

Az oxovanádium(IV) indukált amidnitrogén deprotonálódás

Doktori (PhD) értekezés

Jakusch Tamás

Témavezető:
Dr. Kiss Tamás

Szegedi Tudományegyetem,
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék,
Szeged,
2004

1 BEVEZETÉS	1
2 IRODALMI ÖSSZEFOGLALÁS	3
2.1 A vanádium	3
2.1.1 A vanádium oldatkémiaja	4
2.1.2 Az oxovanádium(IV)ion koordinációs kémiaja	5
2.1.3 Az oxovanádium(IV) ESR-spektroszkópiaja	7
2.1.4 A vanádium biokémiaja	9
2.1.5 Vanádium hatása az emberi szervezetre	12
2.2 A peptidamid-nitrogén koordinációs kémiaja	16
2.2.1 H-folyamatok	16
2.2.2 A peptidamid-nitrogén koordinációs kémiaja vizes oldatban	16
2.3 Az oxovanádium – amidnitrogén kölcsönhatás	23
2.3.1 Szilárd komplexek vizsgálata	23
2.3.2 ESEEM (Electron Spin-Echo Envelope Modulation Spectroscopy)	25
2.3.3 Oldatkémiai vizsgálatok	26
3 A HASZNÁLT KÍSÉRLETI MÓDSZEREK ÉS KÖRÜLMÉNYEK LEÍRÁSA	32
3.1 A felhasznált anyagok	32
3.1.1 A Sal-L-Asp ligandum előállítása	32
3.1.2 A SalGly-L-Asp ligandum előállítása	33
3.2 A pH-potenciometria	35
3.3 A titrálások gyakorlati kivitelezése és kiértékelésük	35
3.4 Elektronspinrezonancia spektroszkópia mérések és a kapott spektrumok szimulációja	37
3.5 CD- és látható elektrongerjesztési spektrofotometriás mérések	38
4 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	39
4.1 Az N-2-(S,R)-merkaptó-propionil-glicin biner és terner $V^{IV}O$ komplexei	39
4.1.1 Biner komplexek	39
4.1.2 Terner komplexek	44
4.2 Az N-D-glükonil-aminosavak $V^{IV}O$ komplexei	54
4.3 A szalicilsav-származékok $V^{IV}O$ komplexei	60
4.3.1 A $SalH_2GlyGly$ és a $SalH_2GlyGlyGly$	60
4.3.2 A szalicil-glicil-L-alanin ($SalGly-L-Ala$)	68
4.3.3 A szalicil-L-aszparaginsav és a szalicil-glicil-L-aszparaginsav	74
5 ÖSSZEFOGLALÁS	85
6 IRODALOM	97
Függelék	
I A 2. táblázat elkészítéséhez felhasznált irodalom.	
II A pH metriás mérések kivitelezésekor használt körülmények, összetérfogat, fémion-ligandum arány, illetve a az értékeléskor felhasznált pH tartomány.	
II Néhány vegyes hidroxokomplexek kialakulására jellemző pK érték	

1 Bevezetés

A peptidamid-kötés, mint a fehérjék elsődleges szerkezetét biztosító összekötő kapocs fontossága az élő szervezetekben tagadhatatlan. A fehérjék fémkoordinációjában való részvétele azonban már jóval kisebb jelentőségű, bár az emberi testben előforduló oligopeptidek (például glutation) és az albumin esetében biológiai jelentőséggel bír. A vérszérumalkotó albumin N-terminális vége Cu^{II} - és Ni^{II} ionok – egy amin, két deprotonált amidnitrogén, valamint egy hisztidinnitrogén révén – koordinálására alkalmas. A kis molekulatömegű oligopeptidek jó fémmegkötő képességük és biokompatibilitásuk révén alkalmazhatók környezet- és szervezetbarát kelátterápiában, illetve egyes fémionok szervezetbe juttatásában is.

A vanádium néhány alacsony rendű élőlény számára nélkülözhetetlen. A vanádiumfüggő haloperoxidázok többek között moszatfajok találhatók meg, de fémion előfordul egyes baktériumok nitrogénáz enzimjében is, amely molibdénhiány esetén aktiválódik. Az állatok néhány csoportja (zsákállatok: *ascidians* illetve a galócák: *amanitas*) szervezetében jelentős mennyiségű vanádiumot halmoz fel különböző vegyületek formájában, melyeknek funkciója jelenleg nem ismeretes.

A magasabb rendű élő szervezetek számára a vanádium már nem túl jelentős mennyiségben is toxikus. Mérgező hatása feltehetően a vanadation és a foszfation geometriai hasonlóságára vezethető vissza, a vanádium e formája reverzibilisen gátol számos a foszfát metabolizmusban résztvevő enzimet. Kisebb koncentrációban és megfelelő "csomagolásban" adagolva azonban bizonyítottan inzulinutánzó hatású ("insulin mimic"). Erre alapozva egy olyan szájon át bevehető, a vanádiumkomplext mint hatóanyagot tartalmazó gyógyszer kifejlesztése remélhető, amely a cukorbetegség számára kiváltja napi inzulininjekciót. Az újabb kutatások alapján egyes szerzők az inzulinutánzó effektust mostanában csak inzulinerősítő ("insulin enhancing") hatásnak nevezik. A pontos hatásmechanizmus máig tisztázatlan. A semleges oxovanádium(IV)-komplexei közel azonos mértékű hatása – valamint a fémion és a ligandum szervezeten belüli szeparált mozgása – azt bizonyítja, hogy maga a vanádium valamely oxidációs állapotában (esetleg többben is) fejt ki a megfelelő hatást. A koordinálódó ligandumok szerepe pedig elsősorban a felszívódás elősegítése lehet. A véráramba jutott oxovanádium(IV)ionok a stabilitási állandóknak megfelelően valószínűleg az elsődleges fémionszállító fehérjéhez a transferrinhez kötődnek.

Az oxovanádium(IV)ion paramágneses volta miatt, amely jól mérhető és igen informatív ESR-spektrummal párosul, már a hetvenes évek során úgynevezett spinpróbaionként alkalmazták egyes fehérjék (transzferrin, inzulin, karboxipeptidáz A, szénsav anhidráz, stb.) fémkötő helyének felderítésében. Ennek során jelentős mértékben támaszkodtak a biológiai rendszerekben fellelhető, koordinációra képes – karboxilát-, amin-, tiolát-, alkoholát-, stb. – csoportokkal rendelkező, kisméretű ligandumokkal kapott korábbi ESR-eredményekre.

Az 1980-as évek elejére az oligopeptidek és a legáltalánosabban vizsgált kétértékű átmeneti fémionok (Cu^{II} , Zn^{II} , Co^{II} , Ni^{II}) kölcsönhatásának főbb kérdései alapvetően tisztázódtak. Mivel a vanádium bioszervetlen kémiája csak az utóbbi évtizedekben indult jelentősebb fejlődésnek, az oxovanádium(IV)ion – talán az érdeklődés hiányában – eddig kimaradt a vizsgálatokból.

A 90-es évek első éveiben jelentek meg az első deprotonált amidnitrogén – oxovanádium(IV) kötést tartalmazó egykristályszerkezetek. Az első, biológiai rendszerekben is fellelhető ligandumokkal – egyszerű dipeptidekkel – alkotott terner komplexek röntgenszerkezete 1998-ban vált ismertté. Szintén ebben az évben közöltek vizes oldatban pH 4,5 körül lejátszódó oxovanádium(IV) indukált amidnitrogén deprotonálódását a szalicil-glicin esetében, ahol feltehetően a fenolátcsoport tölti be a horgony-donorcsoport szerepét.

Kutatómunkánk során további információkhoz szeretnénk jutni a V^{VO} – peptidamid kölcsönhatásról. Mindezek fényében érdemesnek tűnt az amidnitrogén deprotonálódásához elengedhetetlen és az oxovanádium(IV)ion számára megfelelő horgony-donorcsoportok, a kiválasztott rendszerekben képződött komplexek részletes egyensúlyi viszonyainak, oldatszerkezeteinek valamint az amidnitrogén koordinálódásának hatására az ESR-spektrumban bekövetkező változások felderítésére vállalkozni.

Célkitűzéseink a következők voltak:

- olyan ligandumok keresése, esetleg szintézise, melyek képesek az amidnitrogén(ek)nek a koordinációban való aktív részvételével az oxovanádium(IV)iont oldatban tartani, hidrolízisét meggátolni;
- második ligandum hatásának vizsgálata az amidnitrogén deprotonálódására (turner rendszerek tanulmányozása);
- pH-metriás módszerrel meghatározni a kiválasztott ligandumok $V^{IV}O$ komplexeinek összetételét, stabilitási állandóit és ezen keresztül a rendszer részecskeeloszlását;
- ESR-, látható elektrongerjesztési és amennyiben lehetséges CD-spektroszkópiás módszerekkel az adott $V^{IV}O$ – ligandum rendszereket jellemezni;
- az összetétel, a stabilitási állandók és a spektrális viselkedés alapján a keletkezett – elsősorban a deprotonált amidnitrogént tartalmazó – komplexek kötésmódját minél pontosabban meghatározni.

A lehetséges ligandumok meglehetősen nagy száma miatt érdeklődésünket a következő típusú ligandumokra szűkítettük le:

- tiolátsoportot tartalmazó dipeptidszármazék (*N*-2-merkapto-propionil-glicin),
- alkoholos hidroxilcsoportokat tartalmazó dipeptidszármazékok (*N*-D-glükonil-aminosavak),
- bidentát – fenolát- és amino- – koordináció kialakítására képes di- illetve tripeptidszármazékok (SalH₂GlyGly, SalH₂GlyGlyGly),
- karboxil- és fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó tripeptidszármazék (SalGly-L-Ala),
- aszparaginoldalláncot tartalmazó di- illetve tripeptidanalógok (Sal-L-Asp, SalGly-L-Asp).

A turner rendszerek vizsgálatát a tiolátsoportot tartalmazó dipeptidszármazék vegyes rendszereire korlátoztuk, a B ligandumnak egy aromás nitrogéntartalmú vegyületet az *N*-2,2'-bipiridil-t, egy catecholszármazékot, a tiront – mely igen erős kölcsönhatásra képes a $V^{IV}O$ -ionnal – egy inzulinutánzó hatású komplex ligandumát a maltolt, és a vérszérum egyik összetevőjét, az oxálsavat választottuk.

Méréseinkkel párhuzamosan hasonló vizsgálatok történtek dimetilón^{IV}ionnal is.

2 Irodalmi összefoglalás

2.1 A vanádium

A vanádium a periódusos rendszer 23. eleme, melyet Sefström nevezett el 1830-ban Vanadisról, a szépség skandináv istennőjéről.¹ A vanádium elektronszerkezete $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^3$, két stabilis izotópja a ^{51}V (99,76 %) valamint a ^{50}V (0,24%) ez utóbbi kismértékben radioaktív (felezési idő $3,9 \times 10^{17}$ év).²

Becslések szerint a földkéreg 136 ppm,⁹⁷ míg a tengervíz átlagosan mintegy 30 nM koncentrációban³ tartalmaz vanádiumot, ezzel a 19. leggyakoribb elem⁹⁷ a földkéregben, valamint az ötödik leggyakoribb átmenetifém a Fe, Ti, Mn és Zr után. A tengervízben ellenben a második leggyakoribb ilyen fém (a leggyakoribb a molibdén 100 nM koncentrációban molibdát formában). Összevetésképpen a vas koncentrációja mindössze 0,02-1 nM.⁹⁷ A természetben igen változatos formákban – ~150 ásványban, például poliszulfid-patronit: VS_4 , vanadinit: ami közelítőleg $\text{PbCl}_2 \cdot 3\text{Pb}_3(\text{V}^{\text{VO}}_4)_2$, karnotit: $\text{K}(\text{UO}_2)(\text{V}^{\text{VO}}_4) \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$, stb. – található meg, nem jellemző a feldúsulása.⁴ A kitermelt vanádium forrása elsősorban egy titántartalmú magnetit érc ("titaniferous magnetite"), amely Ausztrália, Kína, Oroszország és Dél-Afrika bányáiból származik.⁹⁷ A vanádium egyes nyersolajokban is előfordul V^{VO} -porfirinek formájában, mennyisége akár a 4%-ot is elérheti. Az olajmaradékból illetve az elégetéskor keletkező kűrtőkoromból ki is nyerhető.⁹⁷

A vanádium előállítása rendszerint más fémekkel együtt történik. A szokásos extrakciós eljárásban először a megőrölt ércet, vagy vanádiumtartalmú maradékot nátriumtartalmú só mellett pörkölik. A képződött NaVO_4 -ot kilúgozzák, majd kénsavval pH~2-3-ra savanyítják, amikor polivanadátok válnak ki, amit 750 °C-on hőkezelve kapják a technikai minőségű vanádium-pentoxidot.⁹⁷ A fém redukcióval állítják elő. Ha acélötvözőként történő felhasználás a cél a redukciót rendszerint vas vagy vasérc jelenlétében végzik elektromos kemencékben. Redukálószerként korábban szenet, később alumíniumot vagy ferroszilíciumot használtak a karbidképződés elkerülése végett. A vanádium, mint acéladalék jelentősége abban áll, hogy az acél széntartalmával finom eloszlású V_4C_3 -ot képez, ezáltal jó minőségű acélhoz acélt juthatunk.⁹⁷ Tiszta vanádiumot VCl_5 hidrogénnel vagy magnéziummal, valamint V_2O_5 fémkalciummal történő redukciójával állítják elő, a további tisztítás olvadákelektrolízissel történhet. Elsősorban a repülőgépiparban kerül alkalmazásra, de használatos még az elektronikában, a kerámiaiparban valamint a textiliparban, ahol vegyületei mint színezékek szerepelnek. A világ aktuális vanádiumtermelése 38 000 tonna/év, ennek ~80%-a acéladalékként – ami azt lökés- és rezgésellenállóvá teszi – kerül felhasználásra.⁹⁷

A fém vanádium fényes, ezüstös fém, tipikus fémes tércentrált kockarácsszerkezettel. A fém puha és nyújtható, de csekély mennyiségű szennyező anyag már keménnyé és rideggé teszi. Korróciónak ellenáll, ami a felületén képződő oxidrétegnek tulajdonítható. +5-től –3-ig terjedő formális oxidációs számokkal rendelkezhet, melyek közül a +5 illetve +4 lehet a legstabilisabb (körülményektől függően), de még a +3 és +2 oxidációs állapotnak is van jól jellemzett kationos kémiája.⁹⁷

A vanádium széleskörűen használt, mint oxidkatalizátor,⁹⁷ a jól ismert kéndioxid oxidációján kívül használják még az iparban maleinsav-anhidrid (benzolból – V_2O_5), ftálsav anhidrid (naftalinból – V,Mo-oxidok, buténből – V,P-oxidok, o-xilolból – V,Ti-oxidok) előállításánál katalizátorként, valamint a nitrogén-oxidok ammóniával történő szelektív redukciója esetében ($\text{V}_2\text{O}_5/\text{WO}_3/\text{TiO}_2$). A V_2O_5 kristályában a vanádium koordinációs száma hat, a geometria azonban nem oktaéderes, hanem tetragonális bipiramisos. Három különböző V–O kötőhossz figyelhető meg: a legrövidebb az egyik axiális V–O kötés 1,58 Å (1 Å = 100 pm) – kettőskötésnek megfelelő távolság – a négy ekvatoriális oxigén 1,83 Å távolságra – nagyjából egyszeres kötésnek megfelelő távolságra – míg a másik axiális oxigén az elsődleges kötés hatótávolságán kívül 2,79 Å-re található a vanádiumtól.⁹⁷ A hordozóra felvitt vanádium egységek sűrűségétől függően ezen szerkezet lehet izolált, dimer, kétdimenziós vanádium-oxid lánc illetve V_2O_5 kristály. A vanádium egy V=O kettős kötésen kívül négy (izolált illetve dimer esetében csak három) oxigénhez kapcsolódik még egyszeres kötéssel. A kénsavgyártáshoz használt katalizátor 5-9 t% V_2O_5 -ot tartalmaz a $\text{V}_2\text{O}_5/\text{M}_2\text{O}$ (M rendszerint K)

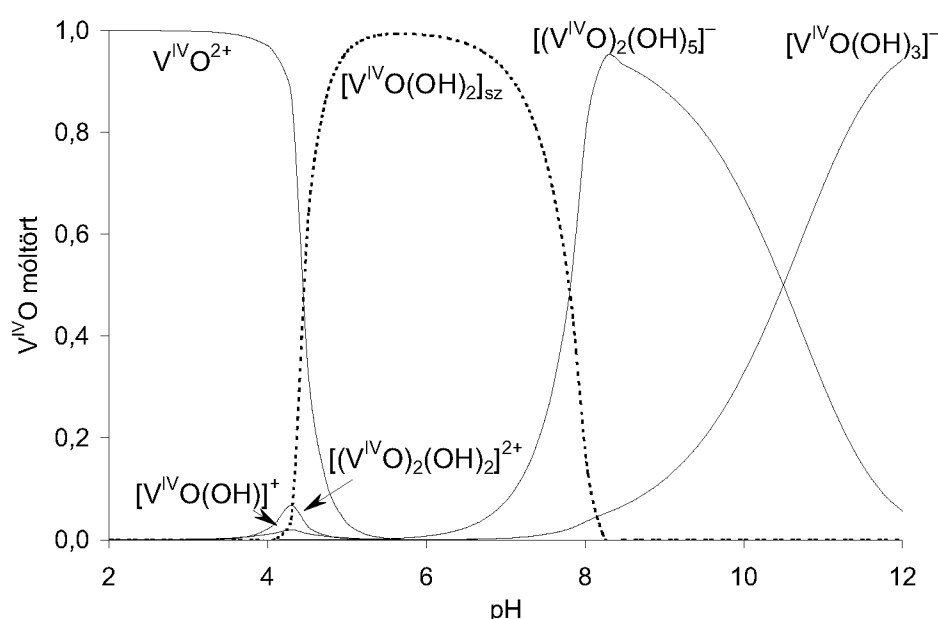
mólarány 2,5 és 4,5 között alakul. Hordozóként szilikagél, diatomaföld, valamint szintetizált szilícium-dioxid használatos.⁵ Az alkalmazott reakciókörülmények között (450-610 °C) a katalizátor mintegy 100-1000 Å vastag folyékony sóolvadékot alkot a hordozó felületén. A reakció mind a film belsejében, mind a hordozó és a filmréteg határfelületén található aktív centrumokon zajlik.⁶ A katalitikus ciklus három fő lépése: I. a kéndioxid reakciója két V^V között található oxigénatommal, II. az I. lépésben keletkezett két V^V centrum közé beékelődött kén-trioxid cseréje oxigénmolekulával, III. a kén-dioxid reakciója ezen O_2 -nel, melynek eredményeként helyreáll a V–O–V kötés és kén-trioxid keletkezik.⁷ Vanádiumvegyületek nemcsak oxidatív átalakulások, hanem egyéb – például Ziegler-Natta – reakciók katalizátorai is lehetnek.⁸

2.1.1 A vanádium oldatkémiaja

Vizes oldatban a vanádium pH~2-nél $V^VO_2^+$, $V^{IV}O^{2+}$, V^{3+} illetve V^{2+} hidratált ionként fordul elő, ez utóbbi azonban a pH növekedésével redukálja a vizet.⁹⁷ A $V^{III}(OH)_3$ ⁹ illetve a $V^{IV}O(OH)_2$ ¹⁰ vízzel oldhatatlan csapadék, amely pH 4-5 között válik ki az oldatból. Ezen csapadékokkal analóg V^V vegyület a $V^VO(OH)_3$ ($H_3V^VO_4$) nem ismeretes. A $V^{IV}O$ amfoter: a $V^{IV}O(OH)_2$ lúgban (pH ~ 8-9) feloldódik.

A V^{III} hidrolízise pH~2 körül kezdődik koncentrációtól függően $V^{III}(OH)^{2+}$ illetve $V^{III}_2(OH)_2^{4+}$ részecskével, melyek dominánsak a 3(2,5)-3,5 pH tartományban. A pH további növelésével egy $V^{III}_3(OH)_8^+$ illetve $V^{III}_4(OH)_{12}$ összetételű oligomer komplex jelenlétét feltételezik, ez utóbbi semleges részecske gyakorlatilag megfelel a $V^{III}(OH)_3$ -nak, amely pH 4-5 között ki is csapódik az oldatból, és további lúgadagolás hatására sem oldódik fel.⁹⁷

A $V^{IV}O$ savas közegben $[V^{IV}O(H_2O)_5]^{2+}$ összetételű kék színű akvakomplex formájában van jelen. A koncentrációtól függően pH ~ 4 körül kezdődő hidrolízis esetén első lépésben $[V^{IV}O(OH)]^+$ illetve $[(V^{IV}O)_2(OH)_2]^{2+}$ összetételű részecskék képződnek,¹¹ majd leválik a $V^{IV}O(OH)_2$ halványkék csapadék a 4-5 pH tartományban. Ezen csapadék a $V^{IV}O$ amfoter karaktere miatt lúgosabb közegben – pH ~ 8 – hidroxokomplexek képződése közben visszaoldódik. Az ekkor képződő minden bizonyonnyal többmagvú részecskék összetétele meglehetősen bizonytalan. A meghatározást nehezíti a rendszer oxidációra való hajlama, a hidrolízisfolyamatok percekben, órákban (napokban?) mérhető sebessége, a teljesen reverzibilitás valamint a megfelelő spektroszkópiás módszer hiánya. A feltételezett részecskék a következők: $[(V^{IV}O)_2(OH)_5]^-$,^{12,13} $[(V^{IV}O)_2(OH)_6]^{2-}$,¹⁴ $[(V^{IV}O)_4(OH)_{10}]^{2-}$,^{97,15} $[V^{IV}O(OH)_3]^-$,¹⁶ $[V^{IV}O(OH)_3]^-$.¹⁷ A rendszer



1. ábra A $V^{IV}O$ hidrolízis eloszlásgörbéje ($c_{V^{IV}O} = 0,001$ M; $I=0,20$ M KCl).

bizonytalansága a meghatározott egyensúlyi állandókban is jelentkezik. Azon megfigyelés, mely szerint pH 11 alatt a csak oxovanádium(IV)ionot tartalmazó oldat ESR-csendes, ellentmond az 1. ábrán feltüntetett eloszlásgörbének. A már felsorolt részecskék jelentős része egyértelműen mutatja az oxovanádium(IV)-hidroxidok oligomerizációs hajlamát: a hidroxidionok kiválóan alkalmasak a hidligandum szerepének betöltésére. Hasonló következtetés vonható le a hidroxó-vegyeskomplexek dimerizációs hajlamából is. A $V^{IV}O(OH)_3^-$ összetételű komplex szabad, koordinálódásra alkalmas pozíciója folytán képes kell, hogy legyen a dimerizációra, ami már magyarázatul szolgálhatna a rendszer ESR-csendes voltára. A jelen dolgozat szerzőjének véleménye szerint csupán a $V^{IV}O(OH)_4^{2-}$ ionról logikus feltételezni, hogy ESR-aktivitással rendelkezik, de ilyen típusú részecskére az irodalomban nincs utalás.

1. táblázat Az oxovanádium(IV) hidroxokomplexeinek a titrálások kiértékelése során felhasznált stabilitási állandói.

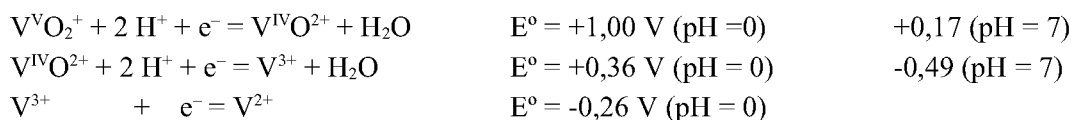
Részecske	$\lg\beta$	Hivatkozás
$V^{IV}O(OH)^+$	5,94	18a
$(V^{IV}O)_2(OH)_2^{2+}$	6,04	97a
$(V^{IV}O)_2(OH)_5^-$	22,5	19
$V^{IV}O(OH)_3^-$	18,0	20

^a A Davies-egyenlettel a megfelelő ionerősségre átszámolva.

A megfelelő adatok hiányában csak közelítő, pH 4-5 felett maximum a tendenciákat jellemző eloszlásgörbe – 1. ábra – ismertethető a $V^{IV}O$ hidrolíziséről az irodalomban fellelhető stabilitási állandók alapján (lásd 1. táblázat). A felhasznált oldhatósági szorzat $L_{VO(OH)_2} = 1,08 \times 10^{-22}$.⁹⁷

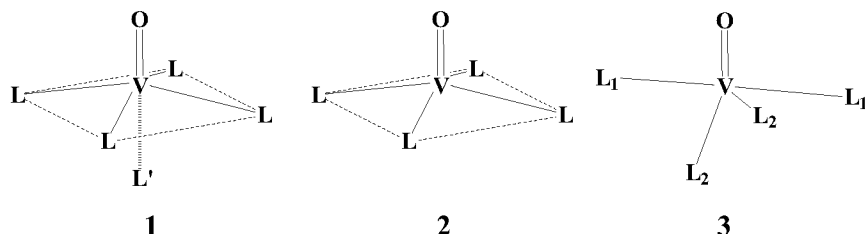
A V^V vizes oldatbeli viselkedését részletesen tanulmányozták, pH-metria és ^{51}V -NMR együttes alkalmazásával felderítették a képződő részecskék összetételét.²¹ pH > 13 felett kizárólag $V^VO_4^{3-}$ formában található, amely a foszfátióhoz hasonlóan alacsonyabb pH-n protonálódik: $pK_{HV^VO_4^{2-}} = \sim 12$ illetve $pK_{H_2V^VO_4} = 7,95$, $H_3V^VO_4$ képződésére nem találtak bizonyítékot. A $H_2V^VO_4^-$ keletkezésével párhuzamosan különféle oligomer részecskék képződnek gyors egyensúlyban: dimer, tetramer és pentamer vanadátok jelennek meg az oldatban különböző protonáltsági állapot mellett. Az eddig felsorolt részecskék szintelenek, gyors egyensúlyban képződnek és bomlanak el, valamint bennük a vanádium valószínűleg tetraédesen koordinált. Ezzel ellentétben 3-6 pH tartományban domináns $H_nV^VO_{10}O_{28}^{(6-n)-}$ részecskék sárgák illetve narancssárgák, és bár pillanatszerűen képződnek, csak napok alatt bomlanak el. A dekanadátokban a vanádium koordinációs száma feltételezések szerint hat. A pH további csökkentése halványasárga $V^VO_2^+$ ionok képződéséhez vezet.⁹⁷

Az oxovanádium(IV) vizes oldata savas körülmények között – pH < 3 – nem érzékeny a levegő oxigénjére, semleges és lúgos közegben azonban igen. A $V(III)/V(IV)$ valamint a $V(IV)/V(V)$ redoxfolyamatok jellemzésére szolgálnak az alábbi félcella folyamatok²²:



2.1.2 Az oxovanádium(IV)ion koordinációs kémiája

A vanádium(IV) az egyik legstabilisabb oxidációs állapota a vanádiumnak, jellemző vegyületei $[V^{IV}O]^{2+}$ egységet tartalmaznak, amely a legstabilabb kétatomos kation, illetve a legstabilabb oxoion az átmeneti fémek első sorában.⁹⁷ Az vanadiloxigént nem tartalmazó komplexek rendszerint hidrolizálnak és létrejön a $V^{IV}=O$ kötés. Ezt a kötést vizes oldatban csak meglehetősen erős komplexképzőkkel elsősorban



catecholokkal, hidroxámsavakkal²³ lehetséges megbontani. A vanadiloxigén jelenléte a komplexek geometriájára is jelentős befolyással van, tipikus a tetragonális bipiramis (1), a tetragonális piramis (2), valamint nagy térkitöltésű ligandumok, esetleg egyéb okok miatt kialakulhat a trigonális bipiramis(3) elrendeződés is, de az oxovanádium(IV)-től nem idegen a teljesen torzult geometria sem. A vanadiloxigénhez képest ekvatoriális pozícióban található ligandumok kötődése erősebb – amit a kötéstávolságok (2. táblázat) is híven tükröznek – valamint kevésbé labilis, mint az axiálisban lévőké.

2. táblázat Oxovanádium(IV) kötéstávolságok [Å] (=100 pm) egykristályszerkezetek alapján.
(Referenciákat lásd Függelék I.)

<i>O (il)</i>									
ax.	1,569-1,620 ^a	1,60(1)^b	75 ^c						
<i>O</i>				<i>O_{fenolát}</i>			<i>O_{alkoholát}</i>		
ekv.	1,763-2,089	1,97(6)	184	1,763-2,037	1,92(5)	65	1,877-2,007	1,97(3)	18
ax.	2,168-2,485	2,26(8)	17	2,168	2,17	1	2,192-2,230	2,21(2)	3
				<i>O_{karboxilát}</i>			<i>O_{víz}</i>		
				1,945-2,089	2,01(4)	53	2,014-2,054	2,03(2)	5
				2,221-2,269	2,25(2)	5	2,219-2,290	2,26(3)	4
<i>N</i>				<i>N_{amid}</i>			<i>N_{imin}</i>		
ekv.	1,990-2,194	2,08(4)	111	1,997-2,037	2,01(2)	5	2,032-2,189	2,08(3)	52
ax.	2,238-2,495	2,35(7)	13						
				<i>N_{amin}</i>			<i>N_{aromás}^d</i>		
ekv.				2,025-2,194	2,08(5)	14	203,7-219,2	2,12(3)	29
ax.				2,310-2,362	2,35(2)	6	230,5-233,8	2,32(1)	4
ekv.	S								
ax.	2,322-2,423	2,39(3)	9						

^a min-max

^b átlag (zárójelben a standard deviáció)

^c átlagolt adatok száma

^d piridin, 1-10-fenantrolin, 2,2'-bipiridil, imidazol, porfirin

A nitrogén donoratomok általában messzebb találhatók a fémtől, mint az oxigén donorok: a kötéstávolság függ a donoratom minőségétől is. Az oxigén esetében fenolát < alkoholát < karboxilát < víz, míg nitrogén esetében amid- < imin- ≅ amin- < "aromás nitrogén" sorrend állítható fel. A vanádium az ekvatoriális donoratomok által alkotott sík felett található, így az O(il)-V-L kötésszög mindig nagyobb mint 90°.

Számos bidentát ligandum biszkomplexe *cisz-transz* izomériát (a koordinációs szférában található vízmolekula *cisz* vagy *transz* helyzetben van a vanadiloxigénhez képest) mutat, lásd például a ²⁴ referenciát.

Összehasonlítva az oxovanádium(IV)-komplexek stabilitási állandóit az Irwing-Williams sorban található fémionok megfelelő állandóival (3. táblázat) megállapítható, hogy a csak oxigéndonoratomot

tartalmazó komplexképzők esetében (oxálsav, malonsav, szalicilsav, stb.) a $V^{IV}O^{2+}$ ion még a Cu^{II} -nél is stabilisabb komplexet képez, számos esetben akár nagyságrendekkel is. A csak nitrogén donoratomokat tartalmazó ligandumok esetében az oxovanádium(IV)-komplexek stabilitása már nagyságrendekkel kisebb, mint a Cu^{II} komplexeké, és csak a Fe^{II} komplexek stabilitásával mérhető össze. A vegyesen oxigén és nitrogén donoratomokat tartalmazó ligandumokkal alkotott komplexek stabilitása nagyjából a Cu^{II} és a Ni^{II} komplexek stabilitása közé esik. Mindez összhangban van azzal, hogy az oxovanádium(IV) ion inkább a „hard” fémionok csoportjába sorolható: erősebb kölcsönhatásra képes oxigén donoratomot tartalmazó komplexképzőkkel, mint nitrogént tartalmazókkal, bár a kénhez való kötődésének erőssége sem elhanyagolható (lásd tiolaktonsav).

3. táblázat Az oxovanádium(IV)ion és az Irwing-Williams sor fémionjainak komplexstabilitási állandóinak összehasonlítása ($\lg \beta_1$, $\lg \beta_2$).

Ligandum	$V^{IV}O^{2+}$		Cu^{II}		Ni^{II}		Co^{II}		Fe^{II}		Mn^{II}		Zn^{II}	
Oxálsav ⁹⁷	6,45	11,78	4,84	9,21	5,2	-	3,2	5,6	3,0	5,1	3,2	4,4	3,88	6,40
Malonsav ⁹⁷	5,23	8,85	5,05	7,80	3,24	4,05	2,97	4,4	-	-	2,3	-	2,96	4,4
szalicilsav ⁹⁷	13,38	22,4	10,62	18,41	6,95	11,7	6,72	11,4	6,55	11,2	5,9	9,8	6,85	
acetilaceton ⁹⁷	8,40	15,40	8,16	14,76	5,7	9,66	5,40	9,54	5,07	8,67	4,21	7,30	4,68	7,92
chatecol ⁹⁷	17,70	33,5	13,90	24,9	8,92	14,40	8,60	15,01	7,95	13,5	7,72	13,6	9,90	17,40
laktonsav ⁹⁷	2,68	4,83	2,43	4,08	1,64	2,76	1,38	2,37	-	-	1,19	1,46	1,7	2,8
1,10-fenantrolin ²⁵	5,48	10,25	9,25	16,00	8,0	16,0	7,02	13,72	5,86	11,11	3,88	7,04	6,36	12,00
2,2'-bipiridil ⁹⁸	5,08	8,65	9,00	14,72	7,04	13,94	6,06	11,42	4,20	7,90	2,62	4,62	5,04	9,60
etilén-diamin ⁹⁸		5,7	10,51	19,55	7,56	13,85	5,89	10,76			2,85	4,75	5,91	10,72
piridin ⁹⁸	-1,7		2,58		2,08		1,20						1,07	
glicin ⁹⁷	6,51	11,82	8,20	15,07	6,16	11,11	4,66	8,51			2,85		5,03	9,23
hisztidin ⁹⁸	9,04	15,48	10,16	18,11	8,67	15,50	6,88	12,35			3,30	6,26	6,51	12,01
EDTA ⁹⁷	18,63		18,70		18,52		16,31		14,94		14,05		16,3	
CDTA ⁹⁷	20,1		21,92		20,20								18,6	
pikolinsav ⁹⁸	6,68	11,99	8,6	16,0	6,4	11,90	6,60	10,58					5,12	9,42
dipikolinsav ⁹⁸	6,70	9,53	9,15	16,37										
tiolaktonsav ⁹⁸	8,40	17,55			5,88	13,52	6,25	13,50					7,88	14,71
szerin ⁹⁸	6,38	11,70	7,90	14,49	5,19	8,40	4,38	8,00					4,47	8,66

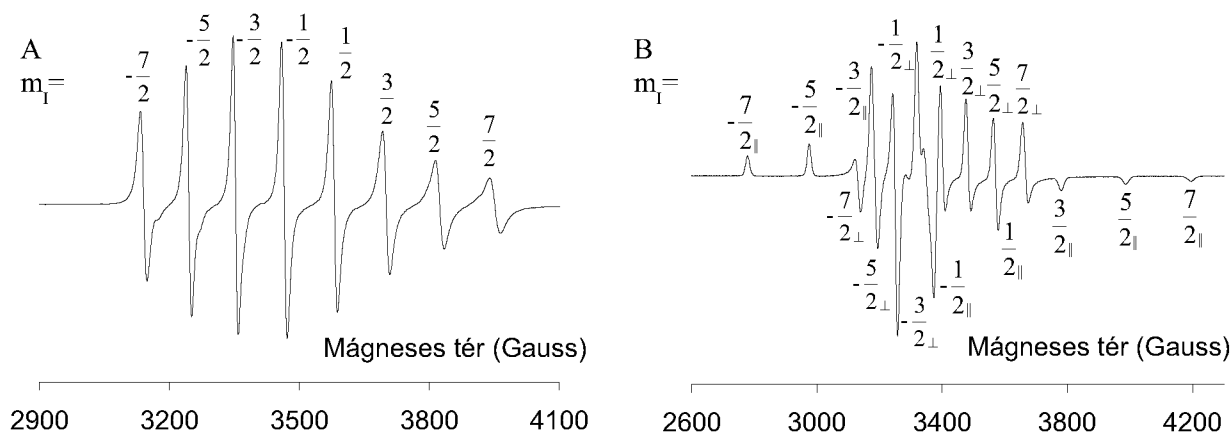
2.1.3 Az oxovanádium(IV) ESR-spektroszkópiája

Az oxovanádium(IV)ionban a vanádium d^1 elektronkonfigurációjú, ennek megfelelően ESR-aktív. A 99,75 % természetes előfordulású ^{51}V 7/2-es magspinje az $\Delta S=1$, $\Delta I=0$ átmenetet $2I+1=8$ hiperfinom vonalra osztja és az oxovanádium(IV)-re jellemző ESR-spektrumot hoz létre (2. ábra).

A fagyasztott oldatban mért ESR-spektrumot leíró g és A tenzorok koincidenciája általában teljesül az oxovanádium(IV) esetében,⁹⁷ így az elktrospin – Hamilton operátora az elektron Zeeman-kölcsönhatást illetve az elektron – vanádiumatom hiperfinom kölcsönhatást tartalmazza:

$$(1) \quad \hat{H} = \beta H(g_{xx}\hat{S}_x + g_{yy}\hat{S}_y + g_{zz}\hat{S}_z) + hc(A_{xx}\hat{S}_x\hat{I}_x + A_{yy}\hat{S}_y\hat{I}_y + A_{zz}\hat{S}_z\hat{I}_z)$$

Az „X-sávú” spektrum gyakran leírható axiálisan szimmetrikus tenzorokkal: $g_{||}=g_{zz}$, $g_{\perp}=g_{xx}=g_{yy}$, $A_{||}=A_{zz}$, $A_{\perp}=A_{xx}=A_{yy}$, mindazonáltal számos esetben, ahol a komplex szimmetriája alacsonyabb, mint C_{4v} ez a megközelítés nem alkalmazható, mágneses „in-plane” anizotrópia ($g_x-g_y > 0,006$) lép fel és a spektrum rombos torzulást mutat. Megjegyzendő, hogy a mágneses szimmetriából még nem következik a komplex szimmetriája. A mechanizmust, amely axiálisan szimmetrikus g tenzort eredményez alacsony szimmetriájú komplexek esetén is, Belford és munkatársai írták le.²⁶ Az axiális g tenzorhoz mindig axiális A tenzor tartozik, $A_{||}$ nagyobb, mint az $A_{\perp}$ és a $g_{||}$ pedig rendszerint kisebb, mint a $g_{\perp}$.⁹⁷ A szobahőmérsékleten mért A_o számos esetben kisebb, mint a $A_o^{szám.} = (A_{||}+2A_{\perp})/3$ képlettel számolt axiális A tenzor átlagértéke. A különbség átlagosan $2,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, melyet legfőbb mértékben az okoz, hogy a vanadiloxigén – víz kölcsönhatás különbözik vízben és fagyasztott oldatban.⁹⁷



2. ábra $V^{IV}O(H_2O)_5$ „X-sávú” ESR-spektruma (első derivált)

A: szobahőmérsékleten, B: cseppfolyós nitrogénben megfagyasztott oldatban.

A d^1 elektron alapállapotban a nemkötő d_{xy} pályán található, melynek eredménye, hogy szuperhiperfinom kölcsönhatás jön létre az elektron és a vanádium ekvatoriális környezetében található magok között. A kölcsönhatásra jellemző csatolási állandó azonban kisebb a természetes vonalszélességnél ($\sim 1 \text{ mT} = 10 \text{ Gauss}$)⁹⁷, ennek folytán az ESR-spektrumon ún. „szuperhiperfinom” felhasadást nem okoz (^{31}P mag az egyetlen példa rá⁹⁸). Pulzustechnikákkal (ESEEM, ENDOR) azonban e kölcsönhatások csatolási állandói is mérhetőek. Mivel a d_{xy} síkban található elektrontól az axiálisan koordinálódott donorcsoport meglehetősen távol esik, gyakorlatilag a koordináció nincs jelentős hatással az ESR-spektrumra.

A csatolási állandók (A) jól detektálható széles tartományban változhatnak az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok függvényében: az erős ligandumterű komplexképző CN^- -től ($V^{IV}O(\text{CN})_5^{3-}$: $A_o = 77 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $A_{||} = 138 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) a gyenge ligandumterű vízmolekuláig ($V^{IV}O(\text{H}_2\text{O})_5^{2+}$: $A_o = 106,3 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $A_{||} = 182,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$). A különböző anyagi minőségű donoratomokat tartalmazó komplexek viszonylag jól elkülöníthető csoportokat képeznek az A_o-g_o illetve $A_{||}-g_{||}$ diagrammokon.⁹⁷ Mindez alkalmas az oxovanádium ekvatoriális síkjában található donorcsoportok azonosítására, és az oxovanádium(IV) spinpróbaionként való alkalmazását teszi lehetővé, fémion koordinálására képes makromolekulák, például metalloproteinek kötőhelyének jellemzésére. Wüthlich²⁷ javasolta később Chasteen.⁹⁷ majd Smith²⁸ továbbfejlesztette, illetve kiegészítette azt az empirikus megfigyelést miszerint a csatolási állandók értéke (A_o , $A_{||}$) becsülhető a ekvatoriális donoratomok egyedi hozzájárulásának értékeiből:

$$(2) \quad A_{o, \text{becs.}} = \sum_i A_{o,i} \quad A_{||, \text{becs.}} = \sum_i A_{||,i}$$

Az eltérés kisebb, mint $1,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ az izotróp illetve $3 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ a párhuzamos csatolási állandó számított és mért értéke között. Az egyedi hozzájárulás értékeit (4. táblázat) rendszerint modellvegyületek – négy azonos koordinálódó csoport az ekvatoriális síkban – alapján határozták meg. Bár rendszerint a

geometria és az axiális pozícióban található koordináció jelentősen nem befolyásolja a csatolási értékeket, ennek ellenkezőjére is található példa az irodalomban: az imidazolgyűrű és az ekvatoriális sík által bezárt szög jelentősen befolyásolja az imidazol egyedi hozzájárulását²⁹, valamint az imidazol és kisebb mértékben a tiocianát axiális koordinációja megváltoztatja az $A_{||}$ értékét.^{30,31}

A nem oxo – ”csupasz” – V^{IV} ESR-spektruma jelentősen eltér a fentebb leírtaktól. A geometria öttagú kétfogú kelátképzők esetén a trigonális prizmaéhoz közelít, amely esetben az oxovanádium párosítatlan elektronjának alapállapota az általános d_{xy} helyett a d_{zz} pályára kerül. Mindez természetesen az ESR-paraméterek drámai megváltozásával jár együtt: a jellemző $g_z < g_x \cong g_y < 2,0023$ és $A_z > A_x \cong A_y$ helyett a $g_x \sim g_y < g_z \sim 2,0023$ és $A_z \ll A_y \sim A_x$, amiből következik, hogy az ESR kiváló diagnosztikai eszköz az oldatban képződött oxo- és a nem oxo- V^{IV} megkülönböztetésére.

4. táblázat Az oxovanádium(IV)-hez ekvatoriálisan koordinálódó donorcsoportok egyedi hozzájárulása csatolási állandó értékéhez ($\times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$)

Koordinálódó csoport	$A_{ }$ hozzájárulás	A_o hozzájárulás	Referencia
H ₂ O	45,7	26,58	97
imidazol (merőleges h.)	45,5		98
alifás imin	44,4		98
Cl ⁻	44,1		98
Amid oxigén	43,7		98
Ar-COO ⁻	42,7	25,03	97
R-COO ⁻	42,7	24,43	97
PO ₄ ³⁻	42,5		98
piridin-N	40,3	21,9	97
R-NH ₂	40,1	20,95	97
imidazol (párhuzamos h.)	40		98
OH ⁻	38,7	20,23	97
Ar-O ⁻	38,6	20,48	97
acetyl-acetonát (/1O)	37,6		98
R-O ⁻	35,3	17,18	97
Ar-S ⁻	35,3	17,78	97
R-S ⁻	31,9	16,58	97

2.1.4 A vanádium biokémiája

2.1.4.1 A vanádium biológiai előfordulása

A galócák (*Amanita*) családjába tartozó gombafajok rendszerint mind tartalmaznak több-kevesebb vanádiumot (1-400 ppm): a légyölő galóca (*Amanita muscaria*) vanádiumtartalma – 36-250 ppm – néhány egyéb fajjal együtt (*A. velatipes*, *A. wellsii*, *A. regalis*) azonban kiemelkedően magas.³² A gomba kalapjában kevesebb vanádium halmozódik fel, mint a gyökérben és a tönkben. A vizes extraktum jellegzetes ESR-spektruma igazolja, hogy a vanádium oxidációs állapota +4. Az izolált halványkék vegyület – amavadin – szerkezetének érdekessége a ”csupasz” vanadiloxigénjétől megfosztott fémion.⁹⁸ Biológiai funkciója nem ismeretes, jelenleg annyi bizonyos, hogy az amavadin képes egyelektronos reverzibilis redoxfolyamatra biológiai rendszerekben, de ez nem magyarázza meg az extrém magas vanádiumkoncentrációt a galócákban.³³

A zsákállatok (*tunicates*) altörzsébe tartozó különböző fajok (az *ascidians* osztályba tartozó két alosztály a *phlebobranch* és az *aplousobranch* egyes fajai) vanádiumot halmoznak fel szervezetükben.³⁴ A

vanádium az állatok bizonyos véresejtjeiben ("granular amobocytes", "signet ring cells"), azoknak is egy speciális üregében ("vacoule") halmozódik fel. Az *Ascidia gemmata* fajban a sejtben található vanádiumkoncentráció elérheti a 350 mM-t, 500 mM SO_4^{2-} illetve pH = 1,9 mellett.^{35,36} Az egyes fajokban a véresejtben található vanádium mennyiségének növekedésével a speciális üregekben mérhető pH csökken.³⁶



3. ábra *Phallusia Mammillata* – az első zsákállatka faj, melyben 1911-ben Henze kimutatta a vanádiumot.³⁴

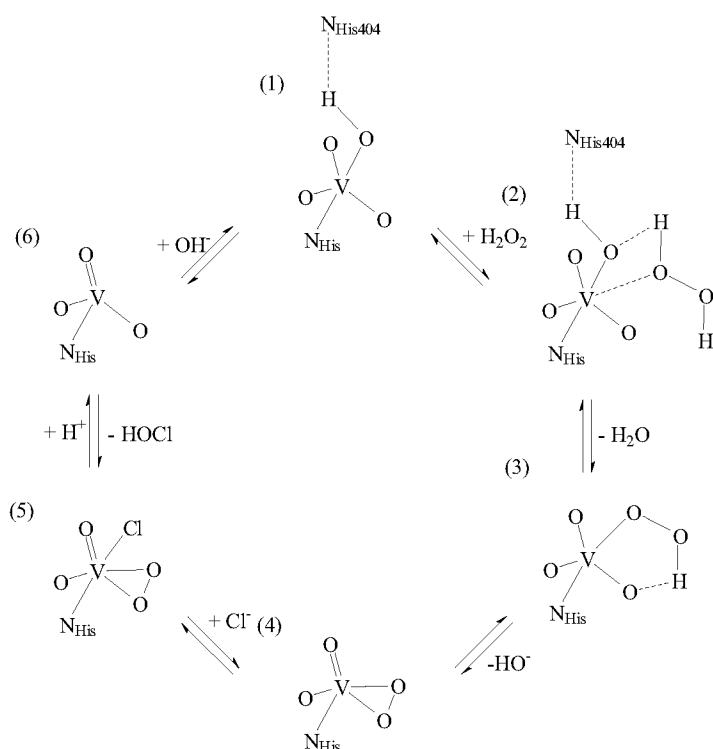
A vanádium K-abszorpciósélénél ("Vanádium K-edge") felvett XANES ("X-Ray Absorption Near-Edge Structure" - a röntgenabszorpciós spektrum élközeli szerkezete) spektrumok segítségével megállapították, hogy a vanádium több mint 95%-a +3-as oxidációs állapotban található.³⁷ A XANES spektrumok illesztésével – különböző vanádiumvegyületek individuális spektrumának felhasználásával – az *Ascidia ceratodes* esetében megállapítást nyert, hogy a V^{III} akvaion (~30% a teljes vanádiummennyiségre vonatkoztatva) monoszulfátokomplex (~35%), biszulfátokomplex (15%) formájában illetve ez utóbbiak terner hidroxokomplexeiként (~10%) található.³⁸ Körülbelül 2-3% $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ akvaiont feltételeznek, hasonló következtetést vontak le ESR-mérésekből

is.³⁶ Újabb eredmények a sejt citoplazmájában található vanádiumkötő peptidekről (vanabin1, vanabin2, 10 illetve 20 $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ /peptid) számolnak be.³⁹ Az ESR-vizsgálatok alapján a vanabin2-ben egyféle koordinációt, N_2O_2 , vagy O_4 ekvatoriális donatoratomokat valószínűsítene az oxovanádium(IV)ion körül. Az ESEEM ("Electron spin envelope modulation spectroscopy") vizsgálatok amincsoport koordinációját igazolták.⁴⁰

A vanádium V(V) formájában jut be a zsákállatka szervezetébe, ahol a feltételezések szerint a pentóz-foszfát ciklusban termelődő NADPH $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -gyé redukálja, miközben a vanabin fehérjék tárolják/szállítják, végül a speciális üregekben azonosítatlan folyamatban tovább redukálódik V^{III} -má.³⁶ Mivel a felhalmozott vanádium koncentrációja nagyságrendekkel nagyobb összevetve más biokatalitikus funkcióval rendelkező fémionok mennyiségével, feltételezések szerint a V(III) az anyagcsere egy melléktermékeként halmozódik fel. Ezen megfigyelést esetleg összefüggésbe lehet hozni azzal, hogy a vanádiumfelhalmozó fajok az oxigénhiányos tengerekben is előfordulnak. A vanádium és a zsákállatokban található di- és trifenol-származékok (tunikrómok) közötti kapcsolat – bár több feltételezés is napvilágot látott – nem egyértelmű.³⁴

1993-ban a tenger élővilágának egy újabb képviselőjében – *Pseudopotamilla ocellata*-ban (soksertéjű gyűrűsférgek osztálya, *Polychaeta*, gyűrűsférgek, *Annelida* törzse) – sikerült nagymennyiségű vanádiumot kimutatni. A vanádium itt is főleg V^{III} formában található és az állat "feji részében" – "branchial crown" – dúsul fel ~5-6 mg/g koncentrációban (szárazanyagra nézve). A vanádium funkciója ismeretlen.⁴¹

A vanádiumfelhalmozó állatokon kívül léteznek olyan élőlények is, amelyek jól definiált biokatalitikus okból tartalmaznak vanádiumot a haloperoxidáz (HPO) – kloro- (KPO), bromo- (BrPO) és jodoperoxidáz (IPO) – enzimek aktív centrumában. A barnamoszatok között ismert a legtöbb ilyen élőlény, de ismertek vörösmoszat fajok, egy zöldmoszat, két gomba illetve egy zuzmófaj is.^{42,43} A kloroperoxidázok kizárólag szárazföldi fajokra jellemzőek, míg a bromo- illetve jodoperoxidázok elsősorban a tengerben előforduló élőlényekben találhatóak meg.⁴⁴ Ezen enzimek a halogénionoknak hidrogén-peroxiddal való oxidációját katalizálják. A keletkező hipohalogénsav – nem enzimatisz uton – reagálhat különböző szerves vegyületekkel.³ Régióspecifikus oxidáció is lejátszódhat egy hipohalogénsav-enzim köztes komplexen keresztül.⁴⁵ Három különböző fajból nyert jodo/bromoperoxidáz (*Ascophyllum nodosum* – barnamoszat; *Corallina officinalis* – vörösmoszat) illetve kloroperoxidáz (*Culvularia inaequalis* – gomba) enzimben a



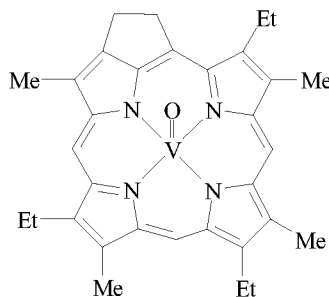
4. ábra A haloperoxidázok feltételezett reakciómechanizmusa.

röntgenkristallográfia segítségével meghatározott aktív centrum szerkezete gyakorlatilag megegyezik. A natív enzimben a vanádium(V) hidrogén-vanadát formában található, melyhez még egy hisztidinnitrogén koordinálódik. A központi atom geometriája trigonális bipiramisos. A szerkezetet a vanadát oxigénatomjai és a környező oldalláncok (2×Arg, His, Lys, Ser) közötti hidrogénhidak stabilizálják.⁴⁶ Az enzimreakció mechanizmusa "ping-pong" típusú. A feltételezett reakciómechanizmus szerint a vanádium oxidációs száma nem változik a katalitikus folyamat egyes lépései során. A vanádiumfüggő haloperoxidáz enzimek egyik legérdekesebb sajátossága az egyes foszfatázokkal való igen közeli szerkezeti rokonság. Számos membránban fellelhető foszfatáz – köztük az emberi glükóz-6-foszfatáz – illetve "oldható" foszfatáz valamint két vanádiumtartalmú haloperoxidáz enzim aktív centrumának

rokonságát bizonyították az ismert aminosavsorrend alapján.⁴⁷ Ezek után nem meglepő azon megfigyelés, hogy egy vanádiumtartalmú haloperoxidáz enzim – ha nem is jelentős – foszfatázaktivitással rendelkezik.⁴⁸ Megjegyzendő, hogy a haloperoxidáz enzimek csak egy csoportja vanádiumfüggő, léteznek hemtartalmú és fémiont nem tartalmazó azonos funkciójú enzimek is.⁴⁹

1984-ben egy mutáns, így nitrogénfixálásra molibdén jelenlétében képtelen baktériumfajta esetén (*Azotobacter Vinelandii*) azt észlelték, hogy molibdén hiányában növekedésnek indul. Ezen alapvető megfigyelés vezetett az alternatív – molibdént nem, vanádiumot illetve csak vasat tartalmazó – nitrogenázok felfedezéséhez. Mindeztidáig nem sikerült röntgenkristallográfiai módszerrel tanulmányozható minőségű egykristályt növesztetni, így csak közvetett bizonyítékok támasztják alá (ESR-, Mössbauer-, MCD-, EXAFS-spektroszkópia) azt, hogy a vanádium nitrogenáz enzimben is – a molibdéntartalmú enzimhez hasonlóan – kén – vas klaszter található, amelyben az egyik vasat vanádium (molibdén) helyettesíti. Az egykristály előállítását megnehezíti, hogy míg a molibdén esetén az enzimet alkotó négy protein egymáshoz való kötődése meglehetősen nagy, addig a vanádium tartalmú enzimek esetében ez az erő gyenge. Ez kristályosításkor különböző összetételű enzimkeveréket eredményez. A vanádium tartalmú nitrogenázok meglepően széles körben elterjedtek. Molibdénhiány esetén aktiválódnak (bár felmerült a hőmérséklettől való függés is), termodinamikailag kevésbé hatékonyak (V: 40 MgATP/1 NH₃, Mo: 16 MgATP/1 NH₃) és genetikailag különböző helyen kódoltak, mint a molibdén tartalmú enzimek. Ez utóbbi tény is bizonyítja, hogy nem csupán az enzimben történő egyszerű fémcsereéről van szó.⁵⁰

Bár nem tartozik a közvetlenül a vanádium biológiai szerepéhez, de érdekes tény, hogy valószínűleg elhalt élőlények bomlástermékeként vanádium-porfirin komplexek maradtak a kőolajban: etioporfirin és deoxofilloeritroetioporfirin a két főbb homológ széria, míg kisebb mennyiségben terabenzoporfirin,



benzoporfirin és benzodeoxofilloeritroporfirin homológok is fellelhetők.⁵¹ Minden esetben a komplex C_{4v} szimmetriát mutat, a vanádium a porfirin síkja felett található.

2.1.5 Vanádium hatása az emberi szervezetre

A vanádium hatása az emberi szervezetre – mint minden anyag esetében – kettős: kis mennyiségben hasznos (lehet), nagyobb mennyiségben azonban káros. Mindez természetesen jelentősen függhet az alkalmazott vanádium minőségétől: oxidációs állapotától, egyszerű só illetve komplex voltától valamint a komplexképző ligandum anyagi minőségétől. A vanádium fiziológiai hatása elsősorban a vanadátionnak a foszfáttal való geometriai és – néhány vonatkozásban – kémiai hasonlóságára vezethető vissza. A vanádium toxicitása és különböző kedvező élettani – elsősorban inzulinutánpótló – hatása mellett számos a foszfát metabolizmusában résztvevő enzimekre kifejtett hatását vizsgálták.

2.1.5.1 A vanádium metabolizmusa és toxicitása

A vanádium funkciója magasabb rendű élőlényekben nem ismeretes, így nem tekinthető esszenciálisnak. A vanádiumhiányos étrend hatása a különböző kísérletekben nem egyértelmű. Nagyobb mennyiségű vanádium található rákokban, kagylókban és gombákban. Az élelmiszerrel a szervezetbe kerülő vanádium – kb. 1 μg V/g $V^{IV}O$ vagy $HV^{IV}O_4^-$ formában – a gyomor savas körülménye között minden bizonnyal $V^{IV}O$ -gyé alakul, majd csaknem teljes mennyisége változatlan formában kiürül. A szervezetbe szájon át bejutó vanádium valószínűleg kevesebb, mint 10%-a szívódik fel; több kísérlet szerint ez még az 1%-ot sem éri el. A vanadát 3-5-ször nagyobb mértékben szívódik fel, mint a $V^{IV}O$ -ion. Mindazonáltal keveset tudunk a felszívódás mechanizmusáról a $V^{IV}O$ esetében. A $HV^{IV}O_4^-$ a foszfát esetleg más aniontranszport segítségével juthat be a szervezetbe. Ha vanadát kerül a vérbe kétséget kizáróan $V^{IV}O$ -gyé redukálódik különböző redukálószer hatására, mint például a plazmában található aszkorbinsav, cisztein illetve különböző catecholaminok, vagy a vörösvérsejtekben található glutation által. A $V^{IV}O$ elsősorban a transferrin által szállítódik, így nem meglepő, hogy vasban gazdag helyeken dúsul fel – máj, lép – ahol jelentős mennyiségű $V^{IV}O$ kötődik a ferritinhez. A vanádium igen kicsiny mennyiségben – 10 ng V/g alatt – van jelen a különböző szervezetekben, az emberi testben található összes vanádium mennyisége $\sim 100 \mu\text{g}$.⁵²

A már felszívódott vanádium leginkább a vizelettel távozik a szervezetből, számottevő mennyiség a beleken keresztül választódik ki. A vizelettel távozott vanádiumot mind kis molekulatömegű, mind pedig fehérje méretű ligandumhoz kötve egyaránt megtalálták. A nagy molekulatömegű ligandum a transferrin volt.⁵²

A krónikus vanádiummérgezés különféle tüneteit igazolták, úgymint neurotoxicitást, hepatotoxicitást, nefrotoxicitást, stb. A mérgező adag – állatkísérletek alapján – napi 10-20 mg/nap vagy 10/20 $\mu\text{g/g}$. Az emberre 20 mg V_2O_5 intravénás adag már akut tüneteket is kivált, mint például hányás, pulzuskimaradás, erős hasmenés, láz, stb. formájában. A biztonságosnak mondható maximális napi bevitt 10-50 $\mu\text{g/nap}$ -ban határozták meg. Vanádiumkezelés hatására a fémion bizonyos mértékig felhalmozódik a különböző szervezetekben, a vesében, a májban, a lépben, a tüdőben, az izomzatban és a csontokban. A legnagyobb

koncentrációt a vesében (~5-15 ppm) és a csontokban érheti el (5-25 ppm).⁵³ A csontban az oxovanádium (IV) a foszfáthoz kötődik.⁵⁴

2.1.5.2 Az inzulinutánzó hatás

Az inzulin egy “jelző” hormon – 6-7 kDa molekulatömegű peptid – amelynek számos szabályzó feladata van. A cukorbetegség szempontjából talán a legfontosabb, hogy az aminosavak, zsírsavak és a glükóz véráramból történő felvételét, és protein formában az izmokban, triglicerid formában a zsírsejtekben illetve glükogén formában a májban és izmokban való tárolását szabályozza.⁵⁵

Definíciószerűen cukorbetegségnek (*diabetes mellitus*) az inzulin teljes vagy részleges hiánya és/vagy az inzulinnal szembeni teljes vagy részleges rezisztencia következményeként kialakult krónikusan magas vércukorszint (*hyperglykaemia*) eredményét tekintjük. Ez károsan befolyásolja a glükóz, a fehérje és a lipid metabolizmust és kezelés nélkül hosszútávon másodlagos károsodásokhoz vezet, mint például az érleszesedés (*atherosclerosis*), hajszálér-rendellenesség (*microangiopathy*), veseelégtelenség, szívrendellenesség, a retina megbetegedése (*diabetes retinopathy*) és egyéb szembetegségek.⁵⁶

Kétféle cukorbetegséget különböztethetünk meg:

I. inzulinfüggő cukorbetegség (IDDM, Insulin Dependent Diabetes Mellitus), amely esetben az inzulin hiánya a betegség oka;

II. nem inzulinfüggő cukorbetegség (NIDDM, Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus), ahol a beteg rezisztens vagy részben rezisztens az inzulinra.^{55,56}

Ez utóbbi betegség jellemzően idősebb korban alakul ki.

Az inzulinfüggő cukorbetegség a szervezetbe juttatott inzulin segítségével kezelhető. Sajnálatos módon ez csak injekció útján lehetséges, mivel a peptidek a szájon keresztül történő bevitel esetén nem abszorbeálódnak intakt formában.⁵⁵

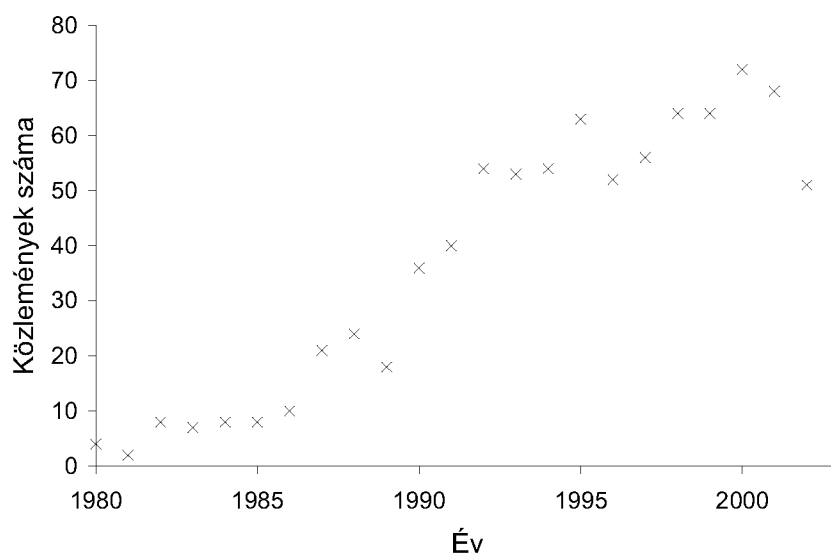
Számos elem, elsősorban átmenetifémek (vanádium, króm, molibdén, mangán, wolfram) inzulinutánzó hatásának felfedezése visszanyúlik a XIX század második felébe.⁵⁷ Újabb kutatások olyan erősen toxikus ionok, mint a Hg^{II}, a Se^{IV} és a Cd^{II} hatásosságáról számolnak be.⁵⁸ Mindazonáltal e fémionok klinikai alkalmazása teljes mértékben korlátozott mérgező hatásuk miatt.⁵⁷

Vanádiumtartalmú vegyületekkel számos inzulinra jellemző hatást sikerült kiváltani mindkét típusú cukorbetegség esetén *in vivo* vizsgálatok segítségével. A I. típusú betegség esetén a vanádiumkezelés 2-5 nap után normalizálja a glükózszintet⁵⁹ anélkül, hogy a vérplazma inzulinszintje növekedne. A terápia hatása még a kezelést követő további 2-3 hétben is tart.¹⁰⁰ A glükózfelvétel nem korlátozódik az inzulinra érzékeny szövetekre, hanem érinti a májat, a vázizomzatot és az agyat is.⁶⁰ A májban a megnövekedett inzulinkötő képesség teljesen normalizálódik és a glükogén, valamint a glükóz metabolizmusában kulcsfontosságú enzimek – glükokináz, defoszforizált (aktív) fruktóz-6-foszfát-kináz – szintje helyreáll. Az izomban a lecsökkent glükóz-6-foszfát- és glükogénszint a meggyengült glükogénszintetáz aktivitás a vanádiumkezelés hatására visszaáll a normális szintre.⁵⁹ Ezen megfigyelések alapján valószínűsíthető a nem-inzulin-szabályzott glükózszállítók, mint például a GLUT1-4 részvétele a folyamatban. A vanádiumkezelés a lipidanyagcserére is pozitívan hat, a zsírsejtekben a trigliceridmetabolizmusban tapasztalható elégtelenségek részben vagy teljesen megszűnnek. Ezen eredmények jó rész másodlagos – a glükózszint normalizálódásának hatására bekövetkező – effektusként értelmezhetőek, mivel csak együttesen következnek be. Mindazonáltal a vanádiumkezelés felfüggesztése után a véráramban a szabad zsírsavak és a trigliceridek koncentrációja még öt hónappal a kezelés után is normális volt, állandó magas glükózszint mellett. Az anyagcserében bekövetkező változások számos, az inzulin által szabályzott génexpresszáladási folyamat helyreállítására utalnak.⁶⁰ Phorizinadagolás mellett – amely csak a glükóz vesében történő felszívódását gátolja – a vanádiumkezelés által kiváltott kedvező hatások nem tapasztalhatóak. Azonban minden pozitívum ellenére az inzulin természetesen nem cserélhető vanádiumra. A zömmel az izomfehérjék degradációjával

magyarázható súlyvesztési folyamat gátlásában vanádiumkezeléssel az inzulin hatásának – mely teljes – csupán 20-30%-a érhető el. A II. típusú cukorbetegség esetén a vanádiumkezelés csökkenti a glükózszintet, növeli a glükóztoleranciát és a hasnyálmirigyben tárolt inzulin mennyisége közel helyreáll. Ezen megfigyelések a legjobban értelmezhetőek egyes perifériás – különösen az izom- – szövetekben az inzulin által kiváltott válaszreakciók megnövekedett mértékével. A vanádium ezen érzékenyítő hatásának mechanizmusa felderítetlen. A terápia nem növeli meg az inzulinreceptorok számát, sem az inzulin – receptor kötés erősségét.

Az a megfigyelés, hogy a vanádium glükózszintet csökkentő hatása függ az endogén inzulin mennyiségétől, felveti a kérdést, hogy a vanádium az inzulin teljes hiányában is hat-e, vagy csupán inzulin érzékenyítő hatása van.⁶⁰

Az első mechanizmus-elképzelés szerint a vanádium az inzulinhoz hasonlóan aktiválja az inzulin receptor kinázt, amely foszforilál egy endogén tirozincsoportot, egy kaszkád mechanizmus első lépését. Azonban a vanádium inzulinutánczó hatása a quercetinnel blokkolt receptorok esetén is hasonló maradt. Újabb elképzelés szerint a sejttérben található “nem-receptorfehérje tirozin kináz” részt vesz a vanádium indukálta glükózlebontás aktiválásában.⁵⁹ Egy a közelmúltban publikált eredmény szerint egy komplexben nem kötött vanádium (V^{VO}_4) az aktív komponens.⁶¹



5. ábra A vanádium inzulinutánczó hatásával foglalkozó közlemények száma a publikáció évében.

Különböző vanádiumkomplexek előállítására és inzulinjellegű hatásuk tesztelése a 1980-as években kezdődött azzal a céllal, hogy a hatásos – ámbár az alkalmazott mennyiségben kismértékben toxikus – nátriumvanadát helyett a gyógyászatban alkalmazható vanádiumvegyületet találjanak. Meglehetősen nehéz összehasonlítani a különböző csoportok által vizsgált vegyületek inzulinutánczó hatásának mértékét, mivel az általuk alkalmazott izolált sejteken végzett *in vitro* tesztek uniformizálatlanok. Jelen dolgozat szerzőjének véleménye szerint nem bizonyított az *in vitro* és *in vivo* kísérletek közötti korreláció sem, hiszen elképzelhető, hogy izolált zsírszövetek esetében az adott komplex rendkívül hatásos, míg a szervezetben esetleg el sem jut a megfelelő célsejtig. A hosszabb perióduson keresztülívelő, részletekbe menő vizsgálatokat a több mint 50 tesztelt komplex ellenére csak kevés esetben – például a biszmalto-láto-oxovanádium(IV)⁶² és a biszpikolináto-oxovanádium(IV)⁶³ vegyületekkel – folytattak. Ezen eredmények összehasonlíthatósága a számos különböző kísérleti állat miatt kétséges. A tesztelt hatásos komplexek jelentős része az oxovanádium (IV) semleges biszkomplexe^{64,65}, változatos donoratomokkal (O_4 , O_2N_2 , O_2S_2 , N_2S_2 , S_4)⁵⁸. Vizsgáltak ezen felül peroxovanadátokat és V^{III} vegyületeket is.^{64,65} Egy összehasonlító vizsgálat szerint nincs lényeges különbség a vizsgált több mint húsz komplex hatásának mértékében.⁶⁶

A transferrin $V^{IV}O$ mono- és biszkomplexének stabilitása ismeretében – egy általunk még nem publikált eredmény alapján – megállapíthatjuk, amennyiben az inzulin utánzó komplex stabilitási állandójának is birtokában vagyunk^{67,68,69,70,71}, hogy a legtöbb ilyen komplexet képző ligandum azonos koncentráció esetén nem versenyezhet a transferrin oxovanádiumkötő képességével. A véráramba kerülve a komplex szétesik, és a ligandumnak valószínűleg további szerepe nincs.

2.1.5.3 Antitumor hatás

A terület meglehetősen felderítetlen. Mindössze kétféle, különböző oxidációs számú vanádiumvegyületet, egy fémorganikus komplexet – a $(C_6H_5)_2VCl_2$ -ot – valamint komplexben kötött és szabad peroxovanádiumot teszteltek. A kétféle potenciálisan rákellenes szer hatásmechanizmusa valószínűleg eltérő. Az előbbi szerkezete alapján ciszplatina típusú kölcsönhatásra lehet képes, míg a peroxovanadát-komplexek eltérő, bár ismeretlen módon fejthetik ki hatásukat.²²

2.1.5.4 A vanadát hatása a foszfát metabolizmusban résztvevő enzimekre

A vanadát ion, amely $HV^{VO}_4^{2-}$ formájában négyes koordinációjú mind geometriailag, mind sav bázis tulajdonságaiban emlékeztet a foszfátióra:

	pK: $X=P$ ⁷²	pK: $X=V$
H_3XO_4	1,86	?
$H_2XO_4^-$	6,63	8,
HXO_4^{2-}	11,48	>12

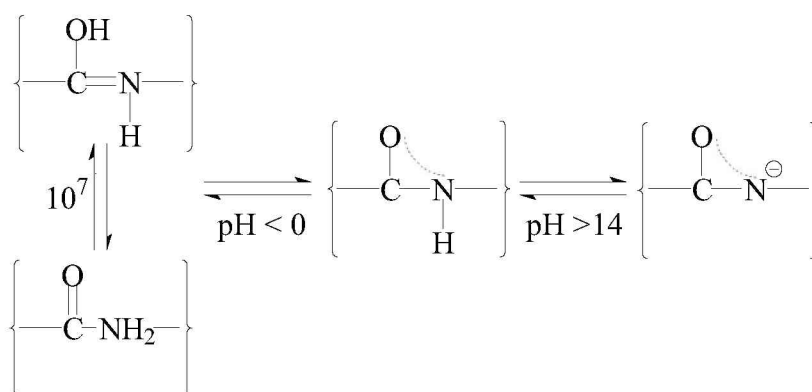
Azáltal, hogy a foszfátiónnal ellentétben a vanadát képes ötös és hatos koordinációjú adduktumok képzésére valamint geometriaváltásra, feltételezhető, hogy hatékony és reverzibilis indibítora lehet az összes olyan enzimnek, amely a foszfátiónt illetve foszforilált vegyületek reakcióit katalizálja. Az enzimatis lépések során az átmeneti állapot adduktuma, amely ötös koordinációjú foszfátiónt tartalmaz, a vanadátion esetén stabilizálódhat, gátolva ezáltal a további reakciót. Ilyen mechanizmus szerint inhíbeálja a vanadát például a következő enzimeket: ribonukleáz, foszfoglícérát mutáz, foszfo-glükómutáz, ATPáz, alkalikus foszfátáz, savas foszfátáz, fruktóz-2,6-difoszfátáz, glükóz-6-foszfátáz, stb. A vanadát oligomer részecskéinek is van gátló hatása, de ez jóval kevésbé általános érvényű, és biológiai körülmények között nem jellemző.

A peroxovanadátokban a peroxokötés hatására megnövekszik a vanadát koordinációs száma, ezáltal a korábbi mechanizmus által biztosított effektus elméleti alapon nem valószínűsíthető. A peroxovanadátokkal végzett kísérletek ennek az ellenkezőjét bizonyították.⁷³

2.2 A peptidamid-nitrogén koordinációs kémiája

2.2.1 H-folyamatok

A peptidamid-nitrogén deprotonálódása csak extrém lúgos közegben játszódik le, mérése meglehetősen nehéz.⁷⁴ Az adott közegben végzett NMR, valamint indirekt kinetikai mérések alapján egy átlagos amidcsoport pK-ja körülbelül 15-nek becsülhető. A peptidamidcsoport annak ellenére, hogy egy nemkötő elektronpárral rendelkező nitrogént tartalmaz – az aminocsoporttal ellentétben – gyakorlatilag nem bázikus, az amidcsoport karboniloxigénje és a nitrogén nemkötő elektronpárja között fellépő konjugáció következtében. A protonált amidcsoporttal végzett NMR mérések igazolták, hogy a proton gyakorlatilag kizárólag a karboniloxigénjén helyezkedik el. Semleges amidcsoport esetén is van erre lehetőség, azonban a szerkezet mindössze az esetek $\approx 10^{-6}$ százalékában fordul elő.



6. ábra A peptidamidcsoport sav-bázis folyamatai.

2.2.2 A peptidamid-nitrogén koordinációs kémiája vizes oldatban^{74, 75}

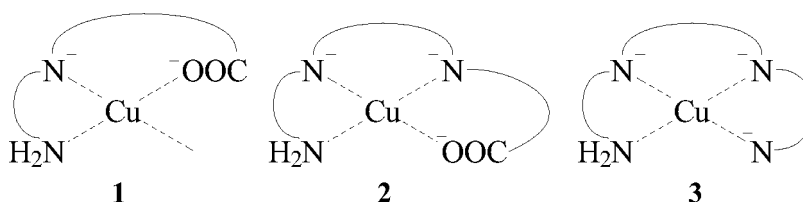
A peptidamidcsoport két potenciális donoratomot tartalmaz. Az amidoxigén gyenge bázicitása alapján azonban nem várható erős fémion – amidoxigén kölcsönhatás, vizes oldatban a víz oxigénje hasonló erősségű elektronpárdonor.

Az amidnitrogén deprotonálódása és koordinálódása révén megfelelő erősségű kölcsönhatás jöhetne létre, azonban az amidnitrogén gyenge savassága miatt az alkálifémek és az alkáliföldfémek nem képesek az amidnitrogén deprotonálódását indukálni, az átmenetifémek esetében pedig – vizes oldatban – a fémion hidrolízise megakadályozza az amidnitrogén esetleges koordinálódását. Húszszoros acetamid felesleg mellett *N*-2,2'-bipiridillel oldatban tartott Cu^{II} esetén sem tudták az amidnitrogén deprotonálódását kimutatni. Szilárd komplexek esetén – ahol az amidcsoport nem egy kelátgyűrű része – csupán az amidoxigén koordinálódására van példa.

Az amidnitrogén tehát önálló koordinálódásra nem képes, egy elsődleges horgonydonor koordinálódása után azonban kelátgyűrű kialakulása révén már számos fémion képes az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását kiváltani.

2.2.2.1 Réz(II)

A legegyszerűbb deprotonált amidcsoportot tartalmazó komplex a Cu^{II} és a glicinamid CuA_2H_2 összetételű komplexe, melyben az amidnitrogén deprotonálódásának pK értékei: 7,07 illetve 8,33. Mivel az *N*-acetyl-glicin esetében hasonló deprotonálódás nem figyelhető meg, megállapítható, hogy az aminocsoport Cu^{II} esetében képes horgony-donorcsoport szerepet betölteni, míg a karboxilátcsoport nem.^{74,75} Mindazonáltal a legegyszerűbb dipeptidben (GlyIGly) az amidnitrogén deprotonálódásának pK értéke (4,23)



A Cu(II) ion glygly(1), glyglygly(2) illetve glyglyglygly-vel (3) kialakított maximális deprotonált amidnitrogént tartalmazó monokomplexei.

több nagyságrenddel alacsonyabb, mint a glicinamidé, ami a karboxilcsoport jelentőségét bizonyítja. A GlyGlyGly és GlyGlyGlyGly Cu^{II} komplexei esetében az amidnitrogének konszekutív deprotonálódása is az aminocsoport felől indul. A deprotonálódások pK értékei az oligopeptid tagszámával illetve a már koordinálódott amidnitrogének számával egyaránt nő.

Az aminosavak megfelelő oldalláncai jelentősen befolyásolhatják az oligoglicin peptideknél tapasztalt folyamatokat, leginkább a megfelelő térhelyzetben lévő és koordinációra is képes hisztidinnitrogén(ek) illetve a cisztein tiolátcsoportja.^{74,75}

A nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó dipeptidek (X: Ala, β -Ala, Leu, Ile, Val, Trp, Phe és gyakorlatilag a Gln és az Asn is) mind a képződő komplexek összetételét, mind azok stabilitását természetesen csak kismértékben befolyásolják. A X-Gly Cu^{II} komplexekben az amidnitrogén deprotonálódása kedvezményezettebb, míg a Gly-X típusú dipeptidek utóbbi folyamata valamelyest gátolt a GlyGly-hez képest. Érdekes megfigyelés, hogy a Cu(AH₁)₂ két deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplex kizárólag a X-Gly dipeptidek esetén képződik. A gyűrűtagszám növekedése az amidnitrogének pK értékeire jelentős hatással van. Mind a Gly- β -Ala, mind a β -Ala-Gly ligandumok Cu^{II}ion indukálta amidnitrogén deprotonálódása 0,5-1 pH egységgel kisebb a GlyGly megfelelő értékénél, míg a β -Ala- β -Ala dipeptid esetén az amidnitrogén nem is deprotonálódik, kizárólag a fémion részleges hidrolízise figyelhető meg.⁷⁴

Tripeptidek vizsgálata kimutatta, hogy az N-terminális helyzetben lévő leucin oldallánc növelte a CuL összetételű komplex stabilitását, és elősegítette az első amidnitrogén deprotonálódását, míg a C-terminális pozíciójú hasonló oldallánc a második amidnitrogén deprotonálódására fejtett ki gátló hatást.

Az oldalláncot tartalmazó dipeptidek királisak, így a két kiralitáscentrumot tartalmazó dipeptidek diasztereomerpárjai már kémiai is különböző viselkedést mutatnak, a DD, DL és LD dipeptidek protonálódási állandói és Cu^{II} komplexeinek stabilitási állandói is némileg különböznek egymástól.

A prolin – mivel szekunder amid, így deprotonálódásra képtelen – merev szerkezeténél fogva töréspontot képez a peptidláncon két részre vágva ezzel a molekulát. Abban az esetben, ha a molekula mindkét fele koordinálódik, nagyméretű kelátgyűrű jön létre. A tetraglicin egyes aminosavait külön-külön prolinra cserélve megállapítható, hogy a GlyProGlyGly első amidnitrogénjének pK értéke több mint két nagyságrenddel nagyobb, mint a tetraglicin ugyanezen pK-ja, míg a GlyGlyProGly ligandum második amidnitrogénjének deprotonálódása be sem következik.

A szerin és a treonin egy-egy alkoholos hidroxilcsoportja, bár nem vesz részt a pH-metriás folyamatokban, mégis valamelyest növeli a képződött komplexek stabilitását. Az alkoholát koordinációját mindösszesen pH 12 felett valószínűsítették a GlySer, GlyThr ligandumoknál.

A tirozin oldallác viselkedése a Cu^{II} oligopeptid rendszerekben alapvetően a fenilalaninra emlékeztet, minthogy a fenolos hidroxilcsoport nincs megfelelő térhelyzetben a koordinációhoz. Az aromás gyűrű és a d-pályák közötti kölcsönhatás eredményeként a CuLH_1 komplexek kissé stabilabbak, mint az oldalláncot nem tartalmazó megfelelő oligopeptid komplexei. N-terminális tirozintartalmú dipeptidek Cu^{II} ionnal $(\text{Cu}(\text{AH}_1)_2)_2$ összetételű dimer komplexet is képeznek.

A C-terminális pozícióban aszparaginsavat illetve glutaminsavat tartalmazó dipeptidek hasonló, de valamivel nagyobb stabilitású komplexeket képeztek a Cu^{II} ionnal az enyhén savas illetve semleges pH tartományban, a hatás az aszparaginsavnál erőteljesebb. Az extra karboxilátcsoport oldalláncának

kölcsönhatása a fémionnal az amidnitrogén valamivel magasabb pH-n bekövetkező deprotonálódását eredményezi.

A lizin oldalánc, amely szintén jó kötőhelye a Cu^{II} ionnak, a tirozin oldallánchoz hasonlóan nincs megfelelő térhelyzetben ahhoz, hogy kis tagszámú kelátgyűrűt képezzen, ennek megfelelően a lizintartalmú dipeptidok is hajlamosak a dimerizációra.

A hisztidin oldalláncot tartalmazó di- és tripeptidok koordinációs módját meghatározza az oldallánc elhelyezkedése. A GlyHis és GlyGlyHis ligandumok esetében a hisztidin nitrogén kiszorítja a karboxilátcsoportot a koordinációs szférából a dipeptid tri-, a tripeptid tetradentát módon koordinálja a Cu^{II} ionokat. A GlyHis $\text{Cu}^{\text{II}}\text{LH}_1$ összetételű komplexe pH 9,6 körül egy újabb deprotonálódási folyamat, a hisztidin N3 nitrogénjének protonvesztése és egy másik fémkomplexhez való koordinációja révén tetramerizálódik. A GlyGlyHis – a vérérszérum réz-megkötő fehérjéjének, az albuminnak a modellvegyülete – Cu^{II} rendszerben a 4-6 pH tartományban mindkét amidnitrogén valamint a hisztidin oldallánc egyaránt deprotonálódik. A három deprotonálódási folyamat közül azonban az utolsó kettő egy lépcsőben – kooperatív módon – játszódik le. A triglicinnel összehasonlítva a hisztidin oldallác hatására a második amidnitrogén deprotonálódása legalább két pH egységgel hamarabb következik be. A HisGly – Cu^{II} rendszerben a biszisztidin típusú koordináció valósul meg pH 5-ig. A magasabb pH tartományban GlyGly-szerű, egy deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplex válik dominánssá, miközben a hisztidin nitrogénje egy másik Cu^{II} komplex központi fémionjához kötődik, dimert képezve ezáltal. A GlyHisGly GlyHis-szerűen koordinál, a második amidnitrogén deprotonálódása nem következik be. HisGlyGly a HisGly ligandumhoz hasonlóan bisz- illetve dimer komplexeket képez, míg bázikus közegben a dimer szerkezet felbomlik és triglicinszerű koordináció valósul meg.

5. táblázat A Cu^{II} ion által indukált amidnitrogén pK értékek különböző horgony-donorcsoportok mellett, valamint az adott ligandumra jellemző néhány egyensúlyi adat.

Ligandum	$\text{pK}_1^{\text{amid}}$	$\text{pK}_2^{\text{amid}}$	$\text{pK}_3^{\text{amid}}$	pK_2	$\lg\beta_{\text{ML}}$	$\text{pK}_2 - \lg\beta_{\text{ML}}$
GlyGly ⁷⁶	4,23			8,13	5,56	2,57
GlyGlyGly ⁷⁶	5,41	6,86		7,93	5,25	2,68
GlyGlyGlyGly ⁷⁶	5,56	6,91	9,18	7,94	5,06	2,88
Gly-Hisztamin ⁷⁷	3,20			14,80 ^a	7,19	7,61 ^a
2-mpg ⁷⁸	6,2			8,74	7,6	1,14
3-mpg ⁷⁸	7,0			9,60	6,9	2,70
2-mp- β -Ala ⁷⁸	6,7			8,81	7,0	1,81
3-mp- β -Ala ⁷⁸	7,6			9,69	6,1	3,59
SalGly ⁷⁹	4,40			8,24	5,33	2,91
SalGly-L-Ala ⁸⁰	4,94	6,15		7,81	4,45	3,36
SalH ₂ GlyGly ⁸¹	5,43			17,63 ^b	11,51	6,12 ^b
SalH ₂ GlyGlyGly ⁸¹	5,71	9,34		17,38 ^b	10,65	6,73 ^b
GLUGly ⁸²	5,79 ^b			–	1,94	–

^a $\Sigma\text{pK}_{1,2}$ illetve $\Sigma\text{pK}_{1,2} - \lg\beta_{\text{ML}}$. Az ML összetételű komplex kialakulásához az amidnitrogén deprotonálódását megelőző pH-n két donorcsoporthoz kell deprotonálódnia.

^b $\Sigma\text{pK}_{2,3}$ illetve $\Sigma\text{pK}_{2,3} - \lg\beta_{\text{ML}}$. Az ML összetételű komplex kialakulásához az amidnitrogén deprotonálódását megelőző pH-n két donorcsoporthoz kell deprotonálódnia.

^c Az alkoholos hidroxilcsoport és az amidnitrogén kooperatív deprotonálódásának átlagértéke

A ciszteintartalmú peptidok tiolátcsoportja általában könnyedén redoxreakcióba lép a Cu^{II} ionnal, így ezek a rendszerek gyakorlatilag nem tanulmányozhatóak. Egyes tiolcsoportot tartalmazó ligandumok, mint a 2-merkaptó-propionil-glicin (2-mpg) képesek a Cu^{II} ionokkal való kölcsönhatásra redoxreakció bekövetkezése nélkül is, így kimutatható deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplex dipeptidszerű

koordinációval, ahol a GlyGly ligandumhoz képest az aminocsoportot a tiolátcsoport helyettesíti. A kialakuló kelátgyűrű tagszámának a hatását a Cu^{II} ion indukálta amidnitrogén-deprotonálódásra a 2-merkaptó-propionil-glicin, a 3-merkaptó-propionil-glicin, a 2-merkaptó-propionil- β -alanin és a 3-merkaptó-propionil- β -alanin ligandumokkal vizsgálták, melyek rendre 5+5, 5+6, 6+5 illetve 6+6 tagú gyűrűt képezhetnek. A megállapított stabilitási sorrend $5+5 > 5+6 > 6+5 > 6+6$ volt. Az első két esetben igen nagy stabilitású CuL komplexek képződnek, az amidnitrogén deprotonálódása azonban 2-2,5 egységgel magasabb pH-n következik be, mint a diglicin ligandumnál. A 2-mgp esetén a rendszert spektrális tulajdonságai a “kék réz” proteinekhez teszik hasonlóná, ami speciális geometriai elrendeződésre, tetraédes rézkörnyezetre utal.

A természetes dipeptideken kívül számos mesterséges peptidszármazék Cu^{II} indukált amidnitrogén deprotonálódását vizsgálták. Megfelelő horgonydonornak bizonyult az orto helyzetű fenolos hidroxilcsoport: a szalicilglicin (SalGly)⁷⁹ illetve szalicilglicil-L-alanin (SalGly-L-Ala)⁸⁰ ligandumok hatásosan komplexálták ezen fémiont és diglicin illetve triglicin koordinációs módú monokomplexek képződtek, az aminonitrogén helyén természetesen fenolátcsoporttal. Az ML összetételű komplexek mindkét ligandum esetében kevésbé stabilak, mint akár a diglicin akár a triglicin azonos összetételű részecskéje. A dipeptidanalóg esetén az amidnitrogén pK-ja valamelyest kisebb, mint a diglicin megfelelő komplexében, ellenben a tripeptidszármazék amid pK-i több mint fél pH egységgel alacsonyabbak a triglicin amidcsoportjainak pK értékeinél és az eddigiekhez hasonlóan lépcsőzetesen követik egymást. A di- és triglicin szalicilaldehiddel alkotott Schiff-bázisának redukciójával előállított ligandumok – a $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ illetve $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ – Cu^{II} ion indukálta amiddeprotonálódási lépcsői (lásd . táblázat) az eggyel nagyobb tagszámú tri – illetve tetraglicinre emlékeztetnek, jelezvén azt, hogy a fenolos hidroxilcsoport mindegyik esetben részt vesz a koordinációban.⁸¹

Az *N*-D-glükonil-glicin – Cu^{II} rendszerben szintén tapasztalható amidnitrogén deprotonálódás, ebben az esetben azonban a primer horgonyként szolgáló alkoholos hidroxilcsoport és az amidnitrogén deprotonálódása közel egy lépcsőben játszódik le, a két folyamatra jellemző pK érték átlaga több, mint egy pH egységgel meghaladja a diglicin amidnitrogénjének protonvesztésére jellemző megfelelő adatot.⁸²

2.2.2.2 Palládium(II), Nikkel(II)

A palládium(II) – amely a fémionok közül a leghatásosabban képes az amidnitrogén deprotonálódását indukálni – a Cu^{II} ionhoz hasonló koordinációjú komplexet képez a GlyGly-nel, míg a GlyGlyGly és a GlyGlyGlyGly esetében diamágneses komplexek jönnek létre. A reakció lassú, és a protonvesztések pK értékei meglehetősen alacsonyak, ami megnehezíti meghatározásukat. A dipeptidek vegyes klorokomplexeire jellemző amidnitrogén deprotonálódásához rendelhető pK-értékek 2-3 közé esnek.⁸³ Hasonlóan a Cu^{II} ionhoz csak az X-Gly típusú ligandumok esetén képződik két deprotonált amidnitrogént tartalmazó $\text{Pd}(\text{LH}_1)_2$ összetételű biszkomplex, amelyben a ligandum bidentát módon koordinálódik.

6. táblázat A Pd^{II} ion által indukált amidnitrogén pK értékek oligoglicin komplexeknél.⁸³

Ligandum	$\text{pK}_1^{\text{amid}^a}$	$\text{pK}_2^{\text{amid}^b}$	$\text{pK}_3^{\text{amid}}$
GlyGly	2,52		
GlyGlyGly	3,27	5,46	
GlyGlyGlyGly	3,44	4,68	7,68

^a A PdLCl komplex pK-ja.

^b A deprotonálódással párhuzamosan egy kloridion kiszorul a koordinációs szférából.

A triglicin illetve GlyGlyAla komplexek esetében meglepő módon ligandumfelesleg mellett, pH 6 felett $\text{Pd}(\text{LH}_1)_2$ komplexek dominánsak az oldatban.⁷⁸ Bár Cu^{II} ionok esetében is kimutattak biszkomplexeiket tri- és tetrapeptidek esetében is⁷⁶, az eloszlásgörbén ezek csak mint minor komponensek jelennek meg. 1:1 fém-ligandum arány mellett képződő monokomplexek amidcsoportjának pK értékei a 6.

táblázatban találhatóak. Látható, hogy a pK értékek – a Cu^{II} ionál tapasztaltakhoz hasonlóan – az oligopeptid tagszámával növekednek, és a protonvesztés lépcsőzetesen következik be. A tetraglicin palládium(II) indukált amidnitrogén deprotonálódási folyamataira jellemző első két pK érték közötti különbség fele akkora, mint a második és a harmadik pK érték közötti eltérés.

A Cu^{II} esetében kialakuló tetragonális monokomplexeiktől eltérően a Ni^{II} oligopeptid komplexei két különböző geometriájúak lehetnek: hexaédes biszkomplex illetve síknégyszetes bisz- vagy monokomplex jön létre a ligandumtól függően. Az előbbi a GlyGly-re jellemző (pK_{amid} = 9,35, 9,96). Az utóbbi esetben (glicinamid, GlyGlyGly, GlyGlyGlyGly) a geometriaváltás (oktaédes komplexből síknégyszetesbe) következtében az amid deprotonálódások nem lépcsőzetesen, hanem gyakorlatilag egy lépésben következnek be, így csak a lépcsők pK értékeinek átlaga határozható meg pontosan. (pK_{amid} (glicinamid): 8,5, pK_{amid} (GlyGlyGly): 8,37 pK_{amid} (GlyGlyGlyGly): 8,07⁸⁴).

Hisztamintartalmú dipeptidek esetén a Cu^{II}-re jellemző tendenciák érvényesülnek, valamelyest karakterisztikusabb mértékben. A HisGly esetén a biszkomplex képződése válik dominánssá, az amidnitrogén nem játszik szerepet a koordinációban. A GlyHis ligandumra a már Cu^{II} esetén leírt koordináció jellemző mindkét fémionra. A Ni^{II} esetében ezen ligandum amidnitrogénjének a legkisebb a pK értéke (6,03).

Bár a tiolétercsoportot tartalmazó oligopeptidek esetén a Cu^{II} ion koordinációjában az oldalláncnak nincs kitüntetett szerepe, a Pd^{II} ion „szoft” karaktere folytán különböző oldatszerkezetű komplexet képez ezekkel a ligandumokkal az oldallánc elhelyezkedésétől és a fém-ligandum aránytól függően. A GlyMet ligandum – ahol a tiolátcsoport a C-terminális végén található a molekulának – MLH₁ diglicin típusú koordinácót alakít ki, ahol a láncvégi karboxilcsoportot a tiolát helyettesíti. Az S-metil-cisztein ligandum ellenben biszkomplexet képez egy tiolát – aminonitrogén bidentát koordináció révén. Mindkét esetben ligandumfelesleg és magas pH mellett a Cu^{II}-X-Gly rendszerekre jellemző négy nitrogén koordinációja valósul meg M(LH₁)₂ összetétel mellett.

A legegyszerűbb tiolátcsoportot tartalmazó dipeptidek az N-acetil-cisztein és a már említett N-2-merkaptó-propionil-glicin (2-mpg) vizsgálata eltérő képet mutatott. Míg az N-acetil-cisztein amidnitrogénje nem deprotonálódott a komplexképződés során – karboxilát-tiolát bidentát biszkomplexek dominálnak az oldatban –, addig a 2-mpg ligandum tiolátcsoportja betöltötte – a karboxilcsoport „segítségével” – a horgony-donorcsoport szerepét. A tiolát, az amid és a karboxilát tridentát koordinációja mellett a fémion körül egy ekvatoriális koordinációs pozíció még szabad, melynek révén a tiolátcsoporton keresztül a komplex oligomerizálódik. Hasonló, ámbár dimer molekulaként elképzelt struktúra keletkezik a Ni^{II}, Pd^{II} GlyCys dipeptid komplexeiben, amely ligandumfelesleg mellett egy extra tiolátcsoport koordinációjával biszkompleksszé alakul át. A CysGly ligandum esetében az amino- és tiolátcsoportok kedvező térállása miatt szintén a biszkomplekxképződés a kedvezményezett, az amidnitrogén deprotonálódása nem következik be. Ezen két fémion a terminális cisztein tartalmú tripetidekkel is aminonitrogén, két amidnitrogén és tiolát koordinációjú komplexet ad.

2.2.2.3 Kobalt(II), Cink(II)

Co^{II} ion a Ni^{II} ionnal azonos összetételű és geometriájú komplexet képez a GlyGly-nel (pH > 10), amely oxigénre érzékeny és könnyen Co^{III}-má oxidálódik a komplex struktúrájának megőrzése mellett. A Zn^{II} ionokat tekintve oligoglicinek esetében nincs bizonyíték az amidnitrogén deprotonálódásának bekövetkezésére. Ezzel ellentétben a GlyHis ligandum amidnitrogénjének protonvesztése – a hisztidinnitrogén extra koordinációja révén – mindkét ion esetében bekövetkezik. (Co^{II}: pK_{amid} = 6,73, Zn^{II}: pK_{amid} = 7,40) Tiolátoldalláncot tartalmazó peptidek az oldallánc elhelyezkedésétől függően amino-tiolát vagy karboxilát-tiolát bidentát biszkomplexekeket képeznek, az amidnitrogén deprotonálódása nem következik be.

2.2.2.4 Dimetilón(IV)

A dimetilón(IV) indukálta amidnitrogén deprotonálódást számos dipeptidanalóggal vizsgálták alkalmas horgony-donorcsoportot keresve. Összességében megállapítható, hogy a terminális karboxilátcsoportot tartalmazó ligandumokkal képzett komplexek amidnitrogénjének pK értékei közel függetlenek az N-terminális pozíció helyén lévő donorcsoporttól, és a 4,2-5,0 tartományba esnek. A 2-mpg ligandum kivételével a koordináció a karboxilátcsoport monodentát koordinációjával kezdődik, majd a komplex részlegesen elhidrolizál $(CH_3)_2Sn^{IV}LH(OH)$ összetételű részecskét képezve. A következő deprotonálódási lépcsőben a ligandum N-terminális végén található donorcsoportnak és az amidnitrogénnek a koordinációs szférába történő együttes belépésével egy tridentát koordináció jön létre, miközben a hidroxilcsoport kiszorul a fémion környezetéből. A keletkezett MLH_1 összetételű részecskék – ellentétben az MLH illetve ML komplexekkel – lassú ligandumcsere sebességgel rendelkeznek az NMR időskálája szerint. A GlyAsp ligandumnál tapasztalt pK érték növekedés az aszparaginsav-oldallánc extra koordinációja okozta gátló hatásnak tulajdonítható. Az N-terminális pozícióban nitrogén illetve oxigén donortomot tartalmazó komplexek $V^{IV}OL$ komplexe hasonló stabilitású. Az AspGly illetve GlyHis ligandumoknál a két oldallánc enyhe stabilitásnövekedést okoz.

7. táblázat A $Sn(CH_3)_2^{II}$ ion által indukált amidnitrogén pK értékek különböző horgony-donorcsoportok mellett, valamint az adott ligandumra jellemző néhány egyensúlyi adat.

Ligandum	pK_1^{amid}	pK_2	$lg\beta_{ML}$	$pK_2 - lg\beta_{ML}$
GlyGly ⁸⁵	4,81	8,09	6,61	1,48
Ala-Gly ⁸⁶	4,99	8,11	6,80	1,31
AspGly ⁸⁷	4,77	7,99	6,90	1,09
GlyAsp ⁸⁷	5,21	8,36	7,51	0,85
GlyHis ⁸⁵	4,68	14,88 ^a	13,73	1,15 ^b
SalGly ⁸⁸	4,39	8,21	6,75	1,46
GLUGly ⁸⁹	4,46	–	2,36	-1,00 ^c
GLUMet ⁸⁹	4,55	–	2,80	-0,60 ^c
2-mpg ⁸⁶	4,59	8,39	9,52	-1,13

^a $pK_2 + pK_3$

^b $pK_2 + pK_3 - lg\beta_{ML}$

^c $lg\beta_{MLH-1}$

A 2-mpg tiolátcsoportjának elsődleges koordinációja révén sokkal stabilabb komplexet képez a dimetilón^{IV}-ionnal. A $V^{IV}OLH$ komplex deprotonálódása a karboxilcsoporton következik be annak koordinálódása nélkül. A következő deprotonálódási lépcsőben kialakuló komplex teljesen hasonló a korábbiakhoz, csak a stabilitása nagyobb mintegy három nagyságrenddel.

2.2.2.5 Biológiai aspektusok

A biológiailag jelentős glutation (γ -glutamil-L-ciszteinil-glicin) ligandummal a Ni^{II} valamint a Pd^{II} ionok esetét lehetett amidnitrogén deprotonálódását kimutatni, a Ni^{II} -ionnal $pH > 12$, míg Pd^{II} esetén a 7-11 pH tartományban. ^{13}C -NMR vizsgálatok alapján a 10,5-13 pH tartományban a Zn^{II} ion indukálta amidnitrogén deprotonálódását is valószínűsíteni lehet. A Cu^{II} ion redoxreakcióba lép a glutationnal, melynek hatására oxidált glutation jön létre, melyben a két glutation molekulát egy diszulfid híd köti össze. Ezen ligandum vizsgálata a Cu^{II} -ion és a diszulfidhíd gyenge kölcsönhatására mutatott rá, amely így nem szolgált megfelelő horgony-donorcsoportként a fémion által indukált amidnitrogén-deprotonálódás számára.

A serum albuminnal végzett kísérletek azt mutatják, hogy a fehérje egy ekvivalens Cu^{II} , illetve Ni^{II} iont képes erősen megkötni, és peptidlánc N-terminális végén a GlyGlyHis tripeptidre jellemző koordinációs mód jön létre.

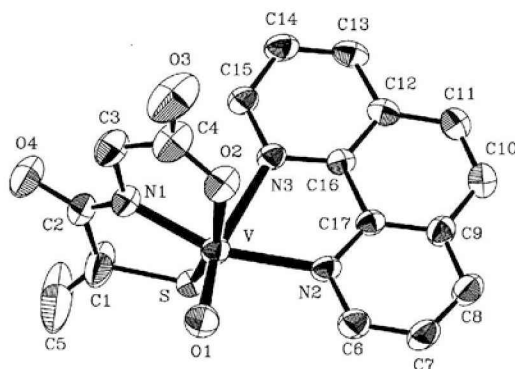
2.3 Az oxovanádium – amidnitrogén kölcsönhatás

2.3.1 Szilárd komplexek vizsgálata

Az irodalomban megtalálható számos deprotonált amidnitrogént tartalmazó oxovanádium(IV) komplex szerkezetének röntgendiffrakciós leírása. Az e módon jellemzett komplexeket (lásd. 8. táblázat) a ligandumok alapján két típusba sorolhatjuk:

I. Amidnitrogén–aromás szén kovalens kötést tartalmazóak – „aromás amidok” –, ahol a ligandum négyfogú, a mononukleáris komplexben három kondenzált kelátgyűrűt találhatók, és az egy, esetleg két amidnitrogén mindig két kelátgyűrű csatlakozásánál helyezkedik el. Egy amidnitrogéntartalmú komplexekben a másik hasonló pozícióban lévő nitrogén vagy szekunder imin, vagy szekunder amin. A leggyakoribb csak egy kelátgyűrű kialakításában résztvevő donorcsoportok a $O_{\text{fenolát}}^-$ és a N_{piridin} esetleg az $O_{\text{alkoholát}}^-$, O_{acac}^- , $S_{\text{tiofenolát}}^-$. A $V-N_{\text{amid}}$ távolság a 1,970-2,086 Å intervallumba esik. Összehasonlítva az egyéb típusú $V-N$ kötéstávolságokkal (amin, imin, aromás nitrogének: lásd 2. táblázat) megállapítható, hogy a legrövidebb, kisebb, mint a $V-O_{H_2O}$ átlagos kötéstávolság és nagyjából összemérhető a $V-O_{\text{karboxilát}}^-$ átlagos kötéstávolságával. A komplexekben a négy donortom általában az ekvatoriális síkban foglal helyet, két eset kivételével. Az egyikben egy dimer komplexet kritályosítottak ki⁹⁰, míg a második esetben a „láncvégi” donorcsoport axiális koordinációját figyelték meg⁹¹, azonban ez utóbbi esetben is az amidnitrogént tartalmazó mindkét kelátgyűrű az ekvatoriális síkban található.

II. Az „alifás amidokat” tartalmazóak, ahol a ligandum háromfogú, a mononukleáris komplexben két kondenzált kelátgyűrűt képez az ekvatoriális síkban, miközben egy fenantrolin molekula foglalja el a fennmaradt egy-egy szabad ekvatoriális és axiális pozíciót. Gyakorlatilag kétféle kötésmódú ilyen komplex



7. ábra A $V^{IV}O$ – 2-mpg – fenantrolinnal alkotott vegyes komplexének röntgenszerkezete

ismert csak: az egyik esetben a ligandum a 2-merkapto-propionil-glicin (2-mpg), ahol egy tiolát illetve karboxilát veszi közre az amidnitrogént. A másik típust az olyan dipeptidok képviselik, ahol az oldalláncnak nincs szerepe a koordinációban, így egy amino illetve egy karboxilátcsoport található még a koordinációs szférában. Az amidnitrogén–vanádium kötéstávolság jelen esetben talán valamivel kisebb: 1,927-2,005.

Mindkét csoport esetében az amidnitrogén ekvatoriális pozícióban található, két csatolt kelátgyűrű találkozási pontjában.

Két komplex esetén feltételezték axiális koordinációt, de ezekben az esetekben nincs egykristályszerkezettel bizonyítva a javasolt szerkezet.

8. táblázat Deprotonált amidnitrogént tartalmazó vanádiumkomplexek jellemzői.

Komplex	Ekvatoriális pozícióban koordinálódó donorcsoportok	Axiális	V–N _{amid} kötéstávolság (Å = 100 ppm)	A	N _{amid} A hozzá- járulása	Hiv.
I. “Aromás” amidcsoportot tartalmazó ligandumokkal alkotott V ^{IV} O komplexek						
V ^{IV} O(paap) ^a	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{amid} [–] , N _{piridin}			145	31,8	92
V ^{IV} O(bpb)(H ₂ O) ^a	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{amid} [–] , N _{piridin}		2,015*			93
[V ^{IV} O(hypyb)] [–]	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{amid} [–] , Ar–O [–]		2,009	156,1	32,8	94,95
V ^{IV} O(phepc) ^b	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , Ar–O [–]			152,4	32,8	95
V ^{IV} O(pycac)	O _{konj.} [–] , N _{ammin} , N _{amid} [–] , N _{piridin}		1,979*	151,4	33,1	96, 97
V ^{IV} O(pycbac)	O _{konj.} [–] , N _{ammin} , N _{amid} [–] , N _{piridin}		1,989	152,4	34,0	97
V ^{IV} O(thipca)	Ar–S [–] , N _{ammin} , N _{amid} [–] , N _{piridin}		1,997	150,6	34,2	95
V ^{IV} O(pais) ^b	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , Ar–O [–]		2,017*	154	34,4	92
[V ^{IV} O(hiba)] ^{2–}	R–O [–] , N _{amid} [–] , N _{amid} [–] , R–O [–]			145	37,2	92
[V ^{IV} O(depa–H)] ^{2–}	Ar–O [–] , N _{amid} [–] , N _{amid} [–] , Ar–O [–]		2,013*			98
[V ^{IV} O(hybeb)] ^{2–}	Ar–O [–] , N _{amid} [–] , N _{amid} [–] , Ar–O [–]		2,022	156,2	39,2	95
[V ^{IV} OCl(Hbpb)] ₂ ^a	N _{piridin} , N _{amid} [–] , Cl [–] , N _{piridin} ,	O _{amid} ,	2,086			90
V ^{IV} O(capca)Cl	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	Cl [–]	2,010	145,0	24,8	91,30
V ^{IV} O(capca)(NCS)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	N _{tiocianát} [–]		147,5	27,3	91,30
V ^{IV} O(capca)N ₃	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	N _{azid} [–]		144,5	24,3	91
V ^{IV} O(capca)(CH ₃ COO)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	O _{karboxilát} [–]		1450	24,8	91,30
V ^{IV} O(capca)(PhCOO)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	O _{karboxilát} [–]		144,0	23,8	91
V ^{IV} O(capca)(Im)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	N _{im}		162,0	42,3	91,30
V ^{IV} O(capca) (η-nBuNH ₂)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{imin} , N _{piridin}	(η-nBuNH ₂)		162,0		91
V ^{IV} O(Hcapcah)(Cl)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{ammin} , Cl [–]	N _{piridin}	2,019	163,0	39,5	91
V ^{IV} O(Hcapcah)(NCS)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{ammin} , N _{tiocianát} [–]	N _{tiocianát} [–]	2,010	160,0	38,5	91
V ^{IV} O(Hcapcah)(N ₃)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{ammin} , N _{azid} [–]	N _{azid} [–]	2,026	163,0	41,5	91
V ^{IV} O(Hcapcah)(Im)	N _{piridin} , N _{amid} [–] , N _{ammin} , N _{im}	N _{im}		158,0	34,5	91
II., Alifás” amidcsoportot tartalmazó ligandumokkal alkotott V ^{IV} O komplexek						
[V ^{IV} O(2-mpg)(phen)] [–]	S _{tiolát} [–] , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}	1,997	151,1	35,8	99, 100, 101
V ^{IV} O(GlyGly)(phen)	N _{ammin} , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}	2,005*	158,9	35,4	99, 101
V ^{IV} O(GlyAla)(phen)	N _{ammin} , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}	1,949	159,0	35,5	99, 101
V ^{IV} O(GlyTyr)(phen)	N _{ammin} , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}	1,927	160,0	36,5	102,
V ^{IV} O(GlyPhe)(phen)	N _{ammin} , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}	1,969	159,0	35,5	102
V ^{IV} O(GlyVal)(phen)	N _{ammin} , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}	1,978	159,1	35,6	103
V ^{IV} O(GlyLeu)(phen)	N _{ammin} , N _{amid} [–] , O _{karboxilát} [–] , N _{phen}	N _{phen}		159,2	35,7	103
[V ^{IV} O(m ₂ pc)] ^{2–}	S _{tiolát} [–] , N _{amid} [–] , S _{tiolát} [–] , O _{karboxilát} [–]			149,3		100, 101
[V ^{IV} O(m ₃ pc)] ^{2–}	S _{tiolát} [–] , N _{amid} [–] , S _{tiolát} [–] , O _{karboxilát} [–]			148,4		100, 101

* Átlagos V–N_{amid} kötéstávolság.

^{a-b} A ligandumok páronként megegyeznek.

A 8. táblázat alapján megfigyelhetjük, hogy az amidnitrogén hozzájárulása a párhuzamos csatolási állandóhoz függ a donorcsoportok össztöltésétől.¹⁰⁰ Míg két negatív töltés mellett a hozzájárulás értéke $31\text{--}35 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ az "aromás amid"-ok csoportjában, addig a dipeptidek esetén $\sim 35,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Kevés három negatív töltésű ligandummal történt mérés. Az így nyert adatok: $32,8 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ("aromás amid") illetve $35,8 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ("alifás amid"). A két négy negatív töltéssel rendelkező ligandum esetén a hozzájárulás értéke $38,2 \pm 1,0 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. A mindösszesen két egy negatív töltéssel rendelkező ligandummal képzett vanádiumkomplexek spektrális viselkedése rendkívül furcsa, és nehezen megmagyarázható.^{91,30} Azon komplexekre, amelyek feltételezhetően axiális amidnitrogén-koordinációt tartalmaznak, az amidnitrogén hozzájárulását a csatolási állandóhoz, amely lényegében az ekvatoriális síkban koordinálódott donorcsoportoktól függ, természetesen nem lehet számolni, mindezek ellenére a szerzők megtették.^{100,101}

2.3.2 ESEEM (Electron Spin-Echo Envlope Modulation Spectroscopy)

Az ekvatoriális síkban koordinálódott amidnitrogén elméletileg szuperhiperfinom felhasadást okoz a vanádium ESR-spektrumán, azonban mivel ez kisebb a természetes vonalszélességnél, csak pulzusteknikákkal (ENDOR, ESEEM) tanulmányozható. Fukui és munkatársai vizsgálták a különféle típusú nitrogének koordinációja által okozott szuperhiperfinom felhasadást. Megállapították, hogy a szuperhiperfinom csatolási állandó az aminnitrogének esetében $\sim 5 \text{ MHz}$ ($\sim 1,7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$), az imineknél $6\text{--}7 \text{ MHz}$, míg a tiocianát $\sim 7,5 \text{ MHz}$ -es felhasadást okozott.¹⁰⁴ Az amidnitrogén okozta szuperhiperfinom felhasadás csatolási állandója $6,70^{105}$ valamivel kisebb, mint a porfirinek, nagyobb, mint a Schiff-bázis típusú nitrogének és körülbelül összevethető az imidazol típusú nitrogénre jellemző szuperhiperfinom csatolási állandóval.

2.3.3 Oldatkémiai vizsgálatok

2.3.3.1 Nem koordinálódó oldalláncot tartalmazó di- és tripeptidek

A Cu^{II}ionnal és egyéb kétértékű átmenetifém-ionokkal (Ni^{II}, Co^{II}, stb.) ellentétben a nemkoordinálódó oldalláncú di- és tripeptidek (AlaGly, GlyAla, AlaAla, GlyGlyGly) pH 4-5 felett nem képesek oldatban tartani a V^{IV}O-iont még 160-szoros ligandumfelesleg esetén sem. A fémion hidrolizál, és V^{IV}O(OH)₂ összetételű csapadék válik ki az oldatból.¹⁰⁶ A savas – 2 < pH < 4,5 – közegben sem az ESR-, sem az elektongerjesztési spektrumokon nem figyelhető meg drasztikus változás, ami azt támasztja alá, hogy az amidnitrogén deprotonálódása ezen a pH tartományon belül nem következik be. A képződött [V^{IV}OLH]²⁺ és [V^{IV}O(LH)₂]²⁺ összetételű részecskére a bázicitással korrigált stabilitási állandók, valamint az ESR-spektrumok alapján ekvatoriális monodentát karboxilátkoordináció jellemző, legfeljebb a fémion és az amidoxigének gyenge kölcsönhatása feltételezhető aminosavak megfelelő állandóival való összehasonlítás alapján.¹⁰⁶ Az aminocsoport ellentétben más fémionokkal – Cu^{II}, Ni^{II}, Pd^{II}, Co^{II} – nem képes a horgonydonorcsoport szerepét betölteni az oxovanádium(IV) indukálta amidnitrogén-deprotonálódáshoz.

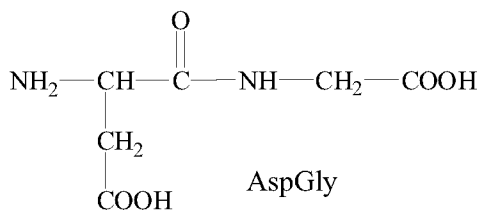
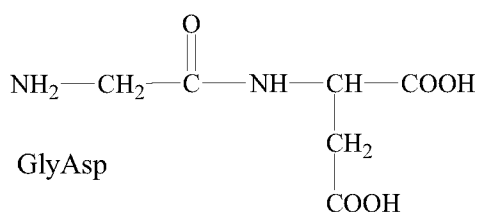
9. táblázat V^{IV}O-nak GlyGly-nel és GlyGlyGly-nel alkotott komplexeinek stabilitási állandói.

Összetétel	GlyGly ¹⁰⁶	GlyGlyGly ¹⁰⁶
[V ^{IV} O]LH] ²⁺	10,3	10,1
[V ^{IV} O](LH) ₂] ²⁺	19,5	19,4
(V ^{IV} O)LH ₁	1,9	1,6
V ^{IV} O ²⁺ + [H ₂ L] ⁺ = [V ^{IV} O]LH] ²⁺ + H ⁺	-1,4	-1,6
V ^{IV} O ²⁺ + 2 [H ₂ L] ⁺ = [V ^{IV} O](LH) ₂] ²⁺ + 2 H ⁺	-3,9	-3,8

A V^{IV}O(OH)₂ pH 7,5 felett hidroxokomplexek képződésével feloldódik. Az ezen a tartományon elvégzett ESR- és CD-spektroszkópiás mérések alátámasztják, hogy a lúgos pH tartományban a főkomponens hidrolízisrészecskék mellett a deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplexek is jelen vannak dipeptidek esetében.¹⁰⁷ A 7,5-9,5 pH tartományban felvett CD-spektrumok izodikroikus pontot mutatnak ε_m = 0 mellett, ami egyetlen CD-aktív részecskét valószínűsít. A spektrumok eltérnek az alacsonyabb pH-n felvettektől és a pH növekedésével a spektrumok intenzitása csökken. A pH 9,5 felett a spektrumok egy újabb CD-aktív részecske megjelenését mutatják. A spektrumok maximuma az alacsonyabb pH felé tolódik el. A pH 7,5-nél tapasztalt CD-spektrum alakja az AlaAla és a GlyAla ligandumok esetén hasonló, bár különböző intenzitású, és teljesen különbözik az AlaGly ligandum esetében mérttől. Az ESR-mérések során nem tapasztaltak különbséget – nem meglepő módon – a három dipeptid között, és mindösszesen egyetlen ESR-aktív részecskét mutattak ki, mely esetében a csatolási állandó értéke 161×10⁻⁴ cm⁻¹ volt. A nagy intenzitású CD-spektrumok az amidnitrogén koordinációját valószínűsítik. A CD-spektrumokban az intenzitásbeli különbség a GlyAla és az AlaGly ligandumok között – legalábbis a közlemény szerint – a karboxilátcsoport ekvatoriális koordinációját támasztják alá.¹⁰⁷ A szerzők az aminocsoport ekvatoriális koordinációját is lehetségesnek tartják, annak ellenére, hogy az AlaAla – és a GlyAla – V^{IV}O rendszerekben mért CD-spektrumok alakja hasonló. Az összetétel és az odatszerkezet nagymértékű bizonytalansága miatt a közleményben az amidnitrogén hozzájárulásának becsült értéke a csatolási állandóhoz – jelen dolgozat szerzőjének véleménye szerint – kritikával kezelendő.

2.3.3.2 Karboxil oldalláncot tartalmazó dipeptidek

Két, karboxil oldalláncot tartalmazó dipeptid, a GlyAsp és az AspGly $V^{IV}O$ komplexének pH-metriás vizsgálatát csak pH 5,5-ig lehetett elvégezni az oxovanádium(IV) hidrolízise miatt. Bár harmincszoros

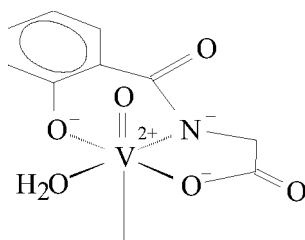
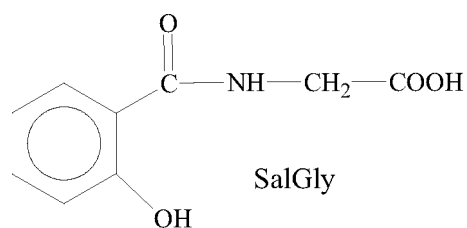


felesleg mellett nem vált le hidroxidsapadék, a lassú folyamatok meggátolták a rendszer további pH-metriás tanulmányozását. A 2-5,5 pH tartományban nem képződött deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplex. A létrejött részecskék összetételét, stabilitási állandóit illetve spektrális sajátosságait az *N*-acetyl-aszparaginsav és a borostyánkősav megfelelő paramétereivel összehasonlítva kijelenthető, hogy a GlyAsp borostyánkősavszerűen koordinálódik, biszkomplexek képződnek és a Gly rész az amidnitrogén esetleges axiális koordinációjától eltekintve nem vesz részt a komplexképzésben. Az AspGly esetében hasonló pH tartományban ellenben monokomplexek képződnek: $[V^{IV}OLH_2]^+$, $V^{IV}OLH$ illetve $[V^{IV}OL]^-$. A $V^{IV}OL$ komplex pK

= 5,59-val deprotonálódik, de az ezzel párhuzamosan lezajló hidrolízisfolyamatok megnehezítik az összetétel pontos detektálását. A pH 6 felett lezajló folyamatokat ESR- és CD-spektroszkópiás módszerrel követték nyomon, azonban pontos komplexösszetétel ismerete nélkül kizárólag a spektrometriás mérések alapján a részecskék kötismódjára egyértelmű következtetést levonni nem lehetséges. A spektrális viselkedés nem mond ellent egy $-\text{COO}^-$, N_{amid}^- , NH_2 , $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ – kötismódú részecske jelenlétének egyik dipeptid esetében sem.¹⁰⁸

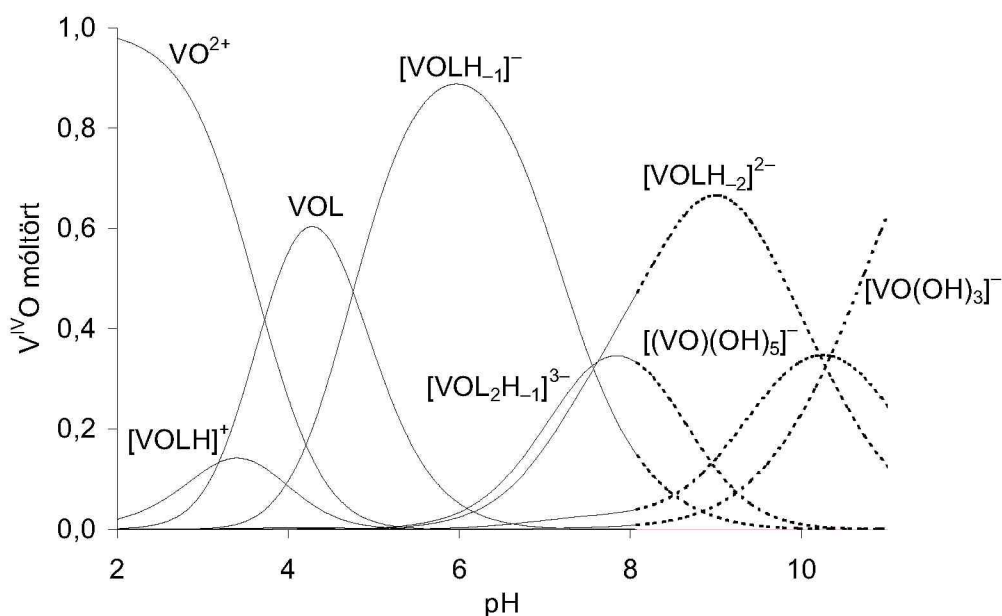
2.3.3.3 Szalicil-glicin (SalGly)¹⁰⁹

Ezt a dipeptidszármazéknak tekinthető ligandumot – amely egy orto-helyezetű fenolos hidroxilcsoportot tartalmaz a terminális aminocsoport helyén – és réz(II)-t nikkel(II)-t és kobalt(II)-t tartalmazó rendszerek vizsgálata során megállapították, hogy csak a réz(II) esetén képződik deprotonált amidnitrogént tartalmazó



komplex.⁷⁹ A $V^{IV}O$ esetében a SalGly a GlyGly-nel ellentétben képes közel 1:1 fémion-ligandum arány mellett is oldatban tartani az oxovanádium(IV)-et. A savas pH tartományban képződő $[V^{IV}OLH]^+$ összetételű komplexre két határszerkezet képzelhető el a bázicitással korrigált stabilitási állandó és a látható elektongerjesztési spektrumok alapján. A $V^{IV}OL$ semleges komplexben a fenolát, a karboxilát és feltételezhetően az amidcsoport oxigénje koordinálódik ekvatoriális pozícióban a fémionhoz. A következő deprotonálódási lépcső ($pK = 4,76$) az amidcsoport nitrogénjének deprotonálódásához és ezzel egyidejűleg az ekvatoriális síkban történő koordinálódásához rendelhető, hiszen e folyamat révén mind a látható spektrum (új sáv $\lambda_{\text{max}} = \sim 520 \text{ nm}$ körül), mind az ESR-spektrum ($A_{\parallel} 175 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ -ről $165 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ -re csökken) jelentősen átalakul. Egy hidroxó-vegyeskomplex létrejöttékor dimerizáció és ESR-csendes komplex kialakulása lenne várható. A fenolos- O^- , N_{amid}^- és COO^-

koordinációs módot támasztja alá a Chasteen-féle additív összefüggés¹⁶ alapján becsült csatolási érték is ($A_{\parallel}^{\text{szám}} = 162-164$). A $[V^{IV}OA_2H_1]^{3-}$ részecske létezését az ESR-spektroszkópiás vizsgálatok nem igazolták, de a titrálási görbék leírása jelentősen romlott amennyiben ezt az összetételt kihagyták a rendszert leíró



8. ábra A $V^{IV}O$ – SalGly rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{VIVO} = 1 \text{ mM}$; $c_{2\text{-mpg}} = 4 \text{ mM}$; $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M}$)

modellből. A $[V^{IV}OAH_2]^{2-}$ összetételű komplex létrejötte csak hidroxó-vegyeskomplex esetén képzelhető el, a szabad pozíció illetve a folyamatra jellemző $pK = 7,57$ érték az ekvatoriális helyzetben lezajló protonvesztést valószínűsíti. Ennek némiképp ellentmond, hogy az ESR-spektrum nem változik jelentősen. ($A_{\parallel}$ $165 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ -ről csak $163 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ -re csökken).

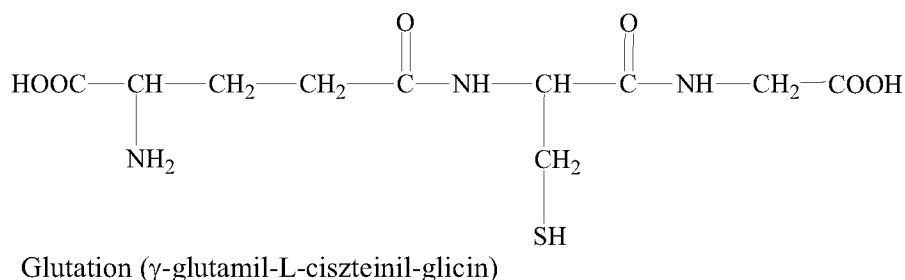
10. táblázat $V^{IV}O$ -nek SalGly-nel alkotott komplexeinek stabilitási állandói.

Komplex összetétel	$\lg \beta$	pK	ESR paraméterek	
			$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}$ ($\times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$)
$[LH]^-$	8,16	8,16		
LH_2	11,53	3,37		
$[V^{IV}OLH]^+$	10,24	3,19		
$V^{IV}OL$	7,05	4,76	1,938	175
$[V^{IV}OLH_1]^-$	2,29	7,57	1,949	165
$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$	-5,28		1,951	163
$[V^{IV}OL_2H_1]^{3-}$	5,55			
			$\lg K$	
$H_2A + V^{IV}O = [V^{IV}OAH]^+ + H^+$			-1,29	
$[HA]^- + V^{IV}O = V^{IV}OA + H^+$			-1,11	
$[HA]^- + V^{IV}O = [V^{IV}OAH_1]^- + 2 H^+$			-5,87	

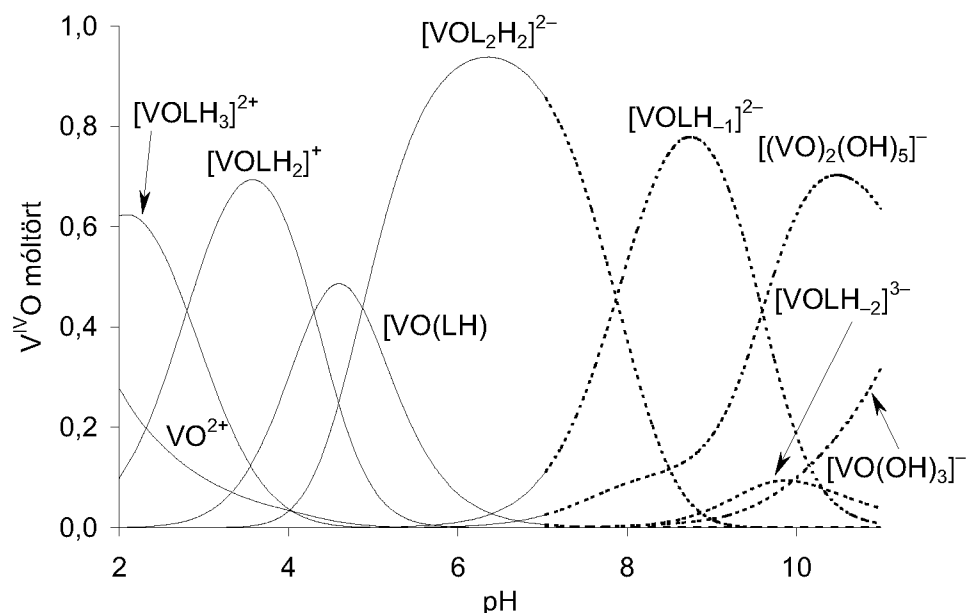
2.3.3.4 Glutation, oxidált glutation

A glutation (GSH) – γ -glutamil-L-ciszteinil-glicin – egy fontos természetes előfordulású tripeptid, mely nélkülözhetetlen az élő sejtek számára. Az emberi vörösvérsejtekben például koncentrációja 2-3 mM. Számos közlemény foglalkozik a glutation és a V(V) közötti lejátszódó redoxreakcióval, mely során $V^{IV}O$ illetve oxidált glutation (GSSG) keletkezik.¹¹⁰ Ez utóbbi vegyület is megtalálható a vörösvérsejtekben, jellemző koncentrációja a glutationénak mindössze 1-2 %-a.¹¹¹ Nagyszámú publikáció található az

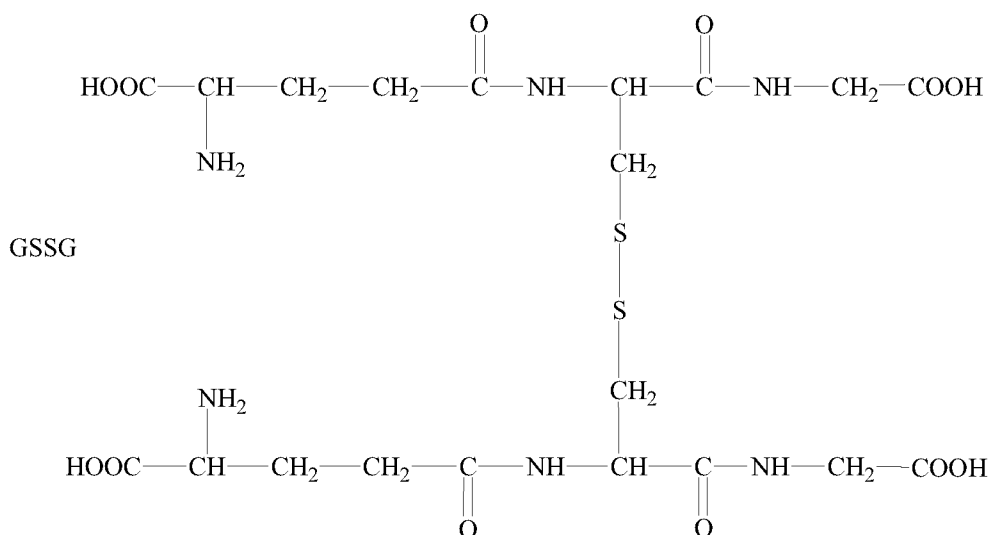
irodalomban az oxovanádium(IV) glutationnal képzett komplexeiről. (például ^{112,113}) Ezek részben ellentmondásosak, így csak a legutóbbi, legátfogóbb mérési módszereket (pH-metria, CD-, ESR- és látható



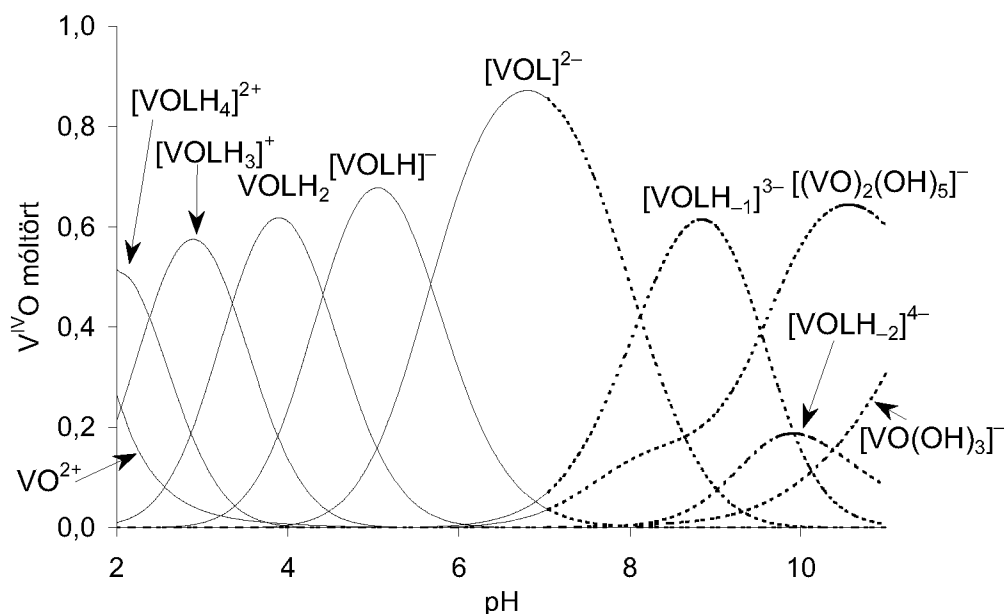
elektrongerjesztési spektroszkópia) valamint két különböző koordinációs helyen, a tiol- illetve glicin karboxilcsoportján blokkolt ligandumokkal való összehasonlító adatokat is tartalmazó közlemények^{114,115} eredményeit ismertetem. A glutation nem túlságosan hatékony komplexképző, 1-10 illetve 1-25 fémion-ligandum arány mellett ugyan már nem tapasztalható a hidroxid csapadék leválása, mindazonáltal pH 7 felett az oxovanádium(IV) hirdolízise jelentőssé válik. Az S-metil-glutation és a glutation spektrális viselkedése pH 6-ig gyakorlatilag megegyezik, és a glicin karboxilcsoportjának észteresítése sem okoz jelentős spektrális különbséget. Ebből következik, hogy a pH 6 alatt képződött komplexek esetében nem kell tiolátkoordinációval számolni, és a glicin karboxilátcsoportja sem játszik meghatározó szerepet egyik komplex esetében sem. A $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gsh})\text{H}_3]^{2+}$ komplexben egy karboxilcsoport koordinációja valószínűsíthető, amely a CD-spektroszkópiás illetve a glutation-etilészterrel történő összehasonlító mérések alapján inkább a glutamin rész karboxilcsoportja. A CD-spektrum jelentősen eltér az egyszerű aminosavak megfelelő pH-n felvett (Ala, Ser, Glu) CD-spektrumaitól, amiből egy, esetleg két karbonilcsoport koordinációjára lehet következtetni. A $\text{pK} = 2,8$ deprotonálódási lépcsővel kialakuló $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gsh})\text{H}_2]^+$ komplex ESR-paraméterei alapján nem tartalmazhat koordinált aminotitrogént, míg a tiolátcsoport koordinációját már korábban kizártuk. Elképzelhető a glicin rész karboxilátcsoportjának koordináció nélküli deprotonálódása, mindazonáltal az ESR-paraméterek jelentős változása ennek ellentmond. A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gsh})\text{H}$ részecskében az aminocsoport koordinációja igazolható az ESR-paraméterek jelentős változásával, míg a tiolátkoordináció a tiolátcsoporton blokkolt származék azonos viselkedése miatt kizárható. A szerzők az ESR-paraméterek



9. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ – glutation rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{\text{VIVO}} = 10\text{mM}$; $c_{2\text{-mpg}} = 250\text{ mM}$; $T = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20\text{ M}$)



alapján még két peptid-karboniloxigén koordinációját is feltételezik. A pH 5-7 között létrejött $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gsh})_2\text{H}_2]^{2-}$ legvalószínűbb kötésmódját ($2 \times \text{COO}^-$, $2 \times \text{NH}_2$) az aminosavak biszkomplexeire (alanin, szerin) jellemző ESR-paraméterek és a CD- valamint látható elektrongerjesztési spektrumok jó egyezése igazolja. A pH további növelése két folyamatot indít el: a fémion hidrolízisét, illetve a tiolátcsoport koordinációját. A két folyamat arányát a fémion-ligandum arány határozza meg. A képződött $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gsh})\text{H}_{-1}]^{2-}$ részecskéhez két különböző, egymással egyensúlyban lévő izomer szerkezet rendelhető az ESR-mérések alapján. A CD-spektrum a domináns részecske esetén nem valószínűsíti az amidnitrogén deprotonálódását és koordinációját, de a minor komponens esetében az ESR-csatolási állandó igen alacsony volta erősen sugallja azt. A mindössze 10 százalékban képződő $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gsh})\text{H}_2]^{3-}$ részecske a CD-adatok alapján szintén nem



10. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ – GSSG rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{\text{VIVO}} = 4\text{mM}$; $c_{\text{2-mpg}} = 40\text{ mM}$; $T = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20\text{ M}$)

tartalmaz deprotonált amidnitrogént a koordinációs szférában.

Az oxidált glutation (GSSG) pH 7-ig hasonló komplexet képez, mint a glutation, amely tény nem meglepő annak fényében, hogy a tiolátcsoport az említett pH-ig nem vesz részt a koordinációban a redukált forma esetében sem. A $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gssg})\text{H}_n]^{(4-n)-}$ ($n = 2-4$) komplexekben csak a karboxilát- és a peptid-karbonilcsoportok vesznek részt a koordinációban. A pH 4 és 5 között lezajló deprotonálódási lépcső eredményeként jön létre az első aminnitrogént tartalmazó komplex $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gssg})\text{H}]^{3-}$. Újabb protonvesztéssel

és még egy aminocsoport koordinációjával ezen részecske átalakul a GSSG-egyéb fémion – Co^{II} , Ni^{II} , Cu^{II} , Zn^{II} – rendszerekre is jellemző és pH 6-8 között domináns $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{gssg})]^{4-}$ összetételű, $2 \times (\text{COO}^-, \text{N}_{\text{amin}})$ kötémódú részecskévé. A lúgos tartományban bekövetkező deprotonálódási folyamatok az ESR-spektrumok alapján inkább a komplex részleges hidrolízisének, semmint az amidnitrogén deprotonálódásának tulajdoníthatóak.¹¹⁶

2.3.3.5 Albumin

Az oxovanádium(IV) esetében – ellentétben más fémionokkal (például Cu^{II} , Ni^{II}) – biológiailag fontos fehérjék esetében nem találhatóak példák a fémion és az amidnitrogén kölcsönhatásra. A korábban említett humán szérum albumin elsődleges fémmegkötő helye – hasonlóan a nemkoordinálódó oldalláncot tartalmazó tripeptidekhez – nem alkalmas a Cu^{II} ionhoz képest „hard” fémion megkötésére.¹¹⁷ Mindazonáltal a humán szérum albumin több független szerző véleménye szerint is három $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -iont képes megkötni.^{118,117}

3 A használt kísérleti módszerek és körülmények leírása

3.1 A felhasznált anyagok

A $V^{IV}OCl_2$ törzsoldat készítése a Nagypál István és Fábán István által leírt módszer¹¹⁹ szükségszerű módosításával történt. A nátriumvanadát (Fluka) redukcióját sósavas közegben kéndioxiddal végeztük el, a keletkezett szulfátionokat $BaCl_2$ -dal (Reanal) távolítottuk el. Az így kapott oldat hígításával állítottuk elő a $\sim 0,2$ M $V^{IV}O$ -törzsoldatot, melynek pH-ját sósavval 2-re állítottuk be. A módszer hibája, hogy az oldat egy ekvivalens nátriumkloridot tartalmaz oxovanádium(IV)iononként. A vanádiumkoncentrációt permanganometriás illetve cerimetriás titrálással is ellenőriztük. A savtartalmat pH-metriásan határoztuk meg, a titrálást még a vanádiumhidroxidok megjelenése előtt befejeztük. Az adott titrálási szakaszt Gran-módszerrel¹²⁰ dolgoztuk fel. Az így előállított $V^{IV}O$ -törzsoldat három évig eltarthatónak bizonyult, koncentrációját időnként természetesen ellenőriztük. Az újabb törzsoldat elkészítésekor – melyből már nem születtek e dolgozat témájául szolgáló eredmények – az egyszerűség kedvéért $V^{IV}OSO_4 \cdot xH_2O$ -ból (Aldrich) indultunk ki, a szulfátionokat szintén $BaCl_2$ -dal távolítottuk el. Az oxidimetriás eljárások mellett egy alternatív $V^{IV}O$ -meghatározási módszer lehet a tízszeres feleslegben alkalmazott tartarátsó komplexképző mellett végzett pH-metriás mérés, amely esetben két ekvivalens proton szabadul fel $V^{IV}O$ -iononként.¹²¹

A pH-metriás titrálásokhoz használt KOH (Fluka) *puriss* a KCl (Reanal) és HCl (Reanal) pedig *a.lt.* minőségű volt.

A ligandumok közül a 2-merkaptó-propionil-glicin, az *N*-2,2-bipiridil, a tiron (dinátrium-4,5-dihidroxi-1,3-benzoldisulfonát) és a maltol (2-metil-3-hidroxi-4-piron) *puriss* minőségű Sigma termék volt. A kereskedelmi forgalomban nem kapható ligandumokat együttműködő partnereink – *N*-D-glükonil-aminosavakat Gyurcsik Béla¹²², a $SalH_2GlyGly^{81}$ -t és a $SalH_2GlyGlyGly^{81}$ -t Isabel Correia, a $SalGly-L-Ala^{80}$ -t Tóth Gábor és Lícia M. Rodrigues, míg a $Sal-L-Asp$ valamint $SalGly-L-Asp$ ligandumokat Lícia M. Rodrigues – állították elő. Mivel a ligandumok előállítása nem a dolgozat szerzőjének feladata volt, ezért azok pontos menetét itt nem részletezem (lásd. azokat a már felsorolt hivatkozásokban). Ehelyütt csak a $Sal-L-Asp$ és a $SalGly-L-Asp$ ligandumok előállítását közlöm, mivel ezen eredmények még nem kerültek publikálásra.

Az összes ligandum tisztaságát pH-metriás titrálásokkal is ellenőriztük.

3.1.1 A $Sal-L-Asp$ ligandum előállítása

Az $L-Asp(OMe)OMe$ szintézise. 100 ml hűtött (-10 °C) metanolhoz 25 ml tionilkloridot csepegtettek állandó keverés mellett, ezt követően L -aszparaginsavat (6,66 g, 50 mmol) adagoltak az oldathoz. Az elegy hőmérsékletét 40 °C-ra emelték, és két órán át ebben az állapotában tartották. Az oldószer eltávolítása után kapott olajszerű maradékból a tiszta terméket metil-etil-éterből történő átkristályosítással nyerték (7,8 g, 79 %, olvadáspont: $115-116$ °C). NMR- $DMSO_{d6}$ 3,00-3,03 (2H, multiplett, CH_2); 3,74 és 3,64 (6H, 2 szingulett, $2 \times OCH_3$); 4,32(1H, triplett $J=5,7$ Hz, CH); 8,79 (3H, széles jel, NH_3^+).

A $Sal-L-Asp(OMe)OMe$ szintézise. Szalicilsavat (2,76 g, 20 mmol) oldottak fel 80 mL etilacetátban, majd az elegy hőmérsékletét 0 °C-ra hűtötték le. Az oldathoz diciklohexilkarbodiimidet (4,3 g, 21 mmol), $L-Asp(OMe)OMe$ -t (3,95 g, 20 mmol) és trietilamint (3,6 ml, 20 mmol) adagoltak lépésenként. Az így kapott keveréket egy éjszakán át szobahőmérsékleten kevertették. A szilárd anyagokat szűrővel eltávolították, majd a szűrletet citromsav 5% vizes oldatával, majd vízzel, azután $NaHCO_3$ 5%-os vizes oldatával, végül ismét vízzel mosták. $MgSO_4$ -on történt szárítás után az elegyet betöményítették. A maradékot kis mennyiségű acetonban feloldották és négy órán keresztül ~ 0 °C-on állni hagyták. A kivált csapadékot leszűrték (DCHU), a maradék elegyet betöményítették. A keletkezett olajos masszából nem sikerült szilárd teméket nyerni (4,48 g, 79 %).

NMR- $DMSO_{d6}$ 2,90-3,20 (2H, multiplett, CH_2Asp); 3,69-3,78 (1H, multiplett, $\alpha CHAsp$); 6,91 (2H, apparent triplett $J=7,8$ Hz); 7,40 (1H, apparent triplett $J=8,0$ Hz); 7,86 (1H, dublett dublettje $J=1.2$ and 8.0 Hz); 8,90 (1H, dublett $J=8.1$ Hz, $NHAsp$); 12,40 (1H, széles jel, OH).

A Sal-L-Asp előállítása. 4,47 g (15,9 mmol) Sal-L-Asp(OMe)OMe-t oldottak fel 30 ml metanolban és 50 ml 1 M NaOH-ot (50 mmol) adtak az elegyhez. A keveréket szobahőmérsékleten két órán keresztül kevertették majd 16 ml 1 M HCl-at adagoltak hozzá. A metanolt csökkentett nyomáson eltávolították, és az így nyert vizes oldatot jeges-vizes hűtés és erőteljes keverés mellett 34 ml 1 M HCl-val savanyították. A kivált fehér csapadékot szűrték, vízzel mosták, majd szárították (1,2 g, 30 %, op. 171-172 °C).

NMR- DMSO_{d6} 2,84-2,81(2H, multiplett, βCH₂Asp); 4,75 (1H, apq J=8,1 Hz, αCHAsp); 6,91 (2H, apparent t J=7,2 Hz); 7,39 (1H, triplett dublettje J=1,8 és 8,0 Hz); 7,88 (1H, dublett dublettje J=1,8 és 8,2 Hz); 9,13 (1H, dublett J=8,1 Hz, NH); 12,85 (1H, szingulett, OH); 12,60 (2H, széles jel, OH).

Elemanalízis eredménye: C=52,44; H=4,65; N=5,53. Az C₁₁H₁₁O₆ N összetétel mellett elméletileg várható: C=52,18; H= 4,65; N= 5,18 %.

3.1.2 A SalGly-L-Asp ligandum előállítása

A Boc.Gly-L-Asp(OMe)OMe vegyületet a diciklohexilkarbodiimid módszerrel 10 mmol nagyságrendben állították elő. A kromatográfiás eljárással tisztának talált olajos anyagot (2,75 g, 86 %) nem sikerült kikristályosítani. NMR- DMSO_{d6} 1,36 (9H, singulett, Boc); 2,72-2,77 (2H, multiplett, CH₂Asp); 3,50 (2H, dublett J=6 Hz, CH₂Gly); 3,61 és 3,59 (3+3H, singulett, 2x OCH₃); 4,66 (1H, apq J=7,8 Hz, αCHAsp); 6,97 (1H, triplett J=6 Hz, NHGly); 8,23 (1H, dublett J=8 Hz, NH-Asp).

A TFA.Gly-L-Asp(OMe)OMe előállítása. A védett Boc.Gly-L-Asp(OMe)OMe (5 mmol, 1.598 g) peptidet 25 ml trifluorecetsavval kezelték, majd szobahőmérsékleten nedvességtől védve időszakos keverés mellett állni hagyták. Az elegyet betöményítették, majd etilétert adtak hozzá. Az oldat lehűtése után az éteres fázist dekantálták és az így nyert olajos fázist szárították. A kvantitatív mennyiségben kapott szilárd, habszerű anyagot további tisztítás nélkül használták fel a következő lépésben.

NMR- DMSO_{d6} 2,78-2,82 (2H, m, αCH₂Asp); 3,63 (3H, szingulett, OCH₃); 3,61(5H, s+overlapped, CH₂Gly + OCH₃); 4,71 (1H, apq J=7,2 Hz, αCHAsp); 8,09(3H, széles jel, NH₃⁺); 8,95 (1H, dublett J=8 Hz, NH-Asp).

A SalGly-L-Asp(OMe)OMe előállítása. 0,69 g (5 mmol) szalicilsavat 20 ml etilacetátban oldottak, majd 0°C-ra hűtötték. Az oldathoz diciklohexilkarbodiimidet (1,08 g, 5 mmol), TFA.Gly-L-Asp(OMe)OMe-t (1,66 g, 5 mmol) és trietilamint (0,9 ml, 5 mmol) adagoltak lépésenként. Az így kapott keveréket egy éjszakán át szobahőmérsékleten kevertették. A szilárd anyagokat leszűrték és az oldószert redukált nyomás mellett eltávolították. A maradékot kis mennyiségű acetonban feloldották és négy órán keresztül ~0 °C-on állni hagyták. A kivált csapadékot leszűrték (DCHU), az oldatot bepárolták. A maradék olajos anyagból nem sikerült szilárd teméket nyerni (1,091 g, 67 %).

NMR- DMSO_{d6} 2,70 és 2,80 (2H, dublett dublettje J=1,5 és 6,0 Hz, αCH₂Asp); 3,60 és 3,62 (6H, 2 szingulett, 2xOCH₃); 3,94 (2H, dublett J=5,4 Hz, CH₂Gly); 4,70 (1H, apq J=6,0 Hz, αCHAsp); 6,90-6,92 (2H, multiplett, 3-H és 5-H); 7,39 (1H, tap J=8,1 Hz, 4-H); 7,86 (1H, dublett dublettje J=0,9 és 8,4 Hz, 6-H); 8,54 (1H, dublett J=8,1 Hz, NHAsp); 9,08 (1H, triplett J=6,0 Hz, NHGly); 12,20 (1H, singlett, Ar-OH).

A SalGly-L-Asp előállítása. 1,090 g (3,22 mmol) Sal-Gly-L-Asp(OMe)OMe-t feloldottak 10 ml metanol és 9,69 ml 1 M NaOH vizes oldatának elegyében. A keveréket szobahőmérsékleten négy órán keresztül kevertették majd 3,3 ml 1 M HCl-at adagoltak hozzá. A metanolt csökkentett nyomáson eltávolították, és az így nyert vizes oldatot jeges-vizes hűtés és erőteljes keverés mellett 6,4 ml 1 M HCl-val savanyították. Ezt a vizes oldatot háromszor etilacetáttal extrahálták, a szerves fázist összegyűjtötték és MgSO₄-tal szárították, majd az oldószert eltávolítása után szilárd habhoz jutottak. (585 mg, 58 %). A kristályosítás egy metanol – éter – petrioléter –elegyből járt sikerrel. A kapott fehér szilár anyag olvadáspontja 105-107 °C.

NMR- DMSO_{d6} 2,60 és 2,70 (2H, dublett dublettje J=1,5 és 6,0 Hz, βCH₂Asp); 3,94 (2H, dublett J=5,7 Hz, CH₂Gly); 4,56 (1H, apq J=6,0 Hz, αCHAsp); 6,86-6,92 (2H, multiplett, 3-H és 5-H); 7,39 (1H, tap J=8,1 Hz, 4-H); 7,86 (1H, dublett dublettje J=0,9 és 8,4 Hz, 6-H); 8,37 (1H, dublett J=7,8 Hz, NHAsp); 9,06 (1H, triplett J=5,7 Hz, NHGly); 12,20 (1H, singlett, Ar-OH); 12,60 (2H, széles jel, CO₂H).

Elméletileg számított $C_{14}H_{18}N_2O_5 + 1/2 C_4H_8O_2$ (etilacetát): C=50,85; H=5,08; N=7,91. A kapott eredmény: C=50,22; H=5,48; N=7,93 %.

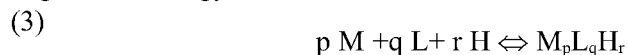
Az előállítás során a következő műszereket használták: Gallenkamp olvadáspontmérő, Varian Unity Plus 300 NMR Spectrométer, az elemanalízist egy Leco CHNS 932 műszer segítségével végezték.

3.2 A pH-potenciometria

A vizes oldatban lejátszódó egyensúlyra vezető reakciók leírására a pH-potenciometria kiválóan alkalmas minden olyan esetben, amikor a reakció proton termelődésével illetve fogyásával jár együtt. Tipikusan ilyen reakció egy tetszőleges fémion (M) által a ligandumhoz (L) kötött proton(ok) kiszorítása:



A fémkomplexek stabilitási állandóját a fémiont, a ligandumot és a protont tartalmazó rendszerre felírható általános képződési egyensúly alapján definiálhatjuk, ahol p és q pozitív egész számok, míg r pozitív és negatív egész értéket egyaránt felvehet.



A $p = 0$ mellett a fenti képlet a ligandum sav-bázis folyamatait, míg $q = 0$ esetén a fémion hidrolízisét leíró egyenletté egyszerűsödik. A keresett állandókat a komponensekre felírható anyagsmérlegek nemlineáris egyenletrendszerének megoldása szolgáltatja, ahol n a képződött asszociátumok számát, míg p,q,r a sztöchiometriai együtthatókat jelöli:

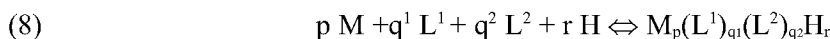
Ezeket a biner rendszereket leíró paramétereket ésszerű független mérések alapján meghatározni. Turner

$$(5) \quad c_H = [H] + \sum_{i=1}^n r_i \cdot \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r$$

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

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

komplexek leírása során a (4) egyenlet egy újabb taggal bővül, ami természetesen az anyagsmérleg egyenletek számát is megnöveli.



A $q^1 = 0$ illetve a $q^2 = 0$ esetben az (8) egyenlettel a biner komplexképződésre jellemző egyensúlyi folyamatokat jellemezhetjük. A $p = 0$ mellett a ligandumok kölcsönhatását leíró képletet kaphatunk, ezen kölcsönhatás vizes oldatban azonban általában elhanyagolható mértékű.

Bizonyos esetekben az adott komplexkémiailag reakciót pontosabban leírja a folyamatra jellemző egyensúlyi állandó, ezeket a komplexek stabilitási állandóiból származtathatjuk, melyek közül néhány a 11. táblázatban található.

11. táblázat Néhány komplexképződési folyamat, és az azt jellemző származtatott állandó számítása a stabilitási állandókból

Folyamat	Állandó
$\text{ML} + \text{L} \rightleftharpoons \text{ML}_2$	$\lg K_{\text{ML}_2} = \lg \beta_{\text{ML}_2} - \lg \beta_{\text{ML}}$
$\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r \rightleftharpoons \text{M}_p\text{L}_{q-1}\text{H}_r + \text{H}^+$	$\text{p}K_{\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r} = \lg \beta_{\text{M}_p\text{L}_q\text{H}_r} - \lg \beta_{\text{M}_p\text{L}_{q-1}\text{H}_r}$
$\text{L} + \text{ML}_2 \rightleftharpoons 2\text{ML}$	$\lg (K_1/K_2) = 2\lg \beta_{\text{ML}} - \lg \beta_{\text{ML}_2}$
$\text{ML}^1 + \text{ML}^2 \rightleftharpoons \text{ML}^1\text{L}^2 + \text{M}$	$\Delta \lg K = \lg \beta_{\text{ML}^1\text{L}^2} - \lg \beta_{\text{ML}^1} - \lg \beta_{\text{ML}^2}$

3.3 A titrálások gyakorlati kivitelezése és kiértékelésük

A pH-potenciometriás méréseket 25,0 °C-on (298 K) 0,20 M ionerősség (KCl) mellett hajtottuk végre minden esetben. Az inert atmoszférát, amely a lúgos közegben a levegő oxigéntartalmát (amely az oxovanádium(IV)-et oxidálhatja) és szén-dioxid tartalmát (amely pH-effektust okoz) tartotta távol a titráló

oldaton argon gáz átbuborékolgatásával biztosítottuk. A kiindulási térfogat rendszerint 25 cm^3 volt, amennyiben azonban nem állt megfelelő mennyiségű ligandum rendelkezésre kisebb térfogatban is történtek mérések. (Általában 10 , de esetenként 5 cm^3 .) A pH mérésére két Metrohm ($6.0234.100$, $6.0222.100$) és egy Orion (Ross 8103BN) elektródot alkalmaztunk Orion 720 pH-mérő berendezéshez csatlakoztatva. A titrálásokhoz $0,2\text{ M}$ KOH mérőoldatot készítettünk, amelyet Metrohm 665 -ös illetve Metrohm 765 -ös bürettával adagoltunk. A mérőoldat pontos koncentrációját káliumhidrogénftalátból pontos beméréssel készített $0,0500\text{ M}$ oldat segítségével határoztuk meg. Ez utóbbit használtuk a pH-mérés egy pontos kalibrációjára is (pH $4,005$), melyet minden titrálás előtt elvégeztünk. A titrálás során személyi számítógép vezérelte automatikusan mind a lúg adagolását, mind a pH olvasását és rögzítését. A vezérlést oly módon választottuk meg, hogy a titrálási pontok között $0,1$ pH egység különbség legyen, az ehhez rendelhető térfogatváltozást közvetlenül az új pont előtt mért $V - \text{pH}$ párok első és második differenciájának segítségével becsülte meg a program, melyben ezen felül a minimális és maximális adagolást mértéke is megválasztható. Az egyensúly beállítását a beolvasott pH stabilizálódásával ellenőriztük. Stabilnak akkor tekintettük a pH-t, ha adott idő alatt $0,002$ pH egységnyi, vagy kisebb változás történt. A két beolvasott pH közötti időkülönbséget a kalibrálások és a csak ligandumot tartalmazó titrálások során 15 másodpercrek, míg az $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -iont is magába foglaló mérések esetén 40 másodpercrek választottuk. Ez utóbbit az oxovanádium(IV) kinetikailag inertebb volta indokolja. A pH stabilizálódására maximálisan 10 percet vártunk, amennyiben ez az adott pontban nem következett be, abban az esetben az adott pontot a kiértékelésből kihagytuk. Tapasztalataink azt mutatják, hogy egy-egy hosszabb nem egyensúlyi szakasz után bekövetkező esetlegesen kinetikailag stabil szakasz leírása az esetek döntő többségében csak igen nagy hibával terhelten lehetséges, ami irreverzibilis folyamatokra utal.

A pH-metriás mérő rendszert minden nap legalább két alkalommal kalibráltuk, ennek során négy paramétert határoztunk meg, az ún. Irving faktort,¹²³ (a mért pH érték illetve tényleges pH közötti konstans eltérés), a vízionszorzat negatív logaritmusát – pK_w -t – illetve két ekvivalenciapontot: Ep_s -t (savas ághoz rendelhető ekvilanciapont) és Ep_l -t (lúgos ághoz rendelhető ekvivalenciapont). A kalibrációt akkor fogadtuk el, ha az pK_w értéke $13,75 - 13,76$ intervallumba esett, illetve ha a két ekvivalenciapont közötti különbség maximálisan 1% volt. A ligandumok pK -inak meghatározására a SUPERQUAD programot használtuk, mely alkalmas volt a ligandumoldatok koncentrációjának meghatározására (tisztaságuk ellenőrzésére). A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -tartalmú rendszerek kiértékeléséhez ezen utóbbi program által meghatározott, minimum két különböző koncentrációjú ligandumtitrálás alapján számított törzsoldatkonzentrációkat és pK értékeket használtuk fel. A komplexek stabilitási állandóinak meghatározásához a PSEQUAD¹²⁴ programot használtuk fel. Bemenő adatként a már említett, és természetesen a titrálási görbék pontjain kívül a fémionkoncentrációkat valamint az adott titrálás előtt kalibrációval meghatározott Irving faktor értékeket kellett megadnunk. A számítások folyamán ortogonális illesztést alkalmaztunk, a $V - \text{pH}$ hibaarányt $1:1$ -nek állítottuk be.

A számítások során az oxovanádium(IV) négy hidroxokomplexének rendelkezésünkre álló stabilitási állandóját vettük figyelembe (lásd 1. táblázat). A két pozitív töltésű hidrolízis részecske $[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{OH}))^+]$, $[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})_2(\text{OH})_2]^{2+}$ stabilitási állandójának nagysága a kiértékelést gyakorlatilag nem befolyásolja, hiszen az alkalmazott koncentrációtartományban ($1\text{--}4\text{ mM}$) jelentősebb előfordulásuk esetén ($> 5\%$) a rendszerből kicsapódó $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{OH})_2$ a további mérést lehetetlenné teszi. A másik két részecskének mind az összetétele, mind stabilitási állandójának értéke – legalábbis jelen dolgozat szerzőjének véleménye szerint – meglehetősen bizonytalan. Az 1. ábrán már korábban bemutatott $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ hidrolízis eloszlásgörbe alapján például a $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{OH})_3^-$ részecske ESR-jelének már a $8\text{--}10$ pH tartományban meg kellene jelennie, de ez csak pH $11,5$ felett tapasztalható. Szintén összefüggést vélünk felfedezni a $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ hidrolízise, illetve a pH-metriás mérések során észlelt lassú folyamatok között, melyre magyarázattal szolgálhat a hidroxokomplexek oxidációra való érzékenysége is. Ennek értelmében a speciáció azokon a pH tartományokon, ahol a hidrolízisrészecskék is megjelennek csupán maximum a tendencia leírását szolgálhatja, nem tekinthető megbízható eredménynek.

A ligandumtitrálásokat rendszerint 2 illetve 4 mM koncentrációban végeztük el. A fémes mérések során használt fémion-ligandum arányokat illetve a mérhetőnek (illeszthetőnek) bizonyult pH tartományokat lásd Függelék II.

3.4 Elektronspinrezonancia spektroszkópia mérések és a kapott spektrumok szimulációja

Mivel az oxovanádium(IV) ESR-spektroszkópiáját az irodalmi részben már tárgyaltam (2.1.3), jelen helyen kizárólag a kísérleti körülményeket és az ESR-spektrumok szimulációjával kapcsolatos tudnivalókat, tapasztalataimat ismertetem.

Az "X-sávú" ESR-spektrumokat több különböző készüléken vettük fel, minden esetben 100 kHz térmoduláció mellett. A JEOL-JES-FE 3X spektrométeren történtek a $V^{IV}O - N-D$ -glükonil-aminosav rendszerekkel kapcsolatos mérések. Ezen készüléken a teret MnO-dal szennyezett MgO-ra kalibráltuk ($g = 2,0064$ $A = 86,50$ Gauss $= 81,02 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$), a fagyasztott oldatban történt mérésekkor ($T = 77 \text{ K}$) minden egyes mintához $\sim 5\%$ metanolt adtunk a jobb üvegképződés érdekében.

Az összes többi fagyasztott oldatban ($T = 77 \text{ K}$) mért spektrum felvételéhez egy Bruker ESR ER 200D X-band spektrométert használtunk. A készüléket a $V^{IV}OSO_4$ spektruma alapján kalibráltuk ($g = 1,933$ $A = 182,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$), a mintákhoz lefagyasztás előtt 4% etilén-glikolt vagy dimetilszulfidot adtunk szintén a jobb üvegképződés érdekében.

A SalGly-L-Ala és SalGly-L-Asp rendszerekben mért szobahőmérsékletű spektrumokat egy JEOL JES-RE3-X készüléken vettük fel. A teret itt tetracianoquinodimetán lítium sójára [TCNQ-Li] ($g = 2,00252$) és MnO-dal szennyezett MgO-ra (a harmadik és a negyedik csúcs távolsága 86,9 Gauss $= 8,69 \text{ mT}$) kalibráltuk.

Minden egyes ligandum esetén igyekeztünk optimális fémion-ligandum arány mellett dolgozni, a részleteket (koncentrációarányok) lásd a 4. Eredmények és értékelésük című fejezetben a konkrét rendszer leírásánál.

A komplexképződéssel, a ligandumtér erősségének növekedésével az ESR paraméterek is változnak, g értékek általában nagyobbak lesznek, miközben a csatolási állandók csökkennek. Mind a négy paraméter változása az $m_I = +1/2, +3/2, +5/2$ és $+7/2$ átmenethez tartozó csúcsait az alacsonyabb terek irányába tolja el. Mivel a párhuzamos csatolási állandó nagyobb mértékben változik, mint a merőleges, a rendszerben bekövetkező bármilyen változásra, a párhuzamos tartomány $+7/2$ -hez tartozó átmenetének helye a spektrumon a legérzékenyebb paraméter. (Nem túl szerencsésen ez a legkisebb intenzitású is átmenet.) A felvett spektrumoknak a dolgozatban legtöbbször csak a párhuzamos tartomány $(+3/2), +5/2, +7/2$ átmenethez tartozó jeleit ábrázoltam. Az általam használt, és az ESR spektroszkópiában általánosan használt – nem SI – mértékegység a Gauss 10 mT-val egyenlő.

A $V^{IV}O - N-D$ -glükonil-aminosav rendszer szobahőmérsékleten felvett ESR-spektrumait leszámítva a részecskéket jellemző g (g_o vagy $g_{\perp}$, $g_{\parallel}$) valamint csatolási állandó értékeket (A_o vagy $A_{\perp}$, $A_{\parallel}$) egy, az ESR-spektrumok szimulációjára kifejlesztett program segítségével határoztuk meg.¹²⁵ A szimuláció során a szobahőmérsékletű spektrumokat Lorenz görbével, míg a fagyasztott oldatban felvetteket minden esetben Gauss-görbe segítségével tudtuk pontosabban leírni. A vonalszélességek orientációfüggését a program ötféleképpen tudja kezelni.

1. Egyedi vonalszélességek $\Delta H_{m_I} \neq \Delta H_{m_I}$ axiális spektrum esetén $\Delta H_{m_I}^{\perp} = \Delta H_{m_I}^{\parallel}$
2. Egyforma vonalszélességek $\Delta H_{m_I} = \Delta H_{m_I}$ axiális spektrum esetén azonban $\Delta H_{m_I}^{\perp} \neq \Delta H_{m_I}^{\parallel}$
3. A (9) egyenlet által megadott képlettel számolhatóak az egyedi vonalszélességek, α, β, χ konstans

$$(9) \quad \Delta H_{m_I} = \alpha + \beta \times m_I + \chi \times (m_I)^2$$

A harmadik kezelési mód tovább bontható – axiális spektrumoknál – az α, β, χ orientációfüggése alapján: a., $\alpha^{\perp} = \alpha^{\parallel}, \beta^{\perp} = \beta^{\parallel}, \chi^{\perp} = \chi^{\parallel}$ b., $\alpha^{\perp} \neq \alpha^{\parallel}, \beta^{\perp} = \beta^{\parallel}, \chi^{\perp} = \chi^{\parallel}$ c., $\alpha^{\perp} \neq \alpha^{\parallel}, \beta^{\perp} \neq \beta^{\parallel}, \chi^{\perp} \neq \chi^{\parallel}$.

A $V^{IV}O$ spektrumok illesztésekor minden esetben a 3. kezelési mód – axiális spektrumok esetén a 3/c – vált be. S bár elméletileg egy további tagnak – $\delta \times (m_l)^3$ – a (9) egyenletbe történő felvétele is szükséges a pontos leíráshoz¹⁶, a szobahőmérsékletű spektrumoknál az illesztés hibája minimálisat változott amennyiben minden egyes vonalszélességet külön illesztettünk: a csökkenés mértéke nem indokolta öttel több – három (α, β, χ) helyett nyolc (az összes vonalszélesség) paraméter használatát. A 77 K-en felvett spektrumoknál tapasztalataim szerint nincs összefüggés a párhuzamos és merőleges tartomány vonalszélességei között, az $\alpha_{\perp}, \beta_{\perp}, \chi_{\perp}, \alpha_{\parallel}, \beta_{\parallel}, \chi_{\parallel}$ paraméterszettel minden egyes esetben jobb illesztés érhető el, mint $\Delta H_{m_l}^{\perp} = \Delta H_{m_l}^{\parallel}$ feltételezése mellett nyolc paraméterrel. (Nem mellékesen a számítás időigénye a paraméterek számának növekedésével nő.) A spektrumok alapján pedig nyilvánvaló, hogy sem a párhuzamos, sem pedig a merőleges tartomány vonalszélességei nem egyformák.

$V^{IV}O$ átlagos axiális, esetleg rombos spektrumának illesztésekor a következő módszer bizonyult a legcélravezetőbbnek:

1. A párhuzamos paraméterek ($g_{\parallel}, A_{\parallel}, \alpha_{\parallel}, \beta_{\parallel}, \chi_{\parallel}$) meghatározása csak a párhuzamos tartomány – az első két illetve az utolsó három csúcs, melyeket a merőleges paraméterek nem érintenek – figyelembevételével.
2. A merőleges paraméterek ($g_{\perp}, A_{\perp}, \alpha_{\perp}, \beta_{\perp}, \chi_{\perp}$) meghatározása az egész spektrum figyelembevétel, mialatt a párhuzamos paramétereket nem változtatjuk.
3. Az összes paraméter együttes finomítása a spektrum párhuzamos tartományainak megfelelő súlyozása mellett. Súlyozáskor az $m_l = -7/2$ és $-5/2$ -hez tartozó jeleket 10-30, míg az $m_l = +3/2, +5/2$ és $+7/2$ -hez tartozó jeleket 20-60-szorosan vettem figyelembe a merőleges tartományhoz képest.

A harmadik pontban történő további finomítás folyamán, ha egy paraméterszettel dolgozunk, a jellemző ESR-adatok: csatolási állandók illetve g -értékek csak a kísérleti hibán belül változnak csupán.

3.5 CD- és látható elektrongerjesztési spektrofotometriás mérések

A látható elektrongerjesztési spektrumok felvételéhez a HP8452 diódasoros, Hitachi U-2000 illetve Perkin-Elmer lamda 9 spektrofotométert alkalmaztunk. A vizsgált hullámhossztartomány a diódasoros készülék mellett 350-820 nm, míg a másik két készülékkel 400-900 nm volt. A CD-mérések két műszerrel, Jobin Yvon CD6 illetve JASCO 720 spektropolariméterekkel készültek a 350-800 illetve 400-1000 nm tartományban. Rendszerint a spektrofotometriás mérésekhez 1 cm úthosszú küvettát használtunk.

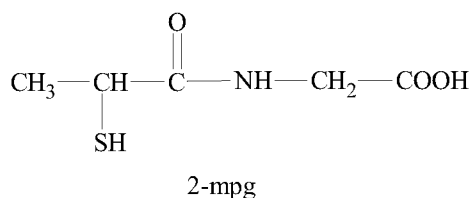
A CD-spektroszkópia alkalmazhatósági kritériuma általában királis centrum megléte a ligandumban. Cotton effektust rendszerint akkor tapasztalhatunk, ha valamely királis atom kromoforhoz kötődik, akár több kötésen keresztül is. Az effektus erőssége a kötések számának növekedésével csökken. Peptidek esetében a terminális karboxilátcsoport, a terminális aminocsoport, az amidcsoport koordinációjakor várható általánoságban (természetesen csak ha az α -szénatom királis) CD-intenzitás.

4 Eredmények és értékelésük

4.1 Az N-2-(S,R)-merkaptó-propionil-glicin biner és terner $V^{IV}O$ komplexei¹²⁶

4.1.1 Biner komplexek

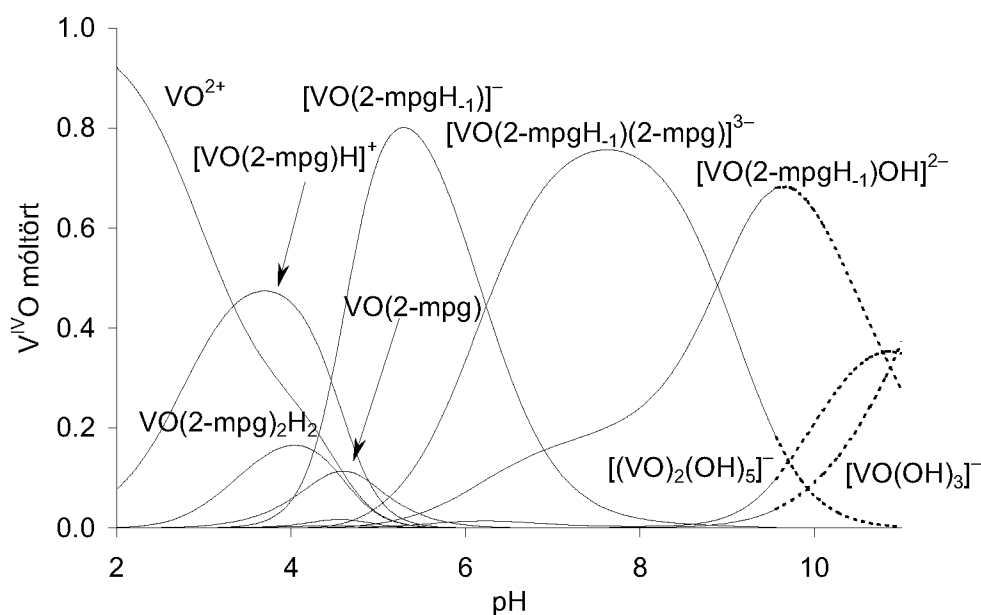
Az N-2-(S,R)-merkaptó-propionil-glicin (2-mpg) mint komplexképző ligandum vizsgálata egy alapvetően „hard” csoportba sorolható fémmel első ránézésre talán nem tűnik teljesen logikusnak. Egy a közelmúltban publikált egykristályszerkezet⁹⁹ – az oxovanádium(IV)-nek a 2-mpg-nel és 1,10-fenantrolinnal



alkotott vegyeskomplexe, amely deprotonált amidnitrogént tartalmazott (lásd 7. ábra) – azonban felkeltette érdeklődésünket. A vizsgálni kívánt ligandum szerkezetileg a glutationnal rokon, mindkét vegyület tridentát módon, a tiolát, az amidnitrogén- és egy karboxilátcsoporton keresztül (is) képes koordinálódni. A két vegyület közötti különbség, hogy a 2-mpg

ligandum tiolátcsoportja egy szénatommal közelebb található az amidcsoporthoz, ami kisebb, öttagú kelátgyűrű kialakulását teszi lehetővé. Vizsgálataink során a pH-metria, ESR- és látható tartományú elektrongerjesztési spektroszkópia kísérleti módszereket alkalmaztuk. A ligandum racém volt, ezért a CD-spektroszkópiát nem használhattuk.

A nemkoordinálódó oldallánccal rendelkező aminosavakat (Gly, Ala lásd: 2.3.3.1) illetve aszparagint (AspGly, GlyAsp lásd: 2.3.3.2) tartalmazó dipeptidekkel ellentétben a 2-mpg mintegy tízszeres ligandumfelesleg mellett oldatban tartotta a $V^{IV}O^{2+}$ iont, csapadékleválás a megfigyelt pH tartományban (2-11) nem következett be. Az oldat színe – kezdetben sárgásbarna, majd pH 9 felett halványpiros – erőteljes komplexképződésre utalt. A pH-potenciometriás mérések több fémcentrumot tartalmazó részecskék jelenlétére nem utaltak. Ezt az ESR-spektrumok is alátámasztották, jelentős intenzitáscsökkenés nem következett be. A rendszert 1:1 illetve 1:2 (M:L) összetételű különböző protonáltsági állapotú komplexekkel jellemeztük. A rendszert leíró modellt, a stabilitási állandókat valamint a spektrális jellemzőket a 12. és 13. táblázatok tartalmazzák.

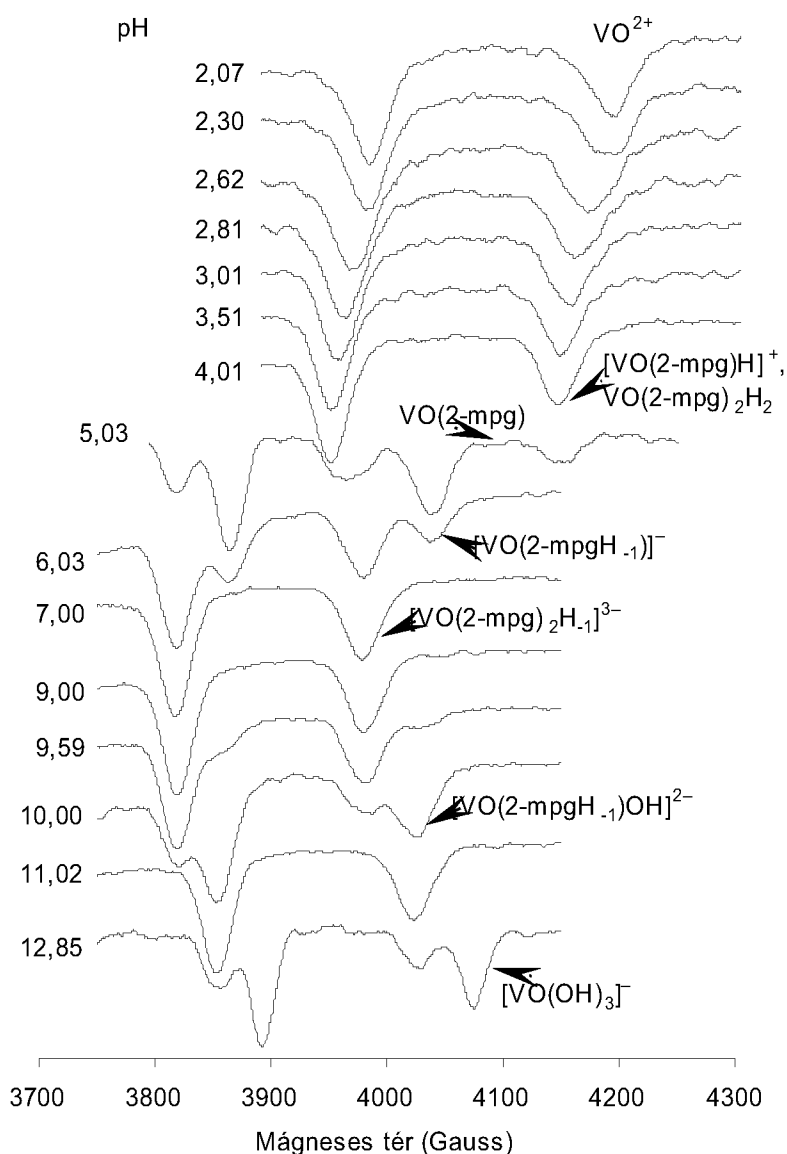


11. ábra A $V^{IV}O$ – 2-mpg rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{V^{IV}O} = 4\text{mM}$; $c_{2\text{-mpg}} = 40\text{ mM}$; $T = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20\text{ M}$)

12. táblázat A $V^{IV}O$ – 2-mpg rendszer komplexeinek stabilitási állandói és spektrális jellemzői. ($I = 0,20$ M (KCl); $T = 25$ °C)

Részecske	$\lg \beta$	pK	$\lambda_{\max}$ [nm]	$(\epsilon [M^{-1}cm^{-1}])$
(2-mpg) H_2	$11,76 \pm 0,01$	3,43		
(2-mpg)H	$8,33 \pm 0,01$	8,33		
$V^{IV}O(2-mpg)_2H_2$	$19,4 \pm 0,2$		625 (15)	780 (28)
$[V^{IV}O(2-mpg)H]^+$	$10,02 \pm 0,04$	4,89	640 (11)	777 (27)
$V^{IV}O(2-mpg)$	$5,13 \pm 0,07$	4,03	~660	~770
$[V^{IV}O(2-mpgH_{-1})]^-$	$1,10 \pm 0,01$	6,90	506 (60)	645 (56)
$[V^{IV}O(2-mpgH_{-1})(2-mpg)]^{3-}$	$4,57 \pm 0,05$		525 (80)	~675 (60)
$[V^{IV}O(2-mpgH_{-1})OH]^{2-}$	$-5,80 \pm 0,02$		528 (88)	760 (33)

A 2-4 pH tartományban a $V^{IV}O^{2+}$ akvaion mellett monodentát karboxilátkoordinációt tartalmazó komplexek jelennek meg $[V^{IV}O(2-mpgH)]^+$ és $V^{IV}O(2-mpgH)_2$ összetétellel. Az ESR-spektrumok ebben a pH



12. ábra A $V^{IV}O$ – 2-mpg rendszer ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány $+5/2$ illetve $+7/2$ átmenethez rendelhető csúcsai különböző pH-kon. ($c_{V^{IV}O} = 4mM$; $c_{2-mpg} = 48 mM$)

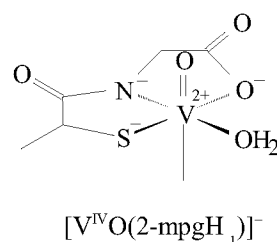
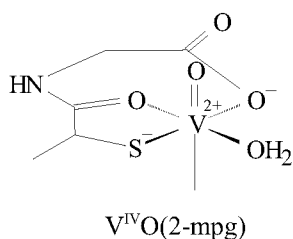
intervallumban egy $A_{||} = 180-174 \times 10^{-4} cm^{-1}$ párhuzamos csatolási állandóval jellemezhetőek, amely a pH növelésével csökkenő tendenciát mutat. Hasonló jelenség figyelhető meg néhány karbonsav¹¹² és aminosav¹²⁷ esetén, nagy ligandumfelesleg mellett. Mindazonáltal e komplexek bázicitással korrigált stabilitási állandóit ($2-mpgH_2 + V^{IV}O^{2+} = [V^{IV}O(2-mpgH)]^+ + H^+ \lg K = -1,64$; $2-mpgH_2 + [V^{IV}O(2-mpgH)]^+ = V^{IV}O(2-mpgH)_2 + H^+ \lg K = -2,38$) összevetve az egyszerű karbonsavak megfelelő állandóival (ecetsav: $\lg K = -2,75$, propánsav: $\lg K = -2,78$, butánsav: $\lg K = -2,76$)¹²⁸ az eredmények extra kölcsönhatásra utalnak. Feltehetően mindez az amidcsoport karboniloxigénjének vagy a nem deprotonálódott tiolcsoportnak a részleges – esetleges külső szférás – koordinációjára vezethető vissza. A következő két deprotonálódás közel egy lépcsőben játszódik le, a két pK rendre 4,89 illetve 4,03. Az ESR-spektrális változások híven tükrözik a fenti folyamatot, a $V^{IV}O(2-mpg)$ összetételű komplexhez tartozó $+7/2$ -es csúcs igen kis intenzitása figyelhető csak meg a pH ~4 illetve ~5 esetén felvett spektrumokon. Ez

alátámasztja a kooperativitást, ellenben megnehezíti az adott komplex ESR-paramétereinek meghatározását. Az adott részecskében feltételezésünk szerint a tiolát- és a karboxilátcsoport koordinációja mellett a peptidcsoport karboniloxigénje is kötődhet a fémionhoz, ezáltal ugyanis két 5+7 tagú csatolt kelátgyűrű jön létre és nem egy nyolctagú makrokelát. A két deprotonálódási folyamat végén keletkezett részecske ESR-paramétere – a mért és a becslt párhuzamos csatolási állandó értékek összehasonlítása – alapján (lásd 14. táblázat) az amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja valószínűsíthető. Az amidnitrogén deprotonálódása mellett még vegyes hidroxokomplex létrejöttével lehetne számolni, de ez egyrészt a hasonló töltésű V^{IV}O komplexek esetében általában magasabb pH-n következik be (lásd Függelék III), másrészt nehezen lehetne magyarázni a V^{IV}O(2-mpg) komplex igen kicsiny mennyiségét. Hasonló indokok alapján vethető el a V^{IV}O(2-mpg)₂ részecske képződése a V^{IV}O(2-mpg)H₁ összetételű helyett. (Adott pH-n a V^{IV}O(2-mpg)H₁ + H(2-mpg) = V^{IV}O(2-mpg)₂ reakciónak nincs pH effektusa.) A második ligandum belépésére jellemző stabilitási állandó jóval meghaladná az elsőét – lg(K₁/K₂) érték igen magas lenne – amire nem lenne logikus kémiai magyarázat. A biszkomplex feltételezése mellett a becslhető párhuzamos csatolási állandó is messze esne a mért értéktől. (2×S⁻, 2×COO⁻ kötőmód mellett az A_{||}=149,2-nek adódik, a mért adat: 157)

13. táblázat A 2-mpg V^{IV}O komplexeinek ESR-paramétereit.

Összetétel	g _⊥	A _⊥ (×10 ⁴ cm ⁻¹)	g	A (×10 ⁴ cm ⁻¹)
V ^{IV} O(2-mpgH) ₂ H ₂	1,975 ± 0,001	62,5 ± 0,5	1,938 ± 0,001	173,5 ± 0,5
[V ^{IV} O(2-mpg)H] ⁺			1,935 ± 0,002	177 ± 1
V ^{IV} O(2-mpg)			1,955 ± 0,003	166 ± 2
[V ^{IV} O(2-mpgH ₁)] ⁻	1,979 ± 0,001	46,0 ± 0,5	1,959 ± 0,001	157,0 ± 0,5
[V ^{IV} O(2-mpgH ₁)(2-mpg)] ³⁻	1,984 ± 0,001	46,5 ± 0,5	1,968 ± 0,001	146,0 ± 0,5
[V ^{IV} O(2-mpgH ₁)OH] ²⁻	1,980 ± 0,001	48,5 ± 0,5	1,960 ± 0,001	154,0 ± 0,5

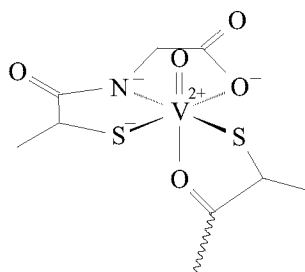
Az a feltételezés, miszerint az amidnitrogén koordinálódik elsőként, és csak ezt követően a tiolátcsoport, az amidcsoport koordinációs kémiájáról meglévő és egyéb fémionokkal kapcsolatos ismereteinknek is ellentmond: a glutation – V^{IV}O rendszerben a tiolátcsoport koordinációjának meghatározó



szerep jut pH 6 felett, míg az amidnitrogén protonálódása csak ezután és csak részlegesen következik be. Ezen felül nem magyarázza a kooperativitást, és az adott oldatszerkezet alapján becslt csatolási állandók is magasabbak a mért értéknél.

Mint ahogy az ESR-spektrumok is alátámasztják, a tiolátcsoport és a karboxilátcsoport elsődleges koordinációja kiváltja az amidnitrogén protonvesztését és koordinálódását. A [V^{IV}O(2-mpgH₁)]⁻ részecske kialakulásakor az amidnitrogén deprotonálódásával és koordinációjával stabilis 5+5 tagú csatolt kelátgyűrűrendszer jön létre. A rendszer speciációja rendkívül hasonlít a SalGly – V^{IV}O²⁺ rendszer eloszlásgörbéjére (8. ábra): ugyanolyan összetételű részecskék képződnek, és az amidnitrogén deprotonálódása pH 4 és 5 között játszódik le. Azonban a 2-mpg ligandumnak mind a V^{IV}O(2-mpg) összetételű, mind a deprotonált amidnitrogént tartalmazó [V^{IV}O(2-mpgH₁)]⁻ komplexe kisebb stabilitású,

mint a SalGly megfelelő komplexei. A bázicitással korrigált stabilitási állandók – lgβ_{VOL}-pK₂ illetve lgβ_{VOLH}-pK₂ – közötti eltérés (2-mpg: lgβ_{VOL}-pK₂ = -3,20, lgβ_{VOLH}-pK₂ = -7,23, SalGly: lgβ_{VOL}-pK₂ = -1,11, lgβ_{VOLH}-pK₂ = -5,87) több mint két illetve közel másfél nagyságrend eltérést mutat. Ugyanezen tendenciát tükrözi a hidrolízis megakadályozásához szükséges nagyobb ligandumfelesleg is. Az amidnitrogén deprotonálódásához rendelhető pK bár alacsonyabb (4,03), mint a SalGly esetében (4,76), a tiolátcsoport (pK = 4,89) és az amidnitrogén koordinációjának kooperativitása miatt a [V^{IV}O(2-mpg)H₁]⁻ komplex csak 4,54-es pH-n éri el a [V^{IV}O(2-mpg)H]⁺ és V^{IV}O(2-mpg) komplexek együttes mennyiségét. Ez a pH érték már

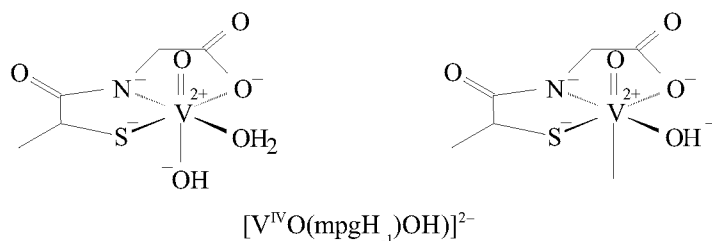


nem különbözik oly jelentősen a SalGly amidnitrogénjének pK értékétől. A biszkomplex [V^{IV}O(2-mpg)₂H₁]³⁻ a [V^{IV}O(2-mpgH₁)]⁻ részecskéből származtatható: a szabadon maradt ekvatoriális pozícióba egy második ligandum tiolátcsoportja köt be. A [V^{IV}O(2-mpg)₂H₁]³⁻ komplexben az amidesoport karboniloxigénjének axiális pozícióban történő koordinálódását is feltételezzük, de a rendelkezésünkre álló adatok nem elegendők ennek bizonyítására. A mért és a feltételezett kötémódok alapján becsült csatolási állandó értékek összehasonlítása a . táblázatban látható.

14. táblázat A 2-mpg V^{IV}O komplexeinek feltételezhető oldatszerkezete – vastag betűvel jelezve a javasolt kötémódokat – alapján becsült párhuzamos csatolási állandó értékének összehasonlítása a mért értékekkel.

Összetétel	Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok					A ^{becs.}	A ^{mért}
[V ^{IV} O(2-mpg)H] ⁺	3×H ₂ O		COO ⁻			179,7	177
	2×H ₂ O	Amid O	COO ⁻			177,7	
V ^{IV} O(2-mpgH) ₂	2×H ₂ O		2×COO ⁻			176,8	173,5
	H ₂ O	Amid O	2×COO ⁻			174,8	
		2×Amid O	2×COO ⁻			172,9	
[V ^{IV} O(2-mpg)]	2×H ₂ O		COO ⁻	Amid-N ⁻		171,0	165-167
	H ₂ O	Amid O	COO ⁻	Amid-N ⁻		169,1	
	2×H ₂ O		COO ⁻	R-S ⁻		166,0	
	H ₂ O	Amid O	COO ⁻	R-S ⁻		164,0	
[V ^{IV} O(2-mpg)H ₁] ⁻	H ₂ O		COO ⁻	R-S ⁻	Amid-N ⁻	157,3	157,0
[V ^{IV} O(2-mpg) ₂ H ₁] ³⁻		Amid O	COO ⁻	R-S ⁻	Amid-N ⁻	155,4	146,0
			2xCOO ⁻	R-S ⁻	Amid-N ⁻	154,4	
			COO ⁻	2xR-S ⁻	Amid-N ⁻	143,6	
[V ^{IV} O(2-mpg H ₋₁)OH] ²⁻	H ₂ O		COO ⁻	R-S ⁻	Amid-N ⁻	157,3	154,0
			COO ⁻	R-S ⁻	Amid-N ⁻ OH ⁻	150,3	

A pH 9 felett megfigyelhető érdekes halványpiros szín ($\lambda = 528 \text{ nm}$, $\varepsilon = 88 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, SalGly: 526 nm , ($\varepsilon = 27 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, hasonló összetétel mellett) a terner hidroxorészecskéhez – a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpgH}_1)\text{OH}]^{2-}$ -hez – rendelhető. A deprotonálódás mindkét a koordinációs szférában még megtalálható, ekvatoriális és axiális pozícióban lévő vízmolekula esetén bekövetkezhet. A deprotonálódásra jellemző pK érték 6,90, ami inkább a hidroxidionnak az ekvatoriális síkban történő koordinációjára utal. (Lásd Függelék III.) Ezzel ellentétben a párhuzamos csatolási állandó csökkenése a folyamat hatására körülbelül a fele a Chasteen féle becslés alapján várható értéknek. Mindezek alapján mindkét eset elképzelhető, akár együttesen is (lásd a két izomer



szerkezetet). Hasonló jelenség – terner hidroxorészecske jön létre, a folyamatot pK~ 7-8 jellemzi, és hogy a párhuzamos csatolási állandó változása nem egy vízmolekula ekvatoriális hidroxilcsoportra való cseréjének felel meg – figyelhető meg a SalGly (2.3.3.3) és a Sal-L-Asp (4.3.3) ligandumoknál is. Amennyiben figyelembe vesszük az amidnitrogén párhuzamos csatolási állandóhoz való hozzájárulásának függését a donorcsoportok össztöltésétől¹⁰⁰, valamint azt az eshetőséget, hogy az ESR-aktív részecske valójában V^{IV}O (OH)₄²⁻ (bár ez utóbbi kizárólag feltételezés, a V^{IV}O hidrolízisét bővebben lásd 2.1.1 fejezet) a becslés és mért értékek között jó egyezés figyelhető meg ekvatoriális hidroxilkoordináció mellett. (Párhuzamos csatolási állandó hozzájárulás érték V^{IV}O(OH)₄²⁻ összegképlet és négy ekvatoriálisan koordinálódott hidroxilcsoport esetén – ¹⁶-ból számítva – $40,4 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Az amidnitrogén hozzájárulását a párhuzamos csatolási állandóhoz négy negatív donorcsoport koordinációja mellett $39 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ -nek véve – lásd 5. fejezet – a becslés és a mért értékek a következők; 2-mpg: $A_{\parallel}^{\text{becs}} = 154,1$, $A_{\parallel}^{\text{mért}} = 154,0$; Sal-L-Asp: $A_{\parallel}^{\text{becs}} = 161,0$, $A_{\parallel}^{\text{mért}} = 161,7$; SalGly: $A_{\parallel}^{\text{becs}} = 161,0$, $A_{\parallel}^{\text{mért}} = 163$).

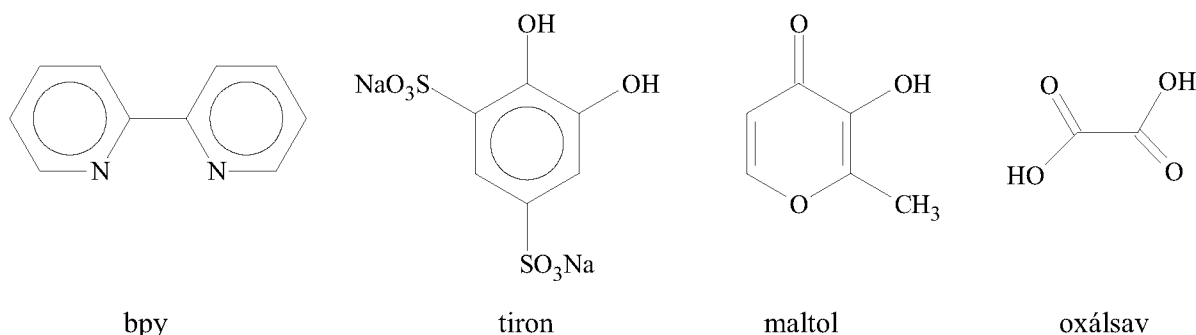
A 2-mpg biner V^{IV}O komplexei – összefoglalás

Az N-2-merkpto-propionil-glicin rendszerben 1:10 fémion-ligandum arány mellett a V^{IV}O hidrolízise számottevően már nem érzékelhető, $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})\text{H}]^+$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})_2\text{H}_2$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})$, $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpgH}_1)]^-$, $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})_2\text{H}_1]^{3-}$ illetve $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})\text{H}_2]^{2-}$ összetételű komplexek mutathatók ki. Az alapvetően csak monodentát karboxilátkoordinációt tartalmazó $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})\text{H}]^+$ komplex stabilitását egyéb gyenge kötések, például az amidoxigén koordinációja kissé megnöveli. A pH-metriás titrálások valamint az ESR-spektrumok egyértelműen igazolták, hogy a tiolcsoport és az amidnitrogén deprotonálódása pH 4-5 között szinte egy lépcsőben játszódik le. A 2-mpg tiolátcsoportja – a karboxilátcsoport koordinációjával kiegészítve – elsődleges koordinációja révén képes horgony-donorcsoportként viselkedve az oxovanádium(IV) indukálta amidnitrogén-deprotonálódást elősegíteni, mely során 5+5 tagú csatolt kelátrendszer jön létre. Magasabb pH-n $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})\text{H}_1]^-$ egy újabb ligandum tiolátcsoportjának ekvatoriális síkban történő koordinálódása révén biszkomplexszé $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})_2\text{H}_1]^{3-}$, míg egy hidroxidion bekötésével $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{2-mpg})\text{H}_2]^{2-}$ összetételű részecskévé alakulhat át. A pH 11-nél az amidnitrogén még mindig a koordinációs szférában található. A képződött komplexek száma és összetétele teljesen megegyezik a V^{IV}O – SalGly rendszerben megtalálhatóakkal, azonban stabilitásuk 1,5-2 nagyságrenddel kisebb.

A tiolcsoport pozíciója jelentősen befolyásolja az amidnitrogén deprotonálódását, mivel a hasonló kötésmód kialakítására képes glutation esetén, ahol a tiolát és az amidnitrogén koordinációjával csak hattagú kelátgyűrű jöhet létre, az amidnitrogén deprotonálódása csupán részlegesen pH 7 felett következik be.

4.1.2 Ternér komplexek

A $V^{IV}O$ – 2-mpg biner rendszerhez négy, komplexkémiai viselkedésében eltérő kétfogú ligandumot választottunk ki azzal a céllal, hogy megvizsgáljuk, vajon hogyan befolyásolják a 2-mpg amidnitrogénjének deprotonálódását. A négy ligandum: a bpy (*N*-2,2'-bipiridil), a tiron (dinátrium-4,5-dihidrox-1,3-



benzoldisulfonát), a maltol (2-metil-3-hidrox-4-piron) és az oxálsav voltak. A bpy az 1,10-fenantrolinnal analóg ligandum, ez utóbbi 2-mpg-nel alkotott vegyes komplexének egykristályszerkezete ismert (7. ábra). A tiron a catecholok családjába tartozik, mely ligandumok rendkívül erős komplexet képeznek a $V^{IV}O$ fémionnal.¹²⁹ A maltol (mal) az ígéretes inzulinuntánczó hatású vegyület, a biszmaltoláto-oxovanádium(IV) komplex (BMOV^{64,70}) liganduma, míg az oxálsav^{130,67,70,71} a vészérum alkotójaként esetlegesen szerepet játszhat a véráramba került $V^{IV}O$ komplexálásában. A vizsgálni kívánt ternér rendszerek számos biner rendszer ismeretét megkövetelték, ezekre vonatkozó információkat a ^{129,70,130} regferenciákat. A $V^{IV}O$ – bpy komplexeinek stabilitási állandói a megfelelő ionerősségen nem álltak rendelkezésre, ezért ezt a biner rendszert is tanulmányoztuk pH-metriás módszerrel. Az ESR- és látható spektrumokat ellenőrzésképpen – vagy újonnan – minden biner rendszerben felvettük, de mivel a disszertációban gyakorlatilag nem kerültek felhasználásra, ezért ismertetésüktől eltekintek.

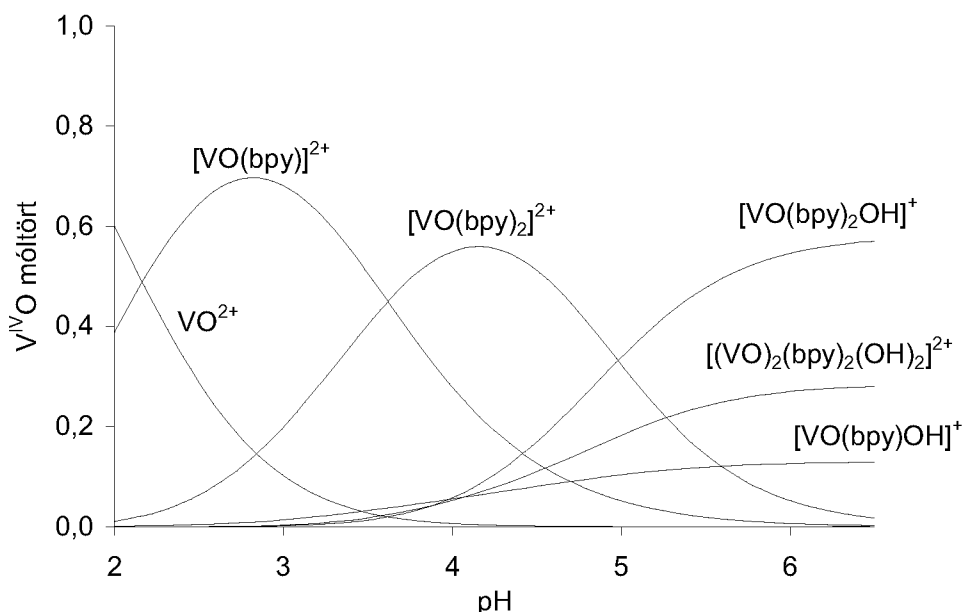
4.1.2.1 A $V^{IV}O$ – *N*-2,2'-bipiridil rendszer

Az oxovanádium(IV) – bpy rendszer pH-metriás titrálásait ligandumfeleslegtől függően pH 6-6,5-ig lehetett az egyensúly gyors beállása mellett tanulmányozni, e tartomány felett a rendszerben lassú, vélhetőleg nem teljesen egyensúlyi folyamatok indultak be, úgymint a fémion hidrolízise, illetve a hidrolízisrészecskék oxidációja. A rendszerben öt különféle komplex $[V^{IV}O(bpy)]^{2+}$, $[V^{IV}O(bpy)_2]^{2+}$, $[V^{IV}O(bpy)OH]^+$, $[(V^{IV}O)_2(bpy)_2(OH)_2]^{2+}$ és a $[V^{IV}O(bpy)_2OH]^+$ jelenlétét feltételeztük.

15. táblázat A $V^{IV}O$ – bpy komplexeinek stabilitási állandói ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,2\text{ M (KCl)}$), ESR-paraméterei és spektrális jellemzői.

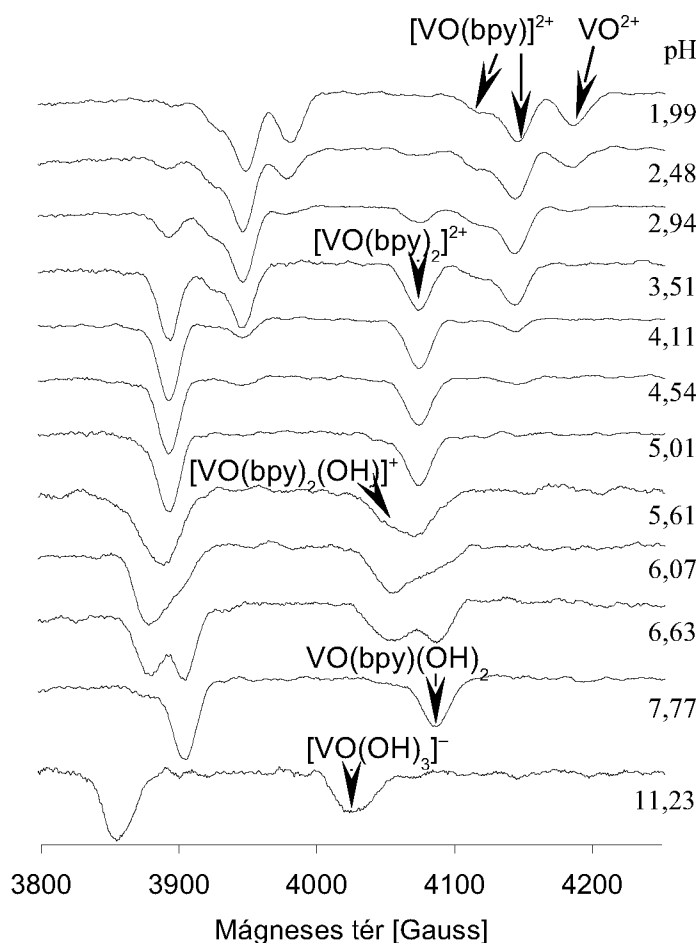
Részecske	lg β	g _⊥	A _⊥ (×10 ⁴ cm ⁻¹)	g _∥	A _∥ (×10 ⁴ cm ⁻¹)	λ _{max} [nm] (ε [M ⁻¹ , cm ⁻¹])	
[bpyH] ²⁺	4,52 ± 0.01						
[bpyH ₂] ⁺	6,07 ± 0.05						
[V ^{IV} O(bpy)] ²⁺	4,91 ± 0,02	1,978	65,0	1,939	174,2	~600(13)	755(30)
		1,978	62,4	1,944	169,4		
[V ^{IV} O(bpy) ₂] ²⁺	8,46 ± 0,06	1,981	58,1	1,950	162,3	530(17)	715(35)
[V ^{IV} O(bpy)OH] ⁺	0,2 ± 0,3		a			a	
[(V ^{IV} O) ₂ (bpy) ₂ (OH) ₂] ²⁺	4,35 ± 0,09		ESR-csendes			a	
[V ^{IV} O(bpy) ₂ OH] ⁺	3,48 ± 0,06	1,978	55,2	1,946	158,3	a	
V ^{IV} O(bpy)(OH) ₂ (valószínűsített összetétel)		1,978	55,2	1,940	163,7	a	
Titrlási pontok száma	130						
Illesztés [cm ³ KOH]	3,0×10 ⁻³						

^a A részecske megfelelő paramétereit nem lehetett kielégítő módon meghatározni.



13. ábra A $V^{IV}O$ – bpy rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje. ($c_{VIVO} = 1 \text{ mM}$; $c_{bpy} = 4 \text{ mM}$; $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M}$)

Az irodalomból ismert korábbi vizsgálat¹³¹ három komplexet a mono-, a biszbipiridil- illetve a biszbipiridil-monohidroxo-oxovanádium(IV) komplexeket feltételezte, a közölt stabilitási állandók nagysága nem tér el



14. ábra A $V^{IV}O$ – bpy rendszer ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány +5/2 illetve +7/2 átmenethez rendelhető csúcsai különböző pH-kon. ($c_{VIVO} = 3 \text{ mM}$; $c_{bpy} = 9 \text{ mM}$)

jelentősen – figyelembe véve a különböző ionerősséget – az általunk meghatározottaktól. A három fő komponens ESR-paraméterei is meghatározhatóak voltak, a biszkomplex adatai jó egyezést mutattak az irodalomból már ismert értékekkel¹⁶. Érdekes megfigyelés volt, hogy a $[V^{IV}O(bpy)]^{2+}$ komplex esetén a +7/2 csúcs mellett egy váll jelentkezett. Ennek aránya a csúcs intenzitásához független volt a pH-tól, amit kizárólag izomerek képződésével magyarázhatunk. A monobipiridil-oxovanádium(IV) komplexnek két elképzelhető izomer szerkezete létezik, az egyik esetben a piridinnitrogének az ekvatoriális síkban foglalnak helyet, míg a másik esetben az egyik nitrogén axiális pozícióban helyezkedik el. Meglepő, hogy ez utóbbi komplex a domináns, a monokomplexek ~75%-a ilyen. A pH 6 felett – valószínűleg a hidrolízissel párhuzamosan – egy újabb csúcs jelenik meg az ESR-spektrumokon, melyet $V^{IV}O(bpy)(OH)_2$ -ként azonosítottunk.

16. táblázat A bpy V^{IV}O komplexeinek feltételezett oldatszerkezete alapján becsült párhuzamos csatolási állandó értékének összehasonlítása a mért értékekkel.

Összetétel	Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok		A ^{becs.}	A ^{becs*}	A ^{mért}
[V ^{IV} O(bpy)] ²⁺	3×H ₂ O	Piridin-N	177,7	176,0	174,2
	2×H ₂ O	2×Piridin-N	172,7	169,4	169,3
[V ^{IV} O(bpy) ₂] ²⁺	H ₂ O	3×Piridin-N	167,8	162,8	162,3
		4×Piridin-N	162,8	156,2	
[V ^{IV} O(bpy) ₂ OH] ⁺		3×Piridin-N	160,8	155,8	158,4
		4×Piridin-N	162,8	156,2	
V ^{IV} O(bpy)(OH) ₂	H ₂ O	2×Piridin-N	165,7	162,4	163,7
	H ₂ O	Piridin-N	163,7	162,1	
		2×Piridin-N	158,8	155,5	

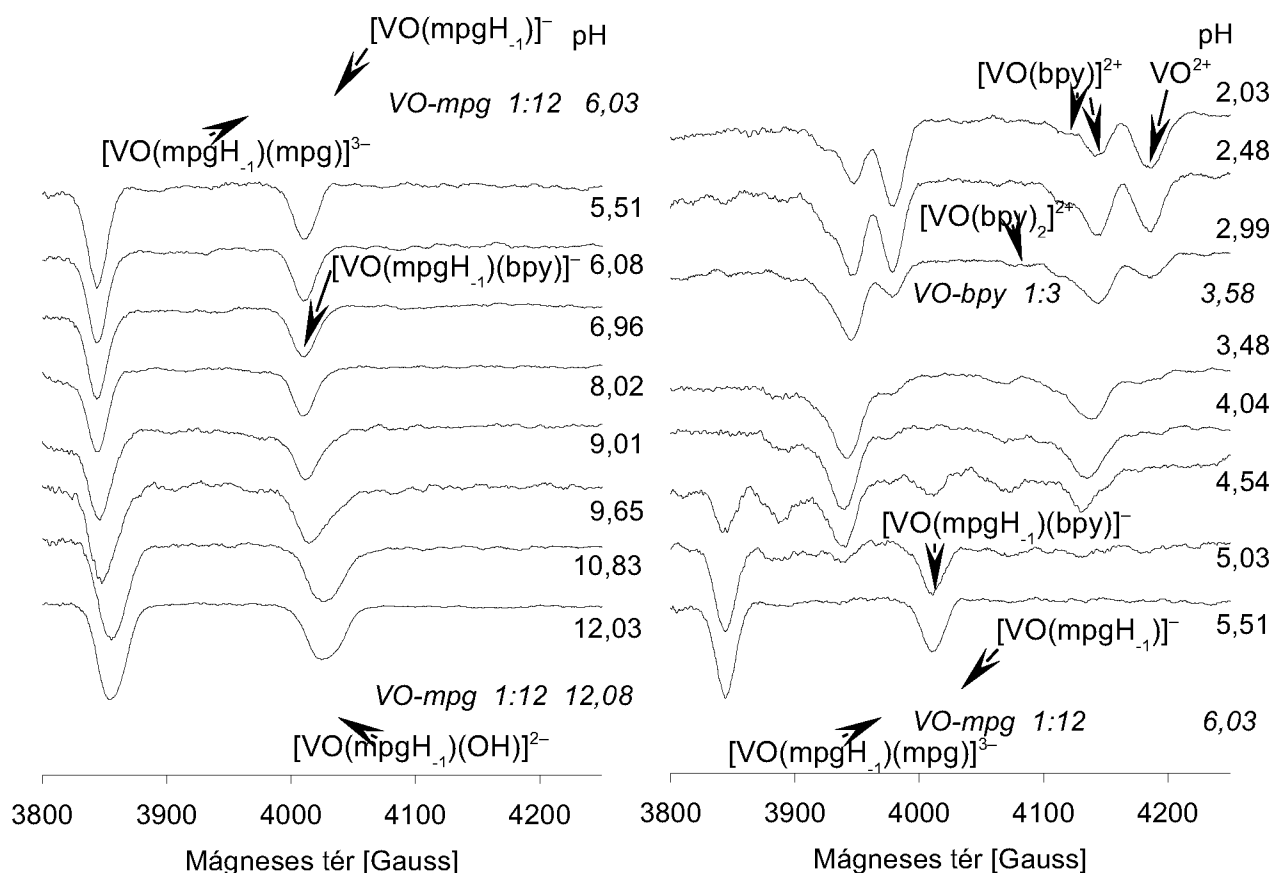
*Az általunk kiszámolt 39,0 piridinnitrogén hozzájárulással becsült adatok.

A 16. táblázatban a Chasteen féle empirikus összefüggés alapján becsült értékeket hasonlítottuk össze az általunk mért értékekkel, a monokomplexek esetén az eltérés meglehetősen nagyra adódott. Mivel a piridinnitrogén hozzájárulását a csatolási állandó értékéhez éppen a bpy biszkomplexének csatolási állandó értékéből számolták ki, felmerül a kérdés, vajon a biszkomplexben az egyik piridinnitrogén nem axiális pozícióban foglal-e helyet, ami különösen logikusnak tűnő elképzelés miután már a monokomplex esetén is ez utóbbi szerkezet volt a domináns. (Az első és második ligandumnak a koordinációs szférába történő belépésére jellemző értékek – lg(K₁/K₂) – összehasonlításából is csak apró szerkezetváltásra következtethetünk, hiszen az 1,36 érték nem haladja meg drámaian 0,6 értéket.) Ezen feltételezés alapján számolt, a piridinnitrogénre jellemző hozzájárulás értéke a csatolási állandóhoz 40,7-ről 39,0-re csökkenne. Az ezzel az értékkel becsült csatolási állandók (*-gal jelölt oszlop) a monokomplexek esetén már jóval közelebb esnek a mért értékekhez, ellenben a vegyes hidroxokomplex esetén az eredeti értékkel becsült állandó bizonyul pontosabbnak. Feltételezésünk szerint a piridinnitrogén – fémion kölcsönhatáskor fellépő viszontkoordináció mértéke függ a komplex összetöltésétől, ezáltal a csatolási állandó értékéhez történő hozzájárulás mértéke is. A piridinnitrogén párhuzamos csatolási állandóhoz történő hozzájárulásának pontos meghatározása további méréseket igényelne, ami túllépi a jelen dolgozat kereteit.

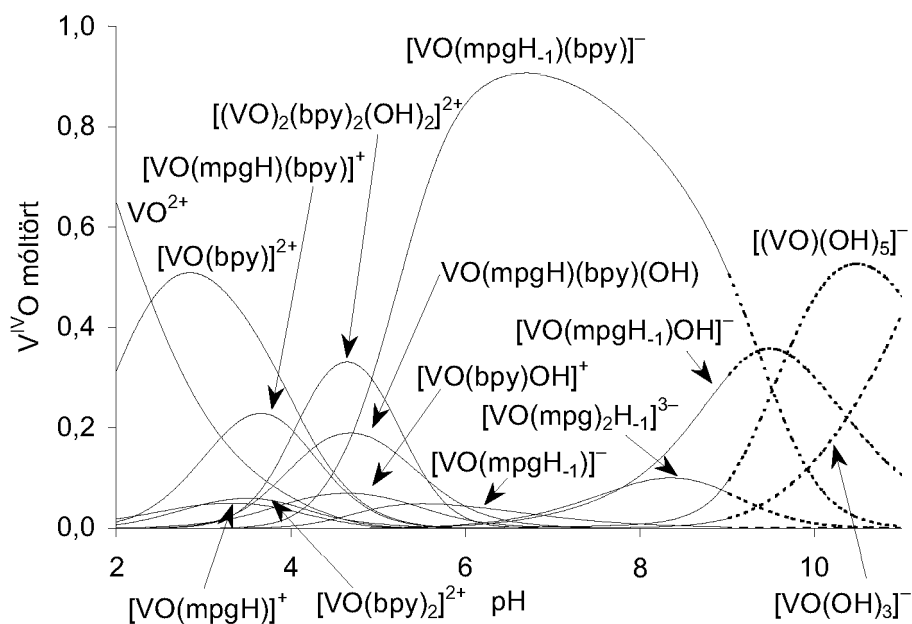
Az általunk végzett mérésekkel párhuzamosan előállították a [V^{IV}O(bpy)₂OH]⁺ komplexet egykristály formájában,¹³² és megállapították, hogy a hidroxilcsoport *cisz* pozícióban található a vanadiloxigénhez képest. Érdekes ellenben, hogy a komplex különböző oldószerekben – acetonitril, víz – felvett ESR-spektrumának jellemző paraméterei¹³³ nincsenek összhangban az általunk mért adatokkal, és kifejezetten a nem hidrolizált biszkomplex paramétereire emlékeztetnek, ami az oxovanádium(IV) – hidroxidion kötés disszociációjára enged következtetni. Vizes oldatban az általunk [V^{IV}O(bpy)]²⁺-ként azonosított részecske jele is megjelent.

4.1.2.2 A $V^{IV}O$ – 2-mpg – bpy rendszer

Az 1:4:1 $V^{IV}O$ -2-mpg-bpy arány mellett nem tapasztaltunk csapadékkiválást, ami összehasonlítva a biner rendszerekkel (2-mpg 10-szeres felesleg, bpy pH ~ 6 felett lassú folyamat) terner komplex képződését valószínűsíti. Az ESR-mérések igazolták a pH-metria eredményét, mely szerint 2-4 pH tartományban a bpy komplexei dominálnak: a 2-mpg egyfogú karboxilátkoordinációja nem versenghet a bpy bekötésekor kialakult kelátgyűrűvel. A 15. ábra jól tükrözi, hogy az 5,5 - 9 pH tartományban egy domináns részecske keletkezik, melynek a $+7/2$ -átmenethez tartozó ESR-jele nem található meg sem a $V^{IV}O$ – 2-mpg sem a $V^{IV}O$ – bpy biner rendszerekben. Az ehhez a részecskéhez tartozó párhuzamos csatolási állandó értéke gyakorlatilag megegyezik Kabanos^{99,100} által $[(V^{IV}O)(2\text{-mpgH}_{-1})(\text{phen})]^-$ (phen = 1,10-fenantrolin) komplex esetén mért adatokkal. $[(V^{IV}O)(2\text{-mpgH}_{-1})(\text{bpy})]^-$: $g_{\perp} = 1,982$; $A_{\perp} = 49,4 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $g_{\parallel} = 1,959$; $A_{\parallel} = 150,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $[(V^{IV}O)(2\text{-mpgH}_{-1})(\text{phen})]^-$: $g_{\perp} = 1,987$; $A_{\perp} = 52,1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $g_{\parallel} = 1,956$; $A_{\parallel} = 151,1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.) Ez utóbbi röntgenszerkezete (7 4ábra) ismert, így a $V^{IV}O$ – 2-mpg-bpy rendszerben képződött terner komplex kötémódját (ekvatoriális sík: COO^- , S^- , N^- , piridin-N, axiális pozíció: piridin-N) ismertnek tekinthetjük. A pH-metriás mérések során egy gyakorlatilag azonos összetételű – $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_{-1})(\text{bpy})]^-$ – komplex feltételezésével a titrálási görbék jó közelítéssel leírhatóak voltak, az illesztési hiba a terner komplex nélküli illesztés kevesebb, mint 10%-ára esett vissza ($1,08 \times 10^{-2} \text{ cm}^3$). Az illesztést további két részecske feltételezésével – $[V^{IV}O(2\text{-mpgH})(\text{bpy})]^+$, $\lg \beta = 15,07 \pm 0,07$; $V^{IV}O(2\text{-mpg})(\text{bpy})$, $\lg \beta = 10,85 \pm 0,11$ – tovább javult ($6,27 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$). Utóbbiak mennyisége a titrálási görbékhez tartozó eloszlásgörbéken sehol sem érte el 15%-ot, ezáltal a részecskék stabilitási állandója és létezése meglehetősen bizonytalan. A megfelelő 2-5 pH tartományban az ESR-mérések során nem tapasztaltunk semmilyen új, a biner rendszerekben már megismert – elsősorban a $V^{IV}O$ -bpy rendszerben előforduló – részecskéktől jelentős mértékben eltérő ESR-paraméterkészlettel rendelkező komplexet. Ez a megfigyelés maximum azon terner



15. ábra A $V^{IV}O$ – 2-mpg – bpy rendszer ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány $+5/2$ illetve $+7/2$ átmenethez rendelhető csúcsai különböző pH-kon. ($c_{V^{IV}O} = 4 \text{ mM}$; $c_{\text{mpg}} = 16 \text{ mM}$; $c_{\text{bpy}} = 4 \text{ mM}$)

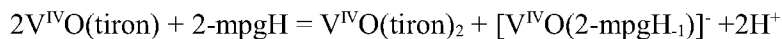


16. ábra A $V^{IV}O$ – mpg – bpy rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{V^{IV}O} = 4\text{mM}$; $c_{\text{mpg}} = 16\text{ mM}$; $c_{\text{bpy}} = 4\text{ mM}$; $T = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20\text{ M}$)

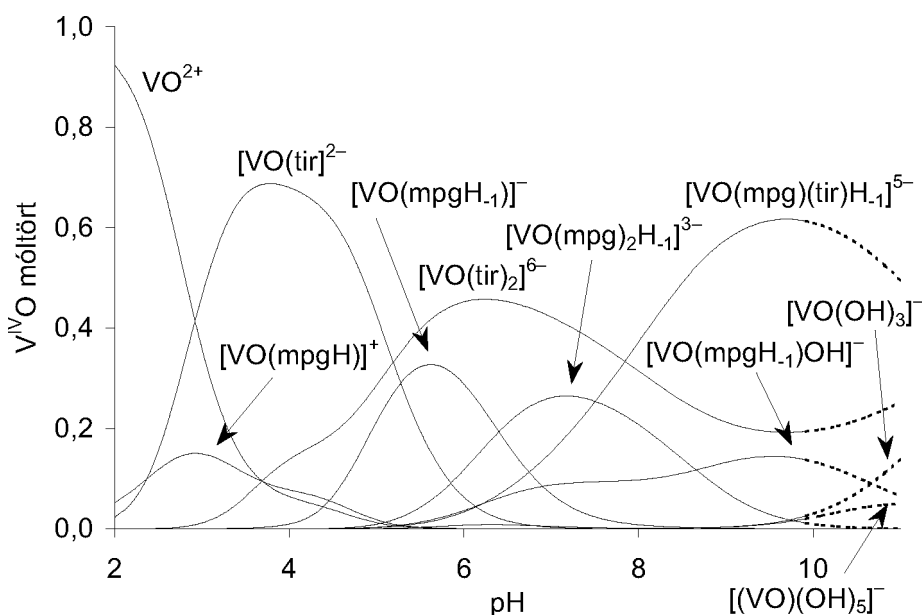
komplexek képződésének feltételezését teszi lehetővé ebben a pH tartományban, ahol az oxovanádium bpy komplexeihez a 2-mpg-nek maximum a karboxilátcsoportja koordinálódik, hiszen ez nem változtatja meg jelentősen – ellentétben a tiolátkoordinációval – a párhuzamos csatolási állandó értékét. A stabilitási állandókból nyerhető adatok is ezt a típusú koordinációt valószínűsítik, a $[V^{IV}O(bpy)]^{2+} + 2\text{-mpgH}_2 = [V^{IV}O(bpy)(2\text{-mpgH})]^+ + H^+$ reakció egyensúlyi állandója $-1,61$ -nek adódik, mely az egyfogú karboxilátkoordinációra jellemző bázicitással korrigált stabilitási állandó nagyságrendjébe esik. A $[V^{IV}O(bpy)(2\text{-mpgH})]^+$ pK értéke (4,22) pedig jó egyezésben van a $[V^{IV}O(bpy)]^{2+}$ pK értékével ($\sim 4,3$). A lúgos tartományban, pH 9 felett – az ESR-spektrumok alapján egyértelműen kijelenthetjük – a hidroxilcsoport kiszorítja a bpy ligandumot a koordinációs szférából, $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(OH)]^{2-}$ vegyes hidroxokomplex keletkezik, amely már a biner $V^{IV}O$ – 2-mpg rendszerben is megfigyelhető volt.

4.1.2.3 A $V^{IV}O$ – 2-mpg – tiron rendszer

Az 1:4:1 $V^{IV}O$ -2-mpg-tiron (tir) rendszerek esetén lassú folyamatok a titrálások kivitelezését már nem zavarták meg, így azok a teljes pH tartományban elvégezhetőek voltak. A catechol típusú vegyületek igen erős kölcsönhatás kialakítására képesek az oxovanádium(IV) ionnal.¹²⁹ A $V^{IV}O^{2+}$:2-mpg:tiron 1:8:1 összetételű rendszerben pH 7-ig e komplexek dominálnak, a 2-mpg komplexei csak annak köszönhetően képződnek, hogy például a



reakció kedvezményezett: a tiron biszkomplexének kialakulása lehetővé teszi a 2-mpg koordinációját is. A titrálási görbék akár terner komplex feltételezése nélkül is viszonylag elfogadhatóan leírhatónak bizonyultak (illesztési paraméter: $1,2 \times 10^{-2}$), ami jól mutatja a tiron és a bpy közötti alapvető különbséget. Az extra lúgfogyasztó folyamatok mértékéből a terner komplexek nem túl jelentős koncentrációjára



17. ábra A $V^{IV}O$ -mpg-tiron (tir) 1:8:1 rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje
 $c_{V^{IV}O} = 4 \text{ mM}$ $c_{\text{mpg}} = 32 \text{ mM}$ $c_{\text{tiron}} = 4 \text{ mM}$ $T = 25,0^\circ\text{C}$ $I = 0,20 \text{ M}$

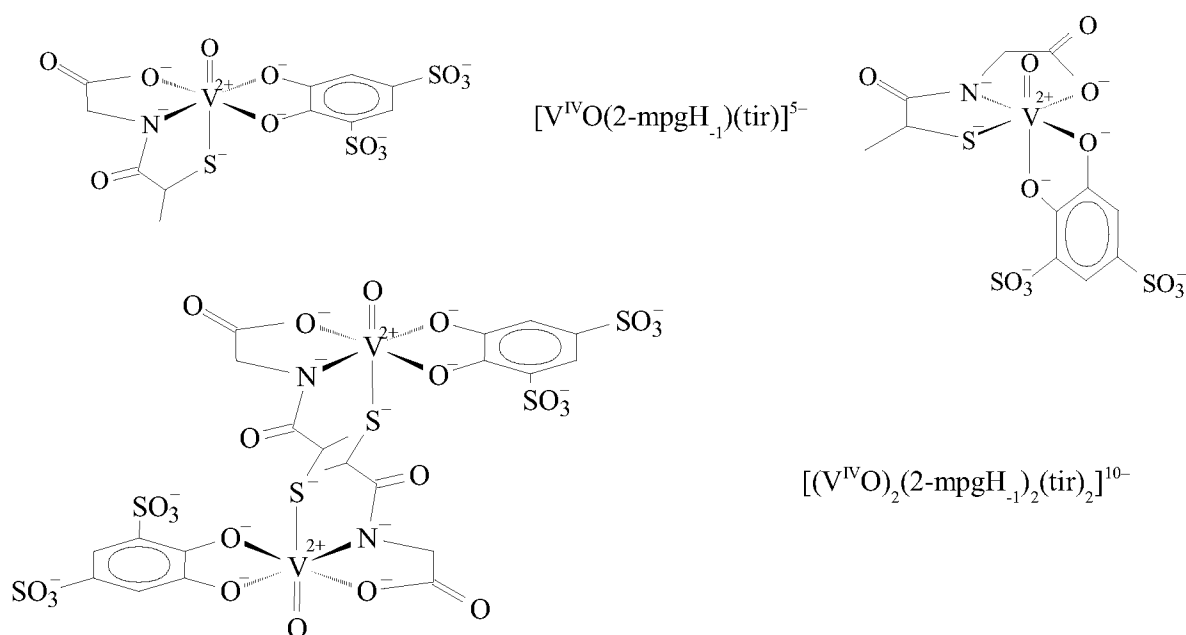
következtethetünk. E folyamat – a titrálási görbe és a terner komplex nélküli számított görbe közötti eltérés – különbsége pH 6 felett válik szignifikánssá, és a 8-8,5 pH tartományban éri el a maximumot. Az extra lúgfogyás leírható egy $[V^{IV}O(2\text{-mpg})(\text{tir})H_1]^{5-}$ összetételű részecskével, az illesztési paraméter $3,89 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$ -re esik vissza.

Az ESR-spektrumokon a 9,09 pH tartományban a 2-mpg-t tartalmazó illetve nem tartalmazó oldat ESR-spektrumai közötti különbség nem túl nagy. A terner rendszerben $A_{\parallel} = 154,7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, míg $A_{\parallel}(V^{IV}O(\text{tir})_2) = 155,9 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, mindkét spektrum jellemzően rombos torzulást mutat. Mindezt két módon magyarázhatjuk: vagy a terner komplex spektruma nem különbözik jelentős mértékben a tiron biszkomplexének spektrumától, vagy a terner komplex dimerizáció folytán ESR-csendessé válik. Amennyiben összehasonlítjuk az adott spektrum párhuzamos csatolási állandóját a különböző oldatszerkezetek alapján becsült értékekkel (17. táblázat) látszik, hogy $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{phen})]$ típusú terner komplex (7. ábra) esetén – a 2-mpg donorcsoportjai a karboxilát, a deprotonált amidnitrogén és a tiolát valamint a tiron két fenolátcsoportja közül az egyik ekvatoriálisan a másik fenolát axiálisan koordinálna – a különbség valóban nagyobb az elfogadható mértéknél. Az ESR-aktív terner részecske képződése esetén ennek alapján feltételezhető, hogy a tiolátcsoport koordinálódik axiális pozícióban.

17. táblázat A $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{tiron})]^{5-}$ komplex feltételezett oldatszerkezete alapján becsült párhuzamos csatolási állandó érték, a mért adat: $154,7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok				$A_{\parallel}^{\text{becs.}} (\times 10^{-4} \text{ cm}^{-1})$
	S^-	amid- N^-	$2 \times \text{Ar-O}^-$	146,1
COO^-	S^-	amid- N^-	Ar-O^-	150,2
COO^-		amid- N^-	$2 \times \text{Ar-O}^-$	156,9

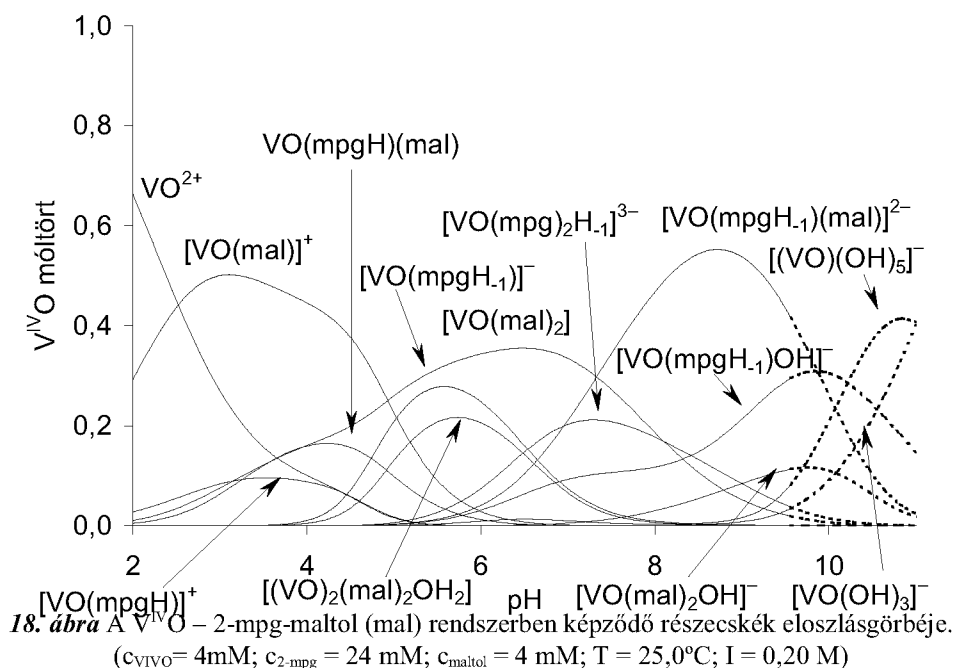
Amennyiben elfogadjuk az amidnitrogénnek a párhuzamos csatolási állandóhoz való hozzájárulásának függését a komplex össztöltésétől¹⁰⁰ – amely esetleg bizonyos mértékig a tiolátsoporra is igaz lehet – a $[(V^{IV}O)(2\text{-mpgH}_1)(\text{phen})]^-$ -hez (lásd 7. ábra) hasonló koordináció sem teljesen elképzelhetetlen. Valószínűleg a tiolátsoport axiális koordinációja esetén – mivel a peptidcsoport merev térszerkezetű – feszülés alakulna ki a kelátgyűrűkben, a komplex ellenben dimerizációval – például a tiolátsoportnak egy másik vanádiumkomplex axiális pozícióba történő kötődésével és viszont, vagy egyéb más módon – stabilizálódhatna. A pH-metriás titrálási görbéket dinukleáris komplex feltételezésével is hasonló nagyságú



hibával ($4,76 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$) lehet leírni, bár a pH-metria inkább a mononukleáris részecskét valószínűsíti. Az ESR-spektrumok kettős integrálásával kapott, a rendszerben lévő párosítatlan elektronok mennyiségével arányos – a kettős integrálás folytán meglehetősen nagy kísérleti és számítási hibával terhelt – intenzitás érték bár pH 6,5 felett szignifikáns csökkenésnek indul, a csökkenés mértéke ellenben a várhatónál valamivel kisebb. Mindez akár a mintakészítés során történő hígulással és a $V^{IV}O$ óhatatlanul bekövetkező részleges oxidációjával és/vagy hidrolízisével is magyarázható, így ezen ESR-eredmények inkább az egymagvú komplexek képződését támasztják alá.

4.1.2.4 A $V^{IV}O$ – 2-mpg – maltol (mal) terner rendszer

A pH-metriás titrálásait terner komplex feltételezése nélkül nem lehetséges tudtuk leírni (illesztési paraméter: $2,58 \times 10^{-2} \text{ cm}^3$). $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{mal})]^{2-}$ komplex feltételezésével az illesztés hibája $8,1 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$ -re esett vissza, melyet egy $V^{IV}O(2\text{-mpgH})(\text{mal})$ komplexnek a pH-metriás modellbe való bevitelével ($\lg\beta = 18,31 \pm 0,06$) tovább lehetett javítani ($5,41 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$). A rendszer ESR-spektrumainak részletes elemzése nem tudott megbízható információval szolgálni sem a fent említett részecskék létezése ellen, sem mellett. A biner $V^{IV}O$ – 2-mpg rendszerben a $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)]^{2-}$ részecskére a $g_{\parallel} = 1,959$ és $A_{\parallel} = 157,0$ ESR-paraméterek jellemzőek. A terner rendszerben ($c_{V^{IV}O} = 4 \text{ mM}$; $c_{2\text{-mpg}} = 24 \text{ mM}$; $c_{\text{maltol}} = 4 \text{ mM}$) a 7,5-9 pH



tartományban felvett spektrumokon legjobb illesztéskor a $g_{\parallel} = 1,953$ $A_{\parallel} = 157,0$ paramétereket kaptuk. A deprotonált amidnitrogént tartalmazó részecske ESR-paraméterei valószínűleg kismértékben különböznek csak a $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)]^{2-}$ spektrumától – esetleg hasonlóan a tiron rendszerhez – jelen esetben is feltételezhető a dimerizáció.

4.1.2.5 A $V^{IV}O$ – 2-mpg – oxálsav(ox) terner rendszer

A terner rendszer pH-metriás titrálásait terner komplex feltételezése nélkül is szinte tökéletesen le lehetett írni (illesztési paraméter: $8,68 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$). $[V^{IV}O(2\text{-mpgH})(\text{ox})]^-$ komplex feltételezésével az illesztés hibája $6,1 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$ -re esett vissza. Az eddigi három rendszer alapján tipikusnak tekinthető $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{ox})]^{3-}$ részecske figyelembe vétele a modellben gyakorlatilag nem javította a titrálási görbék leírását ($5,99 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$). Hasonlóan a pH-metriás eredményekhez az ESR-spektrumok részletes elemzése sem utalt deprotonált amidnitrogént tartalmazó oxalát – 2-mpg terner komplex képződésére.

4.1.2.6 A $V^{IV}O$ – 2-mpg – B ligandum terner rendszerek összehasonlítása

A négy vizsgált terner rendszer közül egyedül a bpy esetében sikerült egy $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{bpy})]^-$ összetételű amidnitrogént tartalmazó komplexet egyértelműen jellemezni, oldatszerkezetét meghatározni. A másik három rendszer közül a tiron és a maltol esetében a pH-metriás mérések alapján valószínűsíthető hasonló összetételű komplexek létezése (esetleg dimer formában), de az ESR-mérések mindezt nem tudták egyértelműen alátámasztani. A negyedik ligandum, az oxálsav esetén a pH-metriás mérések nem utaltak hasonló összetételű komplex számottevő mértékű képződésére. Ez utóbbi módszer alapján számított stabilitási állandókat a 18. táblázat tartalmazza. Annak érdekében, hogy ezen adatok könnyebben és kvantitatívabban is értelmezhetők legyenek, kiszámítottuk a ligandumcserére ($V^{IV}OA + V^{IV}OB = V^{IV}OAB + V^{IV}O$) jellemző egyensúlyi állandókat is. Ha a $V^{IV}O$ mind az öt koordinációra alkalmas pozícióját egyenértékűnek tekintjük, ebben az esetben a fenti reakcióra jellemző statisztikus érték logaritmus -0,9. Ha nem is tudjuk meghatározni a pontos statisztikai értéket, annyi azonban mindennemű elhanyagolás és bonyolult számítás nélkül is kijelenthető, hogy egy feltétlenül negatív értékről kell, hogy szó legyen, mivel a második ligandum által felhasználható szabad pozíciók száma az első ligandum által már korlátozódott.

18. táblázat A $V^{IV}O$ – 2-mpg – B ligandum rendszerek komplexeinek stabilitási állandói.
($I = 0,2 \text{ M (KCl)}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$)

Részecske	$\lg \beta$	$\lg K (V^{IV}OB + [V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)]^- = V^{IV}OB(2\text{-mpgH}_1) + V^{IV}O^{2+})$
$[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{bpy})]^-$	$6,14 \pm 0,01$	0,13
$[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{tir})]^{5-}$	$14,06 \pm 0,05$	-3,51
$[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{ma})]^{2-}$	$6,84 \pm 0,02$	-2,77
$[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{ox})]^{3-}$	$3,2 \pm 0,3$	-3,79

A bpy terner komplexe esetén tapasztalható pozitív 0,13 érték azt mutatja, hogy a bpy koordinációja kedvezőbbé teszi a vanádium indukált amidnitrogén-deprotonálódást a 2-mpg ligandum esetében. Mindez a bpy jó π -akceptor tulajdonságára vezethető vissza, melynek következtében a vanádium atom viszontkoordinációja lép fel, csökkentve ezáltal az elektronsűrűséget a központi fémion körül. A másik három ligandum esetén a ligandumcserére jellemző egyensúlyi állandó értékének jelentős eltérése a statisztikustól több okra vezethető vissza. A ligandumok negatív töltésű oxigéndonorok, melyek jó σ -donor tulajdonságuk révén jelentősen megnövelik a központi fémion elektronsűrűségét, csökkentve az amidnitrogén deprotonálódásának és koordinálódásának valószínűségét. Jól mutatja mindezt, hogy csak az egy negatív töltéssel rendelkező maltolát esetén kapjuk a legkevésbé negatív értéket.

A bpy-vel ellentétben a többi három ligandum esetén a monokomplexben mindkét koordinálódó csoport az ekvatoriális pozíciót foglalja el (a bpy monokomplexének 75%-a axiális-ekvatoriális elrendeződésű), mint ahogyan a $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)]^-$ komplex esetén is mindhárom csoport az ekvatoriális síkban koordinálódik, tehát a ligandumcsere csak térbeli átrendeződés árán következhet be: az egyik ligandum legkedvezőbb koordinációjának megváltoztatására kényszerül, mivel valamely donorcsoport feltétlenül axiális pozícióba kerül.

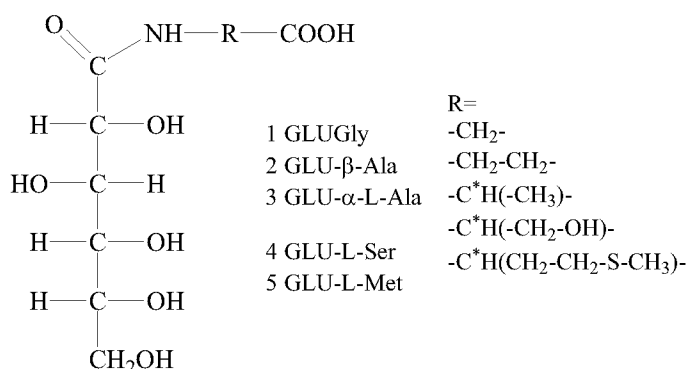
Az *N*-2-merkapto-propionil-glicin terner komplexei – összefoglalás

A $V^{IV}O$ – 2-merkaptopropionil-glicin – B ligandum terner rendszerek (B ligandum: *N*-2,2'-bipiridil, tiron, maltol, oxálsav) viselkedése alapján megállapíthatjuk, hogy a töltéssel nem rendelkező, és fémion viszontkoordinációját lehetővé tevő 2,2'-bipiridil ligandum elősegítette a 2-mpg háromfogú ligandumként történő koordinációját (a terner komplex, a $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)(\text{bpy})]^-$ koncentrációja a teljes pH tartományban nagyobb, mint a $[V^{IV}O(2\text{-mpgH}_1)]^-$ részecskéé) és ezáltal az amidnitrogén deprotonálódását; a $V^{IV}OABH_1$ összetételű részecske meghatározó az 5-9 pH tartományban. Az adott komplexben a karboxilát, a deprotonált

amidnitrogén, a tiolátcsoport, valamint az N-2,2'-bipiridil egyik aromás nitrogénje koordinálódik az ekvatoriális síkban, míg a másik aromás nitrogén az axiális pozícióban foglal helyet. A tiron és maltol B ligandumok esetében a pH-metriás mérések alapján V^{IV}OABH₁ terner komplexek keletkezése valószínűsíthető, ezt azonban ESR-spekroszkópiával nem sikerült minden kétséget kizáróan alátámasztani. Oxálsav B ligandumot tartalmazó rendszerben a pH-metriás mérések is inkább a V^{IV}OABH₁ terner komplex hiányát támasztják alá. A pH-metriás mérésekből számított stabilitási állandók alapján megállapíthatjuk, hogy a három töltéssel rendelkező oxigén donorcsoportokat tartalmazó B ligandummal kialakítható deprotonált amidnitrogént tartalmazó vegyes komplex képződése nem kedvezményezett.

4.2 Az *N*-D-glükonil-aminosavak $V^{IV}O$ komplexei ¹³⁴

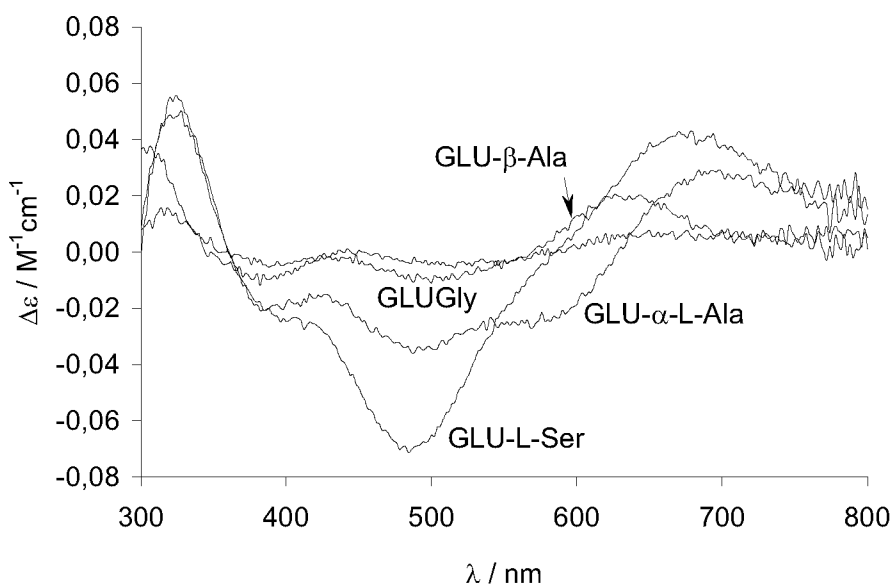
Az *N*-D-glükonil-aminosavak – *N*-D-glükonil-glicin (GLUGly), *N*-D-glükonil-L-alanin (GLU-L- α -Ala), *N*-D-glükonil- β -alanin (GLU- β -Ala), *N*-D-glükonil-L-serin (GLU-L-Ser), *N*-D-glükonil-L-metionin (GLU-L-Met) – $V^{IV}O$ komplexek vizsgálatát során az alkoholátoknak, mint potenciális horgony-donorcsoportoknak a hatásosságát kívántuk tanulmányozni, abból a szempontból, hogy eldönthessük – a Cu^{II} ionhoz⁸² illetve dimetil- Sn^{IV} -hoz⁸⁹ hasonlóan – vajon a $V^{IV}O$ jelenlétében is deprotonálódik-e és koordinálódik-e a fémionhoz az amidnitrogén. Mind az öt vizsgált ligandum koordinációs kémiai szempontból három különböző típusú potenciális donorcsoporttal rendelkezik: egy karboxil- és egy amidcsoporttal illetve a cukorrész öt alkoholos hidroxilcsoportjával. A vizsgált 2-11,5 pH tartományban az említett csoportok közül kizárólag a karboxilcsoport deprotonálódik, az amidcsoport illetve az alkoholos



hidroxilcsoportok pK értékei 12 felett találhatók. Az öt vizsgált ligandum csak az aminosav oldalláncban tér el egymástól. A glicin, valamint az α - és β -alanin esetében az “oldallánc” koordinációja nyilvánvalóan nem jöhet szóba, ellenben az eltérő konformációjú – királis illetve nem királis – szénatomhoz kötődő amidnitrogének miatt ezen vegyületek komplexek CD-spektrumát összehasonlítva értékes információt nyerhetünk az amidnitrogén koordinációban betöltött szerepéről. A szerin és metionin aminosavrész oldalláncai közül inkább az előbbinek lehet aktív szerepe az alkoholos hidroxilcsoport esetleges koordinációja révén a fémion megkötésében.

A három pH-potenciometriásan vizsgált ligandum (GLUGly, GLU- β -Ala, GLU-L-Ser) protonálódási állandói nem térnek el lényegesen a korábban más ionerősségen (0,10 M NaClO₄) meghatározott állandóktól.⁸⁹ A GLU- β -Ala pK-ja közel egy egységgel nagyobb, mint az α -származékoké, a jelenség oka, hogy a β -aminosavszármazék amidcsoportjának negatív induktív hatása az egy szénatommal megnövekedett távolság miatt kevésbé hat a karboxilátcsoportra, és az amidcsoport és a karboxilcsoport közötti hidrogénkötés is kisebb valószínűséggel jöhet létre.

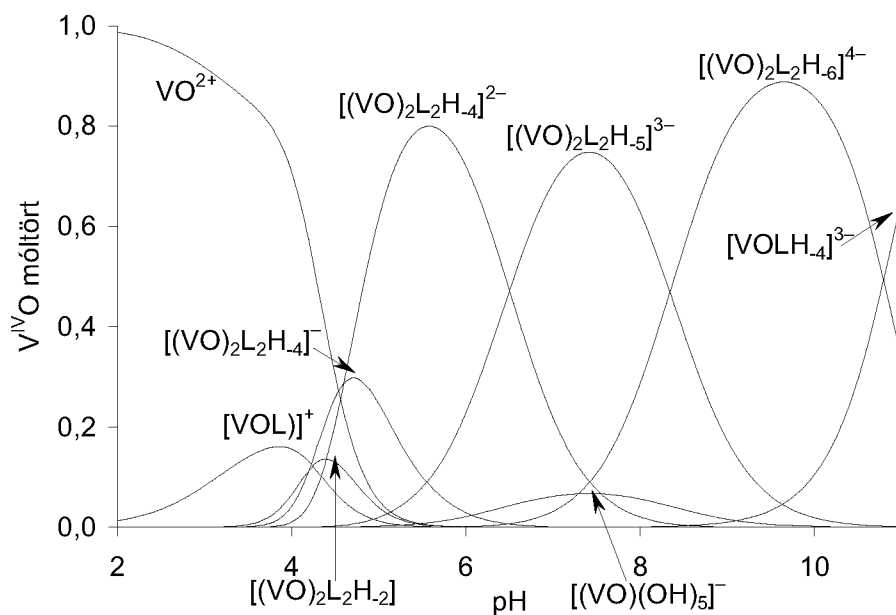
A potenciometriás mérések során az α -aminosavszármazékok esetében $V^{IV}O$ jelenlétében még 1:1 fémion-ligandum arány mellett sem észleltünk csapadékkiválást, kizárólag a GLU- β -Ala - $V^{IV}O(IV)$ 1:1 arány esetében utalt a látható tartományú elektongerjesztési spektroszkópia alapvonalemelkedése a hidroxidcsapadék megjelenésére. (A megfelelő pH-metriás pontokat az értékelésből természetesen elhagytuk.) A 2-4,5 pH tartományban mindhárom ligandum esetében $[V^{IV}OL]^+$ összetételű komplex képződését feltételeztük. Ezen komplexben az egyszerű karboxilátkoordináció létrejötte tűnik logikusnak, ellenben ha összehasonlítjuk a bázicitással korrigált stabilitási állandókat (GLUGly: -1,57, Glu- β -Ala: -2,23, Glu-L-Ser: -0,91) az egyszerű karbonsavakéval (ecetsav: -2,75, propánsav: -2,78, butánsav: -2,76)¹²⁸ akkor megállapítható, hogy egyéb kölcsönhatással, az amidoxigén és esetlegesen a nemdeprotonált hidroxilcsoportok koordinációjával is számolni kell. A szerinrész stabilitásnövelő hatása azt bizonyítja, hogy az aminosavrész oldalláncán lévő alkoholos hidroxilcsoport valamilyen szinten részt vesz a koordinációban. A spektroszkópiás vizsgálatok is a fenti folyamatot tükrözik, az α -aminosavak $V^{IV}O$ komplexek kicsiny



19. ábra $V^{IV}O$ – *N*-D-glükonil-aminosavak CD-spektrumai, pH ~ 4.
($c_{V^{IV}O} = 3 \text{ mM}$; $c_{N\text{-D-Glükonil-aminosav}} = 15 \text{ mM}$)

jelintenzitású spektrumaihoz hasonló CD-effektus mérhető mind az öt vizsgált ligandum esetében. A szobahőmérsékletű minták ESR-spektruma a 2-4,5 pH tartományban gyakorlatilag megegyezett az $V^{IV}O$ pentaakva komplexének ESR-színképével, mindösszesen a folyékony nitrogén hőmérsékleten felvett spektrumok esetében a csatolási állandó értékének csökkenése utalt a koordináció bekövetkeztére. Ez a viselkedésmód megfelel az egyfogú karboxilátkoordináció esetén tapasztaltaknak.^{112,127} A párhuzamos csatolási állandó értéke a karboxilcsoport koordinációját kiegészítő egyéb donorcsoportok – amidoxigén, nem deprotonált alkoholos hidroxilcsoport(ok) – részleges, vagy külső szférás koordinációjára utal.

A pH-metriás titrálások mutatják, hogy a 4-5 pH tartományban két extra lúgfogyás tapasztalható fémiononként. A folyamatok közel egy lépcsőben játszódnak le, és a rájuk jellemző pH érték függ a rendszer összkoncentrációjától: $(V^{IV}OLH_2)_n$ összetételű komplex keletkezik. A pH-metriás mérések kiértékelése során dimerek $[(V^{IV}O)_2L_2H_4]^{2-}$ jelenlétét feltételeztük, a $(V^{IV}O)_2L_2H_2$ illetve $[(V^{IV}O)_2L_2H_3]^-$ részecskék



20. ábra A $V^{IV}O$ – *N*-D-glükonil-glicin (GLUGly) rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje. ($c_{V^{IV}O} = 1 \text{ mM}$; $c_{GLU-Gly} = 5 \text{ mM}$; $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M (KCl)}$)

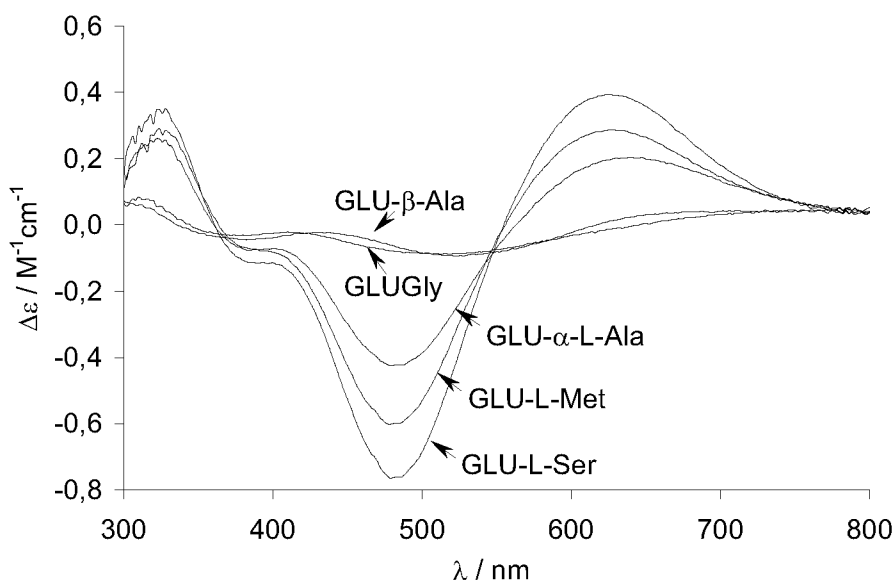
beillesztése a modellbe kismértékben csökkentette az illesztés hibáját. A három különböző ligandum esetében az oldalláncok közötti eltérés alapvetően nem befolyásolta a folyamatokat, mindösszesen a szerin hidroxilcsoportja okozott stabilitásnövekedést. Ezen oldallánc hasonló hatása a Cu^{II} szerintartalmú dipeptidkomplexeinél is megfigyelhető.¹⁰⁸

A csapadéktmentes közeg, valamint mind a CD-, mind az ESR-spektrumokon bekövetkező változások a koordinációs szféra jelentős átalakulásáról tanúskodnak, ami a ligandum részéről csak az amidnitrogének és/vagy az alkoholos hidroxilcsoport(ok) deprotonálódásán keresztül képzelhető el. Mint korábban láthattuk – 2.3.3.1 fejezet – a koordinálódó oldalláncot tartalmazó dipeptidek esetében az aminocsoport nem megfelelő horgony-donorcsoport a peptidamid-nitrogén protonvesztéssel egybekötött koordinációja számára. A SalGly esetében – 2.3.3.3 fejezet – a fenolát és a peptidamid-nitrogén koordinációja két külön lépcsőben játszódik le ($pK_{OH} = 3,19$; $pK_{NH} = 4,76$). A hidroxilcsoportok deprotonálódása egyszerű cukrok esetében $pH > 7$ esetén következhet csak be.¹³⁵ A glikolsav és a tejsav esetében az alkoholos hidroxilcsoport protonvesztése már $pH \sim 4$ körül megtörténik.¹³⁶ Jelen esetben azonban a karboxilátcsoport nincs a megfelelő geometriai pozícióban, hogy stabil öttagú kelátgyűrű jöhessen létre. Mindezek alapján az amidnitrogén és egy alkoholos hidroxilcsoport együttes koordinációja feltételezhető, mely folyamat során két ekvivalens proton szabadul fel közel egyetlen lépcsőben.

19. táblázat A $V^{IV}O(IV)$ *N*-D-glükonil-aminosavakkal alkotott komplexeinek stabilitási állandói. ($T = 25\text{ °C}$; $I = 0,2\text{ M (KCl)}$)

	GLUGly	GLU-β-Ala	Glu-L-Ser
Lg K_{HL}	$3,32 \pm 0,01$	$4,14 \pm 0,02$	$3,10 \pm 0,02$
lg β			
$[(V^{IV}O)L]^+$	$1,75 \pm 0,02$	$1,91 \pm 0,06$	$2,19 \pm 0,05$
$(V^{IV}O)_2L_2H_2$	$-1,37 \pm 0,06$	$-1,19 \pm 0,06$	$-1,37 \pm 0,20$
$[(V^{IV}O)_2L_2H_3]^-$	$-5,57 \pm 0,06$	$-5,48 \pm 0,06$	$-5,08 \pm 0,20$
$[(V^{IV}O)_2L_2H_4]^{2-}$	$-10,17 \pm 0,06$	$-10,17 \pm 0,04$	$-9,21 \pm 0,05$
$[(V^{IV}O)_2L_2H_5]^{3-}$	$-16,67 \pm 0,05$	$-16,52 \pm 0,05$	$-15,11 \pm 0,06$
$[(V^{IV}O)_2L_2H_6]^{4-}$	$-25,01 \pm 0,05$	$-24,43 \pm 0,04$	$-22,84 \pm 0,11$
$[(V^{IV}O)LH_4]^{3-}$	$-24,80 \pm 0,07$	$-23,98 \pm 0,03$	$-23,74 \pm 0,10$
lg K			
$V^{IV}O^{2+} + HL \leftrightarrow$	-1,57	-2,23	-0,91
$[(V^{IV}O)L]^+ + H^+$			
$pK((V^{IV}O)_2L_2H_2)$	4,20	4,29	3,71
$pK([(V^{IV}O)_2L_2H_3]^-)$	4,60	4,69	4,13
$pK([(V^{IV}O)_2L_2H_4]^{2-})$	6,50	6,35	5,90
$pK([(V^{IV}O)_2L_2H_5]^{3-})$	8,34	7,91	7,73
Titrlási pontok száma	321	448	176
Illesztési paraméter (cm^3)	0,017	0,017	0,016

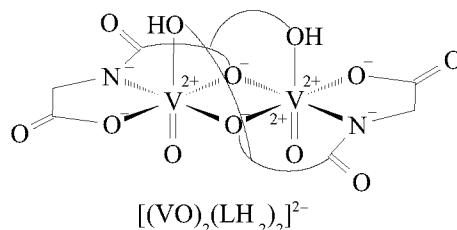
A öt ligandum $V^{IV}O$ komplexeinek $pH \sim 5$ felvett spektrumait (lásd 21. ábra) két típusba sorolhatjuk. Azon ligandumok esetében, ahol az aminosavrészben az amidcsoport aszimmetrikus szénatomhoz kötődik (GLU-α-L-Ala, GLU-L-Ser, GLU-L-Met) igen intenzív CD-jelet mérhetünk, melyek intenzitása ugyan ligandumonként eltérő, de alakja egyforma. A másik két ligandum – amelyek aminosav része nem tartalmaz asszimmetriacentrumot (GLUGly, GLU-β-Ala) – oxovanádiumkomplexeinek adott pH-n mért CD-effektusának intenzitása bár nagyságrenddel kisebb, de szignifikánsnak tekinthető. Ezen viselkedésnek



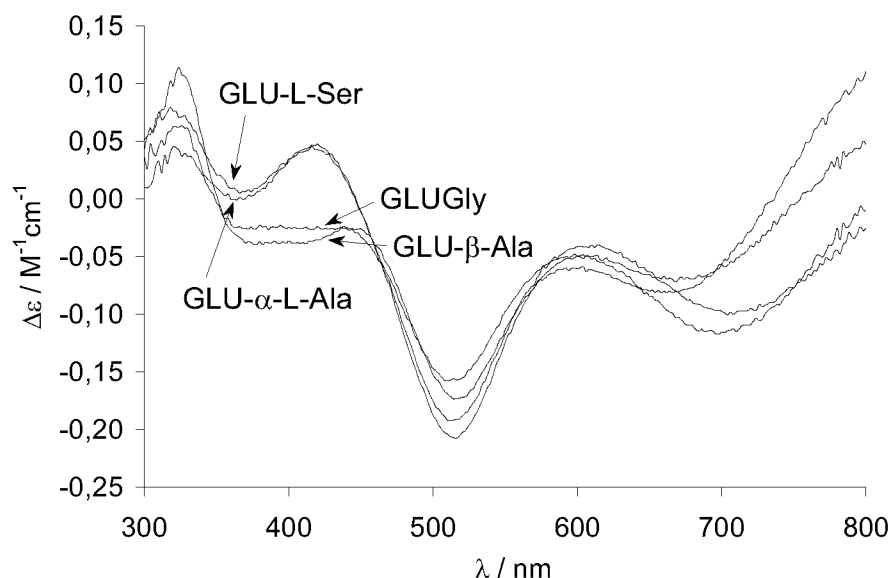
21. ábra $V^{IV}O$ – *N*-d-glükonil-aminosavak CD-spektrumai, pH ~ 5
($c_{V^{IV}O} = 3 \text{ mM}$ $c_{N\text{-d-Glükonil-aminosav}} = 15 \text{ mM}$)

mindössze egyféle magyarázata lehetséges: az amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja okozza az igen intenzív CD-spektrumot az optikailag aktív aminosavrészt tartalmazó ligandumok esetében, míg a cukorrész sem tekinthető elhanyagolhatónak a koordinációs folyamatokban, ellenkező esetben nem tapasztalnánk CD-effektust a másik két ligandum esetében. Stabil 5+5 vagy 5+6 csatolt kelátgyűrű kialakulására egy alkoholos hidroxilcsoport protonvesztésével nyílik lehetőség. A hidroxilcsoportok a karboxilcsoport elsődleges koordinációja után megfelelő horgony-donorcsoportnak bizonyultak az amidnitrogén oxovanádium(IV) indukálta deprotonálódásához és koordinálódásához. Az alkoholátscsoport és a peptidnitrogén protonvesztése jó közelítéssel egy lépcsőben játszódik le.

A 4,5-10 pH tartományban a minták ESR-csendesnek bizonyultak, ami erős antiferromágneses kölcsönhatásra utal a $V^{IV}O$ centrumok között. Ezt kizárólag oligomer komplexek képződésével magyarázhatjuk, ami jó egyezésben van a pH-potenciometriás módszerrel meghatározott komplexösszetételekkel. A komplex szerkezetére egyszerű kémiai és geometriai elvek alapján próbáltunk következtetni. Az erős antiferromágneses kölcsönhatásból a $V^{IV}O$ centrumok kis távolságára lehet következtetni, a méréseink egy karboxilcsoport, egy deprotonált amidnitrogén és egy alkoholos hidroxilcsoport koordinációját valószínűsítik. A három csoport közül kémiai megfontolások – vizes oldatban leginkább erre van példa¹³⁷ – alapján leginkább az alkoholáthidas dimer kialakulása a legvalószínűbb,



hasonló koordinációt feltételeztek a Cu^{II} azonos összetételű komplexe esetében is.⁸² Amennyiben feltételezzük, hogy egy további nem deprotonált alkoholos hidroxilcsoport koordinálódik az axiális pozícióban akkor geometriai okokra visszavezethetően a szerkezet csak úgy képzelhető el, ha a vanadiloxigének azonos irányultságúak. A további átalakulásokat a vanádium(IV) koordinációs szférájában mind a CD-, mind a látható tartományú elektrongerjesztési spektrofotometriás mérések igazolták. A 6-9 pH tartományon a pH-metriás mérések során az egyensúly igen nehezen, vagy egyáltalán nem állt be. A



22. ábra $V^{IV}O$ – *N*-D-glükonil-aminosavak CD-spektrumai, pH > 11.
($c_{V^{IV}O} = 3$ mM; $c_{N\text{-}d\text{-}Glükonil\text{-}aminosav} = 15$ mM)

protonvesztések mint lassú folyamatok feltételezése mellett a hidrolízis, vagy a komplexek részleges oxidációja is feltételezhető. Mindezen zavaró tényezők természetesen mind a komplexek stabilitási állandóinak hibájában, mind a modellválasztás bizonytalanságában megjelennek. A kísérletileg mért és számított görbék közötti eltérés a megszokottnál nagyobb hibája is e szakasz meglehetősen bizonytalan voltára vezethető vissza. Mivel az ESR-mérések az 4,5-10 pH tartományban nem mutattak aktivitást, a dimer szerkezet megtartása mellett bekövetkező deprotonálódási folyamatokként az esetlegesen axiálisan már koordinálódott alkoholos hidroxilcsoportok protonvesztését javasoljuk. A titrálási görbék pH 10 feletti szakaszán egy újabb ekvivalens lúgfogyás tapasztalható fémiononként, ami a fent említett dimer szerkezet széteséséhez kell, hogy vezessen, mivel a donoratombok további deprotonálódása már nem képzelhető el, és a koordinációs szféra telítettsége révén újabb donorcsoport koordinációja sem lehetséges. A dimer szerkezet megszűntét az ESR-intenzitás visszatérése kiválóan mutatja.

20. táblázat A $GLUGly$ $V^{IV}O$ komplexekinek feltételezett oldatszerkezete alapján becsült párhuzamos csatolási állandó értékének összehasonlítása a mért értékekkel, és rokon rendszerek kísérleti adataival.

Összetétel	Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok					$A_{ }^{becs}$	$A_{ }^{mért}$
$[V^{IV}O(L)]^+$	$3 \times H_2O$		COO^-			179,7	174
	$2 \times H_2O$	Amid-O	COO^-			177,7	
$[V^{IV}O(LH_4)]^{3-}$			COO^-	OH^-	Amid- N^-	153,7	145
			COO^-		Amid- N^-	150,4	
				OH^-	Amid-N^-	2 $\times$ R-O^-	
					Amid-N^-	3 $\times$ R-O^-	
$[V^{IV}O(L_2H_4)]^{4-}$						4 $\times$ R- O^-	141,3
				OH^-		3 $\times$ R- O^-	144,7
	H_2O					3 $\times$ R- O^-	151,6
Ligandum							
D-ribose							149
D-galacturonic acid							150

A látható tartományú spektrofotometriás mérések során megfigyelt izobesztikus pont alapján egyértelmű, hogy kizárólag két komplex található a 10-11 pH tartományban. A pH 11 felett felvett CD-

spektrumok szintén két csoportba sorolhatóak a korábban már említett kategóriák szerint: a királis szénatomot aminosav oldalláncukban nem tartalmazó ligandumok – a GLUGly és a GLU- β -Ala – $V^{IV}O(IV)$ komplexei majdnem azonos CD-effektust mutatnak, ami jóval kisebb mértékben ugyan, de jellemzően eltér a másik három ligandum CD-spektrumától. A két csoport eltérő optikai viselkedéséből arra következtethetünk, hogy az amidnitrogén továbbra is a koordinációs szférában található. A ligandumok azonos cukorrészenek alkoholátkoordinációja okozta – szükségképpen azonos – hatás a CD-effektusban a két csoport között tapasztalható különbséget jelentősen lecsökkenti.

Az ESR-spektrumok szimulációjából kapott párhuzamos csatolási állandók összehasonlítása a $V^{IV}O$ cukorkomplexek megfelelő paramétereivel is alátámasztotta, hogy nem kizárólag alkoholátcsoportok koordinálnak a 11 feletti pH tartományban. Amennyiben összehasonlítjuk a feltételezhető oldatszerkezetek alapján számolt ESR-csatolási állandókat a mért értékkel, a legjobb egyezést a deprotonált amidnitrogén, a két alkoholát illetve a hidroxidion ekvatoriális síkban történő koordinációjának feltételezésével kaphatjuk. Ebben az esetben a karboxilátcsoport valószínűleg kiszorul az ekvatoriális síkból, vagy akár a koordinációs szférából is. Amennyiben figyelembe vesszük, hogy az amidnitrogén hozzájárulása a párhuzamos csatolási állandóhoz függ a koordinálódó donorcsoportok össztöltésétől¹⁰⁰ (lásd 5. fejezet: négy negatív töltés esetén kb. $39 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) jobb egyezést kapunk, ha a hidroxidion koordinációja helyett egy további alkoholos hidroxilcsoport koordinációját tételezzük fel.

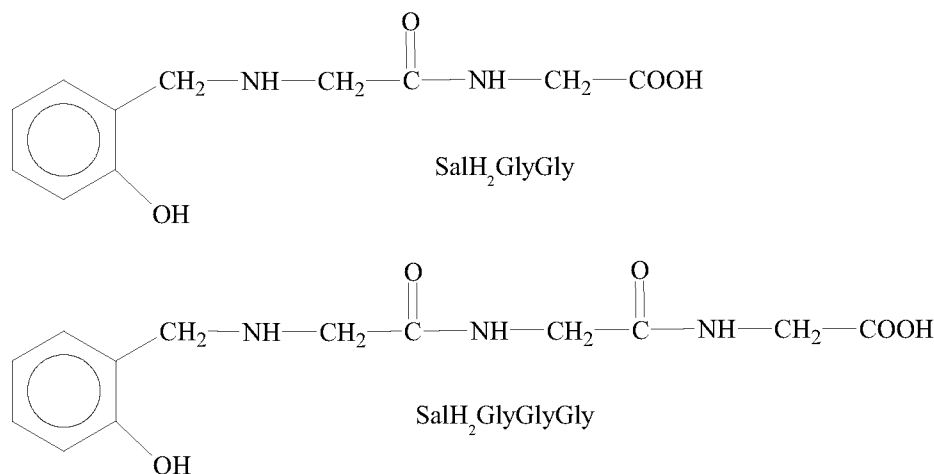
A $V^{IV}O$ – *N*-D-glükonil-aminosavak – összefoglalás

Az *N*-D-glükonil-aminosav – $V^{IV}O$ rendszerekben a spektrofotometriás mérések egyedül a β -alanin származék 1:1 fémion-ligandum arányú oldata esetén utaltak csapadékkiválásra. A pH-metriás mérések alapján az oxovanádium(IV) hidrolízise 1:5 fémion-ligandum arány mellett már elhanyagolható mértékű. A pH-metriás titrálások mutatják, hogy a 4-5 pH tartományban két extra lúgfogyás tapasztalható fémiononként, amely közel egy lépcsőben játszódik le, és a folyamatra jellemző pH függ a rendszer összkoncentrációjától: $(V^{IV}OLH_2)_n$ összetételű komplex keletkezik. A csapadékmentes közeg, valamint mind a CD-, mind az ESR-spektrumokon bekövetkező változások a koordinációs szféra jelentős átalakulásáról tanúskodnak, ami a ligandum részéről csak az amidnitrogének és/vagy az alkoholos hidroxilcsoport(ok) deprotonálódásán keresztül képzelhető el. A komplexképződést az adott pH-n CD-spektroszkópiával követve egyértelműen kimutató különbség van az oldalláncsal rendelkező, tehát az amidnitrogénhez közvetlenül királis szénatommal kapcsolódó, illetve oldallánc nélküli aminosavrészt tartalmazó ligandumok viselkedése között. E megfigyelés és a pH-potenciometriás titrálások során a három vizsgált ligandum között tapasztalt nem számottevő különbség bizonyítja, hogy a deprotonált amidnitrogén koordinálódik a központi fémionhoz. Az alkoholátcsoport koordinációja – valószínűleg a cukorrész további nemdeprotonált alkoholcsoportjaival, és természetesen a karboxilátcsoport koordinációjával kiegészítve – hathatósan elősegíti az oxovanádium(IV) indukálta amidnitrogén deprotonálódást. Az alkoholos hidroxilcsoport és az amidnitrogén protonvesztése jelen esetben is közel egy lépcsőben játszódik le, miközben ESR-csendes komplexek, feltehetően dimerek képződnek. A három különböző oldalláncot, glicin-, β -alanin- és szerinrészt tartalmazó ligandumokat összehasonlítva a szerin oldallánc enyhe stabilitásnövelő hatását kivéve nem találtunk viselkedésük között jelentős eltérést. A GLU- β -Ala által képzett eggyel nagyobb tagszámú kelátgyűrű nincs hatással az oxovanádium(IV) indukálta amidnitrogén deprotonálódásának pK értékére, akárcsak a Cu^{II} -¹³⁸ és a dimetil- Sn^{IV} rendszerekben⁸⁹. A pH további emelésével további alkoholátcsoport koordinálódik egy-egy $V^{IV}O$ -ionhoz a dimer szerkezet megtartása mellett, míg a pH 10 felett lejátszódó újabb protonvesztési folyamat következtében a dimer egység – amely már telített koordinációs szférájú volt – ESR-aktív monomer részecskékre esik szét.

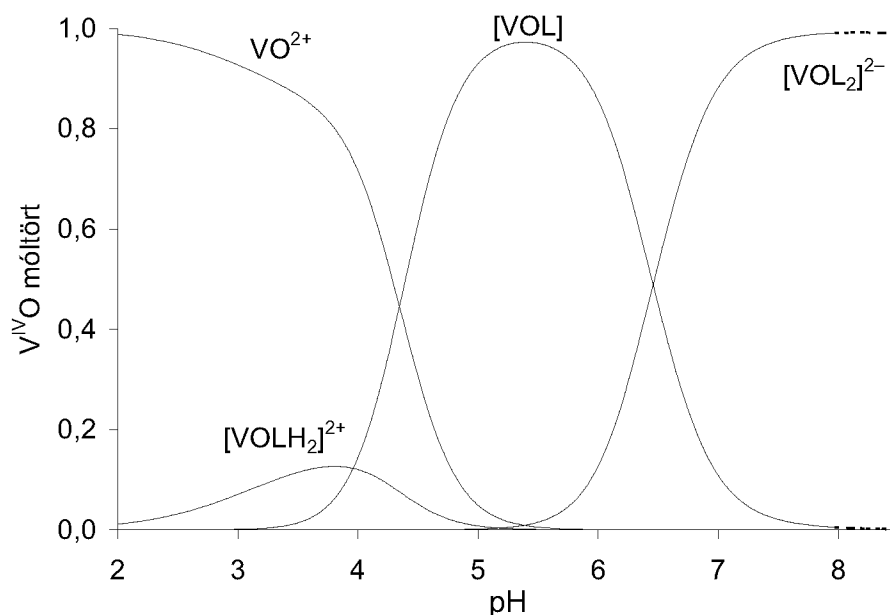
4.3 A szalicilsav-származékok $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ komplexei

4.3.1 A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ és a $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ ⁸¹

Az N -[(2-hidroxifenil)-metil]-glicil-glicin ($\text{SalH}_2\text{GlyGly}$) és az N -[(2-hidroxifenil)-metil]-glicil-glicil-glicin ($\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$) esetében azt vizsgáltuk, hogy az oxovanádium(IV)ion képes-e az egy extra



fenolátcsoporthal “megerősített” di- illetve tripeptid ligandumok amidnitrogénjének illetve amidnitrogénjeinek deprotonálódását és koordinálódását indukálni. Mindkét ligandum három, a 2-12 pH tartományban disszociálódó protonnal rendelkezik: a karboxilcsoport, a fenolos hidroxilcsoport valamint a szekunder aminocsoport vesz részt sav-bázis folyamatokban. A ligandumok titrálása során a pH emelésével az első deprotonálódási lépcsők – $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$: $\text{pK} = 3,13$; $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$: $\text{pK} = 3,23$ – minden valószínűség szerint a karboxilcsoportokhoz köthetők. (SalGly : $\text{pK}_{\text{COO}^-} = 3,37$; GlyGly : $\text{pK}_{\text{COO}^-} = 3,17^{76}$; GlyGlyGly : $\text{pK}_{\text{COO}^-} = 3,32^{76}$) A második illetve harmadik deprotonálódási lépcső – $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$: $\text{pK}_2 = 7,57$; $\text{pK}_3 = 10,06$; $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$: $\text{pK}_2 = 7,39$, $\text{pK}_3 = 9,99$ – nem rendelhető egyértelműen a fenolát- vagy az aminocsoportokhoz. Rokon vegyületekben mindkét csoport nagyjából azonos pK -val deprotonálódik: SalGly : $\text{pK}_{\text{Ar-O}^-} = 8,16$; GlyGly : $\text{pK}_\text{N} = 8,13$; GlyGlyGly : $\text{pK}_\text{N} = 7,93^{76}$. Deprotonálódásuk minden



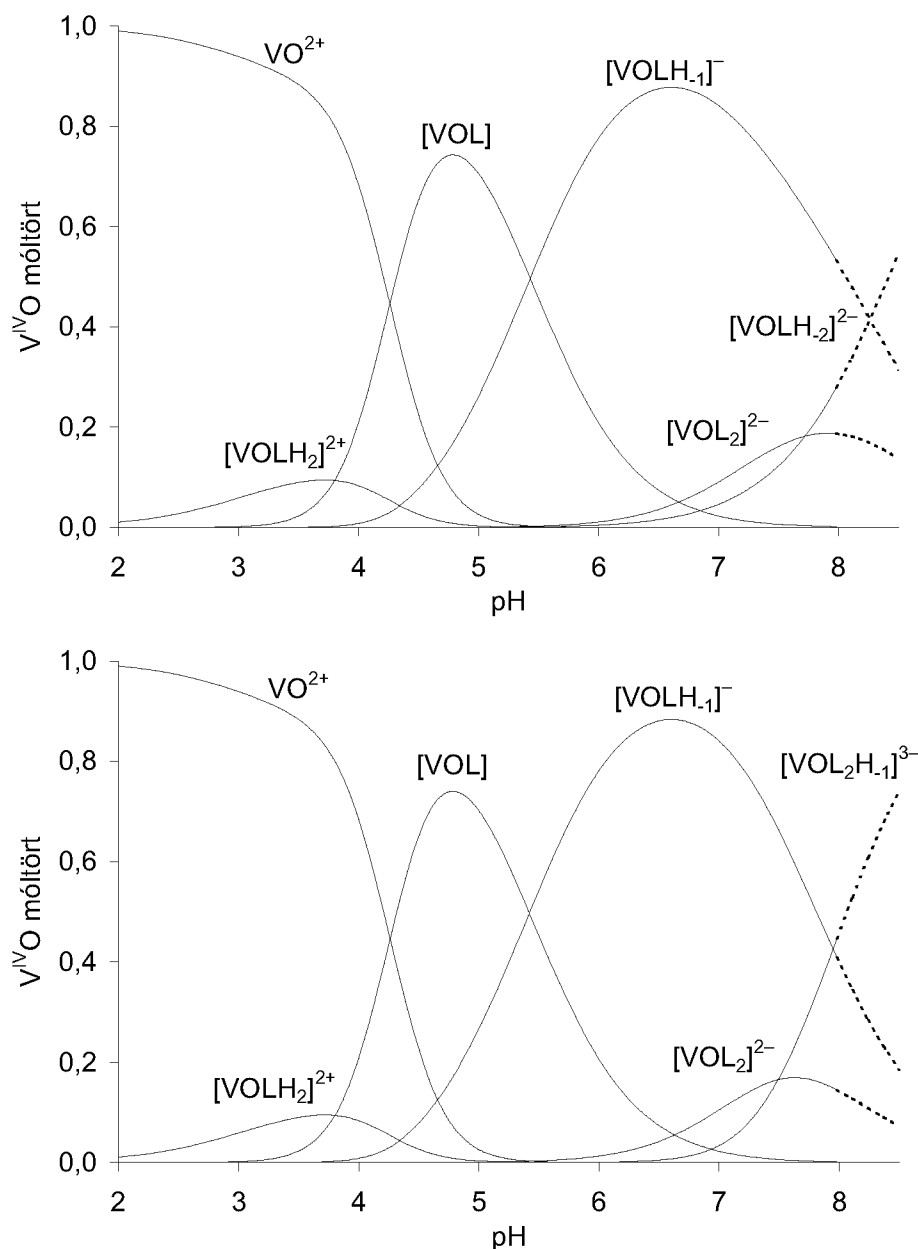
23. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ – $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{\text{VIVO}} = 1\text{ mM}$; $c_{\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}} = 4\text{ mM}$; $T = 25,0\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20\text{ M (KCl)}$)

valószínűség szerint átfedő, feltételezhetően mikrofolyamatokkal is számolni kell. A fenolát és a protonált aminocsoport között valószínűleg hidrogénkötés alakul ki, ami szintén befolyással van a sav-bázis folyamatokra. A két ligandum proton és $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}^{2+}$ komplexeinek stabilitási állandói a . táblázatban találhatóak.

21. táblázat A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ és a $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ protonálódási állandói illetve $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -komplexeinek stabilitási állandói ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,2\text{ M (KCl)}$).

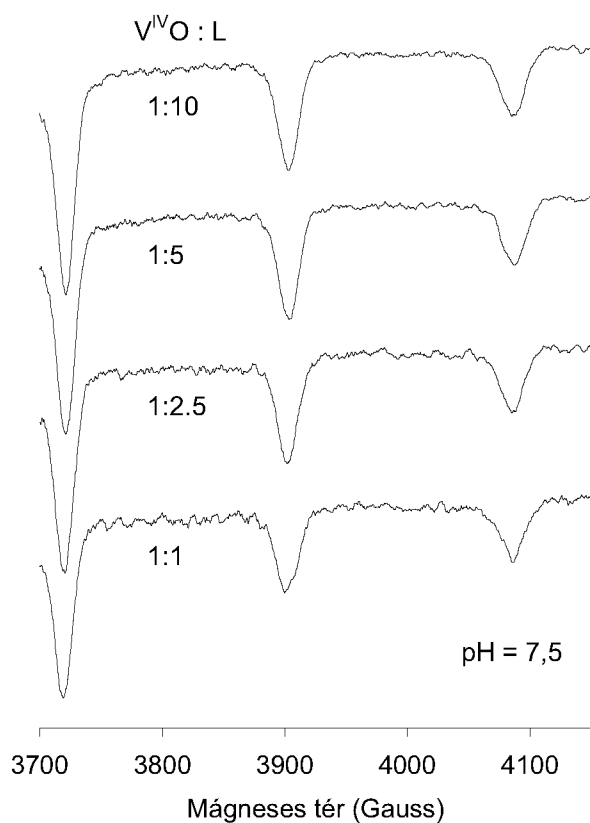
	$\text{SalH}_2\text{GlyGly}$		$\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$
lg β			
H_3L	$20,76 \pm 0,02$		$20,61 \pm 0,02$
H_2L	$17,63 \pm 0,01$		$17,38 \pm 0,02$
HL	$10,06 \pm 0,01$		$9,99 \pm 0,01$
pK			
H_3L^-	3,13		3,23
H_2L	7,57		7,39
HL	10,06		9,99
Lg β	Model I	Model II	
$[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{LH}_2]^{2+}$	$19,2 \pm 0,5$	$19,2 \pm 0,5$	$19,1 \pm 0,5$
$(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{L}$	$11,60 \pm 0,03$	$11,60 \pm 0,02$	$11,18 \pm 0,03$
$[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{LH}_1]^-$	$6,17 \pm 0,03$	$6,18 \pm 0,02$	–
$[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{LH}_2]^{2-}$	$-2,09 \pm 0,06$	–	–
$[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{L}_2]^{2-}$	$18,47 \pm 0,06$	$18,55 \pm 0,05$	$18,29 \pm 0,06$
$[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{L}_2\text{H}_1]^{3-}$	–	$11,06 \pm 0,05$	
Lg K			
$\text{V}^{\text{IV}}\text{O}^{2+} + \text{H}_2\text{L} \leftrightarrow (\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{L} + 2\text{H}^+$	-6,03	-6,03	-6,20
pK(($\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{L}$)	5,43	5,42	–
pK($[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{LH}_1]^-$)	8,26	–	–
pK($[(\text{V}^{\text{IV}}\text{O})\text{L}_2]^{2-}$)	–	7,49	–
lg K_1	11,60	11,60	11,18
lg K_2	6,87	6,95	7,11
lg (K_1/K_2)	4,73	4,65	4,07
Titrálási pontok száma	242	242	219
Illesztési paraméter (cm^3)	$5,76 \cdot 10^{-3}$	$4,37 \cdot 10^{-3}$	$6,87 \cdot 10^{-3}$

A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -t tartalmazó rendszerekben minimálisan kétszeres ligandumfelesleg mellett mindkét esetben pH~8-ig lehetett a pH-metriás méréseket értelmezni. E pH felett lassú, nem egyensúlyi folyamatok játszódnak le, amelyet a komplexek hidrolízise illetve/és oxidációjaként értelmezhetünk: az eloszlásgörbéken (lásd 23. és 24. ábra) látható szaggatott görbeszakaszok így csak tendencia jellegűnek tekinthetők. A meglehetősen kis százaléokban képződő $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2$ komplex stabilitási állandóját igen nagy bizonytalansággal sikerült csak spektrofotometriás mérés segítségével meghatározni. E komplexben mindkét ligandum a karboxilát csoportján keresztül koordinálódik: összehasonlítva a bázicitással korrigált stabilitási állandót (-1,5) egyéb egyszerű karbonsavak megfelelő paramétereivel (ecetsav : -2,75, propánsav : -2,78, butánsav : -2,76)¹²⁸ hasonlóan az egyszerű dipeptidekhez (GlyGly, GlyAla) egy karbonilcsoport esetleges extra koordinációját feltételezhetjük.

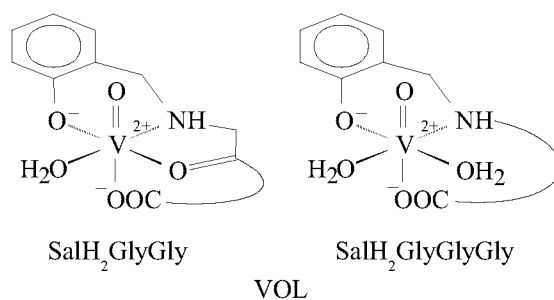


24. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O} - \text{SalH}_2\text{GlyGly}$ rendszerben képződő részecskék eloszlásgörbéje $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$ illetve $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{.1}]^{3-}$ komplex feltételezése esetén.
($c_{\text{V}^{\text{IV}}\text{O}} = 1 \text{ mM}$; $c_{\text{SalH}_2\text{GlyGly}} = 4 \text{ mM}$; $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M (KCl)}$)

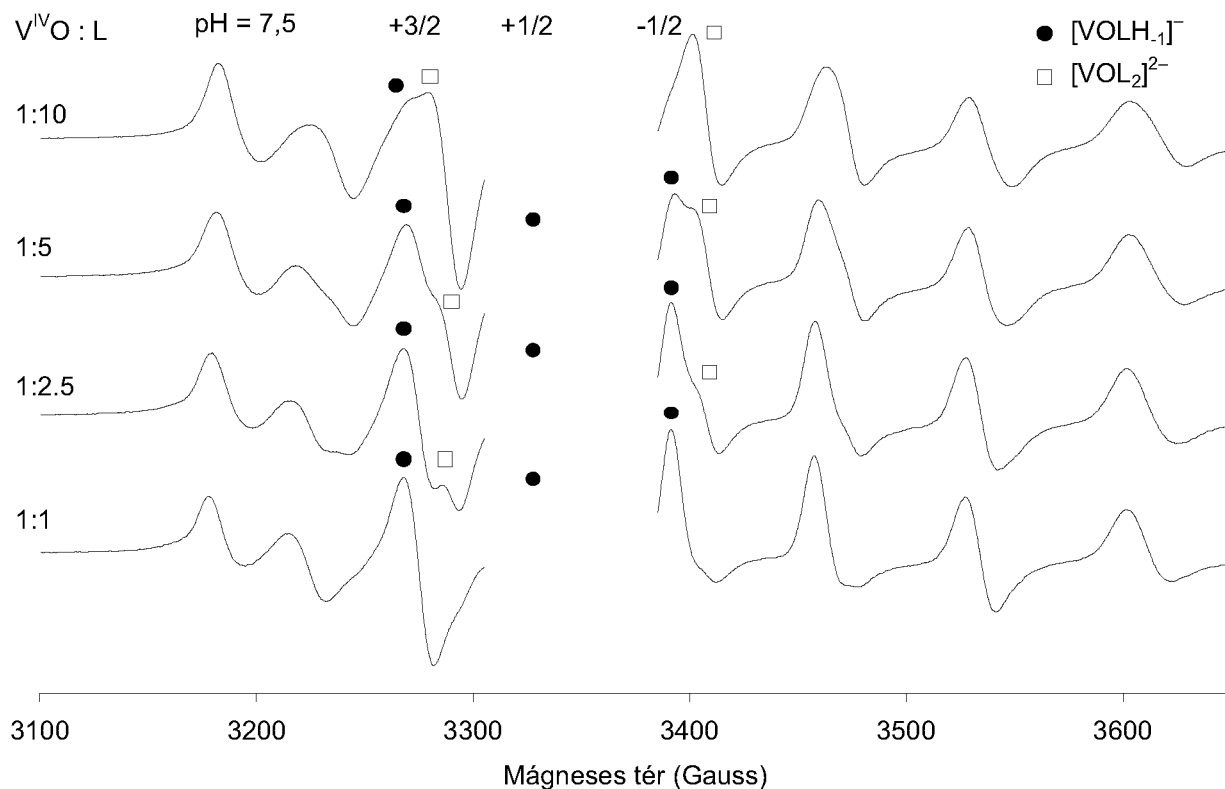
$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}]^+$ összetételű komplexeket nem sikerült az alábbi rendszerekben kimutatni sem pH-potenciometriás, sem ESR-módszerrel: a fenolát- és az aminocsoport koordinációja egy lépésben következik be. A $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$ összetételű részecskékben e csoportok mellett szereplő egyéb donorcsoportok koordinációját részben csak feltételezni tudjuk. A $\lg(K_1/K_2)$ mindkét ligandumra ($\text{SalH}_2\text{GlyGly}$: 4,73; $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$: 4,65) vonatkozó igen magas értéke alapján – amely a második ligandum a koordinációs szférába való jóval nehezebb belépését bizonyítja az első ligandumhoz képest – a karboxilátcsoport koordinációja első látásra bizonyítottan tűnhet. Azonban a biszkomplexben a két ligandum kötőmódja nem azonos, ami szintén magyarázhatja a $\lg(K_1/K_2)$ magas értékét. A két ligandum VOL komplexe mind az ESR-paramétereikben ($\text{SalH}_2\text{GlyGly}$: $A_{\parallel}=169$; $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$: $A_{\parallel}=172$), mind a bázicitással korrigált stabilitási állandókban, ($\text{SalH}_2\text{GlyGly}$: -6,03; $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$: -6,20) valamint a $\lg(K_1/K_2)$ -ben is – ha nem is túlzottan nagy, de szignifikáns – különbséget mutat. Mindez a fenolát és a szekunder aminocsoport koordinációja mellett esetleg fellépő egyéb koordinálódó donor csoportoknak a nagyobb mértékű jelenlétére utal a $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$



25. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ – $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ rendszer ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány $m_l = +3/2, +5/2$ illetve $+7/2$ átmenethez rendelhető átmenetei különböző fém-ligandum arány mellett. ($c_{\text{VIVO}} = 4 \text{ mM}$)

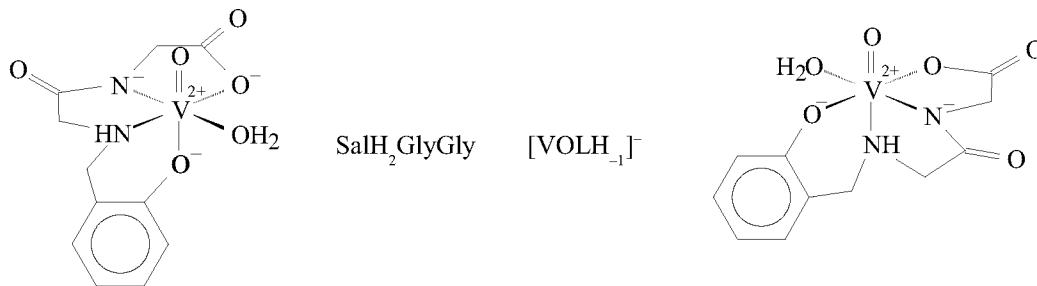


megfelelő komplexében. A dipeptidszármazék esetén vagy a karboxilcsoport koordinációjának nagyobb szerepét és/vagy a peptidcsoport karboniloxigénjének extra koordinációját tételezhetjük fel. Az ESR-spektrumok szimulációjából meghatározott párhuzamos csatolási állandók és a becsült értékek összehasonlítása alapján (lásd 23. táblázat) az amidcsoport karboniloxigénje és a karboxilátssoport közül az egyik – térszerkezeti okokra visszavezethetően valószínűleg az utóbbi – axiális pozícióban található. A $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ esetén az ESR-adatokból levonható következtetések alapján a karboxilátssoport vagy nem, vagy az axiális pozícióban koordinálódik a fémionhoz.



26. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ – $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ rendszer ESR-spektrumainak merőleges tartománya különböző fémion-ligandum arány mellett. ($c_{\text{VIVO}} = 4 \text{ mM}$)

A két ligandum $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$ összetételű komplexeire jellemző apró szerkezeti különbség előrevetíti az eltérő viselkedést az 5-8 pH tartományban. A tripeptid analóg esetében bekövetkezik az amidnitrogén deprotonálódása, és $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ összetételű komplex válik dominánssá pH ~ 6 körül, ezen a pH-n a tetrapeptid amidnitrogénjének deprotonálódása a pH-metriás mérések alapján nem játszódik le. Az ESR-paraméterek ($g_{\parallel}$; $A_{\parallel}$) meglepő hasonlósága a két rendszerben a fent említett pH tartományban először a pH-metriás modellek hitelessége felől ébresztett kétséget. A részletes ESR-vizsgálat elvégzése azonban (ligandumfüggés a $\text{V}^{\text{IV}}\text{O} - \text{SalH}_2\text{GlyGly}$ rendszerben pH 7,5-nél) feltárta, hogy a két részecske – $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2$ – ESR-paraméterei a párhuzamos tartományban gyakorlatilag megegyeznek, a merőleges tartományban azonban

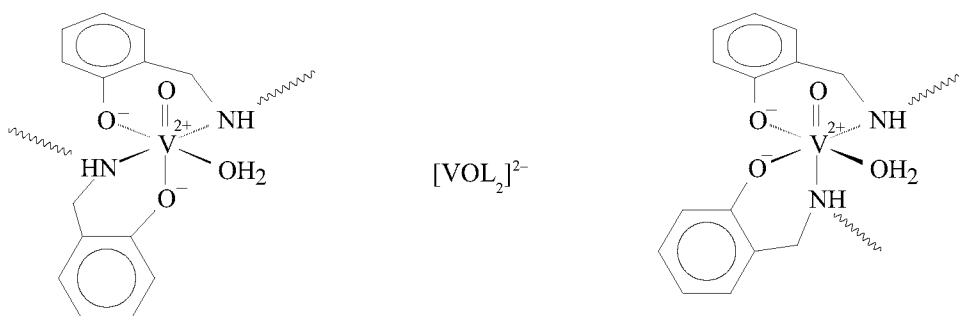


jelentősen eltérnek (lásd. 25. és 26. ábra). A pH-metria és az ESR-spektroszkópiás módszerrel a két ligandum között detektálható különbség valamint a deprotonálódásra jellemző pH bizonyítja az amidnitrogén protonvesztését. Amennyiben feltételezzük, hogy nem az amidnitrogén deprotonálódott, csak a vegyes hidroxokomplex képződésével számolhatnánk: ennek azonban mindkét ligandum komplexei esetén be kellene következnie.

22. táblázat A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ és $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ komplexeinek ESR-paraméterei.

Összetétel	Ligandum	$g_{\perp}$	$A_{\perp} (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel} (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$
$\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2$	SalH_2GG	$1,977 \pm 0,002$	66 ± 1	$1,935 \pm 0,002$	179 ± 1
	SalH_2GGG	$1,976 \pm 0,002$	66 ± 1	$1,935 \pm 0,002$	179 ± 1
$\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$	SalH_2GG	$1,976 \pm 0,002$	59 ± 1	$1,943 \pm 0,002$	169 ± 1
	SalH_2GGG	$1,977 \pm 0,001$	$61,0 \pm 0,5$	$1,942 \pm 0,001$	$172,0 \pm 0,5$
$\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$	SalH_2GG	$1,982 \pm 0,001$	$55,5 \pm 0,5$	$1,953 \pm 0,001$	$163,5 \pm 0,5$
	SalH_2GGG	–	–	–	–
$\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2$	SalH_2GG	$1,976 \pm 0,002$	54 ± 1	$1,951 \pm 0,002$	163 ± 1
	SalH_2GGG	$1,976 \pm 0,001$	$54,5 \pm 0,5$	$1,950 \pm 0,001$	$163,0 \pm 0,5$
?	SalH_2GG	$1,978 \pm 0,001$	49 ± 1	$1,955 \pm 0,002$	158 ± 1
	SalH_2GGG	$1,984 \pm 0,001$	52 ± 1	$1,960 \pm 0,002$	159 ± 1

A két ligandum biszkomplexeinek ESR-paraméterei a hibahatáron belül megegyeztek, amiből az azonos szerkezetre következtethettünk. Ha összehasonlítjuk a mért, és az elméletileg becsült csatolási



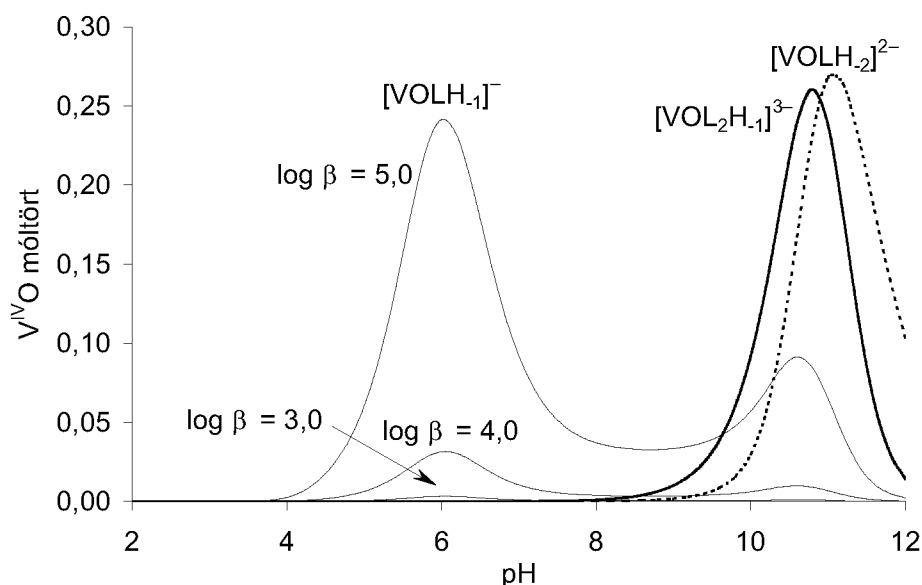
állandó értékeket, akkor megállapíthatjuk, hogy mindkét részecske ([V^{IV}OLH₁]⁻, [V^{IV}OL₂]²⁻) esetén a négy feltételezhetően koordinálódó donorcsoport ([V^{IV}OL₂]²⁻: 2×Ar-O⁻, 2×N_{amino}; [V^{IV}OLH₁]⁻: Ar-O⁻, N_{amino}, N_{amid}, COO⁻) közül egy nem az ekvatoriális síkban kell, hogy elhelyezkedjen, ellentétes esetben a becslés és a mért érték közötti eltérés a becslés hibahatárát durván meghaladná. A biszkomplex esetében feltételezhetően az aminos csoport, míg a deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplex esetén – geometriai okok miatt – inkább a fenoláts csoport axiális koordinációja tűnik kedvezőbbnek, ámbár nem zárhatóak ki teljesen egyéb lehetőségek sem.

23. táblázat A SalH₂GlyGly és SalH₂GlyGlyGly V^{IV}O komplexeinek feltételezett szerkezete alapján becslés párhuzamos csatolási állandó értékének összehasonlítása a mért értékekkel.

Összetétel	Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok					A ^{becs.}	A ^{mért}	
							SalH ₂ GlyGly	SalH ₂ GlyGlyGly
[V ^{IV} OLH ₂] ²⁺	3×H ₂ O	COO ⁻				179,7		
	2×H ₂ O	Amid O	COO ⁻			177,7	179	179
[V ^{IV} OL]	2×H ₂ O		-NH-	Ar-O ⁻		170,3		
	H ₂ O	Amid O	-NH-	Ar-O ⁻		168,3	169	172,0
	H ₂ O		COO ⁻	-NH-	Ar-O ⁻	167,3		
		Amid O	COO ⁻	-NH-	Ar-O ⁻	165,4		
[V ^{IV} OLH ₁] ⁻	H ₂ O	COO ⁻	-NH-	Ar-O ⁻		167,3		
	H ₂ O	COO ⁻	-NH-		Amid-N ⁻	165,5		
	H ₂ O	COO ⁻		Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	164,3	163,5	-
	H ₂ O		-NH-	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	161,6		
		COO ⁻	-NH-	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	158,7		
[V ^{IV} OL ₂] ²⁻	H ₂ O		2×-NH-	Ar-O ⁻		164,7		
	H ₂ O		-NH-	2× Ar-O ⁻		163,5	163	163
			2×-NH-	2× Ar-O ⁻		157,9		
[V ^{IV} OLH ₂] ²⁻		COO ⁻	-NH-		Amid-N ⁻	OH-	158,5	
		COO ⁻		Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	OH-	157,3	157
			-NH-	Ar-O ⁻	2×Amid-N ⁻		153,0	
		COO ⁻	-NH-		2×Amid-N ⁻		156,8	
[V ^{IV} OL ₂ H ₁] ³⁻			-NH-	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	OH-	154,4	
			2×-NH-	Ar-O ⁻		OH-	157,7	
			-NH-	2× Ar-O ⁻		OH-	156,5	

A két ligandum közötti lényeges különbség rávilágít a karboxiláts csoport fontos szerepére, hiszen a SalH₂GlyGly esetében, ahol az amidcs csoport két már koordinálódott donor csoport között található oly módon, hogy koordinálásával 6+5+5 tagú csatolt kelátrendszer jöhet létre, az amidnitrogén deprotonálódása bekövetkezik. A tetrapeptid analóg esetében, hiába van az egyik oldalon megfelelő, a tripeptid analóghoz hasonló horgony a karboxiláts csoport nagyobb távolsága folytán nincs lehetőség az amidnitrogén deprotonálódására és koordinációjára.

A pH 8 felett lejátszódó további spektrális változások értelmezése a pH-metriás mérések hiányában meglehetősen bizonytalan. Mindkét rendszerben egy-egy további ESR-aktív komplex figyelhető meg a spektrumokon, melyek intenzitása az erőteljes hidrolízis következtében kisebb az alacsonyabb pH-n mértéknél. A V^{IV}O – SalH₂GlyGly rendszer esetében a pH-metria még egy további lúgfogyasztó folyamat



27. ábra A $\text{V}^{\text{IV}}\text{O} - \text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ rendszerben a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-1}]^-$, $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-2}]^{2-}$ illetve $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}$ összetételű részecske feltételezett eloszlásgörbéje, a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-1}]^-$ esetén különböző stabilitási állandók mellett. (Egyszerre csak egy részecske van jelen.)

$$\log \beta_{[\text{VOLH}_{-2}]^{2-}} = -5,3; \log \beta_{[\text{VOL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}} = 7,3$$

$(c = 8 \text{ mM}; c = 32 \text{ mM}; T = 25,0^\circ\text{C}; I = 0,20 \text{ M (KCl)})$

kezdését mutatja a $\text{pH} < 8$ tartományban, de ez betudható az esetleges oxidációs- vagy a nem egyensúlyi hidrolízisfolyamatok miatt előálló hibáknak is. A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ ligandum esetében minden további feltételezhető lúgfogyasztó folyamatnak – $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-2}]^{2-}$ vagy $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}$ – terner hidroxokomplex kialakulásához kell vezetnie, hiszen nem áll rendelkezésre további deprotonálódásra alkalmas csoport. A $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}$ összetételű részecskében az amidnitrogén koordinálódása véleményünk szerint nem lehetséges. A $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ ligandum esetében $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}$ összetételű terner hidroxokomplex szintén létrejöhet, de nem zárható ki $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-2}]^{2-}$ sztöchiometriájú két deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplex kialakulása sem. A $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-1}]^-$ összetételt a különböző stabilitási állandók feltételezésével történő szimulációk alapján kizárhatjuk, hiszen kellően nagy stabilitás esetén nem a megfelelő pH tartományban képződne, ellenkező esetben pedig képződésére nem is lenne lehetőség. A 27. ábra jól tükrözi, hogy a másik két feltételezhető összetételű komplex – $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-2}]^{2-}$ illetve $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}$ – kialakulására még pH 11 felett is lehetőség van. A pH-metriás mérések illesztése a tripeptid analóg esetén akkor adott alacsonyabb hibanégyzet összeget, ha a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_{-1}]^{3-}$ és nem a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_{-2}]^{2-}$ részecskét vontuk be a modellbe (lásd . táblázat). Ennek azonban ellentmond, hogy az azonos összetételű részecskére a tetrapeptid analóg esetében nem sikerült stabilitási állandót meghatározni, az azonos illesztett pH tartományok ellenére sem. A két ligandum e komplexének stabilitása pedig a kötésmód azonossága következtében meglehetősen hasonló kell, hogy legyen. A párhuzamos csatolási állandó mért és számított értékei közötti összehasonlítás alapján sem tudunk egyértelmű összetételt és kötésmódot hozzárendelni a megfelelő spektrumokhoz.

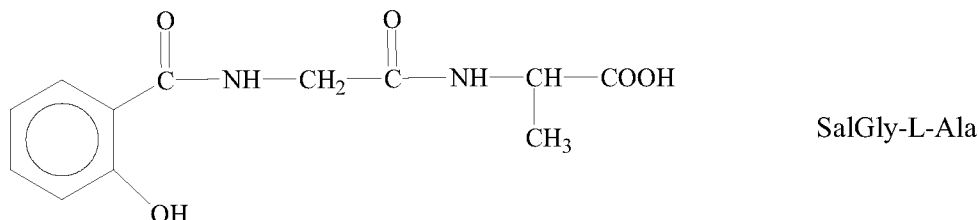
A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ és a $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ komplexei - összefoglalás

A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ és $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ ligandumok $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ komplexeit kétszeres, vagy annál nagyobb ligandumfelesleg mellett a 2-8 pH tartományban tudtuk pH-potenciometriás módon tanulmányozni. Az adott pH tartományban $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2+}$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$, $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2]^{2-}$ komplexek mindkét rendszerben képződnek. A $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}]^+$ komplex hiánya a fenolát- és az aminocsoport kooperatív deprotonálódását és koordinációját igazolja. A $\log K_1/K_2$ érték mindkét komplexképző esetén egyértelműen jelzi, hogy a második ligandum belépése a koordinációs szférába gátolt. Ezt a biszkomplexben koordinálódó ligandumok eltérő kötésmódjával, vagy a karboxilcsoport és esetlegesen egy vagy két karbonilcsoport koordinációjával magyarázhatjuk. A $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$

komplexben a fenolát- és az aminos csoport koordinációja mellett fellépő extra donor csoportok száma, ahogy azt a különböző ligandumok esetén mért párhuzamos csatolási állandók kis különbsége jelzi, a $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ komplexben valószínűleg nagyobb. Kizárólag a tripeptid analóg esetén lehetett amidnitrogént tartalmazó $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$ összetételű részecskét kimutatni; az amidnitrogén deprotonálódása $\text{pK} = 5,43$ -mal következik be. A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$ és $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2]^-$ részecskéinek ESR-színképe között csak a spektrum merőleges tartományán észleltünk különbséget. A mért és a Chasteen féle empirikus összefüggés¹⁶ alapján becsült csatolási állandó értékeinek összehasonlítása alapján a négy lehetséges donor csoportból mind a biszkomplexben, mind a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$ összetételű deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplexben vagy egy fenolát- vagy egy aminos csoport axiális pozícióban koordinálódik. A két ligandum között megfigyelhető különbség igazolja, hogy a karboxilát csoport megfelelő pozícióban történő koordinációja – amely csak a $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ ligandum esetén képes az amidnitrogénnel, valamint a fenolát- és az aminos csoporttal 6+5+5 tagú csatolt kelátgyűrűrendszert képezni – fontos az oxovanádium(IV)ion indukálta amidnitrogén-deprotonálódás szempontjából. A lúgos pH tartományban mindkét ligandummal történt mérések során további részecskéket detektáltunk az ESR-spektroszkópia segítségével, összetételüket és így oldatszerkezetüket nem tudtuk pontosan meghatározni. A stabilitási állandó becsülésével a tripeptidszármazék $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ összetételű komplexének képződése kizárható, azonban $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$ illetve $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_1]^{3-}$ sztöchiometria mindkét ligandum komplexe esetén lehetséges. A párhuzamos csatolási állandót összehasonlítva a mért értékekkel inkább a meglévő részecskék ($\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$) hidroxovegyeskomplexeinek létezése, semmint az amidnitrogén(ek) deprotonálódása valószínűsíthető.

4.3.2 A szalicil-glicil-L-alanin (SalGly-L-Ala)⁸⁰

A SalGly pszeudodipeptid tripeptid analógját vizsgáltuk azzal a céllal, hogy megállapíthassuk, vajon a dipeptidhez hasonlóan itt is bekövetkezik-e az amidnitrogén(ek) protonvesztése és koordinációja, vagy a hidrolízis jelen esetben már megakadályozza e folyamatok lejátszódását. (Az amidnitrogének számának növelése azok pK értékeinek emelkedésével jár egyéb fémionok esetében^{74,83})

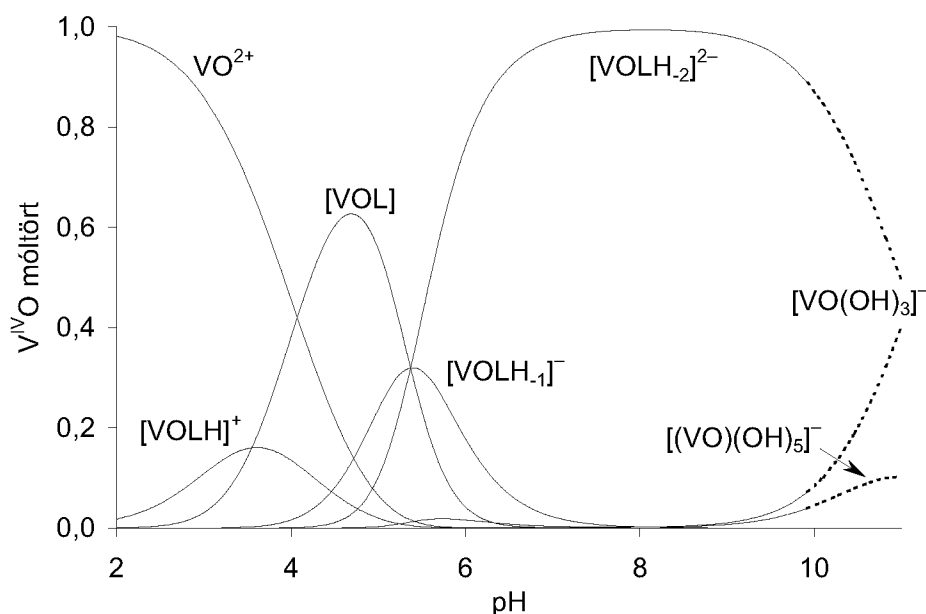


A szalicil-glicil-L-alanin a 2-12 pH tartományban két deprotonálódásra készíthető, mivel egy fenolos hidroxil- és egy karboxilcsoporttal rendelkezik. A két deprotonálódás jól elkülönül egymástól, a karbonsavak és a fenolok protonálódási állandóinak ismeretében az alacsonyabb pK-t a karboxilcsoporthoz, míg a magasabbat a fenolátcsoporthoz rendelhetjük. A ligandum pK értékeit a SalGly megfelelő állandóival összehasonlítva megállapítható, hogy a karboxilátcsoport pK-ja tökéletesen megegyezik a két esetben, míg a fenoláté 0,35 logaritmus egységgel kisebb. Ez utóbbi azzal magyarázható, hogy a karboxilcsoport deprotonálódásával kialakuló negatív töltés a tripeptidanalóg esetében nagyobb távolságra található a fenolátcsoporttól. A meghatározott proton illetve V^{IV}O komplexek stabilitási állandói a 24. táblázatban találhatóak.

24. táblázat A szalicil-glicil-L-alanin proton és V^{IV}O komplexeinek stabilitási állandói (T = 25 °C; I= 0,2 M (KCl)).

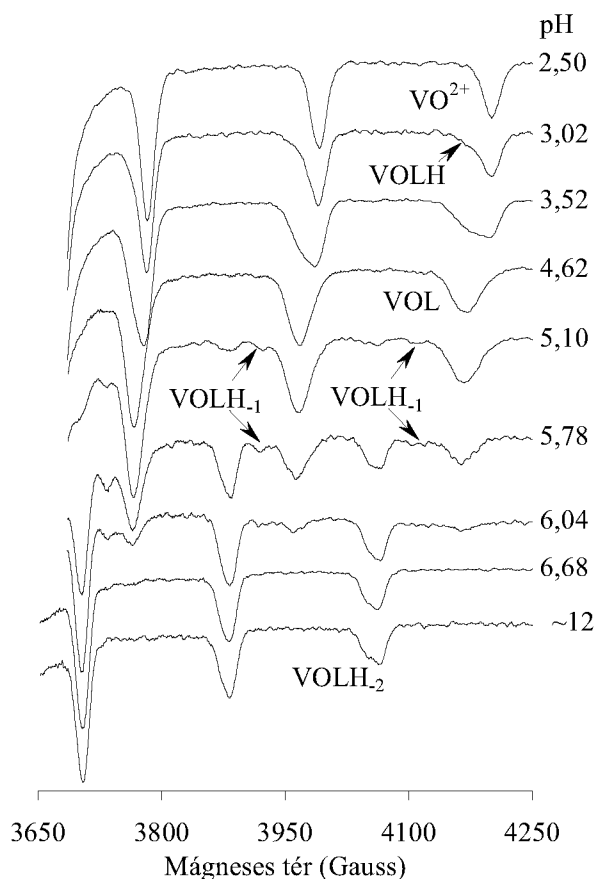
	lg β		pK			
H ₂ L	11,18 ± 0,02		3,37			
[HL] ⁻	7,81 ± 0,01		7,81			
	Modell I		Modell II		Modell III	
	lg β	pK	lg β	pK	lg β	pK
[(V ^{IV} O)LH] ⁺	9,99 ± 0,12	3,56	9,91 ± 0,15	3,43	9,72 ± 0,25	3,24
(V ^{IV} O)L	6,43 ± 0,04	5,37	6,48 ± 0,04		6,48 ± 0,05	
[(V ^{IV} O)LH ₋₁] ⁻	1,06 ± 0,09	5,37	–		–	
[(V ^{IV} O) ₂ L ₂ H ₋₂] ⁻	–		5,22 ± 0,14		–	
[(V ^{IV} O)LH ₋₂] ²⁻	-4,31 ± 0,05	–	-4,27 ± 0,05		-4,26 ± 0,06	
ΣpK _{amid}		10,74		10,75		10,74
Titrlási pontok száma	363		363		363	
Illesztési paraméter (cm ³)	0,0047		0,0051		0,0065	

A pH-potenciometriás mérések kiértékelése során 1:1 összetételű komplexek feltételezésével a titrlási görbék kielégítően – bár az 5-7 pH tartományban meglehetősen nagy hibával terhelt – leírhatónak bizonyultak, biszkomplexeire – [V^{IV}OL₂H_x]^{(2-x)-} – nem tudtunk stabilitási állandót meghatározni. A 2-3,5 pH tartományban a V^{IV}O akvakomplexén kívül [V^{IV}OLH]⁺ összetételű, az ESR-paraméterek alapján valószínűleg elsősorban karboxilátkoordinációt tartalmazó komplex képződik. Hasonlóan a korábban tárgyalt ligandumokhoz (2-mpg, SalH₂GlyGly) a bázicitással korrigált stabilitási állandó (H₂L + V^{IV}O²⁺ = [(V^{IV}O)LH]⁺ + H⁺) értékének (lg K = -1,20) egyszerű karbonsavak¹²⁸ megfelelő értékeivel történő összehasonlításából a karboxilcsoport koordinációját kiegészítő egyéb stabilitásnövelő kölcsönhatások meglétére következtethetünk. Ezen kölcsönhatás lehet egy – esetlegesen mindkét – karbonilcsoport koordinációja. A pH-metriás mérések alapján a SalGly ligandumhoz hasonlóan feltételezhető, hogy a



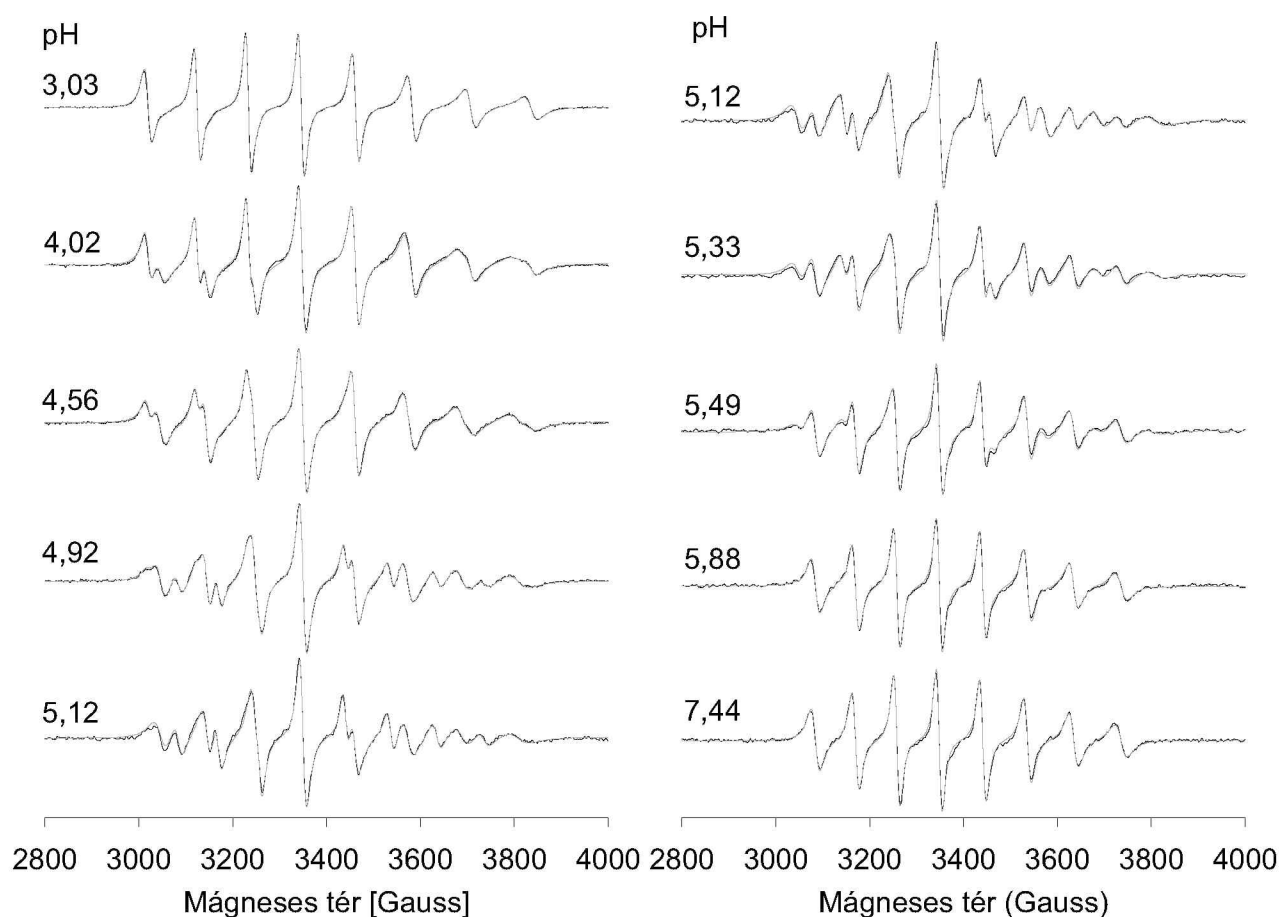
28. ábra A $V^{IV}O$ – SalGly-L-Ala rendszerben képződött részecskék eloszlásgörbéje az I. modell alapján.
($c_{VIVO} = 1 \text{ mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Ala}} = 4 \text{ mM}$; $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M (KCl)}$)

ligandum koordinálódása a fémionhoz részben a fenolátcsoport irányából kezdődik, miközben a karboxilcsoport protonált marad: a $V^{IV}OLH$ komplex pK-ja (3,3-3,5) összemérhető a ligandum karboxilcsoportjának pK értékével (3,37). Az ESR-



29. ábra A $V^{IV}O$ – Sal-Gly-L-Ala rendszer ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány $+3/2$, $+5/2$ illetve $+7/2$ átmenethez rendelhető csúcsai különböző pH-kon ($c_{VIVO} = 4,5 \text{ mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Ala}} = 9 \text{ mM}$)

spektrumok nem nyújtanak egyértelmű támpontot a kérdés megválaszolására. Izomerek például nem figyelhetők meg pH 3 körül, ennek megállapítását az alacsony koncentráció és a nem túl jelentős spektrális eltérés is megnehezíti. Ellenben az adott pH-n szobahőmérsékleten felvett ESR-spektrumon jelentős mennyiségű, (13%) alacsony csatolási állandóval rendelkező részecske is megfigyelhető, ami a fenolátcsoport koordinációját valószínűsíti. A 2-4 pH tartományban a CD-spektrumok nem túl jelentős intenzitást mutatnak, ez az aminosavak $V^{IV}O$ komplexeinek hasonló pH tartományban mért CD-spektrumára emlékeztet és a karboxilátcsoport monodentát koordinációjával van összhangban. A folyékony nitrogén hőmérsékletén felvett ESR-spektrumokon a 3,5-4 pH tartományban jelentős változások kezdődnek el – az eloszlásgörbének megfelelően a $V^{IV}OL$ részecske kialakulásával – a megfelelő folyamat azonban nincs szignifikáns hatással a CD-spektrumokra. Mindez a fenolátcsoport ekvatoriális síkban lejátszódó koordinációját igazolja, hiszen ez a csatolási állandók értékének csökkenéséhez vezet. Mivel a fenoláttoxigén környezetében nem található királis szénatom, koordinációjával jelentős Cotton-effektus nem várható. Az összetételből adódóan



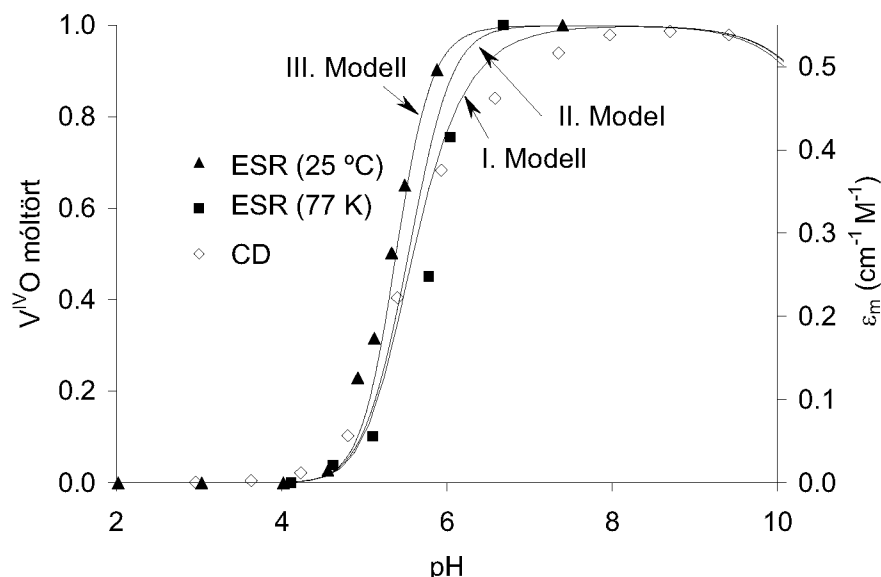
30. ábra A $V^{IV}O$ – SalGly-L-Ala rendszerben a 3-7,5 pH tartományban szobahőmérsékleten mért illetve illesztett ESR-spektrumok. ($c_{V^{IV}O} = 1$ mM; $c_{SalGly-L-Ala} = 4$ mM)

a karboxilátcsoport koordinációja is feltételezhető, ámbar a két csoport – mivel igen távol esik egymástól – csak egy ún. “makro” kelátgyűrűt tartalmazó komplexet képezhet. S bár ez előbbi sem teljesen kizárható elképzelésünk szerint, valószínűbbnek tartjuk hogy egy, esetleg mindkét amid karboniloxigénjének koordinációjával a makrokelát mérete lecsökkenhet. Ha összehasonlítjuk a $V^{IV}OL$ komplex csatolási állandóit a szalicilsav monokomplexének megfelelő paramétereivel megállapítható, hogy míg az A_o hibahatáron belül megegyezik, addig az $A_{||}$ a szalicilsavkomplex esetében közel három egységgel kisebb.¹³⁹ Ez a karboxilátcsoport esetleges axiális koordinációjára, vagy a koordinációs szférán kívül történő elhelyezkedésére utalhat.

25. táblázat A SalGly-L-Ala – $V^{IV}O$ komplexeinek ESR-paramétereit.

Összetétel	$g_{\perp}$	$A_{\perp} (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$	$g_{ }$	$A_{ } (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$	g_o	$A_o (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$
$[V^{IV}OLH]^+$	-	-	$1,934 \pm 0,002$	179 ± 2	-	-
$V^{IV}OL$	$1,975 \pm 0,001$	$64,0 \pm 1$	$1,936 \pm 0,001$	176 ± 1	$1,9658 \pm 0,0003$	$99,9 \pm 0,2$
$[V^{IV}OLH_1]^-$	-	-	$1,946 \pm 0,002$	165 ± 1	-	-
$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$	$1,981 \pm 0,002$	$51,8 \pm 1$	$1,957 \pm 0,001$	$159,0 \pm 0,5$	$1,9765 \pm 0,0002$	$85,7 \pm 0,2$

A pH növelésével két ekvivalens extra lúgfogyás tapasztalható fémiononként, bár a folyamat sebessége jóval lassabb, mint egyéb esetekben, az egyensúly beállításához akár 3-7 percre is szükség lehet. A folyamatra három különböző modellt is felállítottunk: az elsőben monomer $[V^{IV}OLH_1]^-$ -t, a másodikban dimer $[(V^{IV}O)_2L_2H_2]^{2-}$ -t, míg a harmadikban egyszerűen deprotonált részecskét nem feltételeztünk. A

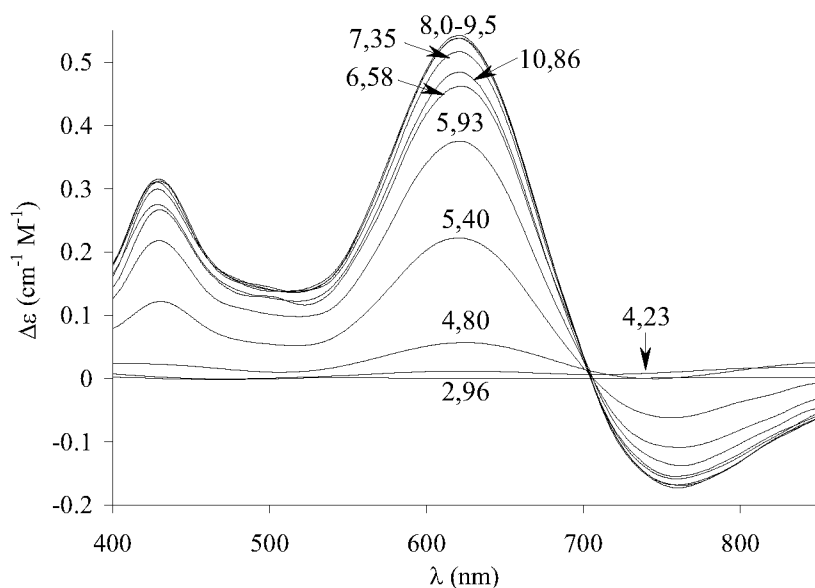


31. ábra Az VOLH_2 összetételű részecske móltörtje a különböző pH-metriás modellek, valamint szobahőmérsékleten és fagyasztott oldatban mért ESR-spektrumok alapján kalkulálva, illetve a CD-spektrumok 621 nm-en mért intenzitása a pH függvényében.

(pH-metria, ESR(25 °C): $c_{\text{VIVO}} = 1 \text{ mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Ala}} = 4 \text{ mM}$; CD, ESR(77 K): $c_{\text{VIVO}} = 4,5 \text{ mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Ala}} = 9 \text{ mM}$)

(Az ESR esetén csak a ESR-aktív részecskéket lehetett figyelembe venni.)

titrálási görbéket a monomer $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$ részecske feltételezésével lehetett a legjobban leírni. Ezen modell helyessége esetén kb. 30% $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ részecske megjelenését kellett volna tapasztalnunk a szobahőmérsékletű ESR-spektrumon pH 5,4 körül. Az adott minta ESR-jele azonban kielégítően leírható a $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$ és a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$ részecske spektrumaival. (30. ábra) A valamivel rosszabb illesztési paraméter esetlegesen egy kis (maximum 5) százalékban jelen lévő harmadik részecske jelenlétére utalhat. A cseppfolyós nitrogén hőmérsékletén felvett ESR-spektrum hasonló képet mutat: a két domináns jel ($\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$, $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$) között 7,5 %-ban a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$ jele is megfigyelhető. Mindezek alapján tulajdonképpen egyik modell sem lehet tökéletesen helyes: a $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$ komplex valószínűleg képződik, de jóval kisebb koncentrációban, mint az I. modell szerint. A képződő komplexek stabilitása nem megfelelően nagy, az



32. ábra VO – SalGly-L-Ala rendszer CD-spektrumai különböző pH-kon.

($c_{\text{VIVO}} = 4,5 \text{ mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Ala}} = 9 \text{ mM}$)

egyensúlyi számítások szerint kismértékben fém-hidroxokomplexek – $[(V^{IV}O)_2(OH)_2]^{2+}$ illetve $[(V^{IV}O)_2(OH)_5]^-$ részecskék – is találhatóak az oldatban. E zavaró folyamatok nehezítik a titrálások pontos kiértékelését, az egyensúlyi folyamatok pontos leírását. A $V^{IV}O$ hidrolízisének pontatlan ismerete – illetve a lassú, valószínűleg esetenként nem is egyensúlyi folyamatok – miatt az eloszlásgörbén a hidrolízisrészecskék a pH 5 feletti tartományban alulreprezentáltak. Erre utalnak a nem karakterisztikus elektrongerjesztési spektrumok, a CD-intenzitás váratlan növekedése a pH 6-8 tartományban, a pH-metriás titrálás során tapasztalt lassú folyamatok, illetve az ESR-spektrumok felvételekor tapasztalt (szobahőmérsékletű mintáknál $> 50\%$, fagyasztott mintáknál kisebb mértékű) intenzitáscsökkenés a pH > 5 minták esetén. (A szobahőmérsékletű mintáknál az intenzitáscsökkenést valószínűleg azok részleges oxidációja is okozta.) Elképzelhető ESR- és CD-inaktív vegyes hidroxokomplexek képződése is. A protonvesztési folyamatok befejeztével minden kétséget kizárólag az oldatban az ESR-aktív részecskék között 100%-ban képződik a $[V^{IV}OLH_2]^{2-}$ összetételű részecske. Az amidnitrogén protonvesztését az adott részecskére mind az ESR-, mind a CD-spektrumok igazolják. A folyamatra a szobahőmérsékletű spektrumokból számított átlagos amid pK (5,31 pK/2, ahol K a $V^{IV}OA = V^{IV}OAH_2 + 2H^+$ folyamat egyensúlyi állandója) egyezésben van a pH-metriás eredményekkel ($\Sigma pK/2 = 5,37$). A részecskére jellemző ESR-paraméterek markánsan eltérnek a SalGly ligandumnál észlelt $[V^{IV}OLH_1]^-$ részecske megfelelő értékeitől: a ligandumtér erősségének növekedésével – eggyel több amidnitrogén koordinációjával – párhuzamosan a csatolási állandó értéke csökken, míg a g értéke növekszik. A CD-spektrumokon az 5-7 pH tartományban tapasztalt jelentős intenzitásnövekedés az alanin rész amidnitrogénjének koordinációjával hozható összefüggésbe.

26. táblázat A SalGly-L-Ala $V^{IV}O$ komplexeinek feltételezett szerkezete alapján becsült párhuzamos csatolási állandó értékének összehasonlítása a mért értékekkel.

Összetétel	Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok					$A_{ }^{becs.}$	$A_{ }^{mért}$
V^{IV} [V OLH] ⁺	3×H ₂ O		COO ⁻			179,8	
	2×H ₂ O	Amid O	COO ⁻			177,8	176,5
$V^{IV}OL$	2×H ₂ O	Amid O		Ar-O ⁻		173,7	
	2×H ₂ O		COO ⁻	Ar-O ⁻		172,7	
	H ₂ O	2×Amid O		Ar-O ⁻		171,7	173,0
	H ₂ O	Amid O	COO ⁻	Ar-O ⁻		170,7	
		2×Amid O		Ar-O ⁻		168,7	
V^{IV} [V OLH] ⁻¹	H ₂ O		COO ⁻	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	164,0	
		Amid O	COO ⁻	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	162,0	165,0
$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$			COO ⁻	Ar-O ⁻	2×Amid-N ⁻	155,3	159,0

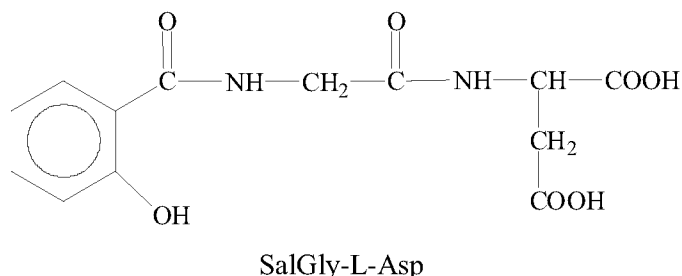
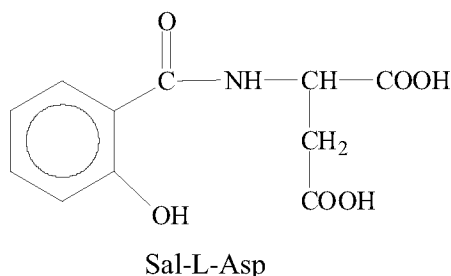
A SalGly-L-Ala – $V^{IV}O$ komplexei – összefoglalás

Ezen rendszerben a kétszeres ligandumfelesleg mellett végzett titrálások során már nem tapasztaltuk a $V^{IV}O(OH)_2$ csapadék leválását, mindazonáltal az 5-7 pH tartományban lezajló lassú folyamatok alapján a hidrolízis nem teljesen mértékben elhanyagolható. A pH-potenciometriás mérések kiértékelése során 1:1 összetételű komplexek feltételezésével a titrálási görbék kielégítően – bár a már említett pH tartományban meglehetősen nagy hibával terhelt – leírhatóak, biszkomplexekre nem tudtunk stabilitási állandót meghatározni. A 2-4 pH tartományban képződő $V^{IV}OLH$ komplexben hasonlóan a SalGly pszeudodipeptidhez mind a monodentát karboxilát-, mind a monodentát fenolátkoordináció elképzelhető – esetleg az amidcsoport karboniloxigén koordinációjával kiegészítve – mialatt a másik csoport még protonált. A következő deprotonálódási lépcsővel kialakuló $V^{IV}OL$ részecskében a fenolát- és karboxilátkoordináció

mellett valószínűleg az amidoxigén(ek) szerepe sem teljesen elhanyagolható. Az 5-6 pH tartományban lezajló folyamatokat pH-metriás, szobahőmérsékleten illetve fagyasztott oldatban mért ESR-, CD- valamint látható elektrongerjesztési spektroszkópiás módszerekkel nyomon követve a következő megállapításokat tehetjük. Ebben a pH tartományban a nem teljesen elhanyagolható hidrolízis mellett az oxovanádium által indukált amidnitrogén-deprotonálódási folyamatok lezajlanak, egy $[V^{IV}OLH_2]^-$ részecskét eredményezve. A részecske fagyasztott oldatban felvett ESR-spektruma markánsan különbözik a SalGly egy deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplexének ESR-színképétől. A párhuzamos csatolási állandók közötti különbség visszavezethető még egy amidnitrogénnek az ekvatoriális síkban történő koordinációjára. Ezzel elsőként sikerült vizes oldatban két deprotonált amidnitrogént tartalmazó $V^{IV}O$ komplexet kimutatni, amely jelentős mennyiségben képződik. Az amidnitrogének protonvesztése és koordinációja az összes alkalmazott módszer szerint az Cu^{II} ionnál megszokott lépcsőzetes folyamatok helyett közel egy lépcsőben játszódik le, a folyamatra a szobahőmérsékleten felvett spektrumokból számított átlagos amid pK érték 5,31, ami jó egyezésben van a pH-metriás eredményekkel ($\Sigma pK/2 = 5,37$). Mindezt a fenolát és a karboxilátcsoport együttes elsődleges koordinációja teszi lehetővé. A kooperativitás – bár ezen esetben valószínűleg kisebb mértékű – a Ni^{II} ionnál számos esetben tapasztalható geometriaváltással és spinpárosodással nem magyarázható. A $V^{IV}OLH_2$ összetételű részecske mennyisége bizonytalan, a pH-metria alapján 30%-ban, a fagyasztott oldatban felvett ESR-spektrumok szerint ~8%-ban, míg a szobahőmérsékletű spektrumok alapján egyáltalán nem képződik. Ezen bizonytalanság miatt az egyszerűen deprotonált részecske egyedi CD-spektruma, így az amidnitrogének deprotonálódási sorrendje eddigi eredményeink alapján nem határozható meg.

4.3.3 A szalicil-L-aszparaginsav és a szalicil-glicil-L-aszparaginsav (Sal-L-Asp) (SalGly-L-Asp)

A két vegyület közös tulajdonsága az aszparagin oldallánc, és az irodalomból ismert SalGly illetve a vizsgált SalGly-L-Ala ligandumoktól legalábbis koordinációs kémiai szempontból csak egy-egy karboxilcsoportban tér el. Tanulmányoztuk, hogy ezen különbség hogyan befolyásolja a $V^{IV}O$ -kötő képességüket, illetve az extra karboxilcsoport milyen hatással van az amidnitrogén deprotonálódására és koordinálódására.



Mindkét ligandum a vizsgált pH tartományban három proton leadására képes: két folyamat még a savas pH tartományban lejátszódik, ezeket a karboxilcsoportokhoz rendelhetjük. Bár az átfedő egyensúlyokat pontosabban mikroállandókkal jellemezhetnénk, az aszparaginsav példája alapján annyit így is kijelenthetünk, hogy az alacsonyabb pK értékeket (2,93, 2,90) alapvetően a C-terminális, míg a magasabb értékeket (4,50, 4,49) a láncvégi karboxilcsoportokhoz rendelhetjük. A vizsgált ligandumok e két pK értéke szinte megegyezik, bár mindkettő jelentősen különbözik az aszparaginsav megfelelő értékeitől. A protonált aminocsoport hiányában a molekula össztöltése negatívabb, valamint hidrogénkötés nem jöhet létre az amino- és a karboxilátcsoportok között. A ligandumok harmadik protonvesztése a fenolátcsoportokhoz rendelhető, a két ligandum megfelelő pK értékei közötti különbség meglehetősen nagy ($\Delta pK=0,4$) figyelembe véve, hogy a karboxilcsoportok pK értékei szinte megegyeznek. Hasonló különbség van azonban a SalGly és a SalGly-L-Ala ligandumok fenolcsoportjaihoz rendelhető pK értékek között is ($\Delta pK=0,35$), ahol a karboxilcsoportok pK értékei pedig szintén megegyeznek. A már deprotonálódott karboxilátcsoportok negatív töltése(i) a tripeptidek esetében távolabb helyezkednek el a fenolátcsoporttól, így annak pK értéke alacsonyabb, míg a protonált és ezáltal töltés nélküli fenolos hidroxilcsoport távolsága nincs hatással a karboxilcsoport(ok) savasságára. Ha a két tripeptid illetve a két dipeptid fenolos hidroxilcsoportjának savi disszociációs állandóit hasonlítjuk össze, az aszparaginsavra történő csere mindkét esetben $\sim 0,1$ növekedést okoz a pK értékben.

A $V^{IV}O$ -et tartalmazó titrálások kiértékelése során a következő részecskéket feltételeztük mindkét esetben: $[(V^{IV}O)LH_2]^+$, $(V^{IV}O)LH$, $[(V^{IV}O)L]^-$, $[(V^{IV}O)LH_{-1}]^{2-}$, $[(V^{IV}O)LH_{-2}]^{3-}$. A ligandumok proton és $V^{IV}O$ komplexekének stabilitási állandóit a . táblázat tartalmazza.

A SalGly-L-Asp $V^{IV}OLH_2$ összetételű komplexének oldatszerkezetében egy karboxilcsoport koordinációja tételezhető fel, melyet a $V^{IV}OLH_2$ és az *N*-acetyl-aszparaginsav (NacAsp) bázicitással korrigált stabilitási állandóinak hasonló értéke alapján jelenthetünk ki, bár hasonló érték vonatkozik a SalGly-L-Ala $V^{IV}OLH$ komplexére is.



(az NacAsp-ra nézve: $LH_2 + V^{IV}O^{2+} = V^{IV}OLH + H^+$, $\lg K = -1,41^{108}$, SalGly-L-Ala: $\lg K = -1,2-1,4$ lásd . táblázat) Mindez azonban valamivel kisebb, mint például az egyszerű karbonsavak hasonló állandói.¹²⁸ Ez – bár a meghatározott stabilitási állandó hibája meglehetősen nagy – a peptid karbonilcsoportjának, esetlegesen a nem deprotonált karboxilcsoportnak a koordinációban való részleges, külső szférás részvételére utalhat. A Sal-L-Asp ligandum esetében a megfelelő érték csupán -0,72, ami még a SalGly-nel való összevetés esetén is (-1,29) stabilabb komplex jelenlétét jelzi, ami az oldalláncon található karboxilcsoportnak a koordinációban történő részvételre utal. A di- és tripeptidek közötti különbség a

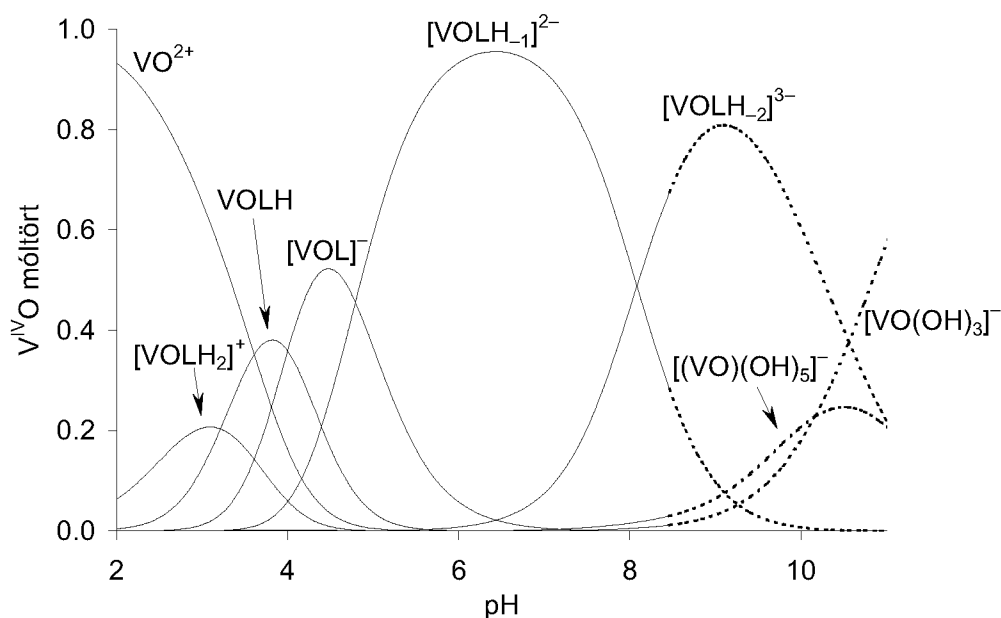
fenolátsoport esetleges szerepét sugallják. A nem deprotonált fenolos hidroxilcsoport részleges, esetleg külső szférás koordinációja valószínűbbnek tűnik, mint a protonvesztéssel együtt járó tényleges koordináció – miközben a karboxilcsoportok protonálva maradnak –, hiszen sem a spektrofotometriás, sem az ESR-mérések nem támasztották alá. Mivel az adott részecske nem túl jelentős koncentrációban képződik, a spektroszkópiás mérések alapján a fenolát elsődleges koordinációja sem zárható ki egyértelműen..

27. táblázat A szalicil-L-aszparaginsav és szalicil-glicil-L-aszparaginsav ligandumok proton valamint $V^{IV}O$ komplexeinek stabilitási állandói ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; $I = 0,20\text{ M}$ (KCl)).

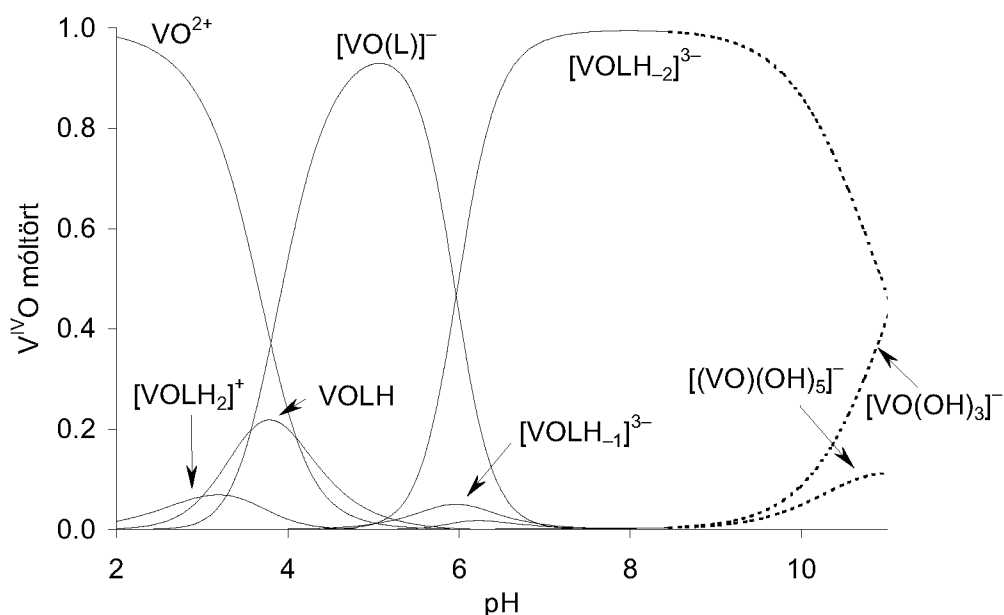
	<i>Sal-L-Asp</i>		<i>Sal-Gly-L-Asp</i>	
	$\lg \beta$	pK	$\lg \beta$	pK
H_3L	$15,81 \pm$	2,93	$15,33 \pm 0,04$	2,90
$[H_2L]^-$	$12,88 \pm$	4,50	$12,44 \pm 0,02$	4,49
$[HL]^{2-}$	$8,38 \pm$	8,38	$7,94 \pm 0,01$	7,94
$[(V^{IV}O)LH_2]^+$	$15,09 \pm$	3,21	$14,0 \pm 0,4$	3,0
$(V^{IV}O)LH$	$11,88 \pm$	4,00	$11,00 \pm 0,10$	3,57
$[(V^{IV}O)L]^-$	$7,88 \pm$	4,79	$7,43 \pm 0,04$	6,9
$[(V^{IV}O)LH_{-1}]^{2-}$	$3,09 \pm$	8,09	0,5*	5,0
$[(V^{IV}O)LH_{-2}]^{3-}$	$-5,00 \pm$	–	$-4,50 \pm 0,08$	–
Titrlási pontok száma	345		389	
Illesztési paraméter (cm^3)	0,0027		0,0092	

* Becsült érték.

A spektrális viselkedés is összhangban van a egyensúlyi adatokból következő eredményekkel, az ESR-mérések (37. ábra) során a 2-3 pH tartományban a $-7/2$ csúcsnál mindösszesen egy kis eltolódás illetve



33. ábra A $V^{IV}O$ – Sal-L-Asp rendszerben képződött részecskék eloszlásgörbéje. ($c_{V^{IV}O} = 1\text{ mM}$; $c_{\text{Sal-L-Asp}} = 4\text{ mM}$; $T = 25,0\text{ }^{\circ}\text{C}$; $I = 0,20\text{ M}$ (KCl))



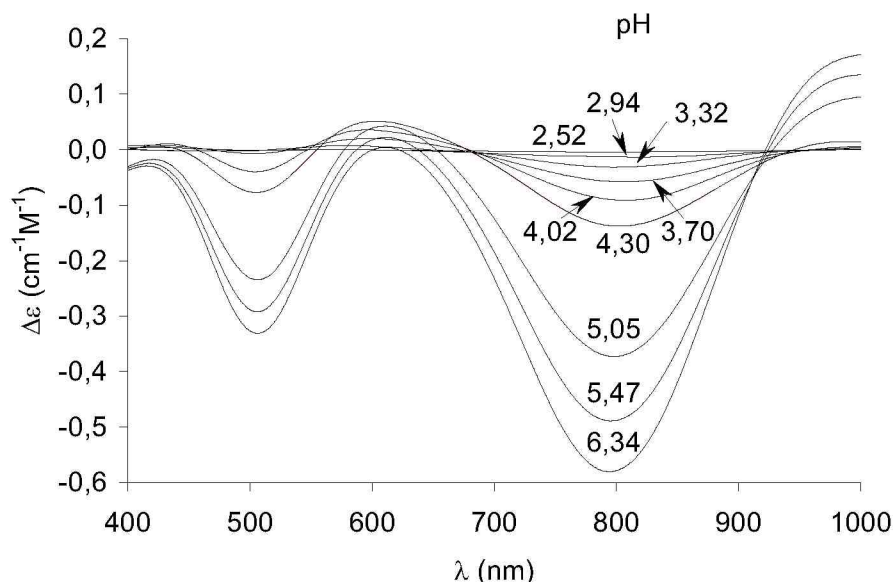
34. ábra A $V^{IV}O$ – SalGly-L-Asp rendszerben képződött részecskék eloszlásgörbéje.
($c_{V^{IV}O} = 1 \text{ mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Asp}} = 4 \text{ mM}$; $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 0,20 \text{ M (KCl)}$)

+7/2-nél egy váll figyelhető meg mindkét ligandum esetében. A cirkuláris dikroizmus vizsgálatok (35. ill. 36. ábra) a már említett pH tartományban igen alacsony intenzitást, azaz kis optikai aktivitású komplexek jelenlétét mutatják, ez megfelel az optikailag aktív aminosavak hasonló pH tartományban kapott eredményeivel, ahol szintén csak egy karboxilátcsoport koordinációja valószínűsíthető.

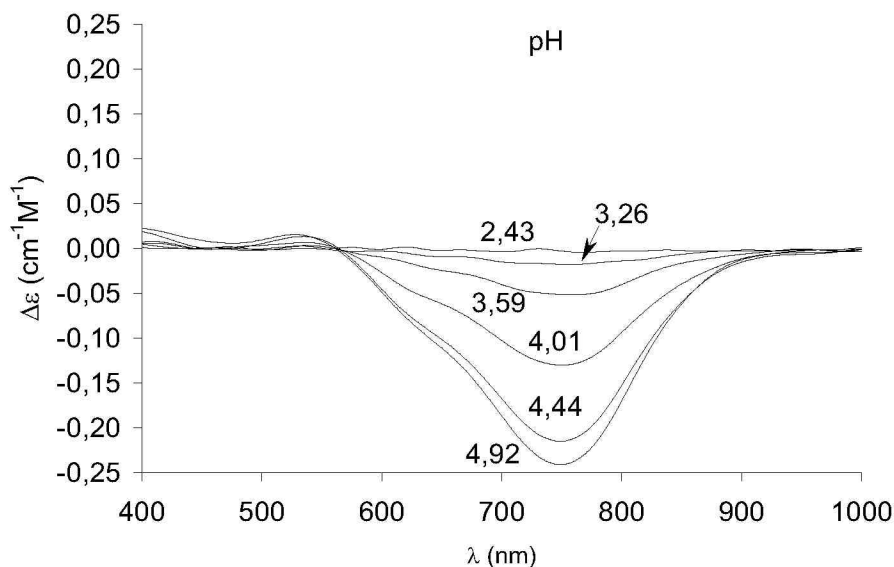
28. táblázat A Sal-L-Asp és SalGly-L-Alp $V^{IV}O$ komplexeinek ESR-paraméterei.

Összetétel	Ligandum	$g_{\perp}$	$A_{\perp} (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel} (\times 10^4 \text{ cm}^{-1})$
$V^{IV}OLH_2$	Sal-L-Asp	$1,975 \pm 0,001$	$65,8 \pm 1,5$	$1,935 \pm 0,002$	$177,9 \pm 1,5$
	SalGly-L-Asp	$1,975 \pm 0,001$	$66,0 \pm 1,5$	$1,935 \pm 0,002$	$178,0 \pm 1,5$
$V^{IV}OLH$	Sal-L-Asp	$1,974 \pm 0,001$	$63,8 \pm 1,5$	$1,936 \pm 0,002$	$176,0 \pm 1,5$
	SalGly-L-Asp	$1,975 \pm 0,001$	$64,0 \pm 1,5$	$1,937 \pm 0,001$	$176,2 \pm 1,5$
$V^{IV}OL$	Sal-L-Asp	$1,975 \pm 0,001$	$61,9 \pm 1,0$	$1,938 \pm 0,002$	$174,0 \pm 1,0$
	SalGly-L-Asp	$1,975 \pm 0,001$	$62,0 \pm 1,0$	$1,939 \pm 0,001$	$173,3 \pm 1,0$
$V^{IV}OLH_1$	Sal-L-Asp	$1,976 \pm 0,002$	$55,7 \pm 1,0$	$1,947 \pm 0,002$	$165,2 \pm 1,0$
	SalGly-L-Asp			$1,947 \pm 0,003$	$164 \pm 1,5$
$V^{IV}OLH_2$	Sal-L-Asp	$1,977 \pm 0,001$	$52,4 \pm 1,0$	$1,952 \pm 0,002$	$161,8 \pm 1,0$
	SalGly-L-Asp	$1,981 \pm 0,001$	$52,0 \pm 0,5$	$1,958 \pm 0,001$	$159,2 \pm 0,5$

A $V^{IV}OLH$ komplexnél mindkét esetben két típusú koordináció tételezhető fel: a két karboxilcsoport illetve egy karboxilátcsoport és a fenolátcsoport koordinációja. A bázicitással korrigált stabilitási állandók összehasonlítása alapján (SalGly-L-Asp: -4,33; Sal-L-Asp: -3,93; $2xCOO^-$: NacAsp: -4,91; $1xCOO^-$ $1xAr-O^-$: SalGly: -4,48; SalGly-L-Ala: -4,75) mivel mindkét ligandum esetében a megfelelő érték jóval meghaladja az *N*-acetil-aszparaginsavra számított értéket, a fenolátcsoport koordinációját valószínűsíthetjük. Mindazonáltal a di- és tripeptid analóg esetében a C-terminális aminosav aszparaginsavra történő cseréje a bázicitással korrigált stabilitási állandó növekedését eredményezte, ami arra utal, hogy a láncvégi karboxilátcsoport részt vesz a koordinációban. Ennek alapján nem zárható ki a két karboxilcsoport koordinációja sem, lehetséges például kötési izomerek képződése. Az elektrongerjesztési spektrumokon

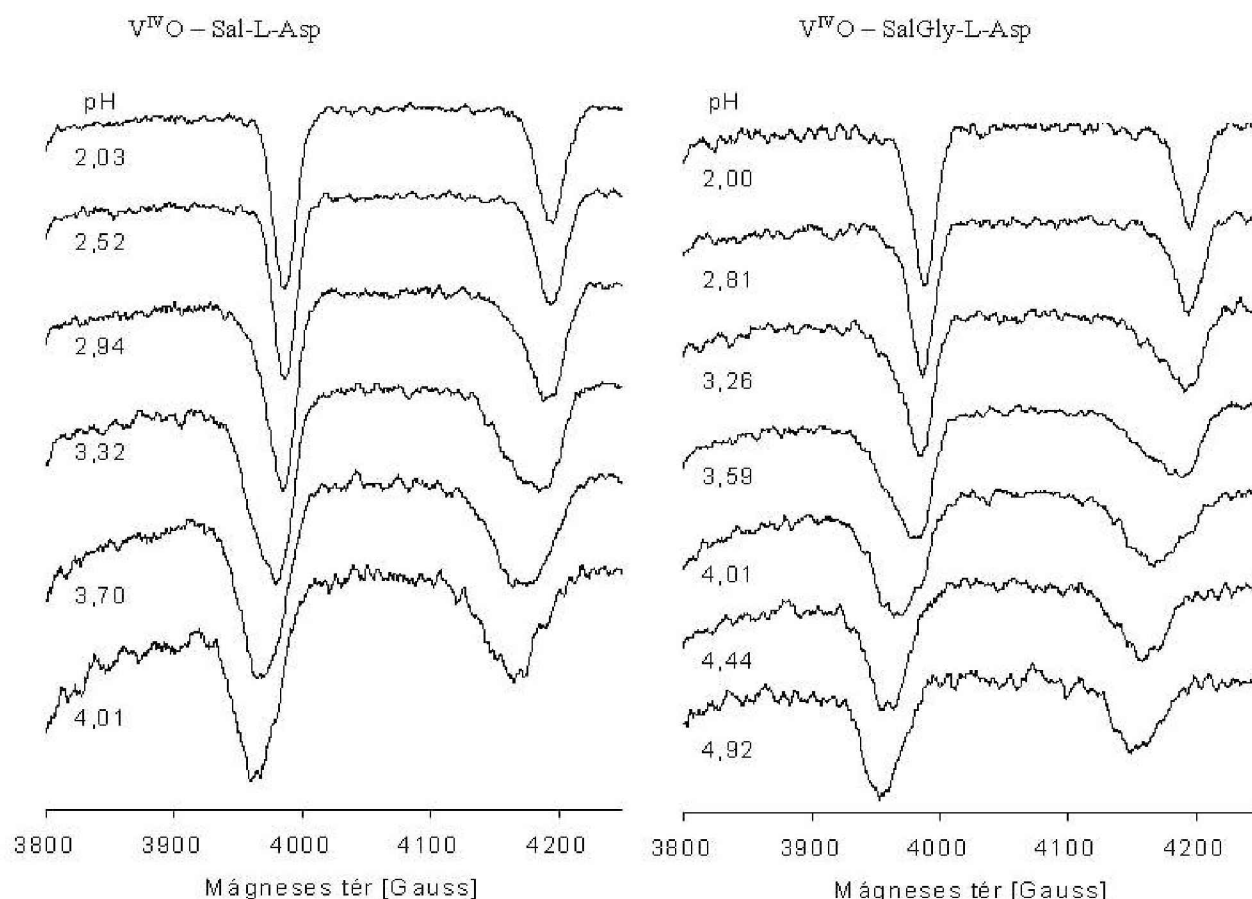


35. ábra $V^{IV}O$ – Sal-L-Asp rendszer CD-spektrumai, különböző savas pH-kon.
($c_{V^{IV}O} = 3\text{mM}$; $c_{\text{Sal-L-Ala}} = 8\text{ mM}$)



36. ábra $V^{IV}O$ – SalGly-L-Asp rendszer CD-spektrumai, különböző savas pH-kon.
($c_{V^{IV}O} = 3\text{mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Ala}} = 4,5\text{ mM}$)

bekövetkező jelentős változás az UV-közeli tartományban ($\lambda=350\text{-}400\text{ nm}$) – ami a fenolátkoordináció jellemző velejárója – a SalGly-L-Asp ligandum esetében a fenolátcsoport protonvesztését támasztja alá. Az aszparaginsav-oldallánc karboxilátcsoportja protonáltan esetleg a külső szférában vesz részt a koordinációban. Az intenzitásnövekedés azonban a következő deprotonálódási lépcsővel is tovább folytatódik – bár kisebb mértékben – amiből szintén a kötési izomerek megjelenésére következtethetünk. Egyéb spektrális vizsgálatok – ESR, CD – sem adnak tökéletes betekintést a lezajló folyamatokba: a pH 3-4 között maximális koncentrációt elérő részecske ESR-paraméterei nem határozhatóak meg pontosan a több egyszerre jelen lévő részecske miatt, annyi azonban megállapítható, hogy a párhuzamos csatolási állandók a két rendszerben egyformák és közelítőleg megegyeznek a SalGly-L-Ala $V^{IV}OL$ komplexének megfelelő állandójával. A CD-spektrumokon a $V^{IV}OLH$ komplex megjelenésével még nem figyelhető meg jelentős intenzitásnövekedés, a lényegi változás csak a következő deprotonálódási lépcsővel, a $V^{IV}OL$ komplexek kialakulásával párhuzamosan játszódik le. A negatív Cotton-effektus alakja – $\lambda_{\text{max}} = \sim 805\text{ nm}$ -nél (Sal-L-Asp) illetve $\lambda_{\text{max}} = \sim 755\text{ nm}$ -nél (SalGly-L-Asp) – az N -acetyl-aszparaginsav $V^{IV}OL_2H_x$ komplexekének negatív

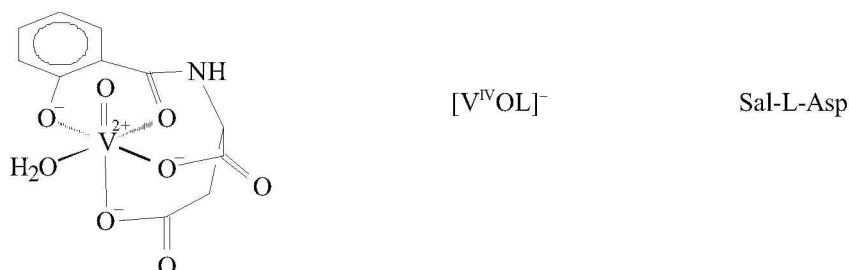


37. ábra A $V^{IV}O$ – Sal-L-Asp illetve $V^{IV}O$ – SalGly-L-Asp rendszerek ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány +5/2 illetve +7/2 átmenethez rendelhető csúcsai különböző savas pH-kon.

($c_{V^{IV}O} = 3 \text{ mM}$, $c_{\text{Sal-L-Asp}} = 8 \text{ mM}$, $c_{V^{IV}O} = 3 \text{ mM}$, $c_{\text{SalGly-L-Asp}} = 4,5 \text{ mM}$)

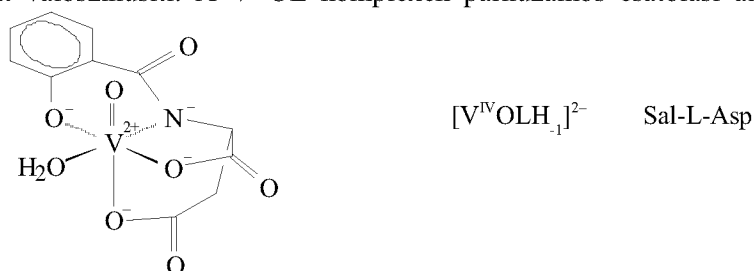
Cotton-effektusára emlékeztet¹⁰⁸, ahol az aszparaginsav két karboxilátcsoportja koordinálódik. A CD- és látható elektrongerjesztési spektroszkópiás mérések alapján arra következtethetünk, hogy a második karboxilátcsoport koordinációja javarészt csak a fenolátcsoport elsődleges koordinációja után következik be mindkét esetben.

A $V^{IV}OL$ komplexben mindkét esetben a fenolát és a két karboxilcsoport koordinációja erősen valószínűsíthető. A Sal-L-Asp esetében a $V^{IV}OLH_2$ komplex pK értéke (3,21) gyakorlatilag megegyezik a SalGly $V^{IV}OLH$ komplexének pK értékével (3,19), valamint a $V^{IV}OL$ komplex pK-ja (4,79) a SalGly $V^{IV}OL$ komplexének pK értékével (4,76). Mindez igen erős szerkezeti rokonságra utal. Feltételezésünk szerint a



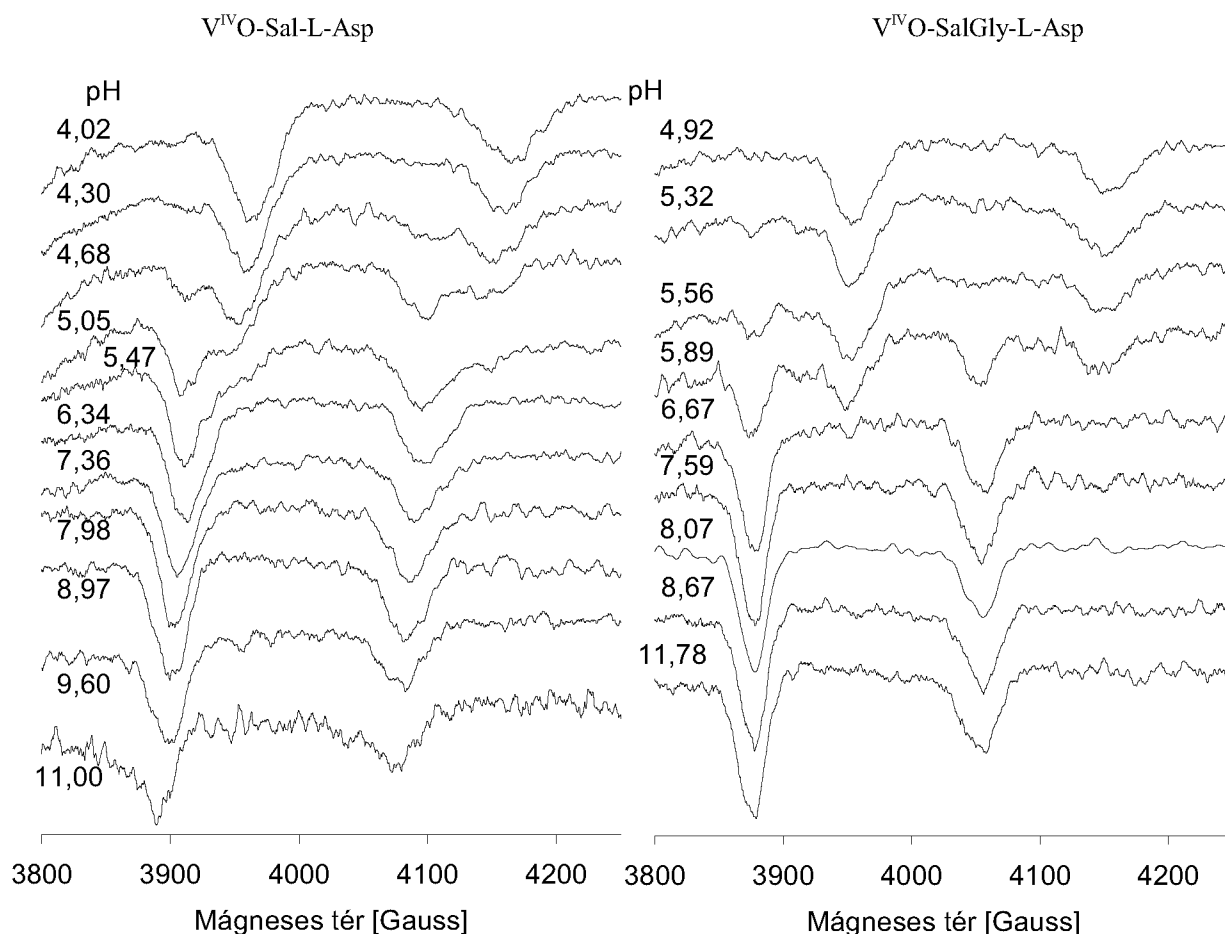
Sal-L-Asp $V^{IV}OLH_x$ ($x=2,1,0$) komplexekben a fenolát (vagy fenolos hidroxilcsoport) és a karboxilátcsoport koordinációja mellett az amidcsoport oxigénjének koordinációja is szerepet játszik, ezáltal az ekvatoriális síkban szerkezeti okok miatt az aszparagin oldallánc karboxilátcsoportja már nem képes koordinálódni, a pK 4,00-val deprotonálódó csoport valószínűleg az axiális pozícióban foglal helyet. A SalGly-L-Asp esetében hasonló összehasonlítást téve megfigyelhető, hogy a $V^{IV}OLH_2$ komplex pK-ja alacsonyabb (3,0), mint a

SalGly-L-Ala komplex $V^{IV}OLH$ komplexének pK -ja (3,55), valamint az amidnitrogének deprotonálódására jellemző pH összehasonlítása (SalGly-L-Asp: 5,37; SalGly-L-Ala: 5,97) alapján a részecskék eltérő szerkezetére következtethetünk. A karboxilcsoportoknak a dipeptidszármozékkal összehasonlítva alacsonyabb pH -n bekövetkező deprotonálódása és koordinációja az ekvatoriális síkban bekövetkező koordinációját valószínűsíti. A $V^{IV}OL$ komplexek párhuzamos csatolási állandója a további koordináció



következtében kisebb, mint a $V^{IV}OLH$ komplexeké, de a ligandumok közötti különbség nem okoz lényeges eltérést, ezt a Sal-L-Asp ligandum esetén fellépő, a peptidcsoport karboniloxigénjének extra koordinációjával, illetve a karboxilátcsoport axiális koordinációja okozta hatással magyarázhatjuk. A CD-spektrumokon azonban jelentős különbséget figyelhetünk meg: a maximális elnyeléshez tartozó hullámhossz a SalGly-L-Asp esetén ~ 750 nm, míg a dipeptidszármozékot tartalmazó rendszerben ~ 810 nm, ami alátámasztja a két komplex eltérő kötés módját.

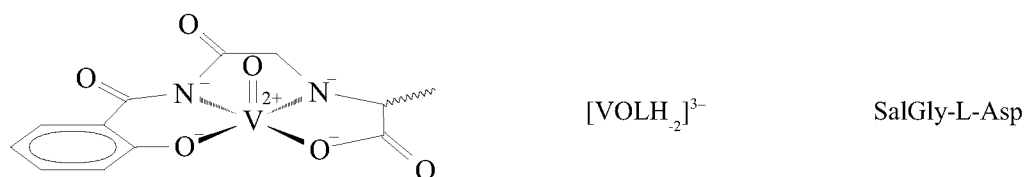
A $V^{IV}OLH_{-1}$ összetételű részecskében az eddig koordinálódott fenolát- illetve két karboxilcsoport



38. ábra A $V^{IV}O$ – Sal-L-Asp illetve $V^{IV}O$ – SalGly-L-Asp rendszerek ESR-spektrumainak a párhuzamos tartomány +5/2 illetve +7/2 átmenethez rendelhető csúcsai különböző, az amidnitrogének deprotonálódásának kezdetétől figyelembe vett pH -kon ($c_{V^{IV}O} = 3$ mM; $c_{Sal-L-Asp} = 8$ mM; $c_{V^{IV}O} = 3$ mM; $c_{SalGly-L-Asp} = 4,5$ mM).

mellett vagy egy amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását, vagy terner hidroxokomplex kialakulását kell feltételeznünk. A deprotonálódásra jellemző pK értékek (Sal-L-Asp: 4,79 illetve SalGly-L-Asp: 5,85) az előbbi folyamatra utalnak, hiszen a hidrolízis hasonló töltésű és koordinációs fokú komplexek esetében általában $pK > 7$ -nél következik be. A Sal-L-Asp amidnitrogénjének deprotonálódása szinte ugyanazon a pH-n következik be, mint a SalGly ligandum protonvesztése (4,76), ami – mint már korábban említettük – a két komplex közötti szerkezeti azonosság egyik bizonyítéka. Az ESR-spektrumokból szimulációval kapott csatolási állandó értéke kísérleti hibán belül megegyezik a SalGly $V^{IV}OLH_1$ összetételű komplexének megfelelő állandójával. E rendszerben az amidnitrogén koordinálódásának hatására a CD-spektrumok intenzitása tovább nő – valószínűleg az elnyelés intenzitásnövekedésének köszönhetően – a spektrum jellege azonban alapvetően nem változik meg. Ebből következik, hogy az aszparaginsav-oldallánc karboxilátsoportja továbbra is változatlan helyen, az axiális pozícióban foglal helyet.

A tripeptid analógok között azonban jelentős eltérés figyelhető meg, a SalGly-L-Asp esetén az

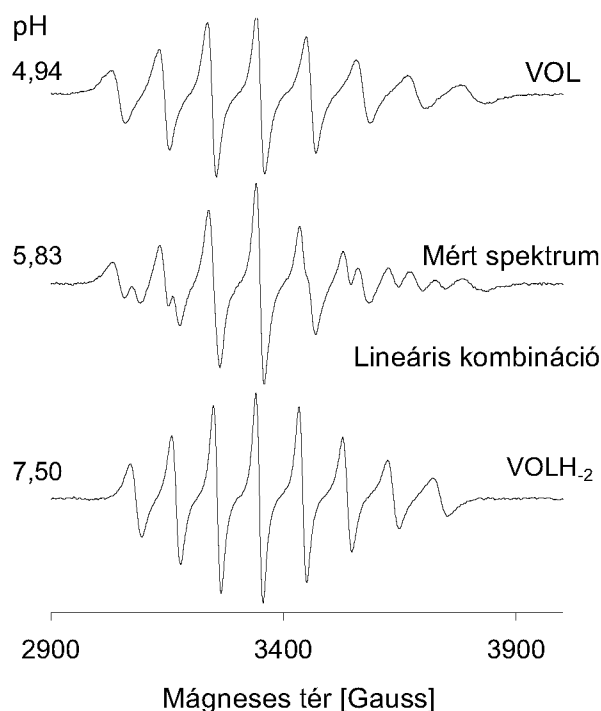


amidnitrogének deprotonálódása ($\lg \beta_{VOL} - \lg \beta_{VOLH_2} / 2$) 5,97 pH-n következik be, míg a SalGly-L-Ala esetében ez az érték 5,37. Az eltérés magyarázata a $V^{IV}OL$ összetételű komplexek szerkezetében fellelhető jelentős különbségben keresendő. Míg a SalGly-L-Ala esetén megvalósulhat a $Ar-O^-, 2xamid-O, COO^- \rightarrow Ar-O^-, amid-O, amid-N^-, COO^-$ deprotonálódási folyamat, addig a SalGly-L-Asp esetében a $Ar-O^-, amid-O, 2x COO^- \rightarrow Ar-O^-, amid-O, amid-N^-, COO^-$ folyamat hatására az eddig ekvatoriális pozícióban található karboxilátsoport ki kell hogy szoruljon az ekvatoriális síkból, és mindez késlelteti a folyamat lejátszódását.

29. táblázat A szalicil-glicil-L-aszparagin – $V^{IV}O$ pH-metriás titrálások kiértékelése különböző állandó értéken tartott $V^{IV}OLH_1$ stabilitási állandó mellett.

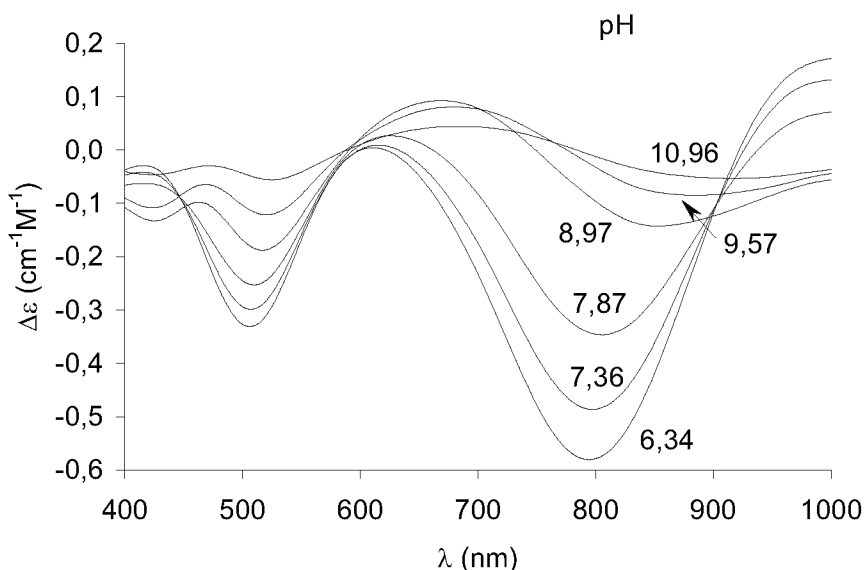
Illesztés ×10 ⁻³ cm ³	9,77		9,56		9,15		8,72		7,98		6,96		6,20	
	lg β	sd	lg β	sd	lg β	sd	lg β	sd	lg β	sd	lg β	sd	lg β	sd
V ^{IV} OLH ₂	14,1	0,1	14,0	0,1	14,0	0,1	14,0	0,1	13,8	0,2	13,8	0,2	13,9	0,1
V ^{IV} OLH	11,00	0,03	11,00	0,03	11,00	0,03	11,02	0,03	11,02	0,03	11,06	0,02	11,13	0,02
V ^{IV} OL	7,45	0,01	7,44	0,01	7,43	0,01	7,43	0,01	7,41	0,01	7,40	0,01	7,41	0,01
V ^{IV} OLH ₋₁	-		0,0		0,5		0,75		1,0		1,25		1,52	0,02
V ^{IV} OLH ₋₂	-4,45	0,03	-4,47	0,03	-4,50	0,03	-4,50	0,02	-4,57	0,02	-4,60	0,02	-4,65	0,02
pK _{VOLH2}	3,1		3,0		3,0		3,0		2,8		2,7		2,8	
pK _{VOLH}	3,54		3,55		3,57		3,58		3,61		3,65		3,71	
pK _{VOL}	-		7,44		6,93		6,68		6,41		6,15		5,89	
pK _{VOLH-1}	-		4,47		5,00		5,25		5,57		5,85		6,17	
pK _{amid} (átlag)	5,95		5,96		5,97		5,97		5,99		6,00		6,03	
Max (%)	0		2		5		9		16		26		41	
V ^{IV} OLH ₋₁														

A $V^{IV}OLH_1$ komplex mennyiségére a különböző alkalmazott módszerek nem adtak egyöntetű eredményt. A pH-metriás mérések kiértékelése során a legjobb illesztéshez tartozó modell (. táblázat utolsó oszlop) esetén a $V^{IV}OLH_1$ komplex mennyisége 40%-nak adódott, ugyanakkor a fagyasztott nitrogén hőmérsékletén felvett ESR-spektrumok alapján mennyiségét maximum 5-10%-ra lehetett becsülni. A

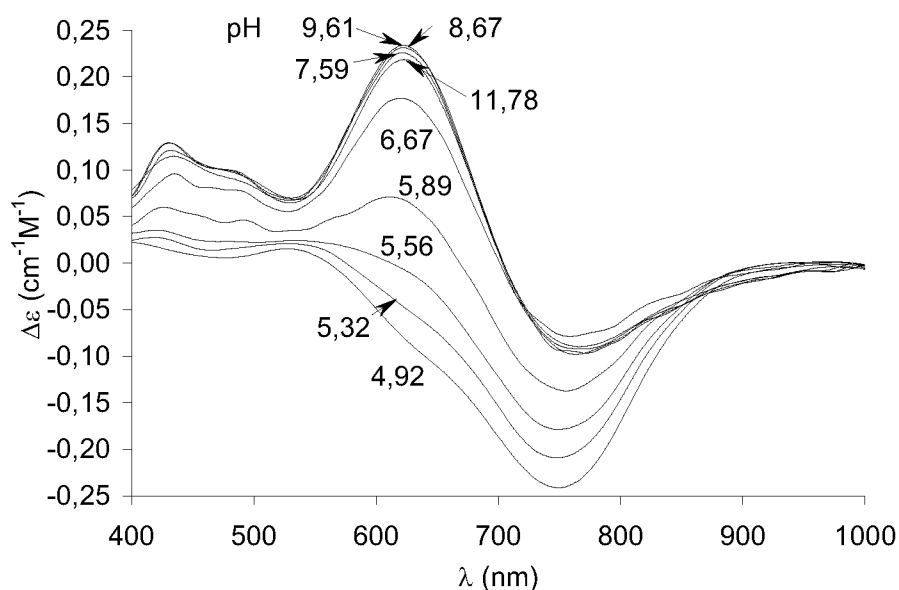


39. ábra A $V^{IV}O$ – SalGly-L-Asp rendszernek a VOL illetve $VOLH_2$ összetételhez tartozó szobahőmérsékletű ESR-spektruma, illetve a kettő lineáris kombinációjával illesztett spektrum pH = 5,83-on. ($c_{VIVO} = 1 \text{ mM}$; $c_{SalGly-L-Asp} = 4 \text{ mM}$)

különbség a hőmérsékletváltozással – a fagyasztott oldat körülbelül a $0\text{--}5^\circ\text{C}$ -nak megfelelő egyensúlyi állapotot tükrözi – magyarázhatónak tűnt, azonban az amidnitrogén koordinációja jelentős spektrális változással jár a szobahőmérsékleten felvett ESR-spektrumokon is. Ez utóbbi módszerrel kívántuk pH-metriás méréseinket ellenőrizni. A 5-7,5 pH tartományban felvett spektrumok azonban teljes mértékben leírhatók két részecskével, ami a $V^{IV}OLH_1$ részecske minimális előfordulását bizonyítja. Dimerizációra utaló intenzitáscsökkenést nem tapasztaltunk, így ezt a kémiai folyamatot elvethetjük. A szobahőmérsékletű ESR-spektrumokból számítható amidnitrogénekre jellemző pH érték ($(\lg\beta_{VOL} - \lg\beta_{VOLH_2}) / 2$) 5,98-nak adódott, ami igen jó egyezésben van a pH-metria eredményével. A pH-metria „műhibája” valószínűleg a reakció lassú voltára vezethető vissza. A $V^{IV}OLH_1$ komplexnek a 27. táblázatban megadott

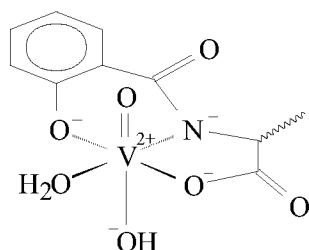


40. ábra $V^{IV}O$ – Sal-L-Asp rendszer CD-spektrumai, különböző pH-kon. ($c_{VIVO} = 3 \text{ mM}$; $c_{Sal-L-Ala} = 8 \text{ mM}$)



41. ábra $V^{IV}O$ – SalGly-L-Asp rendszer CD-spektrumai, különböző pH-kon.
($c_{V^{IV}O} = 3\text{mM}$; $c_{\text{SalGly-L-Al}} = 4,5\text{ mM}$)

stabilitási állandóját a cseppfolyós nitrogén hőmérsékletén felvett ESR-spektrumok alapján becsültük meg. A 29. táblázat értékei jól mutatják, hogy az egyéb komplexek stabilitási állandóinak értékei igen kis mértékben függenek a $V^{IV}OLH_{-177}$ stabilitási állandó értékétől, amennyiben az nem nagyobb, mint 0,75. Mindez arra vezethető vissza, hogy az eloszlásgörbéken megjelenő maximum 10 százalékban jelenlévő részecske elenyésző mennyiségű lúggal egyenértékű, és így nem befolyásolja jelentősen a kiértékelést. A pH-metriás mérések során tapasztalt lassú folyamat nem feltétlenül az amidnitrogének deprotonálódásához rendelhető, a titrálási körülmények között – a kiértékelés szerint – kismértékben ugyan, de a $(V^{IV}O)_2(OH)_5$ részecske is megjelent, ami a hidrolízis zavaró voltára utalhat.



Sal-L-Asp

A $V^{IV}OLH_2$ komplexek oldatszerkezete a két ligandum esetén alapvetően különböző, amely a ligandumok közötti lényeges eltérésből egyértelműen adódik. A dipeptidanalog esetén nincs még egy deprotonálódásra és koordinációra alkalmas amidnitrogén, így a $V^{IV}OLH_2$ összetétel csak terner hidroxokomplex kialakulásával magyarázható. A pK ennek megfelelően 8,09, ami az ekvatoriális síkban koordinált vízmolekula protonvesztésére utal. Ez megfelel annak a képnek, miszerint az axiális pozíciót az oldalláncon található karboxilátcsoport foglalta el. A SalGly $V^{IV}OLH_1$ komplexének részleges hidrolízise 7,57 pK -val következik be, a két rendszer közötti különbség az aszparaginsav analog esetén a komplex negatívabb össztöltésével és valószínűleg az oldalláncon található karboxilátcsoportnak az axiális pozícióból történő kiszorulásával magyarázható. A ekvatoriális pozícióban lezajló deprotonálódás feltételezése kémiailag logikusabbnak tűnhet, de az ESR-spektrum szimulációjából kapott párhuzamos csatolási állandó értéke csak kismértékben változik a terner hidroxó komplex képződésének hatására, így hasonlóan a SalGly megfelelő komplexéhez itt is axiális pozícióban bekövetkező protonvesztés tűnik valószínűnek az ESR-spektrumok alapján is. A CD-spektrumok mindezt alátámasztják, ugyanis az oldalláncon található karboxilátcsoportnak az ekvatoriális pozícióból történő kiszorulása a spektrum jellegének és intenzitásának

jelentős megváltozásával jár. A pH ~9-en felvett spektrumon a ~790 nm-en tapasztalható "CD-couplet" a SalGly-L-Ala V^{IV}OLH₂ komplexének spektrumához hasonlít.

30. táblázat A Sal-L-Asp és SalGly-L-Asp V^{IV}O komplexeinek feltételezett szerkezete alapján becsült párhuzamos csatolási állandó értékének összehasonlítása a mért értékekkel.

Összetétel	Az ekvatoriális síkban koordinálódó donorcsoportok					A ^{becs.}	A ^{mért}	
							Sal-L-Asp	SalGly-L-Asp
V ^{IV} OLH ₂	3×H ₂ O		COO ⁻			179,7		
	2×H₂O	Amid O	COO⁻			177,7	178,0	177,9
	3×H ₂ O			Ar-O ⁻		175,8		
	2×H ₂ O	Amid O		Ar-O ⁻		173,9		
V ^{IV} OLH	2×H ₂ O		2×COO ⁻			176,8		
	H ₂ O	Amid O	2×COO ⁻			174,8	176,0	176,2
	2×H₂O		COO⁻	Ar-O⁻		172,9		
	H₂O	Amid O	COO⁻	Ar-O⁻		171,0		
V ^{IV} OL	2×H ₂ O		COO ⁻	Ar-O ⁻		172,9		
	H₂O	Amid O	COO⁻	Ar-O⁻		171,0	174,0	173,3
	H₂O		2×COO⁻	Ar-O⁻		170,0		
		Amid O	2×COO⁻	Ar-O⁻		168,0		
[V ^{IV} OLH ₂] ²⁻	H₂O		COO⁻	Ar-O⁻	Amid-N⁻	164,3	165,0	
		Amid O	COO⁻	Ar-O⁻	Amid-N⁻	162,3		164
			2×COO ⁻	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	161,3		
[V ^{IV} OLH ₂] ²⁻	H ₂ O		COO ⁻	Ar-O ⁻	Amid-N ⁻	164,3		
	H₂O		COO⁻	Ar-O⁻	Amid-N⁻	157,3	161,7	
			COO⁻	Ar-O⁻	2×Amid-N⁻	155,6		159,2

A Sal-L-Asp és SalGly-L-Asp V^{IV}O komplexei - összefoglalás

A Sal-L-Asp – és SalGly-L-Asp – V^{IV}O rendszerekben kivitelezett titrálási görbéket a következő összetételű komplexeket tartalmazó modell segítségével illesztettük mindkét esetben: [(V^{IV}O)LH₂]⁺, (V^{IV}O)LH, [(V^{IV}O)L], [(V^{IV}O)LH₋₁]²⁻, [(V^{IV}O)LH₋₂]³⁻. A [(V^{IV}O)LH₂]⁺, (V^{IV}O)LH protonált komplexekben a két karboxilcsoport illetve a fenolcsoport közül kettőnek illetve egynek még protonált állapotban kell lennie. Ahogyan az aszparaginsav-oldalláncot nem tartalmazó analógok (SalGly, SalGly-L-Ala) esetében, itt sem lehet egyértelműen megállapítani a koordináció a molekula melyik – a karboxilát, vagy a fenolát – “végéről” kezdődik-e meg. Az elektrongerjesztési spektrumok intenzitása – a SalGly-L-Ala ligandumnál – 370 nm-en a V^{IV}OLH összetételű komplex képződésével párhuzamosan kezd drasztikusan emelkedni. A CD-intenzitás ellenben mindkét ligandumnál csak a V^{IV}OL komplex megjelenésével egyszerre válik szignifikánssá és a görbe alakja mindkét esetben az *N*-acetyl-aszparaginsav CD-spektrumaira emlékeztet. Ezek a kísérleti megfigyelések a fenolátcsoport elsődleges deprotonálódására utalnak, amelyet az aszparaginsav-oldallánc karboxilátcsoportjának koordinálódása követ.

A képződött Sal-L-Asp és SalGly V^{IV}OL komplexek hasonlatossága – hasonló pK értékek és egyező ESR-spektrumok – az extra karboxilátcsoport maximum axiális koordinációját bizonyítják. A tripeptid analógok esetén a nagyobb különbségek – különböző pK értékek és helyenként különböző ESR-spektrumok

– eltérő koordinációs módra utalnak. Az oldalláncon található karboxilátcsoport ekvatoriális koordinációja magyarázatot adhat minderre. A különbség okai valószínűleg geometriaiak, a Sal-L-Asp esetén mindhárom csoport egyszerre nem lehet az ekvatoriális síkban.

A $V^{IV}O$ indukált amidnitrogén-deprotonálódás mindkét ligandumnál – ahogy az aszparaginsav-oldallánc nélküli származékoknál is – bekövetkezik, mindazonáltal az extra karboxilátkoordináció különbözőképpen hat a folyamatra. A dipeptidanalóg axiális koordinációjának nincs hatása az amidnitrogén deprotonálódásának pK értékére (4,79) az a SalGly ligandumával (4,76) gyakorlatilag megegyezik. A CD-spektrumok intenzitása a folyamattal párhuzamosan nő közel változatlan alak mellett, ami az axiális karboxilátkoordináció fennmaradását igazolja. Az ebben a rendszerben bekövetkező turner hidroxorészecske képződésével azonban a spektrum alakja megváltozik, intenzitása lecsökken, a karboxilátcsoport kikerül a koordinációs szférából.

A tripeptidanalóg amidnitrogénjeinek deprotonálódásakor – mivel a $V^{IV}OL$ komplexben a karboxilátcsoportok az ekvatoriális síkban helyezkedtek el – a SalGly-L-Ala típusú $V^{IV}OLH_2$ komplexek képződéséhez a donor csoportok átrendeződése szükséges. Az amidnitrogének kooperatív deprotonálódására jellemző pH érték így 0,6 egységgel magasabban van, mint a SalGly-L-Ala esetében. Mindkét tripeptidanalógot tekintve az egyszeresen deprotonált származékból képződött mennyiség pontos meghatározása meglehetősen nehéz, az alkalmazott kísérleti technikák különböző mennyiséget adak meg.

5 Összefoglalás

Munkánk során több mint tíz ligandumot vizsgáltunk oxovanádium(IV)-kötő képesség illetve a fémion által indukált amidnitrogén koordinálódás szempontjából vizes oldatban. Az egyes rendszerek jellemzéséhez pH-potenciometria, ESR-, látható elektrongerjesztési valamint amely esetekben lehetséges volt CD- spektrometriás módszereket alkalmaztunk.

A ligandumokat, amelyek terminális karboxilcsoportot tartalmaztak, alapvetően négy csoportba sorolhatjuk:

1. tiols csoportot tartalmazó ligandum (2-mpg),
2. több alifás hidroxilcsoportot tartalmazó vegyületek (*N*-D-glükonil-aminosavak),
3. bidentát – amino- illetve fenolát- – koordináció kialakítására képes komplexképzők (SalH₂GlyGly, SalH₂GlyGlyGly),
4. fenolos hidroxilcsoport tartalmazó ligandumok,
 - a., két amidnitrogént tartalmazó vegyületek: (SalGly-L-Ala, SalGly-L-Asp),
 - b., Asp tartalmú ligandumok (Sal-L-Asp, SalGly-L-Asp).

Az amidnitrogén deprotonálódását és koordinálódását a SalH₂GlyGlyGly ligandum kivételével minden rendszerben – legalább két független módszerrel, pH-metria valamint ESR- és/vagy CD-spektroszkópiai módszerekkel – sikerült alátámasztani. Vizsgálataink szerint az amidnitrogén deprotonálódása az egy nitrogént tartalmazó ligandumok – 2-mpg, Sal-L-Asp, *N*-D-glükonil-aminosavak illetve az irodalomból ismert SalGly – esetén a 4-5 pH tartományban játszódik le. A GLU-L-Ser ligandum esetén a Cu^{II} ionnál tapasztaltakhoz hasonlóan a szerin oldalláncnak stabilitásnövelő hatása van: az amidnitrogén pK értéke ezáltal fél pH egységgel csökken. A két amidnitrogént illetve az egy amid és egy aminocsoportot tartalmazó ligandumok – SalH₂GlyGly, SalGly-L-Ala – esetén az amidnitrogén deprotonálódása már körülbelül egy pH egységgel később játszódik le, a SalGly-L-Asp ligandum esetén pedig az aszparagin karboxilcsoportjának extra ekvatoriális koordinációja még egy fél pH egységgel növeli meg az amidcsoportok pK értékét.

31. táblázat A tanulmányozott amidnitrogént tartalmazó komplexek néhány jellemzője.

Ligandum	Komplex	Donorcsoportok	pK _{amid}	Töltés/V ^{IV} O	V ^{IV} OpK ₂ – lgβ _{ML}
2-mpg	V ^{IV} OLH ₁	S ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻	4,0 (4,54) a	1 ⁻	3,20
GLUGly	(V ^{IV} O) ₂ L ₂ H ₄	R-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻ (OH)	4,46 ^b	1 ⁻	-
GLU-β-Ala	(V ^{IV} O) ₂ L ₂ H ₄	R-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻ , (OH)	4,49 ^b	1 ⁻	-
GLU-L-Ser	(V ^{IV} O) ₂ L ₂ H ₄	R-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻ , (OH)	3,92 ^b	1 ⁻	-
SalGly ¹⁰⁹	V ^{IV} OLH ₁	Ar-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻	4,76	1 ⁻	1,11
Sal-L-Asp	V ^{IV} OLH ₁	Ar-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻	4,79	1 ⁻	0,50
SalH ₂ GlyGly	V ^{IV} OLH ₁	Ar-O ⁻ , N _{amino} , N _{amid} ⁻ , COO ⁻	5,43	1 ⁻	6,03 ^c
SalGly-L-Ala	V ^{IV} OLH ₂	Ar-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻	5,37 ^d	2 ⁻	1,38
SalGly-L-Asp	V ^{IV} OLH ₂	Ar-O ⁻ , N _{amid} ⁻ , N _{amid} ⁻ , COO ⁻	5,97 ^d	3 ⁻	0,51

^a A tiols csoport és az amidnitrogén kooperatív deprotonálódása miatt a jobb összehasonlíthatóság kedvéért azt a pH-t tüntettem fel, ahol [V^{IV}OLH] + [V^{IV}OL] = [V^{IV}OLH₁].

^b pK₂ + pK₃ - lgβ_{ML}

^c A (V^{IV}O)₂L₂H₂ és a (V^{IV}O)₂L₂H₃ pK értékeinek átlaga.

^d A két amidnitrogén közel azonos pH-n deprotonálódik: ΣpK/2.

Az egyes ligandumok tanulmányozása alapján a következő megállapítások tehetőek:

– Az *N*-2-merkaptopropionil-glicin rendszerben 1:10 fémion-ligandum arány mellett a $V^{IV}O$ hidrolízise számottevően már nem érzékelhető: $[V^{IV}O(2\text{-mpg})H]^+$, $V^{IV}O(2\text{-mpg})$, $[V^{IV}O(2\text{-mpg}H_1)]^-$, $[V^{IV}O(2\text{-mpg}H_1)(\text{mpg})]^{3-}$ illetve $[V^{IV}O(2\text{-mpg})H_2]^{2-}$ összetételű komplexek mutathatóak ki. Az alapvetően csak monodentát karboxilátkoordinációt tartalmazó $V^{IV}O(2\text{-mpg})H$ komplex stabilitását egyéb gyenge kötések, például az amidoxigén koordinációja kissé megnöveli. A pH-metriás titrálások valamint az ESR-spektrumok egyértelműen igazolták, hogy a 2-mpg tiolátcsoportja – a karboxilcsoport koordinációjával kiegészítve – elsődleges koordinációja révén képes horgony-donorcsoportként viselkedve az oxovanádium indukálta amidnitrogén deprotonálódást elősegíteni. A tiolcsoport és az amidnitrogén deprotonálódása közel egy lépcsőben játszódik le, mely során 5+5 tagú csatolt kelátrendszer jön létre. Ezen $[V^{IV}O(2\text{-mpg})H_1]^-$ összetételű részecske egy újabb ligandum tiolátcsoportjának ekvatoriális síkban történő koordinálódása révén biszkomplexszé $[(V^{IV}OL_2H_1)]^{3-}$, míg egy hidroxidion bekötésével $[V^{IV}OLH_2]^{2-}$ összetételű részecskévé alakulhat át. A pH 11-nél az amidnitrogén még mindig a koordinációs szférában található. A képződött komplexek száma, és sztöchiometriája teljesen megegyezik a $V^{IV}O$ – SalGly rendszerben megtalálhatóakkal, azonban stabilitásuk 1,5-2 nagyságrenddel kisebb. A tiolcsoport pozíciója jelentősen befolyásolja az amidnitrogén deprotonálódását, mivel a hasonló kötésmód kialakítására képes glutation esetén, ahol a tiolát és az amidnitrogén koordinációjával csupán hattagú kelátgyűrű jöhet létre, az amidnitrogén deprotonálódása csupán részlegesen pH 7 felett következik be. A 2-mpg – $V^{IV}O$ – B ligandum turner rendszerek (B ligandum: *N*-2,2'-bipiridil, tiron, maltol, oxálsav) viselkedése alapján megállapíthatjuk, hogy a töltéssel nem rendelkező és fémion viszontkoordinációját lehetővé tevő *N*-2,2'-bipiridil ligandum elősegítette az amidnitrogén deprotonálódását; a $V^{IV}OABH_1$ összetételű turner részecske meghatározó a 5-9 pH tartományban. Az adott komplexben a karboxilát, a deprotonált amidnitrogén, a tiolátcsoport, valamint az *N*-2,2'-bipiridil egyik aromás nitrogénje koordinálódik az ekvatoriális síkban, míg a másik aromás nitrogén az axiális pozícióban foglal helyet. A tiron és maltol B ligandumok esetében a pH-metriás mérések alapján $V^{IV}OABH_1$ turner komplexek keletkezése valószínűsíthető, ezt azonban ESR-spekroszkópiával nem sikerült kétséget kizáróan alátámasztani. Oxálsav B ligandumot tartalmazó rendszerben a pH-metriás mérések is inkább a $V^{IV}OABH_1$ turner komplex hiányát támasztják alá. A pH-metriás mérésekből számított stabilitási állandók alapján megállapíthatjuk, hogy a három töltéssel rendelkező oxigén donorcsoportokat tartalmazó B ligandum – 2-mpg deprotonált amidnitrogént tartalmazó vegyes komplex képződése nem kedvezményezett. A bpy ligandum további előnye a másik három B ligandumhoz képest, hogy monokomplexének domináns izomerében a ligandum egyik nitrogénje az axiális pozíciót foglalja el, nem gátolva ezzel a 2-mpg ekvatoriális síkjában történő tridentát koordinációját.

– Az *N*-D-glükonil-aminosav – $V^{IV}O$ rendszerekben a spektrofotometriás mérések egyedül a β -alanin származék 1:1 fémion-ligandum arányú oldata esetén utaltak csapadékkiválásra. A pH-metriás mérések alapján az oxovanádium(IV) hidrolízise 1:5 fémion-ligandum arány mellett már elhanyagolható mértékű. A pH-metriás titrálások mutatják, hogy a 4-5 pH tartományban két extra lúgfogyás tapasztalható fémiononként, amely közel egy lépcsőben játszódik le, és a folyamatra jellemző pH függ a rendszer összkoncentrációjától: $(V^{IV}OLH_2)_n$ összetételű komplex keletkezik. A csapadékmentes közeg valamint mind a CD-, mind az ESR-spektrumokon bekövetkező változások a koordinációs szféra jelentős átalakulásáról tanúskodnak, ami a ligandum részéről csak az amidnitrogének és/vagy az alkoholos hidroxilcsoport(ok) deprotonálódásán keresztül képzelhető el. A komplexképződést az adott pH-n CD-spektroszkópiával követve egyértelműen kimutató különbség van az oldallánccal rendelkező, tehát az amidnitrogénhez közvetlenül királis szénatommal kapcsolódó, illetve oldallánc nélküli aminosavrést tartalmazó ligandumok viselkedése között. E megfigyelés és a pH-potenciometriás titrálások során a három vizsgált ligandum között tapasztalt nem számottevő különbség bizonyítja, hogy a deprotonált amidnitrogén koordinálódik a központi fémionhoz. Az alkoholátcsoport koordinációja – valószínűleg a cukorrész további nem deprotonált alkoholcsoportjaival, és

természetesen a karboxilátcsoport koordinációjával kiegészítve – hathatósan elősegíti az oxovanádium(IV) indukálta amidnitrogén deprotonálódást. Az alkoholos hidroxilcsoport és az amidnitrogén protonvesztése jelen esetben is közel egy lépcsőben játszódik le, miközben ESR-csendes komplexek, feltehetően dimerek képződnek. A három különböző oldalláncot, glicin-, β -alanin- és szerinrészt tartalmazó ligandumokat összehasonlítva a szerin oldallánc enyhe stabilitásnövelő hatását kivéve viselkedésük között nem találtunk jelentős eltérést. A GLU- β -Ala által képzett eggyel nagyobb tagszámú kelátgyűrű nincs hatással az amidnitrogén deprotonálódásának pK értékére, ahogy ez a Cu^{II} ion¹⁰⁹ és a dimetil- Sn^{IV} rendszerekben¹⁰⁵ is megfigyelhető az adott ligandum esetében. A pH további emelésével további alkoholátcsoport koordinálódik egy-egy V^{IV} O-ionhoz a dimer szerkezet megtartása mellett, míg a pH 10 felett lejátszódó újabb protonvesztési folyamat következtében a dimer egység – amely már telített koordinációs szférájú volt – ESR-aktív monomer részecskékre esik szét.

– A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ és $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ ligandumok V^{IV} O komplexeit kétszeres, vagy annál nagyobb ligandumfelesleg mellett a 2-8 pH tartományban tudtuk pH-potenciometriás módon tanulmányozni. Az adott pH tartományban $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2$ komplexek mindkét rendszerben képződnek. A $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}$ komplex hiánya a fenolát- és az aminocsoport kooperatív deprotonálódását és koordinációját igazolja. A $\log K_1/K_2$ érték mindkét komplexképző esetén egyértelműen jelzi, hogy a második ligandum belépése a koordinációs szférába gátolt. Ezt a biszkomplexben koordinálódó liganduk eltérő kötőmódjával, vagy a karboxilcsoport és esetlegesen egy vagy két karbonilcsoport koordinációjával magyarázhatjuk. Ezen extra donorcsoportok száma, ahogy azt a párhuzamos csatolási állandók kis különbsége jelzi, a $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ esetén valószínűleg nagyobb. Kizárólag a tripeptid analóg esetén lehetett amidnitrogént tartalmazó $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ összetételű részecskét kimutatni. Az amidnitrogén deprotonálódása pK = 5,43-mal következik be. A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ és $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2$ részecskéinek ESR-színképe között csak a spektrum merőleges tartományán érzékeltünk különbséget. A mért és a Chasteen féle empirikus összefüggés¹⁶ alapján becsült csatolási állandó értékeinek összehasonlítása alapján a négy lehetséges donorcsoportból mind a biszkomplexben, mind a $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ összetételű deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplexben vagy egy fenolát-, vagy egy aminocsoport axiális pozícióban koordinálódik. A két ligandum között megfigyelhető különbség igazolja, hogy a karboxilátcsoport megfelelő pozícióban történő koordinációja – amely csak a $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$ ligandum esetén képes az amidnitrogénnel valamint a fenolát- és az aminocsoporttal 6+5+5 tagú csatolt kelátgyűrűrendszert képezni – fontos az oxovanádium(IV)ion indukálta amidnitrogén deprotonálódás szempontjából. A lúgos pH tartományban mindkét ligandummal történt mérések során további részecskéket detektáltunk az ESR-spektroszkópia segítségével, összetételüket és így oldatszerkezetüket nem tudtuk pontosan meghatározni. A stabilitási állandó becsülésével a tripeptidszármazék $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$ összetételű komplexének képződése kizárható, azonban $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$ illetve $[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_1]^{3-}$ sztöchiometria mindkét ligandum komplexe esetén lehetséges. A párhuzamos csatolási állandót összehasonlítva a mért értékekkel inkább a meglévő részecskék ($\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2$, $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1$) hidroxovegyeskomplexeinek kialakulása, semmint az amidnitrogén(ek) deprotonálódása valószínűsíthető.

– A V^{IV} O – SalGly-L-Ala rendszerben a kétszeres ligandumfelesleg mellett végzett titrálások során már nem tapasztaltuk a $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{OH})_2$ csapadék leválását, mindazonáltal az 5-7 pH tartományban lezajló lassú folyamatok a hidrolízis nem teljesen elhanyagolható mértékére utalnak. A pH-potenciometriás mérések kiértékelése során 1:1 összetételű komplexek feltételezésével a titrálási görbék kielégítően – bár a már említett pH tartományban meglehetősen nagy hibával terhelt – leírhatóak, biszkomplexekre nem tudunk stabilitási állandót meghatározni. A 2-4 pH tartományban képződő $\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}$ komplexben hasonlóan a SalGly pszeudodipeptidhez mind a monodentát karboxilát-, mind a monodentát fenolátkoordináció elképzelhető – esetleg az amidoxigén koordinációjával kiegészítve – mialatt a másik csoport még protonált. A következő deprotonálódási lépcsővel kialakuló $\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}$ részecskében a fenolát- és karboxilátkoordináció mellett valószínűleg az amidoxigén(ek) szerepe sem teljesen elhanyagolható. Az 5-6 pH tartományban lezajló folyamatokat pH-metriás, szobahőmérsékleten illetve fagyasztott oldatban mért ESR-, CD- valamint látható elektrongerjesztési spektroszkópiás módszerekkel nyomon követve a következő megállapításokat tehetjük.

Ebben a pH tartományban a nem teljesen elhanyagolható hidrolízis mellett az oxovanádium által indukált amidnitrogén deprotonálódási folyamatok lezajlanak, egy $V^{IV}OLH_2$ részecskét eredményezve. A részecske fagyasztott oldatban felvett ESR-spektruma markánsan különbözik a SalGly egy deprotonált amidnitrogént tartalmazó komplexének ESR-színképétől. A párhuzamos csatolási állandók közötti különbség visszavezethető még egy amidnitrogénnek az ekvatoriális síkban történő koordinációjára. Ezzel elsőként sikerült vizes oldatban két deprotonált amidnitrogént tartalmazó $V^{IV}O$ komplexet kimutatni, amely jelentős mennyiségben képződik. Az amidnitrogének protonvesztése és koordinációja az összes alkalmazott módszer szerint az Cu^{II} ionnál megszokott lépcsőzetes folyamatok helyett közel egy lépcsőben játszódik le, a folyamatra a szobahőmérsékletű spektrumokból számított átlagos amid pK érték 5,31, ami jó egyezésben van a pH-metriás eredményekkel ($\Sigma pK/2 = 5,37$). Mindezt a fenolát- és a karboxilátsoport együttes elsődleges koordinációja teszi lehetővé. A kooperativitás – bár ezen esetben valószínűleg kisebb mértékű – a Ni^{II} ionnál számos esetben tapasztalható geometriaváltással és spinpárosodással nem magyarázható. A $V^{IV}OLH_1$ összetételű részecske mennyisége bizonytalan, a pH-metria alapján 30%-ban, a fagyasztott oldatban felvett ESR-spektrumok szerint ~8%-ban, míg a szobahőmérsékletű spektrumok alapján egyáltalán nem képződik. Ezen bizonytalanság miatt az egyszerűen deprotonált részecske egyedi CD-spektruma, így az amidnitrogének deprotonálódási sorrendje eddigi eredményeink alapján pontosan nem határozható meg.

– A Sal-L-Asp – és SalGly-L-Asp – $V^{IV}O$ rendszerekben kivitelezett titrálási görbéket a következő összetételű komplexeket tartalmazó modell segítségével illesztettük mindkét esetben: $[(V^{IV}O)LH_2]^+$, $(V^{IV}O)LH$, $[(V^{IV}O)L]^-$, $[(V^{IV}O)LH_{-1}]^{2-}$, $[(V^{IV}O)LH_{-2}]^{3-}$. A $[(V^{IV}O)LH_2]^+$, $(V^{IV}O)LH$ protonált komplexekben a két karboxilcsoport illetve a fenolos hidroxilcsoport közül kettőnek illetve egynek még protonált állapotban kell lennie. Ahogyan az aszparaginsav-oldalláncot nem tartalmazó analógok (SalGly, SalGly-L-Ala) esetében, itt sem lehet egyértelműen megállapítani a koordináció a molekula melyik – a karboxilát, vagy a fenolát – “végéről” kezdődik. Az elektrongerjesztési spektrumok intenzitása – a SalGly-L-Ala ligandumnál – 370 nm-en a $V^{IV}OLH$ összetételű komplex képződésével párhuzamosan kezd drasztikusan emelkedni. A CD-intenzitás ellenben mindkét ligandumnál csak a $V^{IV}OL$ komplex megjelenésével egyszerre válik szignifikánssá és a görbe alakja mindkét esetben az *N*-acetil-aszparaginsav CD-spektrumaira emlékeztet. Ezek a kísérleti megfigyelések a fenolátsoport elsődleges deprotonálódására utalnak, amelyet az aszparaginsav-oldallánc karboxilátsoportjának koordinálódása követ.

A képződött Sal-L-Asp és SalGly $V^{IV}OL$ komplexek hasonlatossága – hasonló pK értékek és egyező ESR-spektrumok – az extra karboxilátsoport maximum axiális koordinációját bizonyítják. A tripeptid analógok esetén a nagyobb különbségek – különböző pK-k és helyenként különböző ESR-spektrumok – az eltérő koordinációs módra utalnak. Az oldalláncon található karboxilátsoport ekvatoriális koordinációja magyarázatot adhat minderre. A különbség okai valószínűleg geometriaiak, a Sal-L-Asp esetén mindhárom csoport egyszerre nem lehet az ekvatoriális síkban.

A $V^{IV}O$ indukált amidnitrogén-deprotonálódás mindkét ligandumnál – ahogy az aszparaginsav-oldallánc nélküli származékoknál is – bekövetkezik, mindazonáltal az extra karboxilátkoordináció különbözőképpen hat a folyamatra. A dipeptidanalóg axiális koordinációjának nincs hatása az amidnitrogén deprotonálódásának pK értékére (4,79) az a SalGly ligandumával (4,76) gyakorlatilag megegyezik. A CD-spektrumok intenzitása a folyamattal párhuzamosan nő közel változatlan alak mellett, ami az axiális karboxilátkoordináció fennmaradását igazolja. Az ebben a rendszerben bekövetkező turner hidroxorészecske képződésével azonban a spektrum alakja megváltozik, intenzitása lecsökken, a karboxilátsoport kikerül a koordinációs szférából.

A tripeptidanalóg amidnitrogénjeinek deprotonálódásakor – mivel a $V^{IV}OL$ komplexben a karboxilátsoportok az ekvatoriális síkban helyezkedtek el – a SalGly-L-Ala típusú $V^{IV}OLH_2$ komplexek képződéséhez a donorcsoportok átrendeződése szükséges. Az amidnitrogének kooperatív deprotonálódására jellemző pH érték így 0,6 egységgel magasabban van, mint a SalGly-L-Ala esetében. Mindkét tripeptidanalógot tekintve az egyszerűen deprotonált származékból képződött mennyiség pontos meghatározása meglehetősen nehéz, az alkalmazott kísérleti technikák különböző mennyiséget adnak meg.

Egyéb következtetések:

A $\text{SalH}_2\text{GlyGly}$, a $\text{SalH}_2\text{GlyGlyGly}$ és a SalGly-L-Ala rendszerekben kapott eredmények alapján valószínűsítjük, hogy az oxovanádium(IV) indukálta amidnitrogén-deprotonálódás savas pH tartományban jellemzően olyan rendszerekben jöhet létre, ahol a központi fémionhoz elsődlegesen már két vagy több horgony-donorcsoport koordinálódott, ezáltal az amidnitrogén(ek) koordinációjával három (vagy négy) egységből álló csatolt kelátrendszer jön létre, és ahol minden amidnitrogén legalább két kelátgyűrű része. E megállapítást alátámaszthatja egyrészt az a megfigyelés, hogy egyetlen ligandum esetén sem képződött $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{LH}_1)_2$ két deprotonált amidnitrogént tartalmazó biszkomplex, amelyhez elegendőnek kellene lennie egyetlen horgony-donorcsoportnak is, másrészt az, hogy a szilárd komplexek röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata során is csak ilyen típusú amidnitrogént találtak. Az állítás igazolására további kísérletek elvégzése szükséges.

A karboxilátcsoport mellett a horgony szerepét betöltő donorcsoportokat (fenolát, tiolát, alkoholát+alkoholos hidroxilcsoportok) összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy a fenolátot tartalmazó ligandum (SalGly) stabilabb kölcsönhatást képes kialakítani a $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ -ionnal, mint a tiolát (2-mpg) és az alkoholátcsoportot (például GluGly) tartalmazó vegyületek, ezáltal erősebb horgonyként viselkedve jobban elősegíti a fémion hidrolízisének megakadályozását. Erre a karboxilát- (Gly-L-Asp , L-AspGly) illetve aminocsoportot (GlyGly) tartalmazó ligandumok nem képesek. Az amidnitrogén deprotonálódásának pK értéke azonban inkább a tiolát < alkoholát < fenolát sorrendben növekszik. Az oxovanádium(IV) által preferált oxigénkoordináció révén a vanádiumatom környezetében megnövekedett töltéssűrűség az amidnitrogén deprotonálódására gátló hatással van.

A megállapított szerkezetek alapján lehetőség nyílik az amidnitrogén párhuzamos csatolási állandóhoz való hozzájárulás értékének pontosabb becsléséhez.

32. táblázat A deprotonált amidnitrogént tartalmazó $\text{V}^{\text{IV}}\text{O}$ komplexek javasolt szerkezetek segítségével becsült amidnitrogén csatolási állandó hozzájárulása.

$A_{\parallel}^{\text{amid}}$	Töltés*	Ligandum	Komplex összetétel	Ekvatoriális koordináció	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}$
35,6	3–	2-mpg-bpy	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}^1\text{L}^2\text{H}_1]^-$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{S}^-, \text{N}_{\text{arom.}}$	1,959	150,5
36,7	3–	2-mpg	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{S}^-, \text{H}_2\text{O}$	1,959	157,0
37,0	3–	$\text{SalH}_2\text{GlyGly}$	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{N}_{\text{amin}}, \text{Ar-O}^-$	1,953	163,5
35,5						
37,3	3– (4–)	SalGly-L-Asp	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-, \text{H}_2\text{O}$	1,947	164
39,3				$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-, \text{O}_{\text{karb.}}$		
38	3–	SalGly-L-Ala	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-, \text{H}_2\text{O}$	1,946	165
40				$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-, \text{O}_{\text{karb.}}$		
38,0	3-(4–)	SalAsp	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_1]^-$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-, \text{H}_2\text{O}$	1,947	165,2
39	4–	GluGly	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_3]^{2-}$	$\text{N}^-_{\text{amid}}, \text{R-O}^-, \text{R-O}^-, \text{R-O}^-$	1,961	144,9
35,6				$\text{N}^-_{\text{amid}}, \text{R-O}^-, \text{R-O}^-, \text{OH}^-$		
38,9	4–	SalGly-L-Ala	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-$	1,957	159
39,0	4– (5–)	SalGly-L-Asp	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-$	1,958	159,2
39,5	4–	2-mpg	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OL}_2\text{H}_1]^{2-}$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{S}^-, \text{S}^-$	1,968	146,0
40,7	4–	2-mpg	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{S}^-, \text{OH}^-$	1,960	154,0
33,7						
41,7-	4– (5)	SalAsp	$[\text{V}^{\text{IV}}\text{OLH}_2]^{2-}$	$\text{COO}^-, \text{N}^-_{\text{amid}}, \text{Ar-O}^-, \text{OH}^-$	1,952	161,8
34,7						

*Az ekvatoriális síkban koordinálódott donorcsoportok össztöltése (zárójelben a ligandum össztöltése ha ez az előző értéktől különbözik).

A hozzájárulás értéke viszonylag tág határok – $35,5\text{-}40,0 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$ – között mozog, és hasonlóan az irodalomban közöltekhez jellemzően függ a vanádium környezetének össztöltésétől. Egy negatív töltésű komplexeknél $35,5\text{-}38 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$, míg a mínusz két vagy még nagyobb töltés esetén a $38\text{-}40 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$ tartományba esik. A 7. táblázatban közölt adatokkal való összehasonlítás alapján megállapítható, hogy az általunk megállapított értékek a komplexek töltését is figyelembe véve elfogadható egyezésben vannak az irodalomban közöltekkel.

Oxovanadium promoted amide nitrogen deprotonation (Summary)

The most important questions about the interaction of oligopeptides with the most common bivalent metal ions (*e.g.* Cu^{II}, Ni^{II}, Pd^{II}, Co^{II}, Zn^{II}) have been answered in the 70s-80s. Perhaps, the most important conclusion of these works was that a primary anchor donor is necessary for the metal ion promoted amide nitrogen deprotonation. The interest of bioinorganic chemists towards oxovanadium(IV) started to grow only in the 90s, and, for this reason, this ion was left out from most of the studies. Therefore, the field of oxovanadium(IV) – peptide interactions – in particular, the V^{IV}O promoted deprotonation of amide nitrogens remained largely unexplored.

In the case of the di- and tripeptides with noncoordinating side chains the V^{IV}O hydroxide precipitates from the solution. Some complexes with deprotonated amide nitrogen of dipeptides can only be detected at very high ligand excess and pH > 7.5 by using CD and EPR spectroscopies. It was also shown, that amine group (as opposed to other metal ions, like as Cu^{II}, Ni^{II}, Co^{II}, Pd^{II}) is not a suitable anchor for the oxovanadium(IV) promoted amide nitrogen deprotonation. The first X-ray structures of complexes containing deprotonated amide nitrogen were published in the beginning of the 90s. The first single crystal structures of some ternary complexes with biologically relevant ligands – simple dipeptides – were published in 1998. The article with the first pieces of evidence of V^{IV}O promoted amide nitrogen deprotonation in aqueous solution at about pH 4.5 was presented in the same year. The ligand was salicylglycine, in which the phenolate seemed to be the anchor.

During our work we aimed at collecting data on the V^{IV}O-amide nitrogen interactions. Accordingly, the goals of our studies were:

- Searching for ligands, suitable of keeping V^{IV}O in aqueous solution, preventing from the hydrolysis of V^{IV}O via the active contribution of the coordination of the amide nitrogen(s).
- Studying the effect of the second ligand on the amide nitrogen deprotonation in ternary systems. (*e.g.*, V^{IV}O + two ligands).
- Determining the stability constant and the species distribution of the V^{IV}O complexes of the ligands chosen.
- Characterising the V^{IV}O complexes formed in our system by using a range of complementary experimental techniques.
- Based on the stoichiometry, the stability constants and the spectral behaviour, determining the binding mode of the V^{IV}O species, especially those containing deprotonated amide nitrogen(s).

The oxovanadium(IV) binding capability in aqueous solution and the metal ion induced amide nitrogen deprotonation in a range of ligands (more than ten) was examined by pH-metry, EPR-, VIS- and when applicable CD-spectroscopic methods.

All ligands studied contain terminal carboxylic group and can be classified in four major groups:

1. A dipeptide derivative containing thiolate group: *N*-(*S,R*)-2-mercapto-propionyl-glycine: 2-mpg.
2. Pseudodipeptides containing more than one aliphatic hydroxyl groups, *N*-D-Gluconilamino acids: GLUGly, GLU-L-Ser, GLU-β-Ala, GLU-α-L-Ala, GLU-Met.
3. Reduced Schiff-base derivatives of GlyGly and GlyGlyGly with salicylaldehyde: SalH₂GlyGly, SalH₂GlyGlyGly.
4. Peptide derivatives of salicylic acid
 - a, Pseudotripeptides: SalGly-L-Ala, SalGly-L-Asp.
 - b, Oligopeptides with aspartic acid moiety: Sal-L-Asp, SalGly-L-Asp.

Ternary systems with V^{IV}O-2-mpg-B were also studied, where the B stands for: 2,2'-bipyridil, tiron, maltol and oxalic acid.

The acid-base properties and the stability constants of the $V^{IV}O$ complexes of the ligands were studied by pH-potentiometry at 25 °C-on 0.20 M ionic strength (KCl). The titration were carried out with computer controlled system. The results were evaluated by using the suites of computer programs of PSEQUAD and SUPERQUAD.

The EPR spectra were usually recorded at liquid nitrogen temperature. The spectra were simulated and EPR parameters were determined with a suitable computer program. The binding mode of the complexes were determined by comparing of the observed and estimated parallel coupling constants of the suggested structure, using an empirical equation published by Chasteen. When it was possible, the information obtained from the CD and UV-VIS spectra were also utilised.

The conclusions obtained from the various systems can be summarised as follows:

1. In the 2-mpg system at 1:10 metal to ligand ratio the hydrolysis of the $V^{IV}O$ was found to be negligible and complexes with stoichiometries of $V^{IV}O(2\text{-mpg})H$, $V^{IV}O(2\text{-mpg})$, $V^{IV}O(2\text{-mpg})H_{-1}$, $V^{IV}O(2\text{-mpg})_2H_{-1}$ and $V^{IV}O(2\text{-mpg})H_{-2}$ were detected in solutions. The stability of the $V^{IV}O(2\text{-mpg})H$ complex with monodentate carboxylate coordination was found to be increased by other weak interaction(s) (*c.f.*, coordination of the amide carbonyl oxygen). pH-potentiometric measurements and the EPR spectra proved that the thiolate group of the 2-mpg ligand together with the carboxylate moiety serves as a suitable primary anchor for oxovanadium(IV) promoted amide nitrogen deprotonation. Coordination of the thiolate and the deprotonated amide nitrogen occurs in a single step, resulting a 5+5 membered joint chelate ring system. At higher pH, the complex $V^{IV}O(2\text{-mpg})H_{-1}$ is transformed to an $V^{IV}O(2\text{-mpg})_2H_{-1}$ bis-complex via coordination of thiolate group of the second ligand in the equatorial plane, or alternatively deprotonation of coordinated water molecule can yield a ternary hydroxo species $V^{IV}O(2\text{-mpg})H_{-2}$. The deprotonated amide nitrogen is still coordinated to the $V^{IV}O$ at pH 10. The number and the stoichiometry of the species formed are the same in the system $V^{IV}O$ -SalGly, however the stability of the complexes formed is lower by 1,5-2 order of magnitude. From this it can be concluded, that the position of the thiolate groups plays an important role in the oxovanadium(IV) promoted amide nitrogen deprotonation. In the case of glutathion – where almost the same coordination mode is seen with 6+5 chelate ring size instead of 5+5 – the amide nitrogen deprotonation is less intense and occurs only at around pH 7. Based on the behaviour of the ternary systems studied, it can be concluded that the neutral B ligand like bpy (which contains N donors with empty π orbitals, and capable of back coordination) promotes the deprotonation of the amide nitrogen through enhanced ternary complex formation. On the other hand, ligands such as tiron, maltol or oxalate, with negatively charged O donors, increase the electron density on the metal ion and therefore make the ternary complex formation unfavoured.

2. UV-spectroscopy indicated some $V^{IV}O$ hydroxide precipitation at 1:1 metal to ligand ratio only in the case of β -alanin derivative in the various *N*-D-gluconylamino acid - $V^{IV}O$ – systems. From the pH-metric measurements at M:L = 1:5 the hydrolysis of the $V^{IV}O$ was found to be negligible with all ligands. In the pH 4-5 region two moles extra base consumption per mole of oxovanadium(IV) is seen on the titration curves. The two deprotonation steps largely overlap. The characteristic pH of these processes depends on the total concentration of the reactants: oligomeric complex(es) with $(V^{IV}OLH_2)_n$ stoichiometry is(are) formed. The precipitate free solutions and the dramatic change in the CD and EPR spectra in this pH region clearly indicate a new type of coordination mode. Since at this pH the carboxylic group is already fully deprotonated and (at least partly) coordinated to the metal centre, these processes could only be due to the coordination of the amide nitrogen and/or the alcoholate(s). The CD spectra of solutions recorded at pH 5 can be divided into two groups: (i) systems where the ligands contain chiral moiety in the amino acid part, (GLU-Ser, Glu- α -L-Ala, GLU-L-Met) which have one type of intense spectra, and (ii) systems where amide nitrogen is not directly bound to a chiral carbon atom (GLUGly, GLU- β -Ala), which have an other, less intense, but significant CD signal. This observation together with an almost identical speciation of these

systems obtained by pH-metry, strongly suggest the deprotonation and thus coordination to the metal ion. The alcoholate – together with the already coordinated carboxylate and possible with non deprotonated alcoholic-OH groups – serve as an anchor for the V^{IV}O promoted amide nitrogen deprotonation. The loss of the alcoholic and amide proton occurs almost as a single step resulting an EPR silent oligonuclear species (probably a dimer). Comparing the V^{IV}O speciations of the ligands examined by pH-metry (GLUGly, GLU-β-Ala and Glu-L-Ser) the only difference seen is the somewhat higher stability of the complexes formed with GLU-L-Ser. Unlike for the other ligands, where five membered chelate rings are formed, for GLU-β-Ala the joint coordination of the amide nitrogen and the carboxylate group results in a six membered chelate. This however has no effect on the pK of the amide nitrogen deprotonation. Similar behaviour was found for Cu^{II} and Me₂Sn^{IV} complexes of *N*-D-gluconilamino acids. With the increasing pH one more alcoholate coordinates to each of the two vanadium centers in the dimeric complex. At pH > 10, due to the next deprotonation step, the dimer, – in while the coordination sphere of the V^{IV}O was already complete – breaks up to EPR active monomers. However the CD spectra of these system clearly show, that the amide nitrogen remains coordinated to the metal ion in these monomers.

3. The V^{IV}O complexes of SalH₂GlyGly and SalH₂GlyGlyGly ligands were possible to study with pH-metric method at the pH range of 2-8 at L:M ≥ 2. V^{IV}OLH₂, V^{IV}OL, V^{IV}OL₂ type complexes were formed with both ligands. The lack of the V^{IV}OLH complex is likely to be due to the cooperative deprotonation of the phenolic-OH and the amino groups. The log(K₁/K₂) values for both pseudopeptides show the inhibition of participation of the second ligand in the coordination. This can be explained by the coordination of the carboxylate and possibly one further amide oxygen. The small difference between the parallel coupling constants of the V^{IV}OL complexes with the two different ligands indicates some extra coordination of the SalH₂GlyGly. V^{IV}OLH₁ complex containing coordinated amide nitrogen (the pK of the process is 5.43) was possible to detect only for the tripeptide analogue. EPR spectral difference between the species V^{IV}OLH₁ and V^{IV}OL₂ formed with SalH₂GlyGly could only be detected only in the perpendicular part of the spectra. As the EPR was unable to differentiate between the V^{IV}OL₂ complexes of the two ligands, the structure of them is expected to be identical. Based on the measured and the estimated⁹⁷ perpendicular coupling constants of V^{IV}OL₂ and V^{IV}OLH₁ species it can be concluded that one phenolate or one amine-N is coordinated in axial position in both cases.

The difference in the behaviour of these two pseudopeptides demonstrates that the coordination of the carboxylate group in the appropriate position is an important parameter for the oxovanadium(IV) promoted amide nitrogen deprotonation. It is possible only in the case of SalH₂GlyGly for carboxylate, amide nitrogen, phenolate and amino-N to form a 6+5+5 membered joint chelate ring system, where the amide nitrogen is a member of two rings at the same time.

In the rather alkaline solution (pH 10~11) it was possible to detect one more EPR active species in both systems, however, it was not possible to determine their composition and binding mode. With stability constant estimation for different stoichiometries the V^{IV}OLH₁ composition of SalH₂GlyGlyGly can be ruled out, but the V^{IV}OLH₂ and V^{IV}OL₂H₁ is possible in both systems. Based on the comparison of the estimated and observed parallel coupling constants, the partial hydrolysis of the complexes around at pH = 8 seems to be more relevant than the deprotonation of the amide nitrogen(s).

4. During the pH-potentiometric of V^{IV}O-SalGly-L-Ala system the precipitation of the V^{IV}O(OH)₂ was not observed at L : M ≥ 2. However slow processes occurred at pH 5-7, indicating that the hydrolysis of the metal ion is not entirely negligible. Stability constants for bis-complexes were not possible to be determined. The titration curves were fitted satisfactorily with assuming only MLH_x species but in pH region where slow reactions occurred the difference between the calculated and observed titration curves was found to be relatively high. Two different possible binding modes – similar to the complex formed with SalGly with the same composition – were found for V^{IV}OLH. At 2 ≤ pH ≤ 3.5 both monodentate carboxylate and phenolate coordination could exist in the solution, probably with partial coordination of the amide

carbonyl oxygens. In the $V^{IV}OL$ species which is resulted by the next protonation step, besides the coordination of the phenolate and the carbocylate groups, one of the amide carbonyl oxygen can be assumed to be coordinated which reduces the number of the members of the chelate ring. The results of the pH-metric- EPR- (performed both at room and at liquid nitrogen temperature) UV-VIS- and CD-spectroscopic measurements allowed us to conclude that in the pH range of 5-6 (in parallel with the not totally negligible slow hydrolytic processes) $V^{IV}O$ promoted amide nitrogen deprotonation takes place, resulting in a $V^{IV}OLH_2$ species. The EPR spectra of this complex detected in frozen sample is significantly different from signal of the $V^{IV}OLH_1$ type SalGly species. The difference between the parallel coupling constants is approximately equal to the effect, which would be resulted by an amide nitrogen coordination. This is the first detection of a significant amount of a $V^{IV}O$ complex formed in aqueous solution, which contains two deprotonated amide nitrogens in the coordination sphere. The coordination of the amide nitrogens from all experimental techniques occurs as almost in a single step in contrast to the consecutive deprotonation of the Cu^{II} dipeptide complexes with analogous coordination mode. The overall pK of the amide nitrogen calculated from the RT-EPR measurements was found to be 5.31, which is in a good agreement with the results obtained from pH-potentiometric measurements. ($\Sigma pK/2 = 5.37$). The coordination of the carbocylate and the phenolat groups give rise to the metal ion promoted amide nitrogen deprotonation. Unlike for same Ni^{II} -complexes, the change the coordination geometry and spin pairing is not sufficient explaining the observed cooperativity. The amount of the $V^{IV}OLH_1$ formed is uncertain: from pH-metry it forms up to 30%, from the LNT EPR up to 8% of the metal ion is $V^{IV}OLH_1$ form, while this species was not detectable from the RT EPR measurements. Therefore individual CD spectrum of the single deprotonated species and the sequence of the amide nitrogen coordination was not possible to be determined.

5. The titration curves of Sal-L-Asp and SalGly-L-Asp with $V^{IV}O$ were fitted by assuming the following set of species: $[(V^{IV}O)LH_2]^+$, $(V^{IV}O)LH$, $[(V^{IV}O)L]^-$, $[(V^{IV}O)LH_{-1}]^{2-}$, $[(V^{IV}O)LH_{-2}]^{3-}$. In the complexes $[(V^{IV}O)LH_2]^+$, $(V^{IV}O)LH$ one or two groups of the possible donors – the two carbocylate and the phenolate – are still protonated, similarly to analogues complexes of Ala type derivatives. The deprotonation starts from both ends of the molecule. The UV-VIS absorbance at 370 nm start to increases in parallel with the formation of the $V^{IV}OLH$ species in the case of SalGly-L-Ala, while the CD signals in both systems is becomes significant only during the formation of the $V^{IV}OL$ species. The shape of the CD spectra is similar to the one observed for the system $V^{IV}O$ -N-acetil-aspartic acid. These observations strongly support that first the deprotonation and coordination of the phenolic-OH takes place, which followed by the dissociation of the carboxylic groups of the aspartil moiety.

The analogous behaviour (*i.e.*, similar pK values and almost identical EPR spectra) of the SalGly- and Sal-L-Asp – $V^{IV}O$ systems indicates that the coordination of the extra carbocylate group is axial. The different pK-s and EPR parameters of the tripeptide analogues suggest not identical coordination mode in the $V^{IV}OL$ complexes in the two pseudopeptides. The equatorial coordination of the aspartate moiety could be a possible explanation. The reason of the difference probably geometrical, because in the case of Sal-L-Asp complexes the two carbocylate and the phenolate could not be in equatorial position at the same time.

The $V^{IV}O$ is able to promote the deprotonation of the amide nitrogen in both cases like in the non-Asp derivatives, however the extra carboxylate group exerts two different effects. In the case of Sal-L-Asp the axial coordination of the aspartate has no effect on the deprotonation of the amide nitrogen: the corresponding pK is the same as for SalGly. The CD spectra is more pronounced but the shape of the spectrum is invariant to the deprotonation of the amide nitrogen. This confirms that the carboxylate group is still coordinated in axial position. The next deprotonation step is due to the formation of the ternary hydroxo species. Parallel with that process the CD intensity decreases, the shape becomes similar to the spectra of $V^{IV}OLH_2$ type complex of SalGly-L-Ala. Accordingly the carbocylate group is leaving the axial position during this process.

As the extra carbocylate group of the SalGly-L-Asp is equatorially coordinated in the $V^{IV}OL$ complex, a rearrangement of the donor groups is necessary for the formation of $V^{IV}OLH_2$ complex of

SalGly-L-Ala type. For the Asp derivative, the average of the pK-s of cooperative deprotonation of the amide nitrogens is higher by 0.6 log unit than for SalGly-L-Ala. For both tripeptide analogues (SalGly-L-Ala, SalGly-L-Asp) the maximum amount of the $V^{IV}OLH_1$ complex remains uncertain, as the various experimental techniques yielded different results.

General conclusions

The deprotonation and the coordination of $V^{IV}O$ to the peptide amide group - except for $SalH_2GlyGlyGly$ - was confirmed in all system studied by at least two independent methods (*e.g.*, pH-metry- and EPR- or CD-spectroscopy) For ligands containing one nitrogen atom - 2-mpg, Sal-L-Asp, *N*-D-gluconylamino acids and SalGly - the deprotonation of the amide nitrogen occurs at the pH 4-5. The seryl-OH group of the GLU-L-Ser ligand (similarly to the Cu^{II} dipeptide - Ser-X or X-Ser – systems) increase the stability of the complexes: the pK of the amid nitrogen decreases by almost 0.5 log unit. The amide nitrogen deprotonation of the ligands with two nitrogen atoms $SalH_2GlyGly$ and $SalGly-L-Ala$ - is promoted by $V^{IV}O$, and the pK is almost one unit higher. The coordination of the extra carboxylate group of $SalGly-L-Asp$ to $V^{IV}O$ in the equatorial position increases the pK of the amide nitrogens by further half log unit: a structural rearrangement was found to be necessary before the deprotonation of the amide nitrogen.

Table A1 The characteristics of the complexes containing deprotonated amide nitrogen

Ligand	Stoichiometry	Eq. donor groups	pK _{amid}	Charge/ $V^{IV}O$	pK ₂ - lgβ _{ML}
2-mpg	$V^{IV}OLH_1$	S^-, N_{amid}^-, COO^-	4,0 (4,54) ^a	1 ⁻	3,20
GLUGly	$(V^{IV}O)_2L_2H_4$	$R-O^-, N_{amid}^-, COO^-, (OH)$	4,46 ^b	1 ⁻	-
GLU-β-Ala	$(V^{IV}O)_2L_2H_4$	$R-O^-, N_{amid}^-, COO^-, (OH)$	4,49 ^b	1 ⁻	-
GLU-L-Ser	$(V^{IV}O)_2L_2H_4$	$R-O^-, N_{amid}^-, COO^-, (OH)$	3,92 ^b	1 ⁻	-
SalGly ⁸³	$V^{IV}OLH_1$	$Ar-O^-, N_{amid}^-, COO^-$	4,76	1 ⁻	1,11
Sal-L-Asp	$V^{IV}OLH_1$	$Ar-O^-, N_{amid}^-, COO^-$	4,79	1 ⁻	0,50
$SalH_2GlyGly$	$V^{IV}OLH_1$	$Ar-O^-, N_{amino}, N_{amid}^-, COO^-$	5,43	1 ⁻	6,03 ^b
$SalGly-L-Ala$	$V^{IV}OLH_2$	$Ar-O^-, N_{amid}^-, N_{amid}^-, COO^-$	5,37 ^c	2 ⁻	1,38
$SalGly-L-Asp$	$V^{IV}OLH_2$	$Ar-O^-, N_{amid}^-, N_{amid}^-, COO^-$	5,97 ^d	3 ⁻	0,51

^a For characterisation of cooperative deprotonation of the thiolate and the amide nitrogen, the pH where $[V^{IV}OLH] + [V^{IV}OL] = [V^{IV}OLH_1]$ are also marked.

^b $pK_2 + pK_3 - lg\beta_{ML}$

^c The average of the pK of the $(V^{IV}O)_2L_2H_2$ and the $(V^{IV}O)_2L_2H_3$ complexes

^d $\Sigma pK/2$ The two amide nitrogens deprotonate in a cooperative way.

Based on the results from the $SalH_2GlyGly$ -, $SalH_2GlyGlyGly$ – and $SalGly-L-Ala - V^{IV}O$ systems it seems reasonable to conclude that in acidic pH the oxovanadium(IV) promoted amide nitrogen deprotonation typically happened in systems where more than one anchor already coordinated to the metal ion, and the where deprotonation of the amide nitrogen or nitrogens results in the formation of joint three or four chelate ring, and where the amide nitrogen is supposed to be a member of at least two rings. This conclusion is further supported by the observation that $V^{IV}O(AH_1)_2$ type complex containing two amide nitrogens, where one anchor is sufficient for the metal ion promoted amide deprotonation was not identified in any of the examined systems. Such type of coordination has also been demonstrated in analogous $V^{IV}O$ complexes characterised by X-ray crystallography.

When donors phenolate, thiolate, alcoholate + alcoholic-OH-s, which serve as anchors together with the carbocylate group are compared, it can be concluded that the phenolate containing ligands form more

stable $V^{IV}OL$ complexes than the thiolate or alcoholate containing pseudopeptides. This way phenolates act as stronger anchors to keep the oxovanadium(IV) in solution. The only carbocylate containing dipeptides (GlyAsp, AspGly) and simple dipeptides are unable to withhold the hydrolysis of $V^{IV}O$. The pK of the $V^{IV}O$ promoted amide nitrogen deprotonation increases in the order of thiolate < alkoholate < phenolate. The preferred oxygen coordination of the oxovanadium(IV) increases the local charge of the metal centre inhibiting the deprotonation of the amide nitrogen.

The proposed binding modes make it possible to estimate a more correct value for the contribution of the amide nitrogen to the parallel coupling constant.

Table A2 Estimations of the contribution of the amide nitrogen to the parallel coupling constant based on the suggested structures containing at least one amide nitrogen.

$A_{ }^{amid}$	Charge*	Ligand	Stoichiometry	Coordination in the equatorial plane	$g_{ }$	$A_{ }$
35,6	3–	2-mpg-bpy	$[V^{IV}OL^1L^2H_1]^-$	$COO^-, N_{amid}^-, S^-, N_{arom.}$	1,959	150,5
36,7	3–	2-mpg	$[V^{IV}OLH_1]^-$	$COO^-, N_{amid}^-, S^-, H_2O$	1,959	157,0
37,0	3–	SalH ₂ GlyGly	$[V^{IV}OLH_1]^-$	$COO^-, N_{amid}^-, N_{amin}, Ar-O^-$	1,953	163,5
35,5						
37,3	3– (4–)	SalGly-L-Asp	$[V^{IV}OLH_1]^-$	$COO^-, N_{amid}^-, Ar-O^-, H_2O$	1,947	164
39,3				$COO^-, N_{amid}^-, Ar-O^-, O_{karb.}$		
38	3–	SalGly-L-Ala	$[V^{IV}OLH_1]^-$	$COO^-, N_{amid}^-, Ar-O^-, H_2O$	1,946	165
40				$COO^-, N_{amid}^-, Ar-O^-, O_{karb.}$		
38,0	3–(4–)	SalAsp	$[V^{IV}OLH_1]^-$	$COO^-, N_{amid}^-, Ar-O^-, H_2O$	1,947	165,2
39	4–	GluGly	$[V^{IV}OLH_3]^{2-}$	$N_{amid}^-, R-O^-, R-O^-, R-O$	1,961	144,9
35,6				$N_{amid}^-, R-O^-, R-O^-, OH^-$		
38,9	4–	SalGly-L-Ala	$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$	$COO^-, N_{amid}^-, N_{amid}^-, Ar-O^-$	1,957	159
39,0	4– (5–)	SalGly-L-Asp	$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$	$COO^-, N_{amid}^-, N_{amid}^-, Ar-O^-$	1,958	159,2
39,5	4–	2-mpg	$[V^{IV}OL_2H_1]^{2-}$	$COO^-, N_{amid}^-, S^-, S^-$	1,968	146,0
40,7	4–	2-mpg	$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$	$COO^-, N_{amid}^-, S^-, OH^-$	1,960	154,0
33,7						
41,7-	4– (-5)	SalAsp	$[V^{IV}OLH_2]^{2-}$	$COO^-, N_{amid}^-, Ar-O^-, OH^-$	1,952	161,8
34,7						

*The total charge of the donor groups coordinated equatorially (The charge of the ligand is shown in brackets if the value differs from the previous one.)

The estimated contributions for the coupling constant are in a relatively broad range $35.5-40.0 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$, and depend on the total charge of the coordinated donors. Donors with charge of -3 have a contribution of $35.5-38.0 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$ and donors with charge of -4 the contribution is in the range $38.0-40.0 \times 10^{-4} \text{cm}^{-1}$. These values are in good agreement with literature data.

- ¹ N. N. Greenwood, A. Earnshaw: *Az elemek kémiája*. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (1999) III. kötet, 22. fejezet, 1335-1366 oldal.
- ² R. R. Moskalyk, A. M. Alfantazi: *Processing of vanadium: a review*. Minerals Engineering 16(9) (2003) 793-805.
- ³ Dieter Rehder: *Biological and Medicinal aspects of vanadium*. Inorganic Chemistry Communication 6 (2003) 604-617.
- ⁴ Bert M. Weckhuysen, Daphne E. Keller: *Chemistry, spectroscopy and the role of supported vanadium oxides in heterogeneous catalysis*. Catalysis Today 78(1-4) (2003) 25-46.
- ⁵ Andrzej Urbanek, Marek Trela: *Catalytic oxidation of sulfur dioxide*. Catalysis Reviews - Science and Engineering 21(1) (1980) 73-133.
- ⁶ Joseph P. Dunn, Harvey G. Stenger Jr., Israel E. Wachs: *Oxidation of sulfur dioxide over supported vanadia catalysts: molecular structure - reactivity relationships and reaction kinetics*. Catalysis Today 51 (2) (1999) 301-318.
- ⁷ Bair S. Balzhinimaev, Alexei A. Ivanov, Olga B. Lapina, Vyacheslav M. Mastikhin, Kirill I. Zamaraev: *Mechanism of sulfur dioxide oxidation over supported vanadium catalysts*. Faraday Discussions of the Chemical Society 87(Catal. Well Charact. Mater.) (1989) 133-47.
- ⁸ Sandro Gambarotta: *Vanadium-based Ziegler-Natta: challenges, promises, problems*. Coordination Chemistry Reviews 237(1-2) (2003) 229-243.
- ⁹ *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 2. fejezet; Roland Meier, Martin Boddin, Steffi Mitzenheim, Kan Kanamori: *Solution properties of vanadium(III) with regard to biological systems*. 45-88 oldal.
- ¹⁰ Judy Francavilla, N. Dennis Chasteen: *Hydroxide effects on the electron paramagnetic resonance spectrum of aqueous vanadyl(IV) ion*. Inorganic Chemistry 14(11) (1975) 2860-2.
- ¹¹ Francis J. C. Rossotti, Hazel S. Rossotti: *The hydrolysis of metal ions. XII. The hydrolysis of the vanadium(IV) ion*. Acta Chemica Scandinavica 9 (1955) 1177-92.
- ¹² L. P. Ducret: *Contribution a l'étude des ions des valences quatre et cinq du vanadium*. Annales de chimie 12. ser. 6 (1951) 705-73.
- ¹³ H. T. S. Britton, George Welford: *Electrometric studies of the precipitation of hydroxides. XV. Amphoteric nature of vanadium tetroxide*. Journal of the Chemical Society, Abstracts (1940) 758-61.
- ¹⁴ James J. Lingane, Louis Meites Jr.: *Polarographic oxidation of +4 vanadium*. Journal of the American Chemical Society 69 (1947) 1882-6.
- ¹⁵ Simone Ostrowetsky: *Reduced isopolymolybdates and isopolyvanadates. II. Reduced isopolyvanadates in a basic medium*. Bulletin de la Societe Chimique de France 5 (1964) 1012-18.
- ¹⁶ *Biological Magnetic Resonance* (Szerkesztők: L. J. Berliner és J. Reuben), Plenum Press, New York (1981) 3. kötet, 2. fejezet; N. Dennis Chasteen: *Vanadyl(IV) EPR spin probes, Inorganic and biochemical aspects*. 53-119 oldal.
- ¹⁷ Melanie M. Iannuzzi, Philip H. Rieger: *Nature of vanadium(IV) in basic aqueous solution*. Inorganic Chemistry 14(12) (1975) 2895-9.
- ¹⁸ R. Peter Henry, Philip C. H. Mitchell, John E. Prue: *Hydrolysis of the oxovanadium(IV) ion and the stability of its complexes with the 1,2-dihydroxybenzenato(2-) ion*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (1972-1999) (11) (1973) 1156-9.
- ¹⁹ G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty: *Comprehensive Coordination Chemistry*, Pergamon Press, Oxford (1987) 3. kötet; L. F. Vilas Boas, J. Costa Pessoa: *Vanadium*. 453-583 oldal.
- ²⁰ Akitoshi Komura, Mutsuo Hayashi, Hiroto Imanaga: *Hydrolytic behavior of oxovanadium(IV) ions*. Bulletin of the Chemical Society of Japan 50(11) (1977) 2927-31.
- ²¹ Lage Pettersson, Britt Hedman, Ingegaerd Andersson, Nils Ingri: *Multicomponent polyanions. 34. A potentiometric and vanadium-51 NMR study of equilibria in the hydrogen(1+)-hydrogen vanadate(2-) system in 0.6 M sodium chloride medium covering the range 1 .ltorsim.-1g[H+] .ltorsim. 10*. Chemica

Scripta 22(5) (1983) 254-64.

²² *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 18. fejezet; Cirila Djordjevic: *Antitumor Activity of Vanadium Compounds*. 595-615 oldal.

²³ *Vanadium in the Environment* (szerkesztő: Jerome O. Nriagu) John Wiley & Sons Inc., New York (1998) 1. rész (*Advances in Environmental Science and Technology* 30. kötet) 7. fejezet; Giovanni Micera, Daniele Sanna: *Spectroscopic methods for the characterization of vanadium complexes*. 131-166 oldal.

²⁴ Graeme R. Hanson, Yan Sun, Chris Orvig: *Characterization of the Potent Insulin-Mimetic Agent Bis (maltolato)oxovanadium(IV) (BMOV) in Solution by EPR Spectroscopy*. *Inorganic Chemistry* 35(22) (1996) 6507-6512.

²⁵ The IUPAC Stability Constants Database ©Academic Software and IUPAC 1992-7.

²⁶ R. L. Belford, B. Harrowfield, J. R. Pilbrow: *Effects of excited-state spin-orbit coupling and ground-state hybridization upon the behavior of the in-plane g tensor in low-symmetry d1,9 systems*. *Journal of Magnetic Resonance* 28(3) (1977) 433-439.

²⁷ K. Wüthrich: *E.S.R. (electron spin resonance) investigation of VO₂⁺ complex compounds in aqueous solution. II*. *Helvetica Chimica Acta* 48(5) (1965) 1012-17.

²⁸ Thomas S. Smith, Russell LoBrutto, Vincent L. Pecoraro: *Paramagnetic spectroscopy of vanadyl complexes and its applications to biological systems*. *Coordination Chemistry Reviews* 228(1) (2002) 1-18.

²⁹ Thomas S. Smith II, Charles A. Root, Jeff W. Kampf, Paul G. Rasmussen, Vincent L. Pecoraro: *Reevaluation of the Additivity Relationship for Vanadyl-Imidazole Complexes: Correlation of the EPR Hyperfine Constant with Ring Orientation*. *Journal of the American Chemical Society* 122(5) (2000) 767-775.

³⁰ Evangelos J. Tolis, Kalliopi D. Soulti, Themistoklis A. Kabanos, Catherine P. Raptopoulou, Aris Terzis, Yiannis Deligiannakis: *Structural, electron paramagnetic resonance and electron spin echo envelope modulation studies of oxovanadium(IV)-amidate compounds containing monoanionic axial ligands: effect on the 51V-hyperfine coupling constants*. *Chemical Communications (Cambridge)* (7) (2000) 601-602.

³¹ Constantino P. Aznar, Yiannis Deligiannakis, Evangelos J. Tolis, Themistoklis Kabanos, Marcin Brynda, R. David Britt: *ESE-ENDOR Study and DFT Calculations on Oxovanadium Compounds: Effect of Axial Anionic Ligands on the 51V Nuclear Quadrupolar Coupling Constant*. *Journal of Physical Chemistry A* 108 (19) (2004) 4310-4321.

³² *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 12. fejezet; Ernst Bayer: *Amavadin, the Vanadium Compound of Amanitae*. 407-42 oldal.

³³ C. David Garner, Elaine M. Armstrong, Rober E. Berry, Roy L. Beddoes, David Collison, J. Jon A. Cooney, S. Nigar Ertok, Madeleine Helliwell: *Investigations of Amavadin*. *Journal of Inorganic Biochemistry* 80(1-2) (2000) 17-20.

³⁴ Martin Henze: *Examination of the Blood of Ascidia. I. The Vanadium Compound of the Blood Corpuscles*. *Z. Physiol. Chem.* 72 (1911) 494-501.

³⁵ Steven W. Taylor, Bernd Kammerer, Ernst Bayer: *New perspectives in the chemistry and biochemistry of the tunichromes and related compounds*. *Chemical Reviews* 97(1) (1997) 333-346.

³⁶ Hitoshi Michibata, Nobuo Yamaguchi, Taro Uyama, Tatsuya Ueki: *Molecular biological approaches to the accumulation and reduction of vanadium by ascidians*. *Coordination Chemistry Reviews* 237(1-2) (2003) 41-51.

³⁷ *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 13. fejezet; Mitchell J. Smith, Daniel E. Ryan, Koji Nakanishi, Patrick Frank, Keith O. Hodgson: *Vanadium in ascidians and the chemistry of tunichromes*. 423-490 oldal.

³⁸ Patrick Frank, Robert M. K. Carlson, Elaine J. Carlson, Keith O. Hodgson: *Medium-dependence of vanadium K-edge X-ray absorption spectra with application to blood cells from phlebobranch tunicates*. *Coordination Chemistry Reviews* 237(1-2) (2003) 31-39.

- ³⁹ Tatsuya Ueki, Takahiro Adachi, Sonoko Kawano, Masato Aoshima, Nobuo Yamaguchi, Kan Kanamori, Hitoshi Michibata: *Vanadium-binding proteins (vanabins) from a vanadium-rich ascidian Ascidia sydneiensis samea*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression 1626(1-3) (2003) 43-50.
- ⁴⁰ Koichi Fukui, Tatsuya Ueki, Hiroaki Ohya, Hitoshi Michibata: *Vanadium-binding protein in a vanadium-rich ascidian Ascidia sydneiensis samea: CW and pulsed EPR studies*. Journal of the American Chemical Society 125(21) (2003) 6352-6353.
- ⁴¹ *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 14. fejezet; Toshiaki Ishii, Izumi Nakai, Kenji Okoshi: *Biochemical significance of vanadium in a polychaete worm*. 491-509 oldal.
- ⁴² *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 10. fejezet; Vilter, Hans: *Vanadium-dependent haloperoxidases*. 325-62 oldal.
- ⁴³ Philip Barnett, Wieger Hemrika, Henk L. Dekker, Anton O. Muijsers, Rokus Renirie, Ron Wever: *Isolation, characterization, and primary structure of the vanadium chloroperoxidase from the fungus Embellisia didymospora*. Journal of Biological Chemistry 273(36) (1998) 23381-23387.
- ⁴⁴ M. Almeida, S. Filipe, M. Humanes, M. F. Maia, R. Melo, N. Severino, J. A. L. Silva, J. J. R. Frausto da Silva, R. Wever: *Vanadium haloperoxidases from brown algae of the Laminariaceae family*. Phytochemistry 57(5) (2001) 633-642.
- ⁴⁵ Jennifer S. Martinez, Georgia L. Carroll, Richard A. Tschirret-Guth, Gereon Altenhoff, R. Daniel Little, Alison Butler: *On the Regiospecificity of Vanadium Bromoperoxidase*. Journal of the American Chemical Society 123(14) (2001) 3289-3294.
- ⁴⁶ Albrecht Messerschmidt, Lars Prade, Ron Wever: *Implications for the catalytic mechanism of the vanadium-containing enzyme chloroperoxidase from the fungus Curvularia inaequalis by x-ray structures of the native and peroxide form*. Biological Chemistry 378(3/4) (1997) 309-315.
- ⁴⁷ Wieger Hemrika, Rokus Renirie, Henk L. Dekker, Phil Barnett, Ron Wever: *From phosphatases to vanadium peroxidases: a similar architecture of the active site*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 94(6) (1997) 2145-2149.
- ⁴⁸ Rokus Renirie, Wieger Hemrika, Ron Wever: *Peroxidase and phosphatase activity of active-site mutants of vanadium chloroperoxidase from the fungus Curvularia inaequalis. Implications for the catalytic mechanisms*. Journal of Biological Chemistry, 275(16) (2000) 11650-11657.
- ⁴⁹ Jennifer Littlechild, Esther Garcia-Rodriguez: *Structural studies on the dodecameric vanadium bromoperoxidase from Corallina species*. Coordination Chemistry Reviews 237 (1-2) (2003) 65-76.
- ⁵⁰ Robert R. Eady: *Current status of structure function relationships of vanadium nitrogenase*. Coordination Chemistry Reviews 237(1-2) (2003) 23-30.
- ⁵¹ Marcela Espinosa P., Antonio Campero, Roberto Salcedo: *Electron Spin Resonance and Electronic Structure of Vanadyl-Porphyrin in Heavy Crude Oils*. Inorganic Chemistry 40(18) (2001) 4543-4549.
- ⁵² *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 16. fejezet; Forrest H. Nielsen: *Vanadium in Mammalian Physiology and Nutrition*. 543-573. oldal.
- ⁵³ *Vanadium in the Environment* (szerkesztő: Jerome O. Nriagu) John Wiley & Sons Inc., New York (1998) 2. rész (*Advances in Environmental Science and Technology* 31. kötet) 2. fejezet; Katharine H. Thompson, Mary Battel, John H. McNeill: *Toxicity of Vanadium in Mammals*. 21-38 oldal.
- ⁵⁴ Sergei A. Dikanov, Barry D. Liboiron, Katherine H. Thompson, Erika Vera, Violet G. Yuen, John H. McNeill, Chris Orvig: *In Vivo Electron Spin-Echo Envelope Modulation (ESEEM) Spectroscopy: First Observation of Vanadyl Coordination to Phosphate in Bone*. Journal of the American Chemical Society 121 (47) (1999) 11004-11005.
- ⁵⁵ *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 17. fejezet; Chris Orvig, Katherine H. Thompson, Mary Battell, John H. McNeill:

Vanadium compounds as insulin mimics. 575-94 oldal.

⁵⁶ *Vanadium in the Environment* (szerkesztő: Jerome O. Nriagu) John Wiley & Sons Inc., New York (1998) 2. rész (*Advances in Environmental Science and Technology* 31. kötet) 14. fejezet; Hiromu Sakurai, Akihiro Tsuji: *Antidiabetic action of vanadium complexes in animals: blood glucose normalizing effect, organ distribution of vanadium, and mechanism for insulin-mimetic action.* 297-315 oldal.

⁵⁷ R. Perfetti, K. Chamie: *Enhancing insulin action: from chemical elements to thiazolidinediones.* Journal of Endocrinological Investigation 24(4) (2001) 274-287.

⁵⁸ Hiromu Sakurai, Yoshitane Kojima, Yutaka Yoshikawa, Kenji Kawabe, Hiroyuki Yasui: *Antidiabetic vanadium(IV) and zinc(II) complexes.* Coordination Chemistry Reviews 226(1-2) (2002) 187-198.

⁵⁹ Yoram Shechter, Itzhak Goldwasser, Marina Mironchik, Mati Fridkin, Dov Gefel: *Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes.* Coordination Chemistry Reviews 237(1-2) (2003) 3-11.

⁶⁰ Margaret C. Cam, Roger W. Brownsey, John H. McNeill: *Mechanisms of vanadium action: insulin-mimetic or insulin-enhancing agent?* Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 78(10) (2000) 829-847.

⁶¹ Kevin G. Peters, Mike G. Davis, Brian W. Howard, Matthew Pokross, Vinit Rastogi, Conrad Diven, Kenneth D. Greis, Elaine Eby-Wilkens, Matthew Maier, Artem Evdokimov, Shari Soper, Frank Genbauffe: *Mechanism of insulin sensitization by BMOV (bis maltolato oxo vanadium); unliganded vanadium (VO₄) as the active component.* Journal of Inorganic Biochemistry 96(2-3) (2003) 321-330.

⁶² John H. McNeill, V. G. Yuen, H. R. Hoveyda, Chris Orvig: *Bis(maltolato)oxovanadium(IV) is a potent insulin mimic.* Journal of Medicinal Chemistry 35(8) (1992) 1489-91.

⁶³ H. Sakurai; K. Fujii; H. Watanabe; H. Tamura: *Orally active and long-term acting insulin-mimetic vanadyl complex: bis(picolinato)oxovanadium (IV).* Biochemical and Biophysical Research Communications 214(3) (1995 Sep 25) 1095-101.

⁶⁴ Katherine H. Thompson, John H. McNeill, Chris Orvig: *Vanadium Compounds as Insulin Mimics.* Chemical Reviews (Washington, D. C.) 99(9) (1999) 2561-2571.

⁶⁵ Katherine H. Thompson, Chris Orvig: *Design of vanadium compounds as insulin enhancing agents.* Dalton (17) (2000) 2885-2892.

⁶⁶ Dieter Rehder, João Costa Pessoa; Carlos F. G. C. Geraldés, Margarida C. A. Castro, Themistoklis Kabanos, Tamás Kiss, Beate Meier, Giovanni Micera, Lage Pettersson, Maria Rangel, Athanasios Salifoglou, Iztok Turel, Dongren Wang: *In vitro study of the insulin-mimetic behaviour of vanadium(IV, V) coordination compounds.* JBIC, Journal of Biological Inorganic Chemistry 7(4-5) (2002) 384-396.

⁶⁷ Erzsébet Kiss, Kenji Kawabe, Asika Tamura, Tamás Jakusch, Hiromu Sakurai, Tamás Kiss: *Chemical speciation of insulinomimetic VO(IV) complexes of pyridine-N-oxide derivatives: binary and ternary systems.* Journal of Inorganic Biochemistry 95(2-3) (2003) 69-76.

⁶⁸ Jessica Gaetjens, Beate Meier, Tamás Kiss, Eszter M. Nagy, Péter Buglyó, Hiromu Sakurai, Kenji Kawabe, Dieter Rehder: *A new family of insulin-mimetic vanadium complexes derived from 5-carboalkoxypicolinate.* Chemistry-A European Journal 9(20) (2003) 4924-4935.

⁶⁹ Péter Buglyó, Tamás Kiss, Erzsébet Kiss, Daniele Sanna, Eugenio Garribba, Giovanni Micera: *Interaction between the low molecular mass components of blood serum and the VO(IV)-DHP system (DHP = 1,2-dimethyl-3-hydroxy-4(1H)-pyridinone).* Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions (11) (2002) 2275-2282.

⁷⁰ Tamás Kiss, Erzsébet Kiss, Giovanni Micera, Daniele Sanna: *The formation of ternary complexes between VO(maltolate)₂ and small bioligands.* Inorganica Chimica Acta 283(1) (1998) 202-210.

⁷¹ Erzsébet Kiss, Eugenio Garribba, Giovanni Micera, Tamás Kiss, Hiromu Sakurai: *Ternary complex formation between VO(IV)-picolinic acid or VO(IV)-6-methylpicolinic acid and small blood serum bioligands.* Journal of Inorganic Biochemistry 78(2) (2000) 97-108.

- ⁷² Károly Atkári, Tamás Kiss, Roberta Bertani, R. Bruce Martin: *Interactions of Aluminum(III) with Phosphates*. Inorganic Chemistry 35(24) (1996) 7089-7094.
- ⁷³ *Metal ions in Biological systems* (szerkesztők: Helmut Sigel és Astrid Sigel) Marcel Dekker, New York (1995) 31. kötet, 9. fejezet; Paul J. Stankiewicz, Alan S. Tracey and Debbie C. Crans: *Inhibition of Phosphate-Metabolizing Enzymes by Oxovanadium(V) Complexes*. 287-324 oldal.
- ⁷⁴ *Biocoordination Chemistry* (szerkesztő: Kálmán Burger) Horwood, London, Egyesült Királyság (1990) 4. fejezet; Imre Sóvágó: *Metal complexes of peptides and their derivatives*. 139-184. oldal.
- ⁷⁵ Helmut Sigel, R. Bruce Martin: *Coordinating properties of the amide bond. Stability and structure of metal ion complexes of peptides and related ligands*. Chemical Reviews (Washington, DC, United States) 82(4) (1982) 385-426.
- ⁷⁶ Imre Sóvágó, Daniele Sanna, Alessandro Dessi, Katalin Várnagy, Giovanni Micera: *EPR and potentiometric reinvestigation of copper(II) complexation with simple oligopeptides and related compounds*. Journal of Inorganic Biochemistry 63(2) (1996) 99-117.
- ⁷⁷ Tamás Gajda, Bernard Henry, Jean Jacques Delpuech: *Complexes of copper(II) ion with histamine-containing dipeptides: formation constants and structure*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (1972-1999) (8) (1993) 1301-6.
- ⁷⁸ Yukio Sugiura, Yoshinobu Hirayama: *Copper(II) and nickel(II) complexes of sulfhydryl and imidazole containing peptides: characterization and a model for "blue" copper sites*. Journal of the American Chemical Society 99(5) (1977) 1581-5.
- ⁷⁹ Elena Bermejo Gonzalez, Niamh Nic Daeid, Kevin B. Nolan, Etelka Farkas: *Complex formation between transition metal ions and salicylglycine, a metabolite of aspirin*. Polyhedron 13(10) (1994) 1495-9.
- ⁸⁰ Tamás Jakusch, Ágnes Dörnyei, Isabel Correia, Ligia M. Rodrigues, Gábor K. Tóth, Tamás Kiss, João Costa Pessoa, Susana Marcão: *Interaction of V^{VO} , V^{VO}_2 and Cu^{II} with a peptide analogue SalGly-L-Ala*. European Journal of Inorganic Chemistry (11) (2003) 2113-22.
- ⁸¹ João Costa Pessoa, Isabel Correia, Tamás Kiss, Tamás Jakusch, Margarida M. C. A. Castro, Carlos F. G. C. Geraldes: *Oxovanadium(IV and V) and copper(II) complexes of N-salicyl-glycylglycine and N-salicyl-glycylglycylglycine*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions (23) (2002) 4440-50.
- ⁸² Béla Gyurcsik, Tamás Gajda, László Nagy, Kálmán Burger: *Equilibrium and structural studies on proton and copper(II) complexes of N-D-gluconylglycine*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions (19) (1992) 2787-92.
- ⁸³ Csaba Gábor Ágoston, Teresa Kowalik Jankowska, Imre Sóvágó: *Potentiometric and NMR studies on palladium(II) complexes of oligoglycines and related ligands with non-co-ordinating side chains*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (18) (1999) 3295-3302.
- ⁸⁴ A. E. Martell, K. E. Kim: *Infrared spectra and coordinate bonding of copper(II) and nickel(II) polyglycine chelates in aqueous solution*. Journal of Coordination Chemistry 4(1) (1974) 9-18.
- ⁸⁵ Péter Surdy, Patrice Rubini, Norbert Búzás, Bernard Henry, Lorenzo Pellerito, Tamás Gajda: *Interaction of Dimethyltin(IV)²⁺ Cation with Gly-Gly, Gly-His, and Some Related Ligands. A New Case of a Metal Ion Able To Promote Peptide Nitrogen Deprotonation in Aqueous Solution*. Inorganic Chemistry 38(2) (1999) 346-352.
- ⁸⁶ Krisztina Gajda-Schranz, Attila Jancsó, C. Pettinari, Tamás Gajda: *Thiolate anchor in organotin(IV) induced amide deprotonation: equilibrium and NMR spectroscopic studies on dimethyltin(IV) complexes formed with N-(2-mercaptopropionyl)glycine and L-alanyl-glycine*. Dalton Transactions (14) (2003) 2912-2916.
- ⁸⁷ Attila Jancsó, Bernard Henry, Patrice Rubini, György Vankó, Tamás Gajda: *Dimethyltin(IV) cation induced amide deprotonation of aspartic acid containing dipeptides*, Dalton (12) (2000) 1941-1947.
- ⁸⁸ Attila Jancsó, Tamás Gajda, Attila Szorcsik, Tamás Kiss, Bernard Henry, György Vankó, Patrice Rubini: *Potentiometric and spectroscopic studies on the dimethyltin(IV) complexes of 2-hydroxyhippuric acid*. Journal of Inorganic Biochemistry 83(2-3) (2001) 187-192.

- ⁸⁹ Béla Gyurcsik, Norbert Búzás, Tamás Gajda, László Nagy, Ernő Kuzmann, Attila Vertes, Kálmán Burger: *The stability and structure of complex species formed in equilibrium reactions of diethyltin(IV) with N-D-gluconylamino acids in aqueous solution*. Zeitschrift fuer Naturforschung, B: Chemical Sciences 50(4) (1995) 515-23.
- ⁹⁰ Antonis T. Vlahos, Themistoklis A. Kabanos, Catherine P. Raptopoulou, Aris Terzis: *Novel vanadium (III/IV) compounds with the diamidate ligand 1,2-bis(2-pyridinecarboxamide)benzene (H2bpb)*. Chemical Communications (Cambridge) (3) (1997) 269-270.
- ⁹¹ Evangelos J. Tolis, Vasilios I. Teberekidis, Catherine P. Raptopoulou, Aris Terzis, Michael P. Sigalas, Yiannis Deligiannakis, Themistoklis A. Kabanos: *The effect of charged axial ligands on the EPR parameters in oxovanadium(IV) compounds: an unusual reduction of the $A_z(^{51}\text{V})$ values*. Chemistry-A European Journal 7(12) (2001) 2698-2710.
- ⁹² Charles R. Cornman, Edward P. Zovinka, Yvette D. Boyajian, Katherine M. Geiser-Bush, Paul D. Boyle, Phirtu Singh: *Structural and EPR Studies of Vanadium Complexes of Deprotonated Amide Ligands: Effects on the ^{51}V Hyperfine Coupling Constant*. Inorganic Chemistry 34(16) (1995) 4213-19.
- ⁹³ Antonis T. Vlahos, Evangelos I. Tolis, Catherine P. Raptopoulou, Alexandros Tsohos, Michael P. Sigalas, Aris Terzis, Themistoklis A. Kabanos: *Model Investigations of Vanadium-Protein Interactions: Novel Vanadium(III) and Oxovanadium(IV) Compounds with the Diamidate Ligand 1,2-Bis(2-pyridinecarboxamide)benzene (H2bpb)*. Inorganic Chemistry 39(14) (2000) 2977-2985.
- ⁹⁴ Themistoklis A. Kabanos, Anastasios D. Keramidas, Aggelos B. Papaioannou, Aris Terzis: *Synthesis and characterization of vanadium(III) and oxovanadium(IV/V) species with deprotonated amide ligands*. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications (7) (1993) 643-5.
- ⁹⁵ Anastasios D. Keramidas, Aggelos B. Papaioannou, Antonis Vlahos, Themistoklis A. Kabanos, George Bonas, Alexandros Makriyannis, Cathrin P. Raptopoulou, Aris Terzis: *Model Investigations for Vanadium-Protein Interactions. Synthetic, Structural, and Physical Studies of Vanadium(III) and Oxovanadium(IV/V) Complexes with Amidate Ligands*. Inorganic Chemistry 35(2) (1996) 357-67.
- ⁹⁶ Themistoklis A. Kabanos, Anastasios D. Keramidas, Dimitris Mentzafos, Aris Terzis: *Vanadyl(IV)-amide binding: The preparation and x-ray crystal structure of $[\text{VO}(\text{pycac})]$ {H2pycac = N-[2-(4-oxopentan-2-ylideneamino)phenyl]pyridine-2-carboxamide}*. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications (23) (1990) 1664-5.
- ⁹⁷ Graeme R. Hanson, Themistoklis A. Kabanos, Anastasios D. Keramidas, Dimitris Mentzafos, Aris Terzis: *Oxovanadium(IV)-amide binding. Synthetic, structural, and physical studies of {N-[2-(4-oxopent-2-en-2-ylamino)phenyl]pyridine-2-carboxamido}oxovanadium(IV) and {N-[2-(4-phenyl-4-oxobut-2-en-2-ylamino)phenyl]pyridine-2-carboxamido}oxovanadium(IV)*. Inorganic Chemistry 31(12) (1992) 2587-94.
- ⁹⁸ A. S. Borovik, Torin M. Dewey, Kenneth N. Raymond: *Amidate ligands for the oxovanadium(IV) cation: design, synthesis, structure, and spectroscopic and electrochemical properties*. Inorganic Chemistry 32(4) (1993) 413-21.
- ⁹⁹ Anastasios J. Tasiopoulos, Antonis T. Vlahos, Anastasios D. Keramidas, Themistoklis A. Kabanos, Yiannis G. Deligiannakis, Catherine P. Raptopoulou, Aris Terzis: *Models of oxovanadium(IV)-protein interactions: the first oxovanadium(IV) complexes with dipeptides*. Angewandte Chemie, International Edition in English 35(21) (1996) 2531-2533.
- ¹⁰⁰ Anastasios J. Tasiopoulos, Anastasios N. Troganis, Angelos Evangelou, Catherine P. Raptopoulou, Aris Terzis, Yiannis Deligiannakis, Themistoklis A. Kabanos: *Synthetic analogs for oxovanadium(IV) - glutathione interaction: an EPR, synthetic and structural study of oxovanadium(IV) compounds with sulfhydryl-containing pseudopeptides and dipeptides*. Chemistry-A European Journal 5(3) (1999) 910-921.
- ¹⁰¹ Anastasios J. Tasiopoulos, Anastasios N. Troganis, Yiannis Deligiannakis, Angelos Evangelou, Themistoklis A. Kabanos, J. Derek Woollins, Alexandra Slawin: *Synthetic analogs for oxovanadium(IV/V)-glutathione interaction: an NMR, EPR, synthetic and structural study of oxovanadium(IV/V) compounds with sulfhydryl-containing pseudopeptides and dipeptides*. Journal of Inorganic Biochemistry 79(1-4) (2000)

159-166.

¹⁰² Anastasios J. Tasiopoulos, Yiannis G. Deligiannakis, J. Derek Woollins, Alexandra M. Z. Slawin, Themistoklis A. Kabanos: *Model investigations for vanadium-protein interactions: first vanadium(III) complexes with dipeptides and their oxovanadium(IV) analogs*. Chemical Communications (Cambridge) (5) (1998) 569-570.

¹⁰³ Anastasios J. Tasiopoulos, Evangelos J. Tolis, John M. Tsangaris, Angelos Evangelou, J. Derek Woollins, Alexandra M. Z. Slawin, Joao Costa Pessoa, Isabel Correia, Themistoklis A. Kabanos: *Model investigations for vanadium-protein interactions: Vanadium(III) compounds with dipeptides and their oxovanadium(IV) analogues*. Journal of Biological Inorganic Chemistry 7(4-5) (2002) 363-374.

¹⁰⁴ Kouichi Fukui, Hiroaki Ohya-Nishiguchi, Hitoshi Kamada: *¹⁴N Coupling Parameters in Oxovanadium (IV)-Amine, -Imine, and -Isothiocyanate Complexes Studied by Electron Spin Echo Envelope Modulation Spectroscopy*. Inorganic Chemistry 36(24) (1997) 5518-5529.

¹⁰⁵ Koichi Fukui, Hiroshi Fujii, Hiroaki Ohya-Nishiguchi, Hitoshi Kamada: *Electron spin-echo envelope modulation spectral properties of amidate nitrogen coordinated to oxovanadium(IV) ion*. Chemistry Letters (3) (2000) 198-199.

¹⁰⁶ João Costa Pessoa, S. M. Luz, R. Duarte, J. J. G. Moura, R. D. Gillard: *Oxovanadium(IV) and amino acids-VI. The systems glycylglycine and glycylglycylglycine + VO²⁺; a potentiometric and spectroscopic study*. Polyhedron 12(23) (1993) 2857-67.

¹⁰⁷ João Costa Pessoa, Susan M. Luz, Robert D. Gillard: *Oxovanadium(IV) complexes of peptides with non-co-ordinating side chains and related ligands; a spectroscopic study*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (4) (1997) 569-576.

¹⁰⁸ Joao Costa Pessoa, Tamás Gajda, Robert D. Gillard, Tamás Kiss, Susana M. Luz, Jose J. G. Moura, Isabel Tomaz, Joao P. Telo, Ibolya Török: *Oxovanadium(IV) complexes of the dipeptides glycyl-L-aspartic acid, L-aspartylglycine and related ligands; a spectroscopic and potentiometric study*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (21) (1998) 3587-3600.

¹⁰⁹ Tamás Kiss, Krisztina Petrohán, Péter Buglyó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, João Costa Pessoa, C. Madeira: *Oxovanadium(IV)-Promoted Peptide-Amide Deprotonation in Aqueous Solution*. Inorganic Chemistry 37(24) (1998) 6389-6391.

¹¹⁰ Ian G. Macara, Kenneth Kustin, Lewis C. Cantley Jr.: *Glutathione reduces cytoplasmic vanadate. Mechanism and physiological implications*. Biochimica et Biophysica Acta 629(1) (1980) 95-106.

¹¹¹ P. C. Jocelyn: *The reduction of oxidized glutathione in erythrocyte haemolysates in pernicious anaemia*. Biochemical journal 77 (1960) 363-8.

¹¹² Alessandro Dessi, Giovanni Micera, Daniele Sanna: *EPR investigation of the oxovanadium(IV) complexes formed by the tripeptide glutathione and some related ligands in aqueous solution*. Journal of Inorganic Biochemistry 52(4) (1993) 275-86.

¹¹³ Tetsuko Goda, Hiromu Sakurai, Tetsuhiko Yashimura: *Structures of oxovanadium(IV)-glutathione complexes and reductive complex formation between glutathione and vanadate (+5 oxidation state)*. Nippon Kagaku Kaishi (4) (1988) 654-61.

¹¹⁴ João Costa Pessoa, Isabel Tomaz, Tamás Kiss, Péter Buglyó: *The system VO²⁺ + oxidized glutathione: a potentiometric and spectroscopic study*. Journal of inorganic biochemistry 84(3-4) (2001 Apr) 259-70.

¹¹⁵ João Costa Pessoa, Isabel Tomaz, Tamás Kiss, Erzsébet Kiss, Péter Buglyó: *The systems V^{IV}O²⁺-glutathione and related ligands: a potentiometric and spectroscopic study*. JBIC, Journal of Biological Inorganic Chemistry 7(3) (2002) 225-40.

¹¹⁶ Evangelos J. Tolis, Manolis J. Manos, Aris Terzis, Catherine P. Raptopoulou, Themistoklis A. Kabanos: *Mimicking the oxidized glutathione-V^{IV}O²⁺ species*. Dalton Transactions (5) (2003) 775-777.

¹¹⁷ Hiroyuki Yasui, Yasuo Kunori, Hiromu Sakurai: *Specific binding of vanadyl ion (VO²⁺) with thiolate of the cysteine-34 residue in serum albumin, demonstrated by CD spectroscopy and kinetic property*. Chemistry Letters 32(11) (2003) 1032-1033.

- ¹¹⁸ N. Dennis Chasteen, John K. Grady, Clive E. Holloway: *Characterization of the binding, kinetics, and redox stability of vanadium(IV) and vanadium(V) protein complexes in serum*. Inorganic Chemistry 25(16) (1986) 2754-60.
- ¹¹⁹ István Nagypál, István Fábián: *NMR relaxation studies in solution of transition metal complexes. V. Proton exchange reactions in aqueous solutions of vanadyl-oxalic acid, -malonic acid systems*. Inorganica Chimica Acta 61(1) (1982) 109-13.
- ¹²⁰ Gunnar Gran: *Determination of the equivalent point in potentiometric titrations*. Acta Chemica Scandinavica 4 (1950) 4 559-77.
- ¹²¹ Tamás Kiss, Péter Buglyó, Daniele Sanna, Giovanni Micera, Patrick Decock, Dorothee Dewaele: *Oxovanadium(IV) complexes of citric and tartaric acids in aqueous solution*. Inorganica Chimica Acta 239 (1-2) (1995) 145-53.
- ¹²² Ferdinand Schneider, Hans Ulrich Geyer: *A simple method for the preparation of N-D-gluconylamino acids*. Hoppe-Seyler's Zeitschrift fuer Physiologische Chemie 330 (1963) 189-92.
- ¹²³ Harry M. N. H. Irving, Malcolm G. Miles, Leslie D. Pettit: *A study of some problems in determining the stoichiometric proton dissociation constants of complexes by potentiometric titrations using a glass electrode*. Analytica Chimica Acta 38(4) (1967) 475-88.
- ¹²⁴ *Computational Methods for the Determination of Formation Constants* (Szerkesztő: D. J. Leggett), Plenum Press, New York, (1991); L. Zékány, I. Nagypál: *PSEQUAD: A Comprehensive Program for evaluation of Potentiometric and/or Spectrophotometric Equilibrium Data Using Analytical Derivatives x-y*.
- ¹²⁵ Antal Rockenbauer, László Korecz: *Automatic computer simulations of ESR spectra*. Applied Magnetic Resonance 10(1-3) (1996) 29-43.
- ¹²⁶ Tamás Jakusch, Péter Buglyó, Ana Isabel Tomaz, João Costa Pessoa, Tamás Kiss: *Thiolate-S as anchoring donor in the binary and ternary VO(IV) complexes of mercaptopropionylglycine*. Inorganica Chimica Acta 339 (2002) 119-128.
- ¹²⁷ João Costa Pessoa, L. F. Vilas Boas, R. D. Gillard, R. J. Lancashire: *Oxovanadium(IV) and amino acids I. The system L-alanine + oxovanadium(2+). A potentiometric and spectroscopic study*. Polyhedron 7(14) (1988) 1245-62.
- ¹²⁸ Adriana Lorenzotti, Dante Leonesi, Augusto Cingolani, Plinio Di Bernardo: *Vanadyl(IV) monocarboxylate complexes in aqueous solution*. Inorganica Chimica Acta 52(2) (1981) 149-52.
- ¹²⁹ Péter Buglyó, Tamás Kiss: *Formation of a tris complex in the vanadium(IV)-tiron system*. Journal of Coordination Chemistry 22(4) (1991) 259-68.
- ¹³⁰ Péter Buglyó, Erzsébet Kiss, István Fábián, Tamás Kiss, Daniele Sanna, Eugenio Garribba, Giovanni Micera: *Speciation and NMR relaxation studies of VO(IV) complexes with several O-donor containing ligands: oxalate, malonate, maltolate and kojate*. Inorganica Chimica Acta 306(2) (2000) 174-183.
- ¹³¹ T. Walter Duma, Robert D. Hancock: *The affinity of the vanadyl(IV) ion for nitrogen donor ligands*. Journal of Coordination Chemistry 31(2) (1994) 135-46.
- ¹³² Evangelos J. Tolis, Manolis J. Manos, Anastasios J. Tasiopoulos, Catherine P. Raptopoulou, Aris Terzis, Michael P. Sigalas, Yiannis Deligiannakis, Themistoklis A. Kabanos: *Monomeric compounds containing the cis-[V([double bond]O)(OH)⁺ core*. Angewandte Chemie (International ed. in English) 41(15) (2002) 2797-801.
- ¹³³ Georgios D. Triantafyllou, Evagelos I. Tolis, Aris Terzis, Yiannis Deligiannakis, Catherine P. Raptopoulou, Michael P. Sigalas, Themistoklis A. Kabanos: *Monomeric Oxovanadium(IV) Compounds of the General Formula cis-[V^{IV}(=O)(X)(L_{NN})₂]^{+/-0} {X = OH, Cl, SO₄²⁻ and L_{NN} = 2,2'-Bipyridine (Bipy) or 4,4'-Disubstituted Bipy}*. Inorganic Chemistry 43(1) (2004) 79-91.
- ¹³⁴ Béla Gyurcsik, Tamás Jakusch, Tamás Kiss: *Oxovanadium(IV) complexes of N-D-gluconylamino acids*. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions (7) (2001) 1053-1057.
- ¹³⁵ Mario Branca, Giovanni Micera, Alessandro Dessi, Daniele Sanna: *Oxovanadium(IV) complex formation by simple sugars in aqueous solution*. Journal of Inorganic Biochemistry 45(3) (1992) 169-77.

- ¹³⁶ Giovanni Micera, Daniele Sanna, Alessandro Dessi, Tamás Kiss, Péter Buglyó: *Complex-forming properties of α -hydroxycarboxylic acids with oxovanadium(IV) ion*. *Gazzetta Chimica Italiana* 123(10) (1993) 573-7.
- ¹³⁷ A. Syamal: *Spin-spin coupling in oxovanadium(IV) complexes*. *Coordination Chemistry Reviews* 16(4) (1975) 309-39.
- ¹³⁸ Gyüresik Béla : Horgony donor csoportok szerepe a cikortípusú ligandumok koordinációs kémiájában. Kandidátusi értekezés, JATE, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szeged, 1996
- ¹³⁹ Malgorzata Jezowska-Bojczuk, Henryk Kozlowski, András Zubor, Tamás Kiss, Mario Branca, Giovanni Micera, Alessandro Dessi: *Potentiometric and spectroscopic studies on oxovanadium(IV) complexes of salicylic acid and catechol and some derivatives*. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry* (1972-1999) (9) (1990) 2903-7.

Függelék I.

A 2. táblázat elkészítéséhez felhasznált irodalom:

Inorganic Chemistry, 33 (1994) 6341
Inorganic Chemistry, 33 (1994) 6343
Inorganic Chemistry, 37 (1998) 142-145
Inorganic Chemistry, 37 (1998) 3119-3122
Inorganic Chemistry, 37 (1998) 6645-6655
Inorganic Chemistry, 38 (1999) 2288-2293
Inorganic Chemistry, 38 (1999) 4183-4187
Inorganic Chemistry, 39 (2000) 406-416
Inorganic Chemistry, 40 (2001) 3992-4001
Inorganic Chemistry, 40 (2001) 5772-5779
Inorganic Chemistry, 41 (2002) 2433-2440
Inorganic Chemistry, 42 (2003) 1508-1517
Inorganica Chimica Acta, 267 (1998) 229-238
Inorganica Chimica Acta, 308 (2000) 31-36
Inorganica Chimica Acta, 317 (2001) 33-44
Journal of Inorganic Biochemistry, 78 (2000) 321-331
Journal of Inorganic Biochemistry, 80 (2000) 35-39
Journal of Inorganic Biochemistry, 88 (2002) 108-112
Polyhedron, 14 (1995) 2411-2418
Polyhedron, 14 (1995) 293-296
Polyhedron, 15 (1996) 2387-2395
Polyhedron, 15 (1996) 4435-4441
Polyhedron, 16 (1997) 1517-1529
Polyhedron, 16 (1997) 1517-1530
Polyhedron, 16 (1997) 1863-1871
Polyhedron, 16 (1997) 1863-1871
Polyhedron, 18 (1999) 2533-2536
Polyhedron, 18 (1999) 3035-3039
Polyhedron, 19 (2000) 69-76
Polyhedron, 21 (2002) 2021-2026

Függelék II.

A pH metriás mérések kivitelezésekor használt körülmények, össztérfogat, fémion-ligandum arány, illetve a az értékeléskor felhasznált pH tartomány.

Ligandum(ok)	Össztérfogat (cm ³)	M : L ¹ (: L ²) [mM : mM: (mM)]	Értékeléskor felhasznált pH tartomány
mpg	25	4 : 4	2 – 4,4
		2 : 4	2 – 4,6
		1 : 4	2,5 – 5
		1,5 : 8,5	2 – 4,9
		1 : 8,5	2 – 5
		0,8 : 8	2 – 11,4
		2 : 24	2 – 11
		2 : 30	2 – 11,5
bpy	25	4 : 4	2-5
		2 : 2	2-5
		2 : 4	2-5,5
		1 : 2	2-5,5
		1 : 4	2-6
mpg-bpy	25	4:4:4	2-6,1
		4:8:4	2-8,7
		2:8:2	2-9,1
mpg-tiron	25	2:2:2	2-5,4
		2:4:2	2-5,5
		2:8:2	2-11
		2:12:2	2-11
mpg-maltol	25	4:4:4	2-4
		4:8:4	2-4
		4:16:4	2-9,4
		4:24:4	2-9,5
		1,5:12:2	2-9,3
mpg-ox	25	2:2:2	2-5,2
		2:4:2	2-6,0
		2:8:2	2-8,7
		2:12:2	2-9
		2:16:2	2-8,8
GLU-Gly	25	2 : 4	2-4
		0,5 : 3	2-11
		4: 20	2-8,8
GLU-β-Ala	25	1 : 1	2-10
		4 : 4	2-11
		1 : 2	2-10
		0,5 : 2	2-11
		0,5 : 4	2-11
		4 : 20	2-10,5
GLU-Ser	25	4 : 8	2 : 11
		1,5 : 7,5	2 : 11
		0,65 : 4	2 : 11

Ligandum(ok)	Össztérfogat (cm ³)	M : L ¹ (: L ²) [mM : mM: (mM)]	Értékeléskor felhasznált pH tartomány
² SalH GlyGly	25	4 : 4 2 : 4 1 : 2 1 : 4 1 : 6	2 – 4,5 2 – 8 2 – 8 2 – 8 2 – 7,5
² SalH GlyGlyGly	25	4 : 4 2 : 4 1 : 2 1 : 4 1 : 6	2 – 4,5 2 – 7,5 2 – 7,5 2 – 8,1 2 – 7,1
SalGly-L-Ala	10	4:4	2-4
	10	2:4	2-5,7
	10	1:2	2-8,6
	10	1,5:4	2-11,2
	5	4:10	2-11,2
	10	0,8:4	2-11,2
Sal-L-Asp	10	4 : 4	2 - 5,7
		2 : 2	2,5 - 8,3
		2 : 4	2 - 8,4
		1 : 2	2 - 8,9
SalGly-L-Asp	8,4 8,2 6,3 5,5 9,6	1 : 4	2 - 9
		1 : 1	2-4,9
		2 : 3	2-6
		1 : 2	2-11
		2 : 4	2-5,4
		0,5 : 2,5	2-11

Függelék III.

Néhány vegyes hidroxokomplexek kialakulására jellemző pK érték

Ligandum	Töltés	Szabad koord. hely	pK _{VOL2}	pK _{VOL}	pH*	Ref.
N-2,2'bipiridil	2	3		4,71	4,09	1
N-2,2'bipiridil	2	1	4,98			1
6-metil-picolinsav	1	3			4,86	2
picolinsav	1	3			4,94	2
maltol (2-metil-3-hidroxi-4-piron)	1	3			5,1	3
glicin	1	3		5,21		4
malonsav	0	3		5,07		5
oxálsav	0	3			5,23	6
imino-diecetsav (IDA)	0	2		5,41		7
tiron**	0	3		5,93		8
catechol	0	3		6,54	6,64	9
szalicilsav	0	3		6,65	6,02	9
dipikolinsav	0	2		6,72		10
malonsav	0	1	6,92			5
picolinsav	0	1	6,98			2
4-acetil-imidazol	0	1	7,6			11
glicin	0	1	7,72			4
alanin	0	1	8		5,32	12
2-hidroxi-nikotinsav	0	1	8,38			13
maltol	0	1	8,79			3
3-hidroxi-pikolinsav	0	1	10,47			13
N-foszfonometil-glicin (IdaP)	-1	2		6,67		7
foszfonoetánsav	-1	2		6,76		
nitrilo-triecetsav (NTA)	-1	1		7,11		7
dipicolinsav	-2	1	6,85			10
imino-bis(metilfoszfonsav) (Ida2P)	-2	2		7,24		7
N-foszfonometil-iminodiecetsav (NtaP)	-2	1		8,08		7
szalicilsav	-2	1	9,65			9
N,N-bis(foszfonometil)-glicin (Nta2P)	-3	1		8,91		7
nitrilo-tris(metilfoszfonsav) (Nta3P)	-4	1		9,33		7

* pH ahol [VOL] = 1 mM és [(VO)₂L₂H₂] = 0,5 mM feltételek mellett a 2 VOL = (VO)₂L₂H₂ + 2 H⁺ reakció egyenúlyban van.

** Dinátrium-4,5-dihidroxi-1,3-benzoldisulfonát

1. Inorganica Chimica Acta 339 (2002) 119-128.
2. Journal of Inorganic Biochemistry 78(2) (2000), 97-108.
3. Inorganica Chimica Acta 283(1) (1998) 202-210.
4. Inorganica Chimica Acta 62(2) (1982) 193-9.
5. Inorganica Chimica Acta 61(1) (1982) 109-13.
6. Inorganica Chimica Acta 306(2) (2000) 174-183.
7. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (18) (1999) 3275-3282.
8. Journal of Coordination Chemistry 22(4) (1991) 259-68.
9. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (9) (1990) 2903-7.
10. Journal of Inorganic Biochemistry 95(1) (2003) 1-13.
11. Inorganica Chimica Acta 268(2) (1998) 297-305.
12. Polyhedron 7(14) (1988) 1245-62.
13. Polyhedron 19(1) (2000), 55-61.
14. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions: Inorganic Chemistry (8) (1996) 1779.