxy group being coordinated to the Al(III). The complex is

fluxional. In the case of species AlA and AlAH_{-1} , the existence of another coordination isomer was also concluded from the NMR spectra. This isomer probably has a symmetric structure, with the citrate molecule coordinated via the two terminal carboxylate and the deprotonated hydroxyl groups.

The 1:2 complexes were proven to maintain their solid structure in solution. The solid state structure was determined by X-ray crystallography: the two citrate molecules are symmetric to each other and are bound to Al(III) with one terminal carboxylate and the central carboxylate and hydroxyl groups. Also, the 1:2 complexes behave fluxionally, which reflects on the simplicity of their NMR spectra and the broadening of the NMR signals. There is a fast proton exchange between the differently protonated bis-complexes, and a slow ligand exchange between these complexes and free citrate, on the NMR time scale.

It was demonstrated by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic measurements that upon dissolution in water, the solid 1:2 complexes participate in slow oligomerization processes, finally yielding the trinuclear species $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$. In the spectra corresponding to the equilibrium state the signals of free citrate, the trinuclear species, and the remaining bis-complex were detected. During oligomerization, the formation of an intermediate species was shown and its characteristic ^1H and ^{13}C NMR parameters were determined. Due to the complicated pattern of its NMR spectra, this intermediate species is probably a dimer with an asymmetric coordination of the citrate molecules.

The mixed ligand systems $\text{Al(III)-citrate(A)-L-phosphoserine(B)}$ and $\text{Al(III)-citrate(A)-inorganic phosphate(B)}$ were investigated using the same titration technique as in the case of Al(III)-citrate . In the $\text{Al(III)-citrate-L-phosphoserine}$ system, in the slightly acidic pH range, in addition to the binary complexes the ternary species AlABH_2 and AlABH were detected at the equilibrium state. In neutral and basic solutions, the trinuclear species $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ dominated in the system. In freshly prepared solutions, the formation of another ternary species AlAB was also proven. Since, during the slow formation of the trinuclear species, citrate replaces phosphoserine from its complexes, the AlAB species exists only in negligible amounts at the equilibrium state.

In the $\text{Al(III)-citrate-phosphate}$ system, four ternary complexes were found: AlABH_2 , AlABH , AlAB , and AlABH_{-1} . The time dependent measurements indicate the slow formation of the trinuclear species at the expense of the initially formed mononuclear binary and ternary complexes. In the case of both ternary systems, the existence of ternary complexes was confirmed by ^{31}P NMR measurements, as well. For the first time in the

literature, the Al(III)–inorganic phosphate species were directly detected at physiological pH. The slow formation of the trinuclear complex $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ in both systems was also supported by NMR spectroscopy.

Attempting to answer the question, whether citrate or inorganic phosphate may be the main low molecular weight Al(III) binder in blood serum, we calculated the speciation at serum concentrations using the stability data determined in the Al(III)–citrate–inorganic phosphate system. Our results show that at physiological pH and μmol Al(III) concentrations, the citrate complex AlAH_1 is the main species, but the formation of the phosphate species AlBH_1 and ternary complexes could not be neglected. Under these conditions, the oligomerization process, i.e. the formation of the $\text{Al}_3\text{A}_3\text{H}_4$ species was strongly suppressed.

9. Irodalomjegyzék

1. R.B. Martin, *Aluminium in chemistry biology and medicine* eds. M. Nicolini, P.F. Zatta and B. Corain, Cortina International, Verona (1991)
2. R.B. Martin, *Acc. Chem. Res.*, **27**, 204, (1994)
3. I. Lackó, M. Hollósi, *Magy. Kém. Folyóirat*, **100**, 112, (1994)
4. G.D. Fasman, *Coord. Chem. Reviews*, **194**, 125, (1996)
5. W.R. Harris, *Coord. Chem. Rev.*, **149**, 347, (1996)
6. W.R. Harris, J. Sheldon, *Inorg. Chem.* **29**, 119, (1990)
7. R.B. Martin, J. Savory, S. Brown, R.L. Bertholf, M.R. Wills, *Clin. Chem.*, **33**, 405, (1987)
8. W.R. Harris, *Clin. Chem.*, **38**, 1809, (1992)
9. G. de Jong, C.C.A. Ammerloan, W.L. van Mort, H.G. van Eijh, G.L. van Landeghem, P.C. D'Haese, M.E. de Broe, *Biometals*, **8**, 352, (1995)
10. D.J. Clevette, C. Orvig, *Polyherdon*, **9**, 151, (1990)
11. J.R. Duffield, K. Edwards, D.A. Evans, D.M. Morrish, R.A. Vole, D.R. Williams, *J. Coord. Chem.*, **23**, 277, (1991)
12. L.-O. Öhman, R.B. Martin, *Clin. Chem.* **40**, 598, (1994)
13. M. Dayde, M. Filella, G. Berthon, *J. Inorg. Biochem.* **38**, 241, (1990)
14. G.E. Jackson, *Polyherdon*, **9**, 163, (1990)
15. T. Kiss, Az alumínium(III) kölcsönhatása biomolekulákkal, Akadémiai Kiadó, Budapest (1996)
16. G. Favero, P. Jobstraibizer, *Coord. Chem. Reviews*, **149**, 367, (1996)
17. C.T. Driscoll, *The environmental chemistry of aluminum*, ed. G. Sposito, Boca Raton, CRC Press, 241, (1989)
18. C.T. Driscoll, K.M. Postek, *The environmental chemistry of aluminum*, ed. G. Sposito, Boca Raton, CRC Press, 363, (1996)
19. A.E. Martell, R.D. Hancock, R.M. Smith, R.J. Motekaitis, *Coord. Chem. Reviews*, **149**, 311, (1996)
20. E. Högfedt (Ed.), *Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part A, Inorganic Ligands*, Pergamon Press, Oxford, (1982)
21. R.M. Smith, A.E. Martell, *Critical Stability Constants*, Vol. 1, Plenum Press, New York, (1974)

22. A. Bodor, I. Tóth, I. Bányai, Z. Szabó, G.T. Hefter, *Inorg. Chem.*, **39**, 2530, (2000)
23. J.W. Akitt, J.A. Farnsworth, P. Lettelier, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **181**, 193, (1985)
24. Y. Matsushima, A. Matsunaga, K. Sakai, A. Okuwaki, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **61**, 4259, (1988)
25. L.-O. Öhman, W. Forsling, *Acta Chem. Scand.*, **A35**, 795, (1981)
26. T. Hedlund, S. Sjöberg, L.-O. Öhman, *Acta. Chem. Scand.*, **A41**, 197, (1987)
27. M.S. Shuman, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 593, (1992)
28. B.A. Browne, C.T. Driscoll, *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 915, (1993)
29. A. Alomary, T. Solouki, H.H. Patterson, C.S. Cronan, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 2830, (2000)
30. G.F. Vance, F.J. Stevenson, F.J. Sikora, *The environmental chemistry of aluminum*, ed.: G. Sposito, Boca Raton, CRC Press, 169, (1996)
31. Greenwood, Earnshaw, *Az elemek kémiája*, Nemzeti Tankönykiadó (1999)
32. R.B. Martin, *Metal ions in Biol. Syst.*, **24**, 1, (1988)
33. J.C. Sherlock, in *Aluminium in Food and the Environment*, eds.: R. Massey, D. Taylor, Royal Society of Chemistry, London, 69, (1988)
34. J.A.T. Pennington, J.W. Jones, in *Aluminium and Health*, ed.: H.J. Gitelman, Marcel Dekker, New York, 67, (1989)
35. S.L. Hem, J.L. White, in *Aluminium and Health*, ed.: H.J. Gitelman, Marcel Dekker, New York, 257, (1989)
36. G.J. Taylor, *Metal ions in Biol Syst.*, **24**, 123, (1988)
37. J.F. Ma, *Plant and Cell Phys.*, **41**, 383, (2000)
38. C.T. Driscoll, W.D. Schecher, in *Aluminium and Health*, ed.: H.J. Gitelman, Marcel Dekker, New York, 27, (1989)
39. T.P. Flaten, A.C. Alfrey, J.D. Birchall, J. Savory, R.A. Yokel, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 527, (1996)
40. C. Alfrey, *Life Chem. Reports*, **11**, 197, (1994)
41. A.C. Alfrey, *Clinical Nephrology*, **24**, S15, (1985)
42. A.C. Alfrey, *Kidney International*, **29**, S53, (1986)
43. J.B. Cannata Andia, W. Douthat, G.A. Aguerre, J.L. Fernandez Martin, *Life Chem. Reports*, **11**, 207, (1994)
44. A.C. Alfrey, in *Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine*, Vol 1, Cortina International, Verona, 73, (1991)

45. H.M. Wisniewski, J.A. Sturman, in *Aluminium and Health*, ed.: H.J. Gitelman, Marcel Dekker, New York, 125, (1989)
46. E.H. Jeffery, K. Abreo, E. Burgess, J. Cannata, J.L.Greger, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 649, (1996)
47. E. Bonucci, P. Ballant, S. Berni, C. Della Rocca, *Life Chem. Reports*, **11**, 225, (1994)
48. J.L. Meyer, W.C. Thomas Jr., *Kidney International*, **29**, S20, (1986)
49. T.B. Drüeke, *Life. Chem. Reports*, **11**, 231, (1994)
50. G. Berthon, *Coord. Chem. Reviews*, **149**, 241, (1996)
51. M.J. Strong, M.R. Garruto, J.G Joshi, W.R Mundy, T.J. Shafer, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 599, (1996)
52. J. Savory, C. Exley, W.F. Forbes, Y. Huang, J.G. Joshi, T. Kruck, D.R.C. McLachlan, I. Wakayama, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 615, (1996)
53. Exley, *J. Inorg. Biochem.*, **76**, 133, (1999)
54. P. Zatta, P. Zambenedetti, V. Bruna, B. Filippi, *NeuroReport*, **5**, 1777, (1994)
55. Corain, G.G. Bombi, A. Tapparo, M. Perazzolo, P. Zatta, *Coord. Chem. Reviews*, **149**, 11, (1996)
56. J.A. Edwardson, I.N. Ferrier, F.K. McArthur, I.G. McKeith, I. McLaughlin, C.M. Morris, S.A. Mountfort, A.E. Oakley, G.A. Taylor, M.K. Ward, J.M. Candy, in *Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine*, Vol 1, Cortina International, Verona, 86, (1991)
57. T. Kiss, *Arch. Gerontol. Geriatr.*, **21**, 99, (1995)
58. R.A. Yokel, *J. Toxicol. Environm. Health*, **41**, 131, (1994)
59. R.A. Yokel, P. Ackrill, E. Burgess, J.P. Day, J.L. Domingo, T.P. Flaten, J. Savory, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 667, (1996)
60. D.D. Allen, C. Orvig, R.A. Yokel, *Toxicology*, **92**, 193, (1994)
61. Exley, E. Burgess, J.P. Day, S. Melethil, R.A. Yokel, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 569, (1996)
62. G. Berthon, *Coord. Chem. Reviews*, **149**, 241, (1996)
63. W.R. Harris, G. Berthon, J.P. Day, C. Exley, T.P. Flaten, W.F. Forbes, T. Kiss, C. Orvig, P.F. Zatta, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 543, (1996)
64. R.B. Martin, *Clin. Chem.*, **32**, 1797, (1986)
65. M.A. Akeson, D.N. Munns, *Biochim. Biophys. Acta*, **984**, 200, (1989)
66. S.J.A. Fatemi, F.H.A. Kadir, D.J. Williamson, G.R. Moore, *Advances Inorg. Chem.*, **36**, 409, (1990)

67. R.B. Martin, J. Savory, S. Brown, R.L. Bertholf, M.R. Wills, *Clin. Chem.* **33**, 405, (1987)
68. W.R. Harris, J. Sheldon, *Inorg. Chem.* **29**, 119, (1990)
69. J.M. Aramini, J.A. Saponja, H.J. Vogel, *Coord. Chem. Rev.*, **149**, 193, (1996)
70. J.D. Bell, G. Kubal, S. Radulovic, P.J. Sadler, A. Tucker, *Analyst*, **118**, 241, (1993)
71. Sóvágó, T. Kiss, R.B. Martin, *Polyhedron*, **9**, 189, (1990)
72. R.A. Yokel, D.D. Allen, D.C. Ackley, *J. Inorg. Biochem.*, **76**, 127, (1999)
73. T. Kiss, I. Sóvágó, R.B. Martin, *Inorg. Chem.*, **30**, 2130, (1991)
74. D.M. Reffitt, R. Jugdaohsingh, R.P.H. Thompson, J.J. Powell, *J. Inorg. Biochem.*, **72**, 141, (1999)
75. M.M. Campbell, R. Jugdaohsingh, K.N. White, J.J. Powell, C.R. McCrohan, *J. Toxicol. Environm. Health*, **59**, 253, (2000)
76. B. Corain, A. Tapparo, A.A. Sheikh-Osman, G. Bombi, P. Zatta, M. Favarato, *Coord. Chem. Reviews*, **112**, 19, (1992)
77. C. Orvig, in *Coordination Chemistry of Aluminium*, ed.: G.H. Robinson, Ch3, VCH, New York, 85, (1993)
78. C.F. Baes, R.E. Mesmer, in *The hydrolysis of cations*, Wiley, New York, p. 112, (1976)
79. L.O. Öhman, S. Sjöberg, *Acta. Chem. Scand.*, Sect. A, **36**, 47, (1982)
80. J.W. Akitt, N.B. Milić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 981, (1984)
81. J.W. Akitt, J.M. Elders, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, I **81**, 1923, (1985)
82. P.L. Brown, R.N. Sylva, G.E. Batley, J. Ellis, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1967, (1985)
83. A.R. Thompson, A.C. Kunwar, H.S. Gutowsky, E. Oldfield, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2317, (1987)
84. M. Venturini, G. Berthon, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1145, (1987)
85. L.O. Öhman, *Inorg. Chem.* **27**, 2565, (1988)
86. J.W. Akitt, J.M. Elders, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1347, (1988)
87. J.W. Akitt, J.M. Elders, X.L.R. Fontaine, A.K. Kundu, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1889, (1989)
88. N.B. Milić, Ž.D. Bugaričić, P.T. Djurdjević, *Can. J. Chem.*, **69**, 28, (1991)
89. P.T. Djurdjevic, R. Jelic, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **575**, 217, (1989)
90. Marklund, L.O. Öhman, *Acta. Chem. Scand.*, **44**, 353, (1990)
91. S. Dayde, PhD dolgozat, Toulous-i Egyetem, (1990)

92. S. Singh, S. Gupta, P.C. Yadava, R.K.P. Singh, K.L. Yadava, *Z. Phys. Chem. Leipzig*, **267**, 902, (1986)
93. K. Atkari, T. Kiss, R. Bertani, R.B. Martin, *Inorg. Chem.*, **35**, 7089, (1996)
94. G.E. Jackson, K.V.V. Voyi, *S. Afr. Chem.*, **41**, 241, (1988)
95. Q. Feng, H. Waki, *Polyhedron*, **10**, 659, (1991)
96. J.W. Akitt, N.N. Greenwood, G.D. Lester, *J. Chem. Soc.*, (A), 2450, (1971)
97. M.A. Wilson, P.J. Collin, J.W. Akitt, *Anal. Chem.*, **61**, 1253, (1989)
98. V.W. Rudolph, W.E. Steger, *Zeit. Phys. Chem.*, **176**, 185, (1992)
99. R.J.M. Motekaitis, A.E. Martell, *Inorg. Chem.*, **23**, 18, (1984)
100. G.E. Jackson, *S. Afr. Tydskr. Chem.*, **35**, 89, (1982)
101. J. E. Gregor, H. K. J. Powell, *Aust. J. Chem.*, **39**, 1851, (1986)
102. L.O. Öhman, S. Sjöberg, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2513, (1983)
103. T.L. Feng, P.L. Gurian, M.D. Healy, A.R. Barron, *Inorg. Chem.*, **29**, 408, (1990)
104. M.A. Lopez-Quintela, W. Knoche, J. Veith, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.1*, **80**, 2313, (1984)
105. L. Zékány, I. Nagypál, *Computational Methods for the Determination of Stability Constants*, ed: D. Leggett, Plenum Press, New York, (1985)
106. J.W. Akitt, *Progr. NMR Spectroscopy*, **21**, 1, (1989) G. Gran, *Acta Chem. Scand.*, **29**, 559, (1950)
107. G. Gran, *Acta Chem. Scand.*, **29**, 559, (1950)
108. H. Irving, M.G. Miles, L.D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **38**, 47, (1967)
109. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc. Dalton. Trans.*, 1195, (1985)
110. I. Fábián and I. Nagypál, *Talanta*, **29**, 71, (1982)
111. L.O. Öhman, *Acta Chem. Scand.*, **45**, 258, (1991)
112. J.M. Garrison and A.L. Crumbliss, *Inorg. Chem.*, **26**, 3660, (1987)
113. T. Kiss, *Biocoordination Chemistry*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, New York, (1990)
114. T. Kiss, Cs. Simon and Zs. Vachter, *J. Coord. Chem.*, **16**, 225, (1987)
115. I. Sóvágó, *Biocoordination Chemistry*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, New York, (1990)
116. S.P. Petrosjanc, M.A. Maljarik and A.B. Iljuhin, *Zh. Neorg. Khim.*, **40**, 769, (1995)
117. G.C. Valle, G.G. Boruli, B. Corain, M. Favarato, P. Zatta, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1513, (1989)
118. S.B. Karweer, B.P. Pillai and R.K. Iyer, *Magn. Reson. Chem.*, **28**, 922, (1990)
119. M.S. Mohan, E.H. Abbott, *Inorg. Chem.* **17**, 2203, (1978)

Az értekezés anyagához kapcsolódó közlemények

1. Tamás Kiss, **Andrea Lakatos**, Erzsébet Kiss and Bruce Martin, Interaction of Al(III) with Biomolecules: Bioinorganic Chemistry and Biological Implication, NATO ASI Series, Ed. N. Hadjiliadis, Kluwer Publ., Dordrecht, 1996
2. T. Kiss, I. Sóvágó, I. Tóth, **A. Lakatos**, R. Bertani, A. Tapparo, G. Bombi, R. Bruce Martin: Complexation of aluminium(III) with several bi-and tri-dentate amino acids, *J. Chem. Soc. Dalton. Trans.*, 1967-1972, (1997)
3. Erzsébet Kiss, **Andrea Lakatos**, István Bányai and Tamás Kiss: Interactions of Al(III) with phosphorylated amino acids, *J. Inorg. Biochem.*, **69**, 145-151, (1998)
4. M. Matzapetakis, C.P. Raptopoulou, A. Terzis, **A. Lakatos**, T. Kiss, A. Salifoglou: Synthesis, Structural Characterization and Solution Behaviour of the first Mononuclear Aqueous Aluminum Citrate Complex, *Inorg. Chem.* **38**, 618, (1999)
5. Tamás Kiss, Tamás Jakusch, Melinda Kilyén, Erzsébet Kiss, **Andrea Lakatos**: Solution speciation of bioactive Al(III) and VO(IV) complexes, *Polyhedron*, **19**, 2389-2401, (2000)
6. **Andrea Lakatos**, István Bányai, Patrick Decock, Tamás Kiss: Time dependent solution speciation of the Al^{III}–citrate system: potentiometric and NMR studies, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 461-469, (2001)
7. M. Matzapetakis, M. Kourgiantakis, M. Dakanali, C.P. Raptopoulou, A. Terzis, **A. Lakatos**, I. Bányai, T. Kiss, L. Iordanidis, T. Mavromuostakos, A. Salifoglou: Synthesis, pH-dependent Structural Characterization and Solution Behavior of Aqueous Aluminum and Gallium Citrate Complexes, *Inorg. Chem.* (megjelenés alatt)
8. **Andrea Lakatos**, Ferenc Evanics, György Dombi, Roberta Bertani, Tamás Kiss: Speciation of Al^{III} in blood serum: Al^{III}–citrate–phosphate ternary system, *Eur. J. Inorg. Chem.* (beküldve)

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Kiss Tamás tanszékvezető egyetemi tanárnak, témavezetőmnek, hogy munkámat végig figyelemmel kísérte és támogatta, a biztatásért és a hasznos megbeszélésekért.

Köszönet illeti Bányai István egyetemi docenst, NMR-spektroszkópiás nézeteim alakításáért és az NMR-spektrumok felvételében és értékelésében nyújtott tanító segítségéért.

Köszönöm Dombi György tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette számomra az NMR-mérések elvégzését, valamint Evanics Ferencnek és Forgó Péternek, hogy a mérések technikai kivitelezésében segítségemre voltak és értékes tanácsokkal láttak el.

Megköszönöm Nemes Gáborné egyetemi docensnek, hogy időt és fáradságot nem kímélve átnézte és korrektúrázta a készülő dolgozatot.

Köszönettel tartozom Szücsné Tóth Katalin és Nagy Ferencné technikusoknak a gyakorlati tanácsokért és segítségükért.

Végül, de nem utolsó sorban megköszönöm a tanszék minden dolgozójának, valamint a Debreceni Egyetem Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék (ahol egy évet töltöttem) dolgozói közösségének érdeklődésüket és a munkámat segítő kellemes hangulatot.

Kutatásainkat anyagilag az Országos Tudományos Kutatási Alap támogatta (OTKA 23776/97 és T26115).