

# **Az alumínium(III)ion kölcsönhatása peptidekkel, aminosav- és peptidszármazékokkal**

**Doktori (Ph.D.) értekezés**

**Kilyén Melinda**

**Témavezetők: Prof. Dr. Kiss Tamás egyetemi tanár**

**Dr. Labádi Imre egyetemi docens**

**Magyar Tudományos Akadémia  
Bioszervetlen Kémiai  
Kutatócsoport**

**Szegedi Tudományegyetem  
Szervetlen és Analitikai Kémiai  
Tanszék**

**Szeged, 2004.**

## Tartalomjegyzék

<b>1. Bevezetés és célkitűzések</b> .....	1
1.1. Az alumínium(III)ion toxikussága .....	3
1.2. Az Alzheimer-kór .....	4
1.3. Az alumínium(III)ion és az Alzheimer-kór közötti kapcsolat .....	5
1.4. Aminofoszfónatok jelentősége .....	8
<b>2. Irodalmi áttekintés</b> .....	9
2.1. Az alumínium(III)ion kémiai formái különböző biológiai rendszerekben .....	9
2.2. Az alumínium(III)ion koordinációs kémiai jellemzése .....	9
2.2.1. Az alumínium(III)ion hidroxokomplexei vizes oldatban .....	10
2.2.2. Aminosavak, peptidok és fehérjék Al(III)-kötő képességének jellemzése .....	12
2.2.2.1. Aminosavak Al(III) komplexei .....	12
2.2.2.2. Peptidek Al(III) komplexei .....	13
2.2.2.3. Fehérjék Al(III) komplexei .....	16
2.3. A vizsgált rendszerek irodalmi előzményei .....	17
2.3.1. Szalicilglicin komplexek .....	17
2.3.2. Aszparaginsav-tartalmú komplexek .....	17
2.3.3. AcLysSerProValValGluGly heptapeptid.....	18
2.3.4. Aminofoszfónát komplexek .....	18
<b>3. Kísérleti rész</b> .....	20
3.1. Felhasznált anyagok .....	20
3.2. Potenciometriás mérések .....	20
3.3. NMR-spektroszkópiás mérések .....	23
3.4. Spektrofotometriás mérések .....	23
3.5. Dinamikus fényszórás-mérések .....	24
<b>4. Eredmények és értékelésük</b> .....	25
4.1. A szalicilglicin Al(III)-kötő sajátosságának jellemzése .....	26
4.1.1. Potenciometriás vizsgálatok .....	26
4.1.2. Spektrofotometriás mérések .....	30
4.1.3. Dinamikus fényszórás-mérések .....	33

4.2. Az Al(III) kölcsönhatása aszparaginsav-tartalmú peptidekkel .....	34
4.2.1. Potenciometriás vizsgálatok .....	34
4.2.1.1. Potenciometriás eredmények az Al(III)–AspAsp rendszerben .....	34
4.2.1.2. Potenciometriás eredmények az Al(III)–AspAspAsp rendszerben .....	36
4.2.2. NMR-spektroszkópiai vizsgálatok .....	39
4.2.2.1. NMR-spektroszkópiai mérések az Al(III)–AspAsp rendszerben .....	39
4.2.2.2. NMR-spektroszkópiai mérések az Al(III)–AspAspAsp rendszerben .....	42
4.3. Az AcLysSerProValValGluGly heptapeptid Al(III)-kötő sajátságának jellemzése ....	46
4.3.1. Potenciometriás vizsgálatok .....	46
4.3.2. NMR-spektroszkópiai mérések .....	48
4.4. Az imino-diecetsav, a nitrilo-triecetsav, valamint a részben és teljesen foszfonált származékaik koordinációs sajátságai alumínium(III)ionnal .....	55
4.4.1. Potenciometriás vizsgálatok .....	56
4.4.1.1. Az Al(III)–IDA-, IDAP-, IDA2P-rendszerek potenciometriás eredményei .....	56
4.4.1.2. Az Al(III)–NTA-, NTAP-, NTA2P-, NTA3P-rendszerek potenciometriás eredményei .....	60
4.4.1.3. Az Al(III)-, Cu(II-) és VO(IV)ionok IDA, NTA, valamint a részben, illetve a teljesen foszfonált származékok stabilitásának összehasonlítása .....	64
4.4.2. NMR-spektroszkópiai vizsgálatok .....	66
4.4.2.1. Az Al(III)–IDA-, IDA2P-rendszerek NMR-spektroszkópiai mérései .....	66
4.4.2.2. Az Al(III)–NTA-, NTA3P-rendszerek NMR-spektroszkópiai mérései .....	69
<b>5. Összefoglalás .....</b>	<b>72</b>
<b>6. Summary .....</b>	<b>75</b>
<b>7. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>79</b>
<b>8. Az értekezés anyagához kapcsolódó közlemények .....</b>	<b>86</b>
<b>9. A szerző egyéb közleményei .....</b>	<b>87</b>
<b>Köszönetnyilvánítás</b>	

## 1. Bevezetés és célkitűzések

A biológiai rendszerekre ható, akár létfontosságú, akár toxikus fémionok biológiai folyadékokban való előfordulásuk/részecskeeloszlásuk ismerete alapvető fontosságú ezen fémionok fiziológiai, gyógyászati vagy toxikológiai hatásának jellemzésében. Nagyszámú kísérleti tapasztalat támasztja alá azt a ma már elfogadott tényt, hogy az alumínium(III)ion, például idegméreg (neurotoxikus elem) [96Al, 96Re, 00Yo, 01Ca]. Összefüggésbe hozható olyan betegségekkel, mint például csontlágylás, egy jellegzetes vérszegénység vagy éppen az Alzheimer-kórral. Az alumínium(III)ion hatásainak megértésében kulcskérdés a fémion hozzáférhetősége a biológiai rendszerek számára, hiszen alig igaz az, hogy a toxikus hatásért ugyanaz a molekula/komplex lesz felelős, mint ami bekerült a szervezetbe.

A különböző Al(III)-komplexek ligandumcsere reakcióinak sebessége széles határok között változik. Amíg néhány szervetlen ligandummal a komplexképződés gyors, addig még az olyan egyszerű ligandummal is, mint a citromsav egyes oligomer törzskomplexeinek vagy vegyes hidroxokomplexeinek képződése napokat-heteket is igénybe vehet. A részecskeeloszlási modell lényegesen különbözhet attól függően, hogy méréseink során csak a viszonylag gyors komplexképződési folyamatokat követjük nyomon, vagy a rendszer valódi termodinamikai egyensúlyát vizsgáljuk. A képződő komplexek stabilitása, valamint a kinetikai tényezők határozzák meg azt, hogy fiziológiás körülmények között melyik lesz az Al(III)-szállító molekula, amely tulajdonképpen az Al(III) biológiai hatásáért lesz felelős.

Az Al(III) kölcsönhatásba léphet az élő szervezetben előforduló fehérjék építőköveivel, például a peptidekkel, amelyek a sejtek felépítésében nemcsak passzívan szerepelnek, hanem aktívan is részt vesznek a biológiai folyamatok szabályozásában. Exley és munkatársai [99Ex] kimutatták, hogy az alumínium(III)ion toxikus hatásának egyik oka lehet az Al(III) erős kötődése bizonyos ligandumokhoz. Az Al(III) gyakran helyettesítheti a Mg(II) és a Ca(II)ionokat a különböző biomolekulákkal, többek között peptidekkel és fehérjékkel képzett, biokémiai szempontból jelentős komplexeiben, ezáltal számos Mg(II)- és Ca(II)-függő enzim és fehérje működését is megzavarja [94Ma, 99Ex].

Ezen megfontolások alapján úgy gondoltuk, hogy az Al(III)–fehérje kölcsönhatás modellezése céljából érdekes lehet megvizsgálni az alumínium(III)ion kölcsönhatását különböző peptidekkel, illetve a peptidek egyéb modellvegyületeivel.

Munkánk során vizsgáltuk az Al(III)–szalicilglicin (SalGly), Al(III)–diaszparaginsav (AspAsp), Al(III)–triaszparaginsav (AspAspAsp), Al(III)–AcLysSerProValValGluGly heptapeptid rendszereket, valamint az Al(III)–imino-diecetsav (IDA), Al(III)–nitrilotriecetsav (NTA), illetve ezek részben foszfonált (IDAP, NTAP, NTA2P) és teljesen foszfonált származékainak (IDA2P, NTA3P) komplexképződését. Az aminoszfonátokra azért esett a választásunk, mert korábban Hollósi és munkatársai [94La, 96Fa] kimutatták, hogy a foszforilált peptidok a foszfátcsoport bevitelével jobban növelik a peptidok fémionkötő-képességét, mint az egyszerű nemfoszforilált peptidok. A képződő intermolekuláris Al(III)-komplexeknek még nagyobb szerepük lehet a peptidaggregációs folyamatok kiváltásában, így módon az Alzheimer-kór előrehaladásában. Úgy gondoljuk, hogy az amino-polifoszfonátok foszfonátcsoportjaik révén modellezhetik a foszforilált peptidok kölcsönhatását alumínium(III)ionnal.

Munkánkat nagymértékben segítették a Debreceni Egyetem, valamint a Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszékén már évtizedek óta elkezdett kísérletek, az alumínium(III)ionnak biológiai jelentőségű molekulákkal való kölcsönhatását és a képződő komplexek oldategyensúlyi és oldatszerkezeti viszonyait vizsgáló kutatások.

Érdemes megemlíteni, hogy az Al(III)–peptidrendszerek jellemzésére igen kevés irodalmi adatot találtunk. Ez is indokolta ennek részletesebb tanulmányozását.

Célul tűztük ki, hogy:

1. olyan peptidet keressünk, amely az alumínium(III)iont fiziológias körülmények között (pH = 7,4) is oldatban tartja és így modellezheti az Al(III) kölcsönhatását az élő szervezetekben;
2. meghatározzuk az alumínium(III)ion és az említett ligandumok részecskeeloszlását és a képződő komplexek stabilitási állandóit vizes oldatban;
3.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  és  $^{31}\text{P}$  NMR-spektroszkópia alkalmazásával közvetlenül is alátámasztjuk az egyensúlyi adatok alapján meghatározott részecskeeloszlást;
4. a stabilitási állandók, az NMR-spektroszkópia, valamint egyéb módszerek segítségével meghatározzuk a képződő komplexekben a ligandumok kötőhelyeit;

## 1.1. Az alumínium(III)ion toxikussága

Hosszú időn keresztül az volt az általánosan elfogadott nézet, hogy az alumínium(III)ionnak nincs semmiféle biológiai szerepe. Ártalmatlannak tekintették az élő szervezetek számára, hiszen a természetben rosszul oldódó hidroxidok, szilikátok, foszfátok formájában fordul elő és ennek megfelelően biológiai hozzáférhetősége korlátozott. Az utóbbi évtizedekben azonban elsősorban a savas esők, az étrend egyes gyógyszerek és kozmetikumok jelentősen megnövelték az alumínium(III)ion mobilitását, ezáltal több alumínium kerülhet a szervezetbe és így nőhet az élő szervezetek Al(III)-terhelése [00Ki]. Normális körülmények között egy egészséges szervezet a napi 30–50 mg alumíniumterhelést jól tűri, hiszen az alumínium(III)ion nagy része felszívódás nélkül ürül ki (csak 5–10 µg szívódik fel), a szervezet hatékonyan védekezik az alumínium(III)ionnak nagymértékű felszívódása ellen [91Ma]. Túlzottan nagy alumíniumterhelés vagy a vese elégtelen működése esetén a felszívódott és/vagy ki nem ürült Al(III) mennyisége azonban jelentősen megnőhet. A gyomor-bélrendszeren keresztül felszívódott Al(III) a véráram útján eljuthat a különböző szervekbe, ahol felhalmozódva kifejtheti káros hatását. Klinikai vizsgálatok bizonyítják az alumínium(III)ionnak az emberi szervezetben való felhalmozódása és egyes betegségek kialakulása közötti összefüggést [00Ro]. Az alumínium(III)ion toxikus hatását elsőként a növényeken vették észre. Az alumínium(III)ionban gazdag talajokban a növények fejlődése lelassul, ami elsősorban a gyökerek elcsökevényesedésében nyilvánul meg. Bár a fitotoxicitás mechanizmusa nagyon összetett és még nem teljesen tisztázott, a kísérletek arra utalnak, hogy a talajban levő szabad alumínium(III)ionok kompetitív reakcióban gátolják a növények kalcium felvételét, többek között hatással vannak a kalcium és a foszfát anyagcseréjére is [88Ta]. A savas esők hatásainak vizsgálata során, összefüggést állapítottak meg a természetes vizek megnövekedett Al(III)-tartalma és a halak pusztulása között is. Azt találták, hogy a halak tűrőképessége alumínium(III)ionnal szemben 4–8 µmol/l, ennél nagyobb koncentrációban jelentős halpusztulás következett be. Az alumínium(III)ion szerepet játszik a halakban az ozmotikus egyensúlyának megbomlásában is, olyan légzési problémák kialakulásában, amit a kopoltyúban található nyálka koagulálódása okoz [89Dr, 96Fl].

A sok vizsgálat ellenére az alumínium(III)ionnak sem anyagcseréje, sem toxikus hatásának mechanizmusa nem teljesen ismert. Számos kutató, pl. Berthon nemrég megjelent összefoglaló közleményében [02Be] részletesen tárgyalta a részecskeeloszlásnak az alumínium(III)ion anyagcseréjében és toxikológiájában játszott meghatározó szerepét.

Véleményünk szerint ebben a témakörben további vizsgálatok mindenképpen indokoltak, hiszen a megjelent közlemények eredményei ellentmondásosak. Az eltérések sok esetben abból erednek, hogy az alumínium(III)iont különböző vegyületek formájában (leggyakrabban valamilyen oldható alumíniumsó vizes oldatát) használták a biológiai, toxikológiai vizsgálatokban ( $\text{AlCl}_3$ , Al(III)-laktát, -glukonát, -citrát, -acetyl-acetonát stb.). Nem fordítottak figyelmet arra, hogy az alumínium milyen formában, milyen kémiai környezetben van jelen, holott ismert, hogy az alumínium(III)ionnak nem minden kémiai formája egyformán toxikus [92Co, 97Gr, 00Ca]. Megbízható eredmények csak akkor remélhetők, ha az adott Al(III)-vegyület kémiaiilag pontosan ismert formában van, hidrolitikusan stabil és el is jut a biológiai célszervhez [89Le, 92Co]. Fiziológias pH-n ( $\text{pH} = 7,4$ ), vizes oldatban az alumínium(III)-sók kis oldékonysága és nagyon lassú ligandumcsere folyamatai határozzák meg a rendszerben lejátszódó reakciókat, ami gyakran rosszul definiált metastabilis állapot kialakulását eredményezi. A toxikológiai vizsgálatokhoz olyan Al(III)-ligandum oldatokat érdemes használni, ahol a ligandum összemérhető koncentrációban történő adagolásával a csapadékkiválás elkerülhető. Ilyen ligandumok, például a tejsav, citromsav, borkősav, glükonsav, maltol, acetyl-aceton.

## 1.2. Az Alzheimer-kór

Az Alzheimer-kór az agy degeneratív elváltozása, mely főként idős korban jelentkezik. A gyógyíthatatlan betegség korai felismerését megnehezíti, hogy a tünetek nem különböznek az időskori feledékenység tüneteitől, másrészt a tudomány mai álláspontja szerint csak agyi biopsziával (mintavétel az élő agyszövetből) ismerhető fel.

A kór jellegzetes agyi elváltozásait elsőként Alois Alzheimer írta le 1907-ben. A betegek agyának kóros elváltozásai: (i) a neuronokon belül a neurofibrilláris fonadékok (NF) megjelenése és (ii) az amiloidban gazdag plakkok felhalmozódása a neuronok közötti térben. Ezen elváltozások együttes jelenléte egyértelműsíti az Alzheimer-kór diagnózisát [94La].

A *neurofibrilláris fonadékok* (NF) két, spirálisan összezsavarodott fehérjeszállból, úgynevezett neurofilamentumból állnak. A neurofilamentumok az idegsejt sejtvezájának alkotói, amelyek fontos szerepet töltenek be a lassú axonális szállításban, a jelátvitelben és az idegsejt egyéb folyamataiban. Egészséges idegsejtben ezek a folyamatok a neuro-

filamentum-fehérjék foszforilációjával valósulnak meg, míg az Alzheimer-kóros betegek-nél ezek a fehérjék túlfoszforilált állapotban vannak.

Az *amiloid* (jelentése: keményítőszerű) 39–42 aminosavból álló kis molekula-tömegű polipeptid, amely a neuronvédő amiloid prekursor fehérje (APP) abnormális lebontásából származik és az Alzheimer-kóros betegek agyában kórosan felhalmozódik. Másodlagos szerkezetére túlnyomóan a  $\beta$ -redőzött konformáció a jellemző.

Ezek a kóros elváltozások a neuronok pusztulásához vezetnek, amely idővel a beteg teljes szellemi leépülését eredményezi. A betegség okai nem ismertek, de valószínűleg több tényező együttesen járul a betegség kialakulásához. Sokan genetikai okokra vezetnek vissza [02Ta, 96Sa], mások környezeti hatásokkal – pl. alumínium(III)ion felhalmozódás [93Ar, 94Sh, 01Cr], vírusfertőzés [96Pa], vérkeringési elégtelenség [96Mc], gyulladásos folyamatok [96Fi, 02He], oxidatív stressz [97Be] – magyarázzák kialakulását. A szervezet kalciumegyensúlyának megbomlása éppúgy gyanúba került, mint az időskori agyi szénhidrát anyagcserezavar. Egyes kutatások az agyi ingerületátvivő anyagok (neurotranszmitterek) egyensúlyhiányát mutatták ki. A korán felismert enyhe és középsúlyos szakaszban gyógyszerekkel a betegség tünetei enyhíthetők, a folyamat romlása késleltethető [01Fa]. Az agyi acetilkolin szintváltozásainak ismeretében fejlesztették ki a gyógyszeres kezelés új lehetőségét, a leggyakrabban alkalmazott acetilkolinészteráz-gátlók második nemzedékét (Rivasztigmin [99Bi, 99Ro], Donepezil [99Bu, 00Gr]). A dezferrioxamin (DFO) – egy Al(III)- és Fe(III)-szelektív kelátképző – gyógyszerként történő alkalmazása is lassítja az Alzheimer-kór előrehaladását [91Mc, 96Sav].

### **1.3. Az alumínium(III)ion és az Alzheimer-kór közötti kapcsolat**

Kimutatták, hogy az Alzheimer-kór közös jelzőanyagai, a neurofilamentumok és az amiloid-plakkok alumínium-oxid és alumínium-szilikát lerakódásokat is tartalmaznak [96Be, 94La]. Ennek alapján felvetődött, hogy az alumínium(III)ionnak köze lehet a betegség kialakulásához. Az alumínium(III)ion, bár elismerten neurotoxikus elem, de az Alzheimer-kórban játszott szerepe nem tisztázott [01Ex]. Többféle módon is hozzájárulhat a betegség előrehaladásához és súlyosbodásához. Úgy tűnik, hogy nincs egységes mechanizmus, amely alapján magyarázni lehetne az alumínium(III)ion hatását a változatos kóros neurokémiai elváltozásokban, azonban valószínűsíthető, hogy az Al(III) oly módon fejti ki hatását, hogy beavatkozik a sejtek anyagcserefolyamataiba. Az Al(III), erős Lewis-



savként és *hard* fémionként kölcsönhatásba léphet számos fehérjével, döntően az oldal-láncokban levő negatívan töltött O-donoratomok révén [92Ma, 96Ki]. *In vivo* és *in vitro* vizsgálatok mutatják, hogy: (i) az Al(III) csökkenti a kolin acetiltransferáz és növeli az acetilkolin-eszteráz enzimek aktivitását [96St, 94Za, 89Be], (ii) gátolja a hexokináz és a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz enzimek működését, beavatkozva ezzel a glükóz metabolizmusába (az Alzheimer-kóros betegeknél csökken az agy glükózfogyasztása) [94Jo, 94Ex], (iii) koncentrációtól függően inhibitora lehet azon foszfatáz és proteáz enzimeknek, amelyek az NF defoszforilációját illetve lebontását végzik [96St], (iiii) növeli a szerin proteázok aktivitását, amelyek részt vesznek a  $\beta$ -amiloid képződésben [96St, 96Sav].

Megnövekedett Al(III)-szintet mutatott ki az Alzheimer-kórban elhunyt betegek agyának szövettani vizsgálata is (úgy a neuronokon kívül, mint neuronokon belül előfordul), viszont nincs egyetértés az Alzheimer-kóros betegek agyi Al(III)-koncentrációját illetően, ugyanis az alkalmazott mérési módszerektől függően más és más értékeket kaptak [96Sav].

Az, hogy az Al(III) okozója-e a neurofibrilláris fonadékok képződésének vagy csak hajlamos a más okok miatt képződő rendellenes fonadékokhoz kötődni, még nem eldöntött kérdés. Több lehetséges út is van, mely során a megnövekedett Al(III)-szint befolyásolhatja az idegsejtekben lezajló folyamatokat. Ismeretes, hogy az Alzheimer-kóros betegek idegsejtjei gazdagok foszforilált fehérjékben, túlfoszforilált fehérjéket is találtak az idegsejtekben, különösen a sejtmagban [85St]. Exley úgy *in vitro*, mint *in vivo* mérések során is kimutatta, hogy az Al(III) az amiloid  $\beta$ -peptid kialakulását az ATP-vel való kölcsönhatáson keresztül is befolyásolhatja [97Ex, 99Ex, 01Ex]. Ismert, hogy a foszforilált fehérjék foszfátcsoportjai a szomszédos karboxilátcsoportokkal együtt erős Al(III)-kötő helyek lehetnek, a fehérjék aggregációját is előidézhetik. Az alumínium(III)ion konformációváltozást idéz elő a neurofilamentum fehérjékben, jelentős mértékben megnövelve a  $\beta$ -lemezes szerkezet arányát [92Ho, 94Ho, 94Sh, 96Fa, 99Ra, 99Ram, 01Kö], amely közismerten neurotoxikus és az idegsejtek pusztulását okozza [91Wa, 94Lo, 93Ara]. Nem tisztázott hogy a neurofilamentum fehérjék „fémionnyelőként” viselkednek vagy a képződésüket az Al(III) jelenléte elősegíti és gyorsítja is.

Egy másik bizonytalan terület az Al(III)-kelátképzők szerepe az idegi rendelleneségek kialakulásában. Rao és munkatársai az Al(III)-maltol komplexéről kimutatták, hogy kóros idegi elváltozásokat idéz elő nyulak agyában [00Ra], így a kelátkomplekxképzőkről még inkább feltételezhető, hogy hozzájárulnak a kóros idegi elváltozások kialakulásához.

Mint már korábban említettem a dezferrioxamin (DFO) alkalmazása az agyban felhalmozódott Al(III) eltávolítására klinikailag is elfogadott eljárás. Egyetlen közlemény számol be a DFO Alzheimer-kóros betegeknél való alkalmazásáról [91Mc], amelyben bemutatták megfigyeléseiket, mely szerint a DFO adagolása lassította az Alzheimer-típusú szellemi leépülést. Sokan kritizálták e cikket [91Da, 94Yo, 96St, 96Sav, 98Sa stb.], de soha senki sem ismételte meg a kísérleteket, valószínűleg az igen szigorú kísérleti körülmények miatt (két évig tartó, napi kétszeri injekciós kezelés).

A 1995-ös vancouveri „Workshop on Aluminium Toxicity”, munkaértekezleten megfogalmazták azokat a kérdéseket, amelyekre válaszolva fényt lehet deríteni az alumínium(III)ionnak az Alzheimer-kórban betöltött szerepének ellentmondásosságára [96Sav]. Természetesen ezeket a kérdéseket nem egyszerű egyértelműen megválaszolni, de meglepő, hogy az elmúlt években milyen kevés eredmény született az alumínium(III)ion és az Alzheimer-kór közötti összefüggések tisztázását illetően. A 90-es évek közepe után jelentős mértékben elhalt az érdeklődés e téma iránt. Valószínű, hogy ez döntően a szórványos röntgendiffrakciós és NMR-vizsgálatoknak tudható be, melyekkel megerősíthető lenne a peptidek/fehérjék Al(III) komplexeinek szerepe a NF-ok és a plakkok képződésében. Számos rangos cikkben az alumínium(III)iont szóba se hozzák, annak ellenére, hogy az amiloid plakkok kialakulását önszerveződéssel képzelik el. Elismerik, hogy bizonyos tényezőknek (hőmérséklet, ionerősség, pH, oxidációs potenciál) szerepe van a fehérjék konformációváltozásában, de a fémionokat kihagyják e tényezők közül, így az alumínium(III)iont még az Alzheimer-kór kockázati tényezői közé se mindig sorolják [00Ron]. Így például az Amerikai Alzheimer Egyesület 1999-es évi éves beszámolója az alumínium(III)iont szintén említésre se méltatja [99Re]. Az alumínium(III)ion és az Alzheimer-kór közötti kapcsolat elhanyagolásának egy másik oka lehet az is, hogy az alumínium(III)ionnak rendkívül összetett a komplexkémiai viselkedése, igen bonyolult, úgy a kísérletek tervezése, mint a megfelelő Al(III)-komplex kiválasztása, az eredmények értékelése. Az alumínium(III)ionnak erős hidrolízisre való hajlama és a meglehetősen renyhe komplexképző viselkedése, a lassú kinetikai folyamatok jelentősen megnehezítik az Al(III)-ligandum rendszerek oldatbeli pontos leírását, illetve a biológiai nedvekben és szövetekben való jellemzését [96Ha].

Mi azon a mértéktartó véleményen vagyunk, hogy az alumínium(III)ion önmagában nem képes az Alzheimer-kór tüneteit kiváltani, de a neuronok bomlástermékeivel kölcsönhatva hozzájárulhat a betegség súlyosbodásához, ennek megfelelően úgy

gondoljuk, hogy az alumínium(III)iont az Alzheimer-kór kialakulásában mindenféleképpen kockázati tényezőként kell kezelni.

#### 1.4. Aminofoszfónatok jelentősége

Az amino-polifoszfónatok az aminosavak analógjai, amelyekben egy vagy több karboxilátcsoporthoz foszfónátcsoporthoz helyettesítenek. Az 1940-es években szintetizálták őket először és az 1950-es évek végén fedezték fel, hogy megtalálhatók az élő szervezetekben. Néhányat közülük (2-amino-etán-foszfonsav, 2-amino-3-foszfónopropionsav), mint szabad vegyületeket a szövetekben fedezték fel, noha általában kötött formában fordulnak elő, mint foszfónopeptidek, foszfónolipidek és foszfónoglikolipidek. Az aminofoszfónatok felfedezése az élő szervezetben a figyelmet ezen csoportokat tartalmazó vegyületek felé fordította és intenzív kutatás indult a peptidek és aminosavak foszfonsav analógjainak előállítására. Ennek következtében az elmúlt húsz évben rohamosan nőtt az aminofoszfónatokkal foglalkozó tanulmányok száma, mely során kiderült, hogy a mesterségesen előállított aminofoszfonsavak között számos olyan van, amelyeket széles körben alkalmaznak az analitikai kémiától, az orvostudománytól a mezőgazdaságig egyaránt [81La]. Akadnak közöttük ígéretes neuromodulátorok [94Ja, 00By], növekedést serkentő anyagok [84Kf, 87Ku, 90Dh, 91Ka], NMR-kontrasztanyagok [83Ha, 94Bl, 95Wi], rákellenes szerek [83Co], gyomirtó szerek [87Ku, 85Ro, 90Dh, 01Kl, 02Ber], antibakteriális foszfónopeptidek [83Co, 86At, 87Br, 93Zb], nyomnyi fémszennyezés eltávolítására alkalmas anyagok [84Ta, 02Na, 03No].

Mi magyarázza, hogy ezen anyagok képesek ilyen sokrétű biológiai hatás kifejtésére? Elsősorban az, hogy aminosavakhoz való hasonlóságuk miatt az aminofoszfonsavak képesek aminokarboxilát szubsztrátumú enzimek (beleértve a metalloenzimeket is) aktív helyeiért, illetve más sejtreceptor helyekért versengeni. Inhibitorokként képesek a fent említett aktivitást gyakorolni. Az aminofoszfónatok negatív töltésű oxigén donorcsoportjaik révén erős fémionkötő-képességgel rendelkeznek, különösen a *hard* fémionok iránt nagy az affinitásuk. Képesek kelátként megkötni mind létfontosságú, mind toxikus fémeket, amit a gyakorlatban is alkalmaznak. Lehetségessé teszik a mérgező fémek eltávolítását a szervezetből vagy segítségükkel bejuttathatók a radioaktív anyagok, így a betegségek felismerésében és esetleges kezelésében is szerepük lehet. A foszforileződési és defoszforileződési reakciók sok sejtfolyamatnak részei, a jelátvitelben és az idegsejt egyéb folyamataiban is fontos szerepet töltenek be.

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1. Az alumínium(III)ion kémiai formái különböző biológiai rendszerekben

A sejtekben és biológiai folyadékokban az alumínium(III)ion négy különböző formában fordul elő: (i) szabad akvaionként, (ii) kis molekulatömegű komplexek, (iii) erősen kötődő metalloproteinek (melyekben nem cserélhetők) és (iv) lazábban kötött, cserélhető fehérjékhez kötött komplexek alakjában [88Mac]. Az alumínium(III)ion szabad formában, vízmolekulákkal hidratálva csak igen kis koncentrációban fordul elő a biológiai rendszerekben, így a szabad alumínium(III)ionnak fiziológiai folyamatokban nincs szerepe. Az alumínium(III)ionnak testnedvekben való előfordulását illetően elsősorban a szerves biomolekulákhoz kötött alumínium(III)ionnak van nagy szerepe, hiszen ezek jelentik az alumínium(III)ion mobilis formáit, melyeken keresztül az Al(III) a különböző szervekbe szállítódik. Mivel a felszívódott alumínium(III)iont a véráram szállítja a test minden részébe, ezért a plazmában levő biomolekuláknak jelentős szerepe van az Al(III) szállításában. A kismolekulák közül a citrát-, foszfátionok a legjelentősebb, a nagy-molekulák közül pedig az albumin, transferrin. Egyéb plazmakomponensek, mint a különböző aminosavak, a laktát-, oxalát-, aszkorbát-, szulfát- és a karbonátionok jóval gyengébben kötik az alumínium(III)iont és nem lehetnek az előbb említett molekuláknak hatékony versenytársai.

Érdekes, hogy az Al(III) a vérből az agyba a vér–agy gáton keresztül kerül be, feltehetően transferrinhez kötődve a transferrin–transzferrin receptoron vagy esetleg a citráthoz kötötten a monokarboxilát transzporteren keresztül, de ennek ellenére az agyszövetekben és folyadékokban alacsony a citrát- és a transferrinszint, az Al(III) döntően katecholaminokhoz kötődik [89Ki]. Az ATP, annak ellenére, hogy 400-szor kisebb koncentrációban fordul elő, mint a katecholaminok, szintén jelentős Al(III)-kötő lehet [91Ki]. Az idegsejtekbe bejutva az Al(III) elsősorban foszforilált és nemfoszforilált fehérjékhez kapcsolódik.

### 2.2. Az alumínium(III)ion koordinációs kémiai jellemzése

Az alumínium(III)ion koordinációs kémiai viselkedését *hard* jellege határozza meg, ami kis méretére és nagy töltésére vezethető vissza. Az Al(III) *hard* fémion lévén első-

sorban az oxigén donor csoportokat tartalmazó ligandumokat kedveli. Kedvező szterikus helyzetben, koordinációra képes O-donor funkciós csoport mellett elhelyezkedő nitrogén vagy kén donor csoportok is koordinálódhatnak az alumínium(III)ionhoz. A legerősebb Al(III)-kötő csoportok a karboxilát-, fenolát-, katecholát-, foszfát- és alkoholát csoportok, ezért azon molekulák, amelyek ilyen funkciós csoportokat tartalmaznak, szerepet játszhatnak az Al(III) felszívódásában, szállításában és feltehetőleg biológiai hatásának kifejtésében is.

### 2.2.1. Az alumínium(III)ion hidroxokomplexei vizes oldatban

Az alumínium(III)ion hidrolízisre való hajlama igen nagy [93Or], könnyen képez változatos összetételű hidroxokomplexeket. Ha az alumínium(III)ion komplexképző sajátosságait vizes oldatban vizsgáljuk, ismernünk kell az Al(III) hidrolízise során képződő hidroxokomplexek összetételét és egyensúlyi állandóit, hiszen a ligandumok és a hidroxidionok közötti versengéssel már gyengén savas oldatokban is számolnunk kell. A témában megjelent nagyszámú publikáció ellenére még mindig sok az ellentmondás a képződő hidroxokomplexek összetételét és stabilitását illetően.

A hidrolitikus folyamatok egyértelmű leírásában a legnagyobb nehézséget a többmagvú hidroxokomplexek lassú képződése jelenti. A lassú oligomerizációs folyamatokban olyan metastabilis hidroxokomplexek képződnek, melyek szinte korlátlan ideig létezhetnek az oldatban olyan körülmények között is, amikor az  $\text{Al(OH)}_3$  lenne a termodinamikailag stabilis állapot [96Kis, 76Ba].

Savas közegben ( $\text{pH} < 4$ ) alatt az alumínium(III)ionok kizárólagosan oktaédes  $[\text{Al(H}_2\text{O)}_6]^{3+}$  formában vannak jelen, míg lúgos pH-tartományban ( $\text{pH} > 9$ ) tetraédes  $[\text{Al(OH)}_4]^-$  komplex formában léteznek. A különböző részecskeeloszlási modellek a gyengén savas vagy semleges oldatokban létező hidroxokomplexekben térnek el, ahol az  $\text{Al(OH)}_3$  csapadék mellett oldható többmagvú komplexek is képződhetnek. Az egymagvú hidroxokomplexek közül a  $\text{pK} \sim 5,5$ -el képződő  $[\text{Al(OH)}]^{2+}$  részecske a legjobban definiált, a legtöbb részecskeeloszlási modellben szerepel. Létezését  $^{27}\text{Al}$  NMR-spektroszkópiai módszerrel is igazolták [85Ak]. A pH növelésével egy további koordinált vízmolekula deprotonálódik az  $[\text{Al(OH)}_2]^+$  komplex képződése közben. Ezt a részecskét csak  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  Al(III)-koncentrációnál hígabb oldatokban sikerült potenciometriásan kimutatni [93Or, 76Ba, 85Br]. A potenciometriás adatok kiértékelése során nagyon

változatos összetételű többmagvú komplexeket feltételeztek. Ezek közül a legelfogadottabbak és a legtöbbet vizsgáltak az  $[\text{Al}_2(\text{OH})_2]^{4+}$ ,  $[\text{Al}_3(\text{OH})_4]^{5+}$  és  $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$  ( $[\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]^{7+}$ ) részecskék. Röntgendiffrakciós mérésekkel dihidroxohidas dimer szerkezetet állapítottak meg a kétmagvú  $[\text{Al}_2(\text{OH})_2]^{4+}$  komplexre [93Or]. Akitt és munkatársai NMR-spektroszkópiával vizes oldatban is kimutatták a dihidroxohidas dimer szerkezetet [84Ak], de ezredmólos vagy ennél hígabb oldatokban azt találták, hogy jelentéktelen mennyiségben képződik [88Ak]. Ezzel magyarázható, hogy feltételezése a modellszámítások során általában alig javította a kísérleti potenciometriás adatok illeszkedését. Az  $[\text{Al}_2(\text{OH})_2]^{4+}$  stabilitási állandóját csak viszonylag nagy hibával tudták meghatározni [81Öh, 82Öh, 87He, 91Mi]. Egyértelműbbek az adatok a  $[\text{Al}_3(\text{OH})_4]^{5+}$  részecske esetén, amely szintén csak nagyobb Al(III)-koncentrációknál, de szélesebb pH-tartományban képződik, ezért a legtöbb egyensúlyi modellben figyelembe veszik [81Öh, 87He, 93Or, 76Ba, 82Öh, 85Br, 91Mi]. A különböző laboratóriumokban kapott potenciometriás eredmények jól egyeznek az  $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$  többmagvú részecske képződése tekintetében, bár a számolt stabilitási állandók néha nagyságrendekkel is különbözhetnek. A komplex létezését szilárd állapotban röntgendiffrakciós módszerrel [76Ba], oldatban pedig  $^{27}\text{Al}$  és  $^{17}\text{O}$  NMR-technikával [87Th, 88Ak] egyértelműen bizonyították. Egy központi tetraédes geometriájú Al(III)iont és 12 oktaédesen koordinált Al(III)iont tartalmaz, amelyeket hidroxó- és oxohidak kötnek össze. Az  $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$  részecske szimmetrikus szerkezetű. Akitt és Elders [88Ak] NMR-spektroszkópia alkalmazásával megállapították, hogy  $2\cdot 10^{-2}$  mol·dm<sup>-3</sup>-nél hígabb koncentrációknál, gyengén savas pH-tartományban kizárólagosan az  $[\text{Al}_{13}(\text{OH})_{32}]^{7+}$  képződik; töményebb oldatokban pedig  $\{[\text{Al}(\text{OH})_{2,5}]^{1/2+}\}_n$  sztöchiometriájú oligomer komplexek keveréke is jelen van, nem-egyensúlyi körülmények között. Ezek a metastabilis többmagvú hidroxokomplexek lassú folyamatban valószínűleg még nagyobb oligomer részecskékké alakulnak, amelyek a makromolekuláris Al(OH)<sub>3</sub> prekursorainak tekinthetők [96Kis].

A fenti eredmények világosan jelzik, hogy az Al(III)–OH rendszerben a megfelelő modell kiválasztásának lényeges szerep jut. Leggyakrabban a Baes és Mesmer [76Ba] vagy az Öhman és munkatársai [82Öh] által javasolt modellt fogadják el.

## 2.2.2. Aminosavak, peptidek és fehérjék Al(III)-kötő képességének jellemzése

A kémikusok számára a különböző ligandumok fémionkötő-képességének összehasonlítására elegendő és egyértelmű a fémkomplexek stabilitási állandóinak ismerete, a biológusok körében mégis a pM értékek használata terjedt el, amely nem más, mint a szabad fémionkoncentráció negatív logaritmusával. A ligandumok Al(III)-kötő képessége a pAl értékkel ( $pAl = -\log [Al^{3+}]$ ), a szabad Al(III)-koncentráció negatív logaritmusával jellemezhető. A pAl értékek a termodinamikai stabilitási állandóból számíthatók ki az adott ligandum és fémion összkoncentrációknál. Minél nagyobb a pAl értéke, annál erősebb a ligandum kötődése az alumínium(III)ionhoz. A 2.1. táblázatban megadott adatok [02Ki] azt mutatják, hogy az aminosavak meglehetősen gyenge Al(III)-kötők, az oligopeptidek viszont jóval hatékonyabban kötik az alumínium(III)iont, míg a fehérjék a donorcsoportok kedvező elhelyezkedése révén rendkívül erős kölcsönhatást is biztosíthatnak.

**2.1. táblázat** Aminosavak, peptidek és fehérjék Al(III) komplexeinek számolt pAl értékei<sup>a</sup> (pH = 7,4 és t = 25 °C)

Bioligandum	Részecske	pAl <sup>a</sup>
Aminosavak	Al(OH) <sub>3</sub>	10,7
Heptapeptid	AlL(OH) <sub>2</sub>	11,6
Transzferrin	AlL	15,3

<sup>a</sup> 1 μM teljes Al(III) és 50 μM teljes ligandumkoncentrációra számítva

### 2.2.2.1. Aminosavak Al(III) komplexei

Az Al(III)–peptid kölcsönhatás tanulmányozásában fontos ismernünk a peptideket felépítő aminosavak koordinációs kémiai sajátosságait alumínium(III)ion jelenlétében. Az egyszerű, α-aminosavak a várakozásnak megfelelően gyenge Al(III)-kötőknek bizonyultak, fémionkoncentráció függvényében pH = 3–4 tartományban Al(OH)<sub>3</sub> csapadék válik ki ezekben a rendszerekben. A glicin (Gly), szerin (Ser), treonin (Thr), glutamin (Gln) és aszparagin (Asn) aminosavak esetén az oldategyensúlyi eredmények azt mutatják, hogy ezekben a rendszerekben az 1:1 összetételű Al(III)-komplexek (AlL, AlLH<sub>-1</sub>) az uralko-

dóak, de előfordul a kétmagvú  $Al_2LH_1$  összetételű komplex is [97Ki]. Dayde és munkatársai viszont pH-metria és NMR-spektroszkópia alkalmazásával a Gly, Ser, Thr, His aminosavak Al(III) komplexeire csak az  $Al_2LH_2$  összetételű részecskét azonosították fiziológias körülmények között [02Da].

Az  $\alpha$ -aminosavaknál minden esetben egyfogú karboxilátkoordináció valósul meg. Öttagú kelátgyűrű kialakulása az aminocsoport részvételével nem kedvezményezett az alumínium(III)ionok N-donorokhoz való kis affinitása miatt. A szerin esetében sem utaltak eltérő koordinációra a stabilitási adatok, bár elvileg lehetőség lenne akár kétfogú ( $COO^-$ ,  $O^-$ ) vagy akár háromfogú ( $COO^-$ ,  $NH_2$ ,  $O^-$ )-típusú koordinációra is.

A háromfogú aminosavak (glutaminsav, aszparaginsav) jóval nagyobb affinitást mutatnak az alumínium(III)ionok iránt. Modellvegyületekkel, borostyánkőssavval és a N-acetil-aszparaginsavval való összehasonlítás alapján igazolták, hogy az aszparaginsav esetén az aminocsoport deprotonálódásával és a fémionhoz való kapcsolódásával háromfogú ( $COO^-$ ,  $NH_2$ ,  $COO^-$ ) koordináció valósul meg. A háromfogú koordináció a glutaminsav komplexek esetén sem zárható ki, bár a képződő (5+7)-tagú csatoltkelát kétségtelenül kisebb stabilitással bír, mint az aszparaginsav (5+6)-tagú kelátkomplexei [97Ki].

Lényegesen erősebb kölcsönhatás várható, ha az aminosavak oldalláncában a hidroxilcsoport foszforilált. Az Al(III)–foszfoserin (PSer) és Al(III)–foszfotirozin (PTyr) rendszerekben a potenciometriás titrálási görbéket egymagvú 1:1 komplexek feltételezésével tudták legjobban kiértékelni. Az elsődleges fémion kötőhely a foszfátcsoport. A PSer esetében lehetőség van az egyfogú foszfát- és a háromfogú ( $OPO_3^{2-}$ ,  $NH_2$ ,  $COO^-$ ) koordináció megvalósulására. Ezzel ellentétben a PTyr Al(III) komplexeiben a ligandum aromás gyűrűjének jelenléte miatt a többfogú koordináció sztérikusan gátolt [98Ki].

#### 2.2.2.2. Peptidek Al(III) komplexei

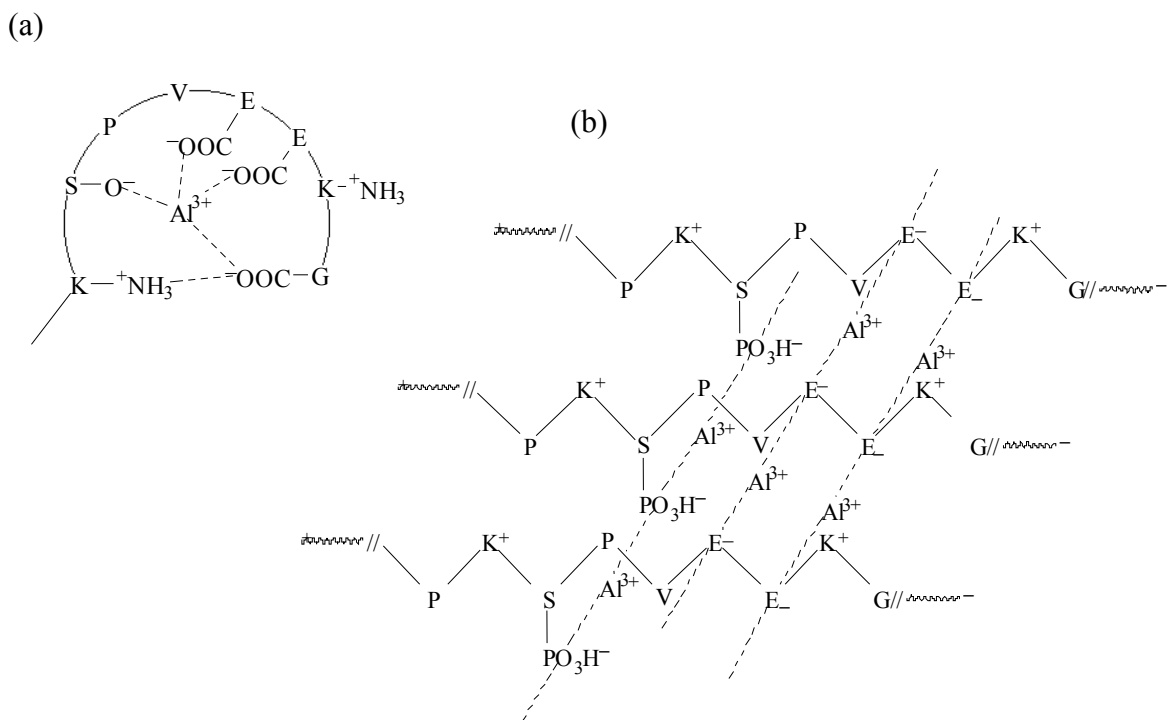
Oligopeptideknél a peptid oldallánc donorcsoportjai az elsődleges fémion kötési-helyek. Kis tagszámú peptidek esetén a rövid peptidlánc nem képes biztosítani a potenciális donorcsoportok olyan elrendeződését, ami szükséges az alumínium(III)ion elég erős megkötéséhez, így csak gyenge kölcsönhatás jön létre alumínium(III)ionnal, ami az  $Al(OH)_3$  csapadék leválását nem tudja megakadályozni. Ehhez feltehetőleg a megfelelő



oldallánc donorcsoport alkalmasabb, kedvezőbb elrendeződésére van szükség. Ez teljesülhet nagyobb tagszámú oligopeptidekben, fehérjékben.

Exley és munkatársai elsőként bizonyították az alumínium(III)ion és különböző A $\beta$ P(1–40) és A $\beta$ P(25–35),  $\beta$ -amiloid polipeptid fragmensek közötti erős kölcsönhatást [93Ex]. Cirkuláris dikroizmus (CD) mérésekkel igazolták, hogy az A $\beta$ P(1–40) membránutánzó oldószerben (60% 2,2,2-trifluor-etanol/40% Tris puffer, pH = 7,0) részleges helikális konformációt vesz fel, viszont fiziológias Al(III)-koncentráció jelenlétében elveszíti ezt a szerkezetét. A mesterségesen előállított,  $\beta$ -amiloid, NF fehérje-fragmenseken végzett további cirkuláris dikroizmus (CD) és Fourier-transzformációs infravörös (FT-IR) mérések egyértelműen igazolták, hogy az alumínium(III)ion kölcsönhatásba lép a fehérjék szerinben, glutaminsavban vagy aszparaginsavban gazdag szakaszaival, stabilis intramolekuláris (2.1. (a) ábra) vagy intermolekuláris komplexeket (2.1. (b) ábra) képezve [94Ho, 95Ho].

Az Al(III) térszerkezet (konformációváltozást) idéz elő, hiszen az alumínium(III)iont komplexáló peptid (fehérjelánc szakasz) szükségszerűen hurokszerű térszerkezetet vesz fel [94Sh], ami megakadályozza a fehérjelánc nyújtottá válását (a helikális szerkezet megmaradását) és így  $\beta$ -redőzött rétegkonformáció kialakulását segíti elő, ami viszont a peptidok aggregációjának kedvez.



**2.1. ábra** Az (a) intra- és (b) intermolekuláris Al(III)–peptid komplexek szerkezete [94Ho]

A foszforilált peptideknek még nagyobb szerepe lehet a peptid aggregálódási folyamatokban, így nem meglepő, hogy összehasonlító méréseket végeztek peptidek és foszforilált peptidek között. A foszforilálás „védi” a szerin vagy treonin hidroxilcsoportját, így az nem kapcsolódhat deprotonált formában az alumínium(III)ionhoz, ennek megfelelően inkább intermolekuláris komplexek alakulhatnak ki a szomszédos peptidláncok között (2.1.(b) ábra). Fémionhidak képződnek, melyek megengedik, hogy a peptidláncok  $\beta$ -konformációt vegyenek fel [92Ho]. A GlyGluGlyGluGlySer(P)GlyGly foszforilált oktapeptid  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumai arra utalnak, hogy a foszfátcsoport az elsődleges Al(III)-kötőhely a terminális Gly karboxilátcsoportja mellett, kétfogú ( $\text{OPO}_3^{2-}$ ,  $\text{COO}^-$ ) koordináció a legvalószínűbb. A Glu karboxilátcsoportjának kötésben való részvételét illetően az NMR-spektrumok ellentmondásosak [03Ho]. A foszforilált peptid stabilitási állandóját egy nagyságrenddel nagyobbak találták, mint a nemfoszforilált peptid esetében, ami az erősebb Al(III)-foszfát kölcsönhatásra vezethető vissza. Az Al(III)–peptid kölcsönhatást NMR-spektroszkópiai módszerekkel vizsgálva hasonló eredményeket kaptak. A GlyLysHypGlyGluHypGlyProLys nonapeptid  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumai igazolták a peptid kölcsönhatását alumínium(III)ionnal (1:2 komplex képződik). A peptid a Glu-karboxilát, valamint a Lys-karboxilátcsoportjain keresztül koordinálódik a fémionhoz [87Ge]. Ugyanakkor Glu-t nem tartalmazó TyrGlyGlyPheLeu pentapeptidnél nem tudtak alumínium(III)ionnal való kölcsönhatást kimutatni [92Ma], ami összhangban van azzal a megfigyeléssel, hogy a karboxilát, illetve az alkoholos hidroxil oldallánc donorcsoportok az elsődleges Al(III)-kötőhelyek, így az Asp-, Glu-, illetve Ser-tartalmú oligopeptidek a hatékony Al(III)-kötő molekulák.

Laussac és munkatársai a timulin hormon (GluAlaLysSerGlnGlyGlySer<sup>4</sup>Asn) és alumínium(III)ion között 1:2 összetételű Al(III)-komplex képződését mutatták ki két-dimenziós  $^1\text{H}$  NMR-módszerrel. A korábbi eredményekkel összhangban az Asn C-terminális karboxilátcsoportja mellett a Ser<sup>4</sup> alkoholos hidroxilcsoportjának részvételét valószínűsítették az alumínium(III)ion kötésében [88La, 96La].

A bemutatott eredmények egyértelműen utalnak arra, hogy az alumínium(III)-ionnak szerepe lehet az aggregálódási folyamatokban, az Alzheimer-kór közös jelzőanyagainak (fonadékok és plakkok) kialakulásában. Ezen megfontolások alapján úgy gondoljuk, hogy az Al(III)–fehérje kölcsönhatás megismerésében jelentős szerep juthat az oligopeptideknek.

### 2.2.2.3. Fehérjék Al(III) komplexei

A transferrin, a fő Fe(III)-szállító fehérje normál körülmények között csak 30%-ban telített vas(III)ionnal, így az alumínium(III)ion számára is marad elegendő üres kötőhely. Az Al(III)–transzferrin kölcsönhatást számos módszerrel vizsgálták [96Ar]. Kvantitatív spektrofotometriás és röntgendiffrakciós mérések alapján megállapították, hogy az alumínium(III)iont két tirozin, egy hisztidin, egy aszparaginát és egy kétfogúként koordinálódó karbonátiónt köti pszeudooktaédes elrendeződésben [93Ara]. Ellentmondásos eredmények születtek viszont a két hely (C-, és N-terminális) kötéseiről. Martin és munkatársai [87Ma] szerint a transferrin mindkét kötési helyén egyforma valószínűséggel köti az alumínium(III)iont, míg ettől eltérően akadtak olyanok is, akik úgy a C-, mint az N-terminális kötőhelyet tartották kedvezményezettebb Al(III)-kötési helynek. Például, Harris és Sheldon [90Ha] szerint a C-terminális hely kedvezményezettebb az N-terminálisnál, míg Ichimura UV-spekroszkópiás eredményei az ellenkezőjét mutatják, azt, hogy a fehérje C-terminális része a kedvezményezett Al(III)-kötő rész [89Ic].

A transferrinnél jóval gyengébb Al(III)-kötő fehérje az albumin ( $M_r \sim 70\,000$ ), amely egy vízoldható fehérje. Fiziológiai pH-n képes *in vitro* az alumínium(III)iont megkötni.  $^{27}\text{Al}$  NMR-spekroszkópiás mérésekkel igazolták, hogy oktaédesen legalább három Al(III) kapcsolódik minden egyes albumin molekulához [92Fa].

Részletesen vizsgálták az alumínium(III)ion kölcsönhatását kalmodulinnal, a szerkezet egyik fontos  $\text{Ca}^{2+}$ -függő szabályozó fehérjéjével. A kalmodulin, egy viszonylag kis, 150 aminosavból álló fehérje, amely az aminosav oldalláncok mintegy 1/4-ében karboxilátcsoportot tartalmaz, így optimális Al(III)-kötő fehérje lehet. Haug és munkatársai az Al(III) elég erős kölcsönhatását (stabilitási állandójuk nagyobb, mint  $10^6$ ) mutatták ki kalmodulinnal [83Si, 83Sie], molekulánként maximálisan három Al(III) képes kötődni. Az alumínium(III)ion méretben sokkal közelebb lévén a magnézium(II)ionhoz, nem a négy kalcium(II)ion specifikus kötési helyen koordinálódik, hanem a fehérje  $\alpha$ -hélix szerkezeti részeit stabilizáló magnézium(II)ionokat szorítja ki [96Hau], ami magyarázza Siegel tapasztalatait, az alumínium(III)ion hatására bekövetkező 30 %-os  $\alpha$ -hélix tartalom csökkenést. Ezzel szemben, más vizsgálatok nem mutattak jelentős kölcsönhatást az Al(III) és kalmodulin között 5,5–6,5 pH-tartományban [91Yo].

## 2.3. A vizsgált rendszerek irodalmi előzményei

### 2.3.1. Szalicilglicin komplexek

Az átmeneti fémek közül több fémion komplexképződését is vizsgálták szalicilglicin ligandummal. A Cu(II)ionra van a legtöbb adat [94Go, 96Ba, 95No, 04Fe]. Egy-egy közlemény számol be a Ni(II)- és Zn(II)ionok komplexképződéséről [94Go], illetve a VO(IV)ion [98Kis] és a Fe(III) [66Pa] koordinációs sajátosságairól.

A Cu(II)- és VO(IV)ionok pH = 4–6 tartományban MLH<sub>1</sub> összetételű komplexet képeznek. A SalGly háromfogú ligandumként koordinálódik, a karboxilát, a deprotonálódó amidnitrogén és a fenolátcsoporton keresztül, (5+6)-tagú csatoltkelát alakul ki. A SalGly a Co(III)ion esetén is háromfogú ligandumként viselkedik [95No, 04Fe].

Ni(II)- és Zn(II)ionokkal egymagvú 1:1 összetételű ML és MLH<sub>1</sub> komplexek képződnek. A Ni(II)- és Zn(II)ionok nem képesek kiváltani a peptidamid deprotonálódását, így az MLH<sub>1</sub> komplexben csak kétfogú koordináció alakul ki a karboxilát- és fenolátcsoporton keresztül. A Fe(III) 1:1 összetételű komplexében szintén kétfogú, karboxilát-, fenolátkoordináció alakul ki [66Pa].

Dimetil-ón(IV)ionnal is történtek potenciometriás és NMR-mérések. A karboxilátcsoportok koordinálódásával pH = 2–5 tartományban gyors ligandumcseréjű komplexek (MLH<sub>2</sub>, MLH, ML) képződnek, míg semleges pH-tartományban a lassú ligandumcseréjű MLH<sub>1</sub> összetételű komplex képződik. Az MLH<sub>1</sub> komplex szerkezete trigonális bipiramis és a fémionhoz a terminális karboxilátcsoport, a deprotonálódott amidnitrogén és a fenolos hidroxilcsoport koordinálódik [01Ja].

A Ca(II)-, Mg(II)ionok és a SalGly ligandum között gyenge kölcsönhatást mutattunk ki potenciometriás és spektrofotometriás mérésekkel. Komplexképződés csak lúgos közegben (pH > 8) játszódik le, a CaLH<sub>1</sub> és MgLH<sub>1</sub> összetételű vegyes hidroxokomplexek képződnek [03Ki].

### 2.3.2 Aszparaginsav-tartalmú peptidek komplexei

A diszparaginsav komplexképződését nem vizsgálták. A triaszparaginsav Cu(II)-komplexeit potenciometriás, spektrofotometriás, CD- és ESR-mérésekkel tanulmányozták [91Ga]. Kimutatták, hogy a AspAspAsp karboxilátcsoportjai részlegesen képesek kiszorítani a nitrogénatomot a Cu(II) koordinációs szférájából. A CuLH<sub>1</sub>

komplexben a két nitrogénatom mellett két karboxilátcsoport koordinálja a fémiont, míg a  $\text{CuLH}_2$  komplexben egy nitrogénatom és három karboxilátcsoport vesz részt a koordinációban.

A  $\text{Ni(II)}$  és  $\text{Zn(II)}$  ionok szintén  $\text{MLH}_1$  és  $\text{MLH}_2$  összetételű komplexeket képeznek [95Ko].

### 2.3.3 Az AcLysSerProValValGluGly heptapeptid rendszer

Az AcLysSerProValValGluGly heptapeptid komplexképződésére nincs irodalmi adat, ami nem meglepő, hiszen kereskedelmi forgalomban nem kapható.

### 2.3.4. Aminofoszfónát komplexek

Az imino-diecetsav, a nitrilo-triecetsav, valamint a részben és teljesen foszfónált származékaik fémkomplexeit számos kutatócsoport vizsgálta. Ezek közül megemlíteném a következőket:

Sawada és munkatársai potenciometriás, kalorimetriás és NMR-spektroszkópiai mérésekkel jellemezték az NTA, valamint az NTA részben és teljesen foszfónált származékok alkáliföldfémekkel képzett komplexeit [87Sa, 93Sa, 00Sa]. Megállapították, hogy a képződő ML fémkomplexek stabilitása nő a fémion méretének csökkenésével (kivételt csak a  $\text{Mg(II)}$  képez), valamint a foszfónátcsoportok számának növekedésével.  $^{31}\text{P}$  NMR-mérésekkel kimutatták, hogy a ligandumok deprotonálódása először a nitrogén atomon játszódik le, ezt követi a foszfónátcsoport deprotonálódása (kivételt csak az NTAP és NTA2P ligandumok  $\text{Ca(II)}$  komplexei képeznek).

Az IDAP ligandum  $\text{Ca(II)}$ -kötő képességét pH-metriásan vizsgálták vizes közegben [88Sm]. Motekaitis [85Mo] korábbi vizsgálataival ellenétben csak 1:1 összetételű  $\text{CaL}$  komplexet tudtak kimutatni, a  $\text{CaL}_2$  részecske képződését kizárták.

Az  $\text{Al(III)}$  ion imino-diecetsavval oktaéderes biszkomplexet  $(\text{K(IDA)}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O})$  képez, amelynek szerkezetét röntgendiffrakciós módszerrel határozták meg [96Pe]. Az IDA háromfogú ligandumként koordinálódik a fémionhoz.  $^{27}\text{Al}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR-mérésekkel savas közegben 1:5 fém–ligandum arány mellett ( $C_{\text{Al}} = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ )  $\text{pH} = 3\text{--}5$  tartományban három  $\text{Al(III)}$ -komplexet ( $\text{ML}$ ,  $\text{ML}_2$ ,  $\text{MLH}_1$ ) azonosítottak [99Yo].

Valle és munkatársai az Al(III)–NTA szilárd komplexeire röntgendiffrakciós módszerrel torzult oktaéderes szerkezetet határoztak meg [89Val]. Előállították, úgy a monomert  $[\text{Al}(\text{NTA})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot (\text{CH}_3)_2\text{CO} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , amelyben az NTA négyfogú ligandumként viselkedik (három karboxilát és a nitrogén atom koordinálódik a fémionhoz), valamint a dimert  $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_2][\text{Al}_2(\text{NTA})_2(\mu\text{-OH})_2][\text{OH}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , amelyben a két Al(III)–NTA egységet hidroxohíd köti össze. Mindkét szerkezet kiterjedt intermolekuláris hidrogénkötésekkel stabilizálódik.

A Cu(II) [97Bu, 94Je] és VO(IV) [94Al, 99Sa] komplexek potenciometriás, valamint ESR-spektroszkópiai vizsgálata azt mutatta, hogy egymagvú 1:1 összetételű komplexek képeződnek (a Cu(II)ionnál megjelenik a  $\text{CuL}_2$  komplex is). Az IDA-származékok jellemzően háromfogú, míg az NTA-származékok négyfogú ligandumként viselkednek. A karboxilátszármazékok hatékonyabb fémionkötő molekulák a foszfonát-származékoknál. A Cu(II)-komplexek esetén a  $\text{COO}^-/\text{PO}_3^{2-}$  cserével jelentős rombusz torzulás észlelhető a komplexek szerkezetében.

Az NTA és NTA–foszfonátrendszerben több átmeneti fémionnal: Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) és Cd(II) is történtek vizsgálatok [89Sa, 00Sa]. Megállapították, hogy az átmenetifémek komplexképződési állandói követik az Irving-Williams sort:  $K_{\text{MnL}} < K_{\text{FeL}} < K_{\text{CoL}} < K_{\text{NiL}} < K_{\text{CuL}} > K_{\text{ZnL}} > K_{\text{CdL}}$ , a Ni(II)-komplexek NTA2P és az NTA3P ligandumokkal alkotott komplexei kivételével.

Egy másik közlemény szerint a kétvegyértékű és a háromvegyértékű fémionok komplexképződésének összehasonlításakor azt találták, hogy pl. a Fe(III) nagyobb töltése nem csökkenti jelentős mértékben a foszfonátkarok közötti taszító hatást, a Fe(III) NTA2P és NTA3P ligandumokkal képzett komplexeinek stabilitása szinte változatlan,  $K_{\text{FeLNTA2P}} = 14,65$ ,  $K_{\text{FeLNTA3P}} = 14,60$  [94Ki].

### 3. Kísérleti rész

#### 3.1. Felhasznált anyagok

Méréseinkhez a kereskedelemben elérhető legtisztább anyagokat alkalmaztunk. Az Al(III)-törzsoldat készítéséhez használt  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  Aldrich gyártmányú készítmény volt. A szalicilglicint az Aldrich, míg az NTA, IDA illetve foszfonált származékaikat a Fluka cégektől szereztük be. Az Asp-tartalmú peptideket (AspAsp, AspAspAsp) a Bachem cégtől vásároltuk, a heptapeptidet az ELTE Szerves Kémiai Tanszék munkatársaitól (Majer Zs. és Hollósi M.) kaptuk. A potenciometriás mérések kivitelezéséhez szükséges egyéb anyagok (KOH, KCl, 37%-os HCl-oldat, kálium-hidrogén-ftalát) Reanal és Fluka termékek voltak. Az NMR-spektroszkópiai mérésekhez a  $\text{D}_2\text{O}$ , valamint a pH beállítására használt NaOD- és DCl-oldat Sigma termékek voltak.

A  $\text{K}[\text{Al}(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_4\text{N})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  ( $M_r = 382,31$ ) (1) kristályt a Kréti Egyetemen állítottuk elő. 0,22 g (0,59 mmol)  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ -t és 0,16 g (1,19 mmol) imino-diecetsavat  $10 \text{ cm}^3$  desztillált vízben oldottunk. Az oldat pH-ját állandó keverés és 40–50 °C-on történő melegítés mellett pH ~ 4-re állítottuk KOH-oldat segítségével. Az így kapott oldatot egy éjszakán át kevertettük, majd az oldat térfogatát vákuum bepárlással minimálisra csökkentettük. Ezt követően 3–4  $\text{cm}^3$  desztillált vizet adtunk hozzá, az oldat pH-ját ellenőriztük. 4°C-on ismételt etanol adagolással kristályos anyag vált ki az oldatból, melyet szűréssel és szárítással készítettünk elő a további mérésekhez. A hozam 0,11 g (50%) volt. A szilárd komplexet elemanalízissel és FT-IR-spektroszkópiai módszerrel jellemeztük, a kristályszerkezetet pedig röntgendiffrakciós módszerrel határoztuk meg [02Ki]. Az elemanalízis eredménye: Számolt értékek: C 25,11%, H 4,19%, N 7,33%. Talált értékek: C 24,97%, H 4,08%, N 7,44%.

#### 3.2. Potenciometriás mérések

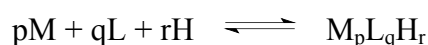
A vizes oldatokban lejátszódó egyensúlyi folyamatok vizsgálatához, a protonálódási és komplexképződési állandók meghatározásához pH-potenciometriás módszert alkalmaztunk. A módszer alkalmazhatóságának elvi háttere az, hogy a vizsgált folyamat valamilyen módon az oldatbeli hidrogénion-koncentráció megváltozását okozza, mely az

üvegelektrod által érzékelt potenciálváltozást eredményez. Az általunk tanulmányozott rendszerek mindegyike megfelelt ennek a követelménynek.

A méréseket  $25,0 \pm 0,1$  °C hőmérsékleten, állandó ionerősség mellett ( $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  KCl) végeztük. A szén-dioxid eltávolítása céljából nagy tisztaságú argongázt buborékolattunk át az oldatokon. A titrálásokhoz  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  koncentrációjú karbonátmentes kálium-hidroxid-oldatot használtunk, amelynek pontos koncentrációját kálium-hidrogén-ftalátra határoztuk meg a pH-metriás titrálási görbék Gran-féle linearizálásával [50Gr]. A titrálásokat IBM-kompatibilis PC által vezérelt Dosimat 665-típusú Metrohm automata burettából és egy Orion 710A precíziós pH-mérőből álló berendezéssel végeztük. Kis térfogatban ( $2 \text{ cm}^3$ ) történő mérések esetén a titrálások a Molspin pH-mérő berendezéssel történtek. Az egyes titrálások előtt a Metrohm-típusú kombinált üvegelektrodot  $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  kálium-hidrogén-ftalát-oldatra ( $\text{pH} = 4,005$ ) kalibráltuk. A pH-metriás mérőrendszer kalibrálására erős sav – erős bázissal való titrálást végeztünk, a titrálási adatokat Gran módszerével [50Gr] értékeltük ki. Meghatároztuk a mérési körülményeinkre jellemző vizionszorzatot ( $13,755 \pm 0,005$ ) és az Irving-faktort [67Ir], amely a mért pH-értékek korrigálására szolgál. Ezzel tehát a pH-mérő által mutatott értékek  $-\log[\text{H}^+]$  értékekre számolhatók át. A ligandumok törzsoldatait naponta frissen készítettük, a szilárd anyag pontos bemérésével. A csak ligandumot tartalmazó minták titrálási adataiból a ligandumok tisztaságát és protonálódási állandóit a SUPERQUAD [85Ga] számítógépes programmal határoztuk meg.

Az alumínium(III)ionnal történő komplexképződés tanulmányozásához  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{AlCl}_3$  törzsoldatot használtunk, amit szilárd  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  sóból készítettünk. A törzsoldat pontos koncentrációját gravimetriásan, az oxinátcsapadék leválasztásával határoztuk meg. A hidrolízis visszaszorítására a törzsoldat  $0,02 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  HCl-t tartalmazott. A fémiont tartalmazó minták titrálásánál azt az állapotot tekintettük egyensúlynak, amikor 40 másodperc alatt 0,002-nél kevesebbet változott a pH. Egy-egy pontban az egyensúly beállítására maximálisan tíz percet vártunk, ha tíz perc alatt nem állt be az egyensúly, tovább haladtunk a titrálásban és az adott mérési pontot figyelmen kívül hagytuk az adatsorok értékelésénél.

A rendszerekben képződő részecskék az alábbi általános egyensúlyi összefüggésekkel jellemezhetők:





$$\beta_{pqr} = \frac{[M_p L_q H_r]}{[M]^p [L]^q [H]^r} \quad (3.1)$$

amelyben (M) a fémiont, (L) a teljesen deprotonált ligandumot, (H) a protont, a (p, q, r) pedig a sztöchiometriai együtthatókat jelöli. A töltések az egyszerűség kedvéért nincsenek feltüntetve. Az egyes részecskék képződési állandóit ( $\beta_{M_p L_q H_r} \equiv \beta_{pqr}$ ) a (3.1) egyenlet alapján számítottuk ki a PSEQUAD [91Zé] számítógépes program segítségével.

Az Al(III)–szalicilglicin rendszert 10 cm<sup>3</sup> mintákban 0,002 és 0,004 mol·dm<sup>-3</sup> ligandumkoncentráció és 0:1, 0:4, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, fém–ligandum arányoknál mértük.

Az Al(III)–peptid rendszereket kis térfogatban (Asp-tartalmú peptideket 5 cm<sup>3</sup>, a heptapeptidet 2 cm<sup>3</sup> oldatban) vizsgáltuk. Az Al(III)–AspAsp és az Al(III)–AspAspAsp rendszereket 0,002 és 0,004 mol·dm<sup>-3</sup> ligandum koncentrációknál 0:1, 0:4, 1:1, 1:2 és 1:4 fém–ligandum arányoknál, pH = 2–6 tartományban vagy csapadékkiválásig mértük. Mivel a heptapeptidből nagyon kis mennyiségű anyag állt rendelkezésünkre, ezért félmikropotenciometriás módszert és a Molspin pH-mérő berendezést használtuk. A ligandum koncentrációja 0,004 mol·dm<sup>-3</sup>, a vizsgált pH-tartomány pedig 2–10 volt. Egy mintából mértük meg a teljes részecskeeloszlást. Először megtitráltuk a ligandumot, majd az oldatot visszasavanyítottuk 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> sósavoldattal. A visszasavanyított oldatot (miután beállítottuk az 1:2 fém–ligandum arányt), újra megtitráltuk 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> kálium-hidroxid-oldattal, majd ismét visszasavanyítottuk az oldatot és 1:1 fém–ligandum aránynál újra titráltuk.

Az Al(III)–IDA, NTA és vegyes foszfono-karboxiláto és tisztán foszfono rendszerekben 10 cm<sup>3</sup> mintákban 0,002 és 0,004 mol·dm<sup>-3</sup> ligandumkoncentrációt és 0:1, 0:4, 1:1, 1:2, 1:4 fém–ligandum arányokat alkalmaztunk. A vizsgált pH = 2–11 tartományban nem észleltünk csapadékkiválást. Kivételt az IDA2P és az NTA3P képezett, ahol már pH = 2 értéknél csapadékkiválás volt, feltehetően az 1:1 összetételű Al(IDA2P)H<sub>2</sub> és az Al(NTA3P)H<sub>3</sub> komplexek vízben való rossz oldhatóságuknak köszönhetően, ezért ezeket a mintákat visszatitrálásos módszerrel mértük, azaz 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> kálium-hidroxid-oldattal történő lúgosítás után 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> sósavoldattal titráltuk, míg csapadékképződést nem észleltünk.

A dolgozatban megadott ligandum és Al(III)-koncentráció értékek névleges koncentrációk, a valós értékektől a ligandum tisztaságától, a fémion törzsoldat pontos koncentrációjától függően átlagosan 6 %-ban, maximálisan 18%-ban térnek el.

### 3.3. NMR-spektroszkópiai mérések

A  $^1\text{H}$  NMR-spektrumokat 300, 400, 500 MHz-en, a  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumokat 80 és 125 MHz-en és a  $^{31}\text{P}$  NMR-spektrumokat 145 illetve 202 MHz-en működő Bruker AMX300, DRX400 és DRX500 spektrométereken vettük fel 25 °C-on, 10%  $\text{D}_2\text{O}$ -t tartalmazó mintákban. A  $^{13}\text{C}$  és  $^{31}\text{P}$  NMR-spektrumok felvételénél a heteronukleáris HC- illetve HP- csatolás megszüntetése céljából kompozit impulzus lecsatolást alkalmaztunk. A kémiai eltolódások ppm értékeinek meghatározására a  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{SO}_3\text{Na}$ -ot (DSS-t) használtunk belső referenciaként, amelynek kémiai eltolódása 0,015 ppm. A  $^{13}\text{C}$  és  $^{31}\text{P}$  kémiai eltolódásokat a tetrametil-szilán ( $\text{Me}_4\text{Si}$ ), a 85%-os ortofoszforsav jeléhez, mint külső referenciákhoz viszonyítottuk. A spektrumokat a WINNMR-program segítségével értékeltük ki. Az NMR-jelek könnyebb azonosítására kétdimenziós spektroszkópiai módszereket is alkalmaztunk, az úgynevezett csatolási korrelációs spektroszkópiát (COSY = Correlation spectroscopy), valamint a HSQC- (Heteronuclear single quantum correlation spectroscopy) és HMBC- (Heteronuclear multiple bond correlation spectroscopy) módszereket. A HSQC-módszerrel az egy kötésen át, közvetlenül egymáshoz kapcsolódó mágneses magok ( $^1J_{\text{CH}}$ ), míg a HMBC-technikával a kettő, illetve a három kötésen keresztül kapcsolódó mágneses magok ( $^2J_{\text{CH}}$ ,  $^3J_{\text{CH}}$ ) azonosíthatók. Az Al(III)-heptapeptid rendszerben csatolási állandó modulált (J-MOD)  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumokat is felvettünk, amelyekben a szénmagok jelei paritásuk szerint különülnek el (különböző fázisú jelet adnak), tehát az alapján tudjuk megkülönböztetni a  $^{13}\text{C}$  magokat, hogy a szénatomhoz kapcsolódó protonok száma páratlan vagy páros.

$^{27}\text{Al}$  NMR-mérésekkel is próbálkoztunk, de nem kaptunk értékelhető spektrumokat. Valószínű, hogy a vizsgált ligandumok töményebb oldatára lett volna szükség, de ezekből az  $\text{Al}(\text{OH})_3$  csapadék már leválik és így a minta NMR-mérésre már nem lesz alkalmas.

### 3.4. Spektrofotometriás mérések

Az Al(III)-szalicilglicin rendszerben kialakuló kötésmódok meghatározását spektrofotometriás mérésekkel végeztük. A mérésekhez Hewlett Packard 8452A diódasoros spektrofotométert (0,5 cm-es kvarcküvetttát) használtunk. Szobahőmérsékleten, állandó ionerősség mellett (0,2 mol·dm<sup>-3</sup> KCl) 200-500 nm hullámhossz-tartományban, különböző fém-ligandum arányoknál, 0:1, 1:1, 1:2, 1:8, ( $c_{\text{lig}} = 0,0002 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) követtük a

fenolos hidroxilcsoport deprotonálódását, mértük az elnyelést,  $\lambda = 298$  (fenolos hidroxil) és  $\lambda = 326$  nm (fenolát) hullámhosszon. A mérések pH = 3–10 tartományban történtek.

### 3.5. Dinamikus fényszórás-mérések

A dinamikus fényszórás-mérések egy ZetaSizer 4 (Malvern, U.K.)-típusú készüléken történtek. A berendezés fényforrása egy 5 mW teljesítményű He-Ne lézer volt, melynek hullámhossza vákuumban,  $\lambda = 633$  nm. A mérések  $90^\circ$ -os szög alatt és  $25 \pm 0,1$  °C-on,  $10 \text{ cm}^3$ -es mintákban történtek. Mértük a csak alumínium(III)iont tartalmazó, valamint az Al(III)–ligandumot (SalGly) tartalmazó mintákban az átlagos részecskeméretet  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  koncentráció mellett, 1:8 fém–ligandum aránynál. Állandó ionerősség mellett ( $0,2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  KCl) dolgoztunk. A pH-függő aggregációs folyamatokat pH > 6 fellett követtük.

## 4. Eredmények és értékelésük

A pH-potenciometriás eredmények kiértékelésénél fontos a megfelelő modell kiválasztása. Egy adott rendszer modelljének a feltételezett asszociátumok összességét nevezzük. Azt a modellt tekintjük a rendszert leírónak, amely kémiai megfontolások alapján értelmezhető, és amelynél a legjobb a kísérleti pontok illesztése. A pH-metria által szolgáltatott információk értelmezésénél figyelembe kell venni, hogy potenciometriásan nem mindig lehet különbséget tenni két olyan részecske között, amelyek képződése azonos pH-effektussal jár. Előfordulhat, hogy ugyanaz a rendszer kétféle vagy több kémiaiailag reálisan elfogadható modellel egyformán jól leírható, ezért a pH-metriás adatok kiértékelésével párhuzamosan minden esetben független (spektroszkópiai) módszereket is alkalmaztunk.

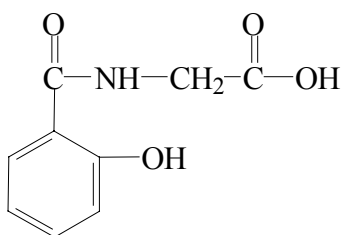
A különböző Al(III)–ligandum rendszerekben végzett egyensúlyi és oldatszerkezeti vizsgálatok eredményeinek értékeléséhez és értelmezéséhez ismerni kell az Al(III)ionnak a pH = 2–11 tartományban lejátszódó, különböző összetételű, stabilitású és szerkezetű részecskéket eredményező hidrolízisét, ugyanis az Al(III) hidrolízise során képződő részecskék és képződési állandóik a modell nélkülözhetetlen részei. Egyensúlyi rendszereink leírásakor az Öhman [82Öh] által javasolt részecskemodellt használtuk. Zárójelben az adott hidroxokomplexek stabilitási szorzatának tízes alapú logaritmusát adjuk meg, amelyeket a Davies-egyenlet [38Da, 62Da] segítségével számoltunk át 25°C-ra és 0,2 mol·dm<sup>-3</sup> ionerősségre: [AlOH]<sup>2+</sup> (–5,49), [Al<sub>3</sub>(OH)<sub>4</sub>]<sup>5+</sup> (–13,54), [Al<sub>13</sub>(OH)<sub>32</sub>]<sup>7+</sup> (–108,62), [Al(OH)<sub>4</sub>]<sup>–</sup> (–23,40). Ezek a részecskék – a zárójelben megadott állandókkal – az általunk vizsgált Al(III)–ligandum rendszerek értékelésénél minden esetben szerepeltek. Azt találtuk, hogy ezek a részecskék elhanyagolható koncentrációban képződtek a vizsgált pH-tartományban. Kivételt, csak a lúgos közegben számottevő mennyiségben képződő [Al(OH)<sub>4</sub>]<sup>–</sup> komplex képez.

A megfelelő modell kiválasztásánál egymagvú 1:1 összetételű protonált komplexeket (AlLH<sub>n</sub>, ahol ligandumtól függően, n = 1, 2, 3), AlL, valamint a lúgos pH-tartományban képződő vegyes hidroxokomplexeket (AlLH<sub>-1</sub>, AlLH<sub>-2</sub>) feltételeztünk. Az alumínium(III)ionnak még nem mutatták ki olyan vegyes hidroxokomplexét, amely három vízmolekula deprotonálódásával alakulna ki, azaz három hidroxilcsoport telítené az Al(III) koordinációs szféráját és összetétele AlLH<sub>-3</sub> lenne. A biszkomplexek feltételezése csak két rendszerben javította az illesztést (az Al(III)–imino-diacetsav rendszerben az AlL<sub>2</sub>

komplex, valamint az IDA foszfonált származékoknál az  $AlL_2H$  részecske). A többmagvú részecskék ( $Al_2L$ ,  $Al_2LH_{-1}$ ,  $Al_2LH_{-2}$ ) képződése egyértelműen kizárható volt.

#### 4.1. A szalicilglicin Al(III)-kötő sajátosságának jellemzése

A szalicilglicin (4.1. ábra) egy dipeptid analóg, amely több lehetséges fémionkötő hellyel rendelkezik. A karboxilát-, a karbonil-, a fenolát- vagy ha az amidcsoport deprotonálódik, az amidnitrogén is szerepelhet koordináló helyként.



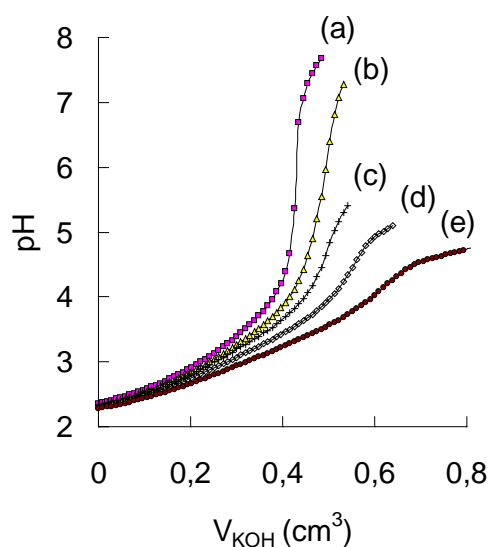
4.1. ábra A szalicilglicin ligandum szerkezete

Elvileg a fenolos hidroxilcsoport *hard* fémionoknál horgonycsoportként viselkedhet és elősegítheti az amidcsoport deprotonálódását és koordinálódását a fémionhoz.

##### 4.1.1. Potenciometriás vizsgálatok

A SalGly ligandum két lépésben deprotonálódik: 3,38-as pK-val a karboxilcsoport, míg 8,11-es pK-val a fenolos hidroxilcsoport deprotonálódik. Ezek a pK-értékek jó egyezést mutatnak az irodalmi értékekkel [66Pa, 88Mu, 94Go, 95No, 98Kis].

A SalGly különböző fém-ligandum arányoknál kapott titrálási görbéit a 4.2. ábra mutatja. Látható, hogy a ligandum deprotonálódása és a komplexképződés már a titrálás elején ( $pH = 2$ ) elkezdődik, de csak  $pH = 3$  felett lesz számottevő. A ligandum görbéje jól elkülönül a különböző fém-ligandum arányok titrálási görbéitől, így nagy ligandumfelesleg esetében is lehetséges volt a komplexek stabilitási állandóinak pontos meghatározása.



**4.2. ábra** A SalGly ligandumot tartalmazó (a)  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  és az Al(III)–SalGly rendszerek titrálási görbéi különböző fém–ligandum arányoknál:  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , (b)  $c_{\text{Al}} = 0,0005 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , (c)  $c_{\text{Al}} = 0,001 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , (d)  $c_{\text{Al}} = 0,002 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , (e)  $c_{\text{Al}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

Az Al(III)–SalGly rendszer stabilitási állandóit a különböző fém–ligandum arány-nál mért titrálási görbék együttes értékeléséből számoltuk. A legjobb illesztéssel kapott modell, és a benne található részecskék összetételét és  $(\lg\beta)$  stabilitási állandóit a 4.1. táblázat tartalmazza.

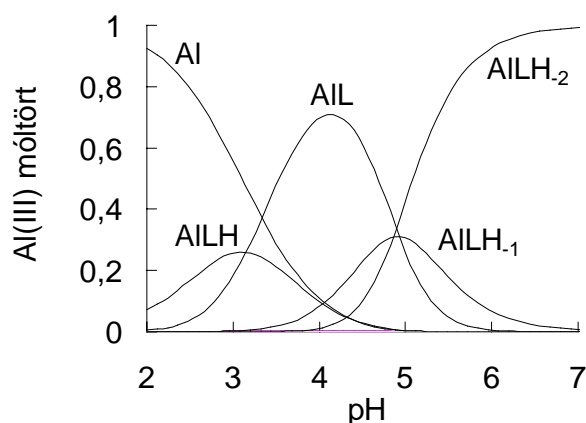
**táblázat 4.1.** A SalGly Al(III) komplexeinek összetétele és képződési  $(\lg\beta)$  állandói (zárójelben az állandók utolsó számjegyének becsült hibaértékei láthatók),  $I = 0,20 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ KCl}$ ,  $t = 25^\circ\text{C}$

$\lg\beta$	SalGly
AILH	10,78(3)
AIL	7,65(1)
AILH <sub>1</sub>	2,75(3)
AILH <sub>2</sub>	-2,17(2)
Illesztési paraméter <sup>a</sup>	0,0096
Pontok száma	623

<sup>a</sup> A számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés a mérőoldat  $\text{cm}^3$ -ben kifejezve

A PSEQUAD program bár nem utasította el az  $AlLH_2$  és az  $AlL_2$  részecskék feltételezését a modellben, de a mért és a számított titrálási görbék közötti illesztés javítható volt, ha ezeket a részecskéket kihagytuk és csak az  $AlLH$  protonált,  $AlL$  törzs- és az  $AlLH_{-1}$ ,  $AlLH_{-2}$  vegyes hidroxokomplexeket feltételeztük, így ezt a modellt fogadtuk el. Az  $AlL_2H$ , valamint a kétmagvú  $Al(III)$ -komplexek,  $Al_2L$  és  $Al_2LH_{-1}$  részecskék feltételezését a program egyáltalán nem fogadta el, így ezek egyértelműen kizárhatóak voltak.

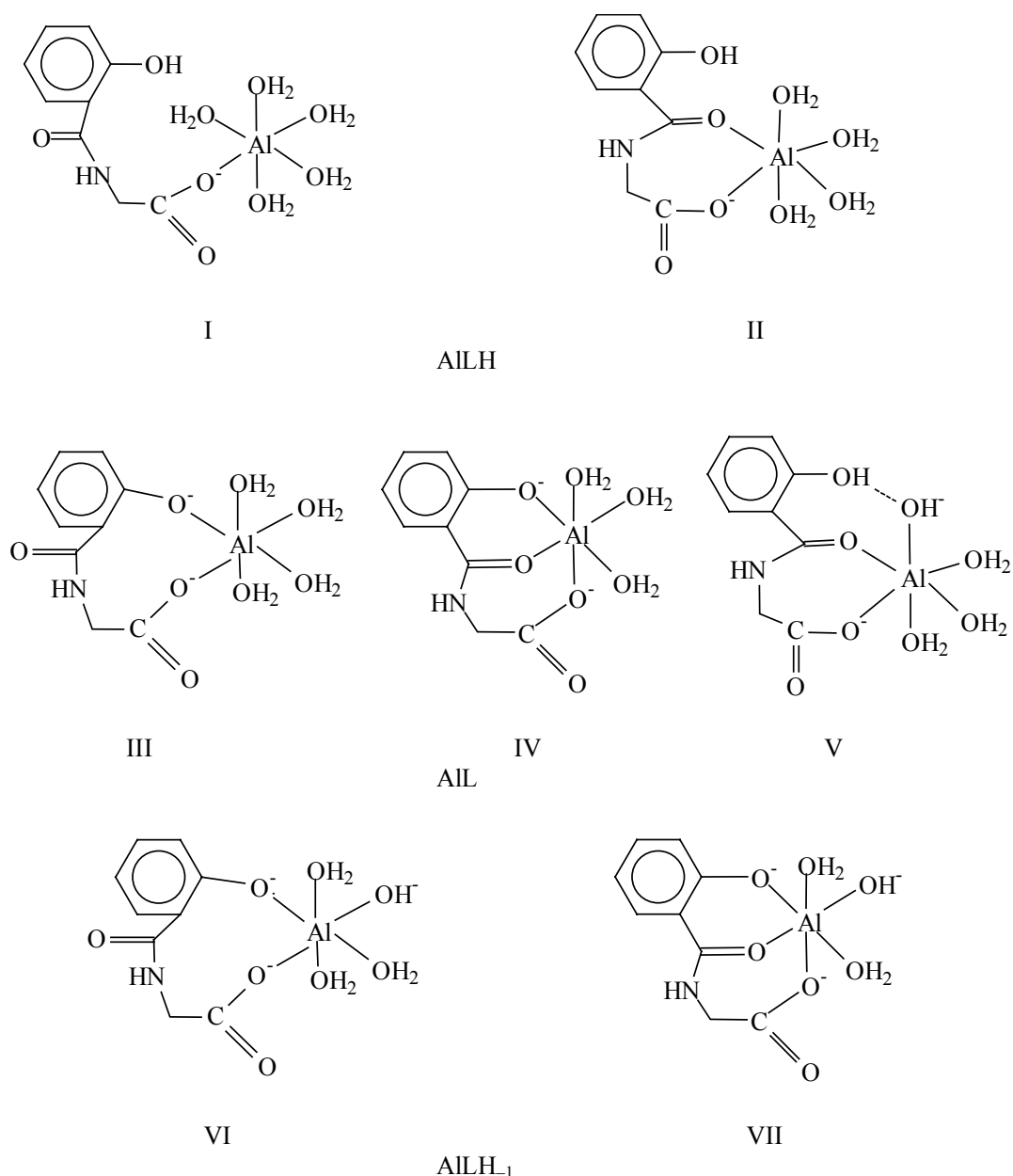
Az  $Al(III)$ –SalGly rendszerekben a fém–ligandum aránytól függően a csapadék, különböző pH-nál vált ki: 1:1 fém–ligandum aránynál pH  $\sim 4,7$ -ig, 1:2, valamint 1:4 fém–ligandum aránynál pH  $\sim 5,2$  illetve pH  $\sim 5,5$ -ig volt titrálható csapadékkiválás nélkül. 1:8 vagy ennél nagyobb fém–ligandum aránynál pH  $\sim 7$  felett tapasztalható csapadék-képződés. A részecskeeloszlási görbéből (4.3. ábra) kitűnik, hogy a komplexképződés nyolcszoros ligandum feleslegnél gyakorlatilag már pH = 5-nél teljes.



**4.3. ábra** Az  $Al(III)$ –SalGly rendszer részecskeeloszlási görbéje 1:8 fém–ligandum aránynál,  $c_{lig} = 0,004 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Savas közegben (pH = 2) a ligandum  $AlLH$  protonált komplex formájában van jelen, melyben vagy a karboxilcsoport vagy a fenolos hidroxilcsoport protonált. Nagyobb bázicitásának tulajdoníthatóan valószínűbb, hogy a fenolos hidroxilcsoport protonált és a karboxilátcsoport koordinálódik az alumínium(III)ionhoz (lásd I szerkezet 4.4. ábra). A ligandum egyfogúként vagy esetleg a karbonil oxigénatom részvételével kétfogúként (II szerkezet 4.4. ábra) koordinálódik a fémionhoz. A pH növelésével három deprotonálási folyamat megy végbe ( $AlLH = AlL + H^+$ ,  $AlL = AlLH_{-1} + H^+$ ,  $AlLH_{-1} = AlLH_{-2} + H^+$ ). Ezek a protonvesztési folyamatok párhuzamosan játszódnak le, a fenolos hidroxil-

csoport és a koordinált vízmolekulák párhuzamosan deprotonálódnak, az oldatban különböző kötési izomereket eredményezve (4.4. ábra).



**4.4. ábra** Az Al(III)–SalGly rendszerben képződő komplexek feltételezett szerkezetei

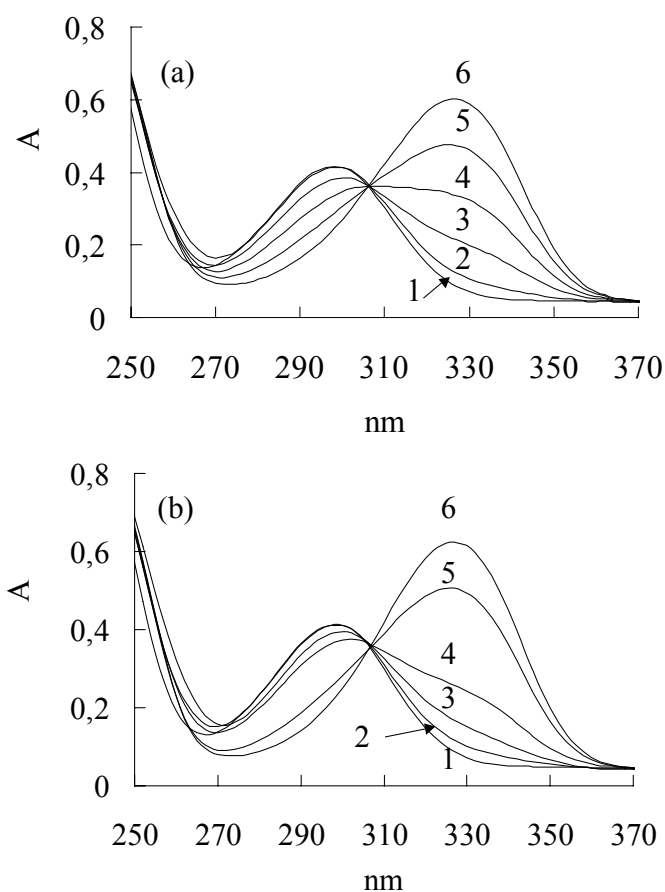
A fenolos hidroxilcsoport deprotonálódásával a ligandum kétfogú (COO<sup>-</sup>, O<sup>-</sup>) koordinációja valósul meg (III szerkezet, 4.4. ábra). A peptidkarbonil lehetséges kötésével számolva (akárcsak a Cu(II)-komplexeknél [94Go]) (6+7)-tagú csatolt kelátrendszer alakul ki (IV szerkezet 4.4. ábra). A koordinált vízmolekula deprotonálódásával a ligandum



egyfogú karboxilát koordinációja alakul ki, ebben az esetben a fenolos hidroxilcsoport protonált marad (V szerkezet 4.4. ábra). Természetesen, itt is elképzelhető a karbonil oxigénatom kapcsolódása a fémionhoz. Ez utóbbi esetben a meglehetősen alacsony,  $pK_{AILH} = 3,13$  érték a fenolos hidroxil és a koordinált hidroxidion közötti erős hidrogénhid kölcsönhatás meglétével magyarázható és/vagy geometriaváltással (oktaédresből tetraédresbe) [88Ma, 91Ki]. A következő deprotonálódás vegyes hidroxokomplexek képződését eredményezi, akár kétfogú ( $COO^-$ ,  $O^-$ ), akár háromfogú ( $COO^-$ ,  $CO$ ,  $O^-$ ) ligandumkoordinációval (VI és VII szerkezet 4.4. ábra). A meglehetősen alacsony,  $pK_{AIL} = 4,90$  érték 0,59 logaritmus egységgel kisebb, mint a  $pK([Al(H_2O)_6]^{3+}) = 5,49$  utalhat a hidrogénhid kölcsönhatásra. Növelve a pH-t a további protonvesztés  $pK_{AILH_1} = 4,93$  értékkel a második vízmolekuláról történik, kialakul az  $AIL(OH)_2$  vegyes hidroxokomplex. A kis pK-értékekre egy másik lehetséges magyarázat a külsőszférás komplexképződés. Az  $Al(OH)_3$  és a fenolos hidroxilcsoporton protonált ligandum ( $HL^-$ ) közötti hidrogénhidas kölcsönhatás eredményeképpen is létrejöhet az  $AILH_2$  összetételű részecske. Az Al(III)–ligandum rendszerekben a metastabilis állapotok gyakran előfordulnak, amikor az oldhatósági szorzat alapján csapadékképződést várnánk, az oldat akár napokig is tiszta marad. Az oldható hidroxokomplexek majdnem korlátlan ideig fenntarthatók metastabilis állapotban, amikor a rendszerben nem észlelhető csapadék-kiválás [90Ma].

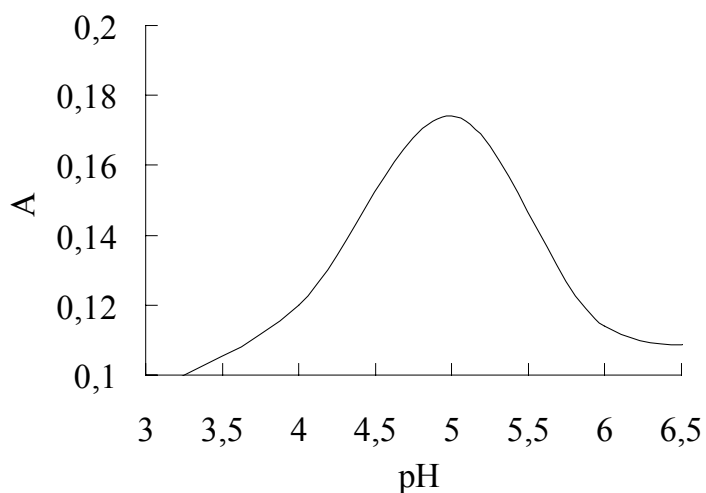
#### 4.1.2. Spektrofotometriás mérések

A képződő komplexekben kialakult kötési módokat spektrofotometriás mérésekkel határoztuk meg. A fenolos hidroxilcsoport deprotonálódása spektrofotometriásan követhető. A fenolos hidroxilcsoport jellemző sávot ad 298 nm-es maximummal, amely a ligandum deprotonálódásával 326 nm-re tolódik el. A SalGly látható abszorpciós spektruma Al(III) távollétében és jelenlétében különböző pH-értékeken a 4.5.(a és b) ábrán látható. Savas közegben (pH = 3–6) a ligandum fenolos hidroxilcsoportja protonált, nagyobb pH-értékeken deprotonált (fenolát) formában van jelen amint az a 4.5. (a) ábrán látható.



**4.5. ábra** Látható abszorpciós spektrumok (a) a SalGly ligandum (1) pH < 5; (2) pH ~ 5, 6; (3) pH ~ 8; (4) pH > 8.5; (5) pH ~ 9; (6) pH ~ 10; és (b) az Al(III)–SalGly rendszerben (1) pH ~ 3; (2) pH ~ 4, 6, 7; (3) pH ~ 5; (4) pH ~ 8; (5) pH ~ 9; (6) pH ~ 10,  $c_{\text{lig}} = 0,0002 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Al(III)}} = 0,000025 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

Az Al(III)–SalGly rendszerben (4.5. (b) ábra) savas közegben (pH < 4) a ligandum fenolos hidroxilcsoportja protonált. A pH növelésével megindul a fenolos hidroxil deprotonálódása, a 326 nm-nél megjelenő fenolátsáv intenzitása egyre nagyobb, míg a ligandum protonált formája teljesen eltűnik. pH ~ 5-nél már fenolát van jelen az ALLH<sub>1</sub> összetételű komplexben. Ez egyértelműen utal az Al(III)-okozta fenolos hidroxilcsoport deprotonálódásra, a fenolát koordinációjára. A pH = 3–6 tartományban képződő ALLH<sub>1</sub> összetételű részecske, úgy pH-potenciometriásan, mint spektrofotometriásan is kimutatható. Összehasonlítva a részecskeeloszlási görbét (4.3. ábra) a pH függvényében ábrázolt 326 nm-en mért abszorbancia görbével (4.6. ábra) látszik, hogy csak az ALLH<sub>1</sub> részecskében van deprotonált és koordinált fenolátcsoport.



**4.6. ábra** A 326 nm-en mért abszorbanciák pH függése az Al(III)–SalGly 1:8 rendszerben,  $c_{\text{lig}} = 0,0002 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Úgy a potenciometriás, mint a spektrofotometriás mérések pH = 5-nél adnak maximumot, amikor az Al(III) ~ 30%-a az ALLH<sub>1</sub> komplex formában van jelen (4.3. ábra). A legvalószínűbb kötési mód az ALLH<sub>1</sub> komplexben egy kétfogú (COO<sup>-</sup>, O<sup>-</sup>) koordináció (VI és VII szerkezet 4.4. ábra). pH > 5 felett, amikor az Al(OH)<sub>2</sub> részecske képződik a fenolátcsoportnak megfelelő abszorbancia csökkenni kezd, amely a ligandum (fenolátcsoport) újra protonálódására utal, azaz megszűnik a fenolátcsoporton keresztüli közvetlen koordináció (4.6. ábra). A fenolátcsoport újra protonálódása az Al(OH)<sub>2</sub> részecskében csak úgy valósulhat meg, hogy egy hidroxidion kiszorítja a fenolátcsoportot az Al(III) koordinációs szférájából. Ennek megfelelően egyfogú COO<sup>-</sup> koordináció alakul ki, az Al(OH)<sub>3</sub> metastabilis állapotban van. A protonált fenolos hidroxil és a koordinált hidroxidion és/vagy vízmolekulák közötti hidrogénkötések stabilizálják, és oldhatóvá teszik az Al(OH)<sub>3</sub> részecskét. Az ALLH<sub>2</sub> részecske egy külsőszférás komplexnek tekinthető és az Al(OH)<sub>3</sub>(HL)-nek írható fel.

A vizsgált pH-tartományban (pH = 2–10) az amidnitrogén deprotonálódása és koordinációja az Al(III)–SalGly rendszerben nem játszódik le. A SalGly fenolos hidroxilcsoportja nem bizonyult hatékony horgonycsoportnak. Valószínű, hogy az olyan *hard* jellegű fémionnál, mint az Al(III), az amidnitrogén deprotonálódásához és koordinációjához megfelelő elrendeződésben több negatívan töltött O-donorcsoportra van szükség.

### 4.1.3. Dinamikus fényszórás-mérések

Az Al(III)–SalGly rendszerben  $\text{pH} > 6$  felett lejátszódó aggregációs folyamatok, az  $\text{AlHL}_2$  részecskében kialakuló kötés tanulmányozása céljából dinamikus fényszórás-méréseket is végeztünk. A dinamikus fényszórás-mérés a folyadékközegben elosztatott kolloidrészecskék méretének meghatározására rutinszerűen alkalmazható, még akkor is, amikor a rendszerben koagulációs folyamatok játszódnak le [96Ho]. Természetesen, az Al(III)–SalGly rendszer aggregációs jellegzetességeinek teljes tisztázásához kiterjedt fényszórás-mérések, kinetikai mérések szükségesek, hiszen ezek a folyamatok igen bonyolultak. Koordinációs kémiai szempontból e módszer csak közelítő eredményeket szolgáltat a ligandum kötésére vonatkozóan, ezért nem kívántunk elmélyülni e területen, csupán néhány kvalitatív mérést végeztünk, mely alapján az  $\text{AlHL}_2$  részecskében kialakuló kötésmódra javaslatot tehetünk. Összehasonlítottuk a csak alumínium(III)iont tartalmazó és a ligandumot is tartalmazó rendszerekben képződő részecskék átlagos méretét. Azt tapasztaltuk, hogy a pH nagymértékben befolyásolja az aggregációs folyamatokat. Minél nagyobb a pH, annál nagyobb részecskék képződnek. A szalicilglicin ligandum hiányában, (2-6)-szor nagyobb részecskék képződnek, mint ligandum jelenlétében, ami egyértelműen arra utal, hogy a SalGly ligandum megkötődik a felületen és késlelteti az  $\text{Al(OH)}_3$  csapadék leválását. Ennek megfelelően, elképzelhető a ligandum közvetlen vagy akár külsőszférás koordinációja is az  $\text{Al(OH)}_3$  nanorészecskéhez. Állíthatjuk, hogy a ligandumnak döntő szerepe van az aggregációs folyamatokban. A SalGly ligandum az  $\text{AlHL}_2$  komplexben külsőszférásan kötődik az  $\text{Al(OH)}_3$  csapadékhoz, a képződő  $\text{Al(OH)}_3 \cdot \text{HL}$  komplex gátolja az aggregációt.

## 4.2. Az Al(III) kölcsönhatása aszparaginsav-tartalmú peptidekkel

A kisméretű peptidek közül az oldalláncban negatív töltésű karboxilcsoportokat tartalmazó AspAsp és AspAspAsp ligandumok komplexképződését vizsgáltuk alumínium(III)ionnal. Ezen ligandumok három, illetve négy karboxilcsoportot tartalmaznak, így nagyobb az affinitásuk az Al(III) iránt, azaz erősebb Al(III)-kötő molekulák, mint az egyszerű aszparaginsav vagy más aminosavak [72Si, 97Ki].

### 4.2.1. Potenciometriás vizsgálatok

#### 4.2.1.1. Potenciometriás eredmények az Al(III)–diaszparaginsav rendszerben

Az AspAsp ligandum potenciometriás titrálása során a három karboxilcsoport átfedő, lépcsőzetes egyensúlyi folyamatban deprotonálódik, míg a terminális  $\text{-NH}_3^+$ -csoport deprotonálódása jól elkülönült folyamat. A protonálódási állandókat a 4.2. táblázat tartalmazza.

**4.2. táblázat** Aszparaginsavat tartalmazó peptidek protonálódási és az Al(III)-komplexek stabilitási állandói (zárójelben az állandók utolsó számjegyének becsült hibaértékei láthatók),  $I = 0,20 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ KCl}$ ,  $t = 25^\circ\text{C}$

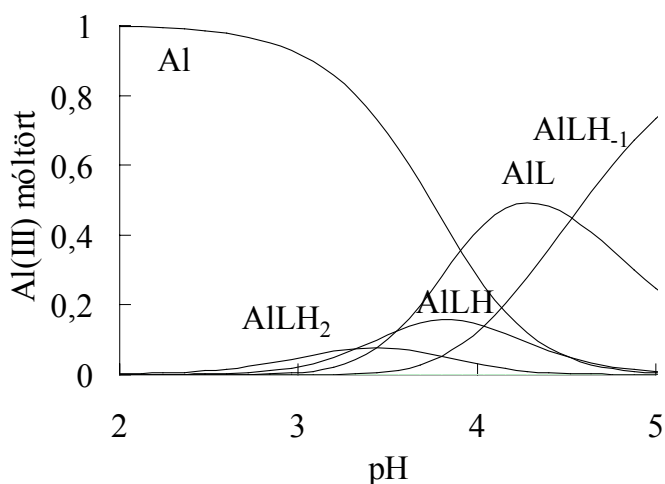
$\lg \beta$	AspAsp	AspAspAsp
HL	8,12(1)	8,08(1)
H <sub>2</sub> L	12,58(1)	12,90(1)
H <sub>3</sub> L	16,02(2)	16,79(1)
H <sub>4</sub> L	18,68(3)	20,06(1)
H <sub>5</sub> L	–	22,47(2)
AlLH <sub>2</sub>	14,42(12)	15,51(7)
AlLH	11,09(6)	12,33(2)
AlL	7,54(2)	8,45(2)
AlLH <sub>-1</sub>	3,01(2)	3,00(7)
Illesztési paraméter <sup>a</sup>	0,0012	0,0050
Pontok száma	188	379
V(cm <sup>3</sup> ) <sup>b</sup>	0,2–0,5	0,3–0,6

<sup>a</sup> A számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés a mérőoldat cm<sup>3</sup>-ben kifejezve

<sup>b</sup> A KOH mérőoldat fogyása az egyes titrálásoknál cm<sup>3</sup>-ben kifejezve

A legnagyobb,  $pK = 8,12$ -es érték egyértelműen a legbázikusabb  $-NH_3^+$ -csoporthoz rendelhető. Feltehetően, a legkisebb,  $pK = 2,66$  érték a terminális karboxilcsoporthoz tartozik, míg a  $pK = 3,44$  és  $pK = 4,46$  értékek az oldalláncok karboxilcsoportjainak felelnek meg. A  $pK$  értékek egyértelmű hozzárendelése a megfelelő oldallánc karboxilcsoportjához nem lehetséges az átfedő deprotonálódási folyamatok miatt, a sav-bázis egyensúlyok molekuláris szinten egyértelműen csak a mikroállandókkal írhatók le.

Az  $Al(III)$ –AspAsp rendszer csapadékkiválás nélkül  $pH \sim 5$ -ig volt titrálható. A potenciometriás titrálási görbék legjobban a 4.2. táblázatban megadott modellel és stabilitási állandókkal írhatók le. Az 1:2 összetételű komplexek és a kétmagvú részecskék képződése egyértelműen kizárható. Az  $Al(III)$ –AspAsp rendszerben 1:2 fém–ligandum aránynál számolt részecskeeloszlási görbe a 4.7. ábrán látható.



**4.7. ábra** Az  $Al(III)$ –AspAsp rendszer részecskeeloszlási görbéje 1:2 fém–ligandum aránynál,  $c_{lig} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

A komplexképződés már savas közegben ( $pH \sim 3$ ) elkezdődik, az  $AILH_2$  összetételű részecske képződésével. Az  $AILH_2$  protonált komplexben a ligandum egyfogúan,  $(COO^-)\{COO^-, COOH, NH_3^+\}$  vagy nagyobb valószínűséggel kétfogúan  $(COO^-, COO^-)\{COOH, NH_3^+\}$  koordinálja a fémiont. Ezt követően a ligandum protont veszít ( $pK = 3,33$ ) és az  $AILH$  összetételű részecske képződik, amelyben háromfogú  $(COO^-, COO^-, COO^-)\{NH_3^+\}$  vagy kétfogú karboxilátkoordináció  $(COO^-, COO^-)\{COO^-, NH_3^+\}$  is megvalósulhat. Ez utóbbi esetben a harmadik karboxilcsoport deprotonálódik ugyan, de nem koordinálja a fémiont. A  $pH$  további növelésével  $pK = 3,55$  értékkel feltehetőleg a

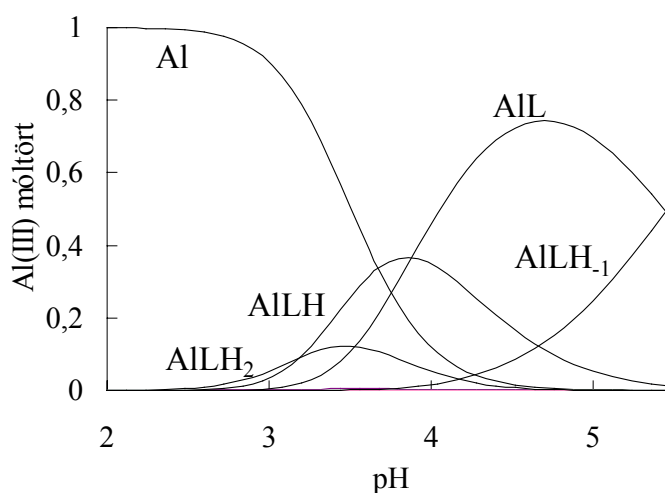
fémionhoz koordinált vízmolekula deprotonálódik, a koordinációs módban azonban nem következik be változás. Az ALL részecske meglehetősen kis pK-ja (1,9 logaritmus egységgel kisebb, mint az  $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6$  5,49-es pK-értéke) utalhat a vízmolekulák deprotonálódása következtében lejátszódó geometriaváltásra [88Ma, 91Ki]. Az ALL részecskében a ligandum vagy kétfogúan  $(\text{COO}^-, \text{COO}^-)(\text{OH}^-)\{\text{COO}^-, \text{NH}_3^+\}$  vagy háromfogúan  $(\text{COO}^-, \text{COO}^-, \text{COO}^-)(\text{OH}^-)\{\text{NH}_3^+\}$  koordinálja a fémiont. Az utolsó deprotonálódási folyamat (pK = 4,53) egyértelműen a fémionhoz koordinált vízmolekula deprotonálódásához rendelhető, az  $\text{ALLH}_{-1}$  részecske képződik, amelyben  $(\text{COO}^-, \text{COO}^-)(\text{OH}^-)_2\{\text{COO}^-, \text{NH}_3^+\}$  vagy  $(\text{COO}^-, \text{COO}^-, \text{COO}^-)(\text{OH}^-)_2\{\text{NH}_3^+\}$  koordináció valósul meg.

Megjegyzendő, hogy bár megadtuk a ligandum legvalószínűbb deprotonálódási sorát, a koordinált vízmolekulák és a harmadik karboxilcsoport deprotonálódása átfedő folyamatokban játszódnak le. A terminális aminos csoport a vizsgált pH-tartományban nem deprotonálódik és így valószínű, hogy nem is koordinálódik a fémionhoz. Ez nem meglepő, hiszen az  $\text{Al}(\text{III})$  *hard* fémionként az O-donorokat kedveli és a N-, S-donorok koordinációja nem kedvezményezett [91Ma]. A kétfogú aminosavaknál kimutatták, hogy az  $\text{NH}_2$ -csoport kötődésével képződő ötagú kelátgyűrűs komplex elhanyagolható koncentrációban képződik [97Ki]. Az  $\text{NH}_2$ -csoport olyan esetekben koordinál az alumínium(III)ionhoz, amikor az aminos csoportot mindkét oldalról karboxilátcsoportok veszik körül pl. az aszparaginsavnál, ahol (5+6)-tagú  $(\text{COO}^-, \text{NH}_2, \text{COO}^-)$ -típusú csatoltkelát alakul ki. A szomszédos karboxilátcsoportok hatására kedvezményezetté válik az aminos csoport koordinációja az alumínium(III)ionhoz [97Ki]. Az alkoholos hidroxilcsoport és az amidcsoport esetén tapasztaltak hasonló fémion által indukált deprotonálódást, ha ezek központi helyet foglalnak el egy molekulán belül [87Ki, 90Só].

#### 4.2.1.2. Potenciometriás eredmények az $\text{Al}(\text{III})$ –triaszparaginsav rendszerben

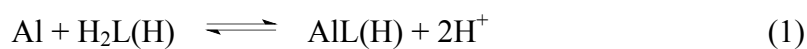
A triaszparaginsav ötfogú ligandumnak tekinthető. A legbázikusabb aminos csoport pK = 8,08-al deprotonálódik, a terminális karboxilcsoport pK = 2,41 értékkel veszi el protonját, míg a pK = 3,27, 3,89 és 4,82-es értékek az oldallánc karboxilcsoportoknak felelnek meg. Az oldallánc karboxilcsoportok átfedő folyamatokban deprotonálódnak. A protonálódási állandók jó egyezést mutatnak az irodalomban közölt értékekkel [91Ga, 95Ko]. A potenciometriás méréseket pH = 2–6 tartományban tudtuk kiértékelni (pH ~ 6

felett csapadékkiválást észleltünk). Az Al(III)–AspAspAsp rendszerben számolt részecske-eloszlási görbék a 4.8. ábrán láthatók.



**4.8. ábra** Az Al(III)–AspAspAsp rendszer részecske-eloszlási görbéje 1:2 fém–ligandum arányánál,  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

A legjobb illesztést a számolt és a mért értékek között, akárcsak az Al(III)–AspAsp rendszerben az AILH<sub>2</sub>, AILH, AIL és AILH<sub>-1</sub> részecskék feltételezésével kaptuk (4.2. táblázat). A komplexek képződési állandói az Al(III)–AspAspAsp rendszer esetén nagyobbak, mint az Al(III)–AspAsp rendszerben kapott megfelelő állandók, ami az Al(III) és AspAspAsp ligandum erősebb kölcsönhatására utal. Valószínűsíthető, hogy a ligandum kétfogúan vagy háromfogúan koordinálja a fémiont, hasonlóan az AspAsp ligandumhoz. A kétfogú koordináció az első Asp-molekula két karboxilátcsoportján keresztül, a háromfogú koordináció a peptid három karboxilátcsoportján (az első és második Asp-molekulák karboxilátcsoportjain) keresztül valósul meg. Feltehetően, a harmadik Asp-molekula karboxilátcsoportja (az N-terminális karboxilátcsoport) molekulán belüli elkülönültsége miatt nem koordinálja a fémiont. Annak eldöntésére, hogy melyik kötési mód (kétfogú vagy háromfogú ligandumkoordináció) a valószínűbb, kiszámoltuk a származtatott proton-kiszorítási állandókat a következő folyamatokra.



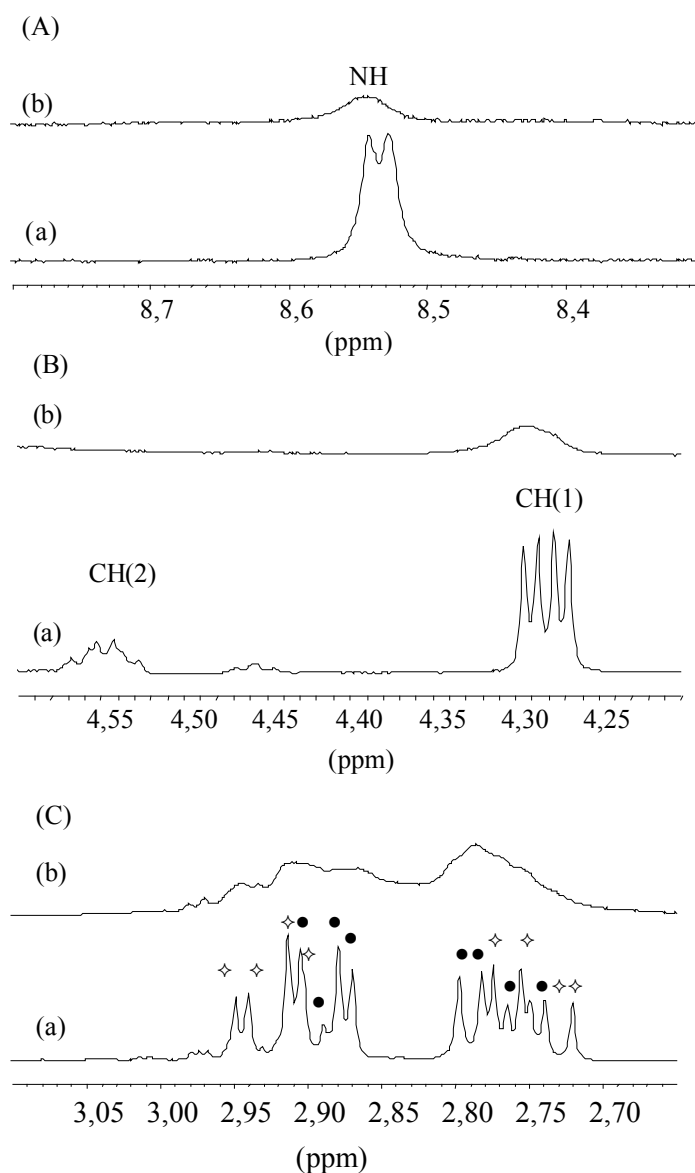


Tisztán kétfogú koordinációt feltételezve az AIL(H) és AIL(H)H<sub>-1</sub> komplexekben, a származtatott protonkiszorítási állandókra ( $\lg K_{\text{AIL(H)}} = \lg \beta_{\text{AILH}} - \lg \beta_{\text{H}_3\text{L}}$ ,  $\lg K_{\text{AIL(H)H}_{-1}} = \lg \beta_{\text{AILH}_{-1}} - \lg \beta_{\text{H}_3\text{L}}$ ) a következő értékeket számoltuk: AspAsp esetén az (1)-es reakcióra -4,93, a (2)-es reakcióra -8,48, valamint az AspAspAsp rendszerben az (1)-es reakcióra -4,46 és a (2)-es reakcióra -8,34. Ezek az értékek körülbelül egy nagyságrenddel nagyobbak, mint a borostyánkősav megfelelő értékei: -5,57 az (1)-es reakcióra és -9,73 a (2)-es reakcióra [97Ki]. Ez valószínűsíti az Asp-tartalmú peptidek legalább részleges háromfogú koordinációját.

## 4.2.2. NMR-spektroszkópai vizsgálatok

### 4.2. 2.1. NMR-spektroszkópai mérések az Al(III)–diaszparaginsav rendszerben

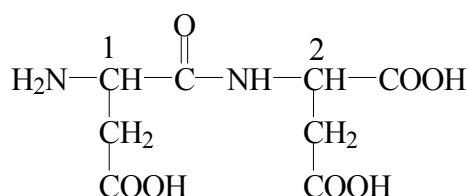
A komplexképződés kimutatására  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR-vizsgálatokat végeztünk. Amint a 4.9. ábrán látszik a  $^1\text{H}$  NMR-spektrum rezonanciavonalai három jól elkülönült ppm-tartományban jelennek meg: (i) az amid- (4.9. A ábra), (ii) a metin- (4.9. B ábra), valamint (iii) az alifás metiléntartományban (4.9. C ábra).



**4.9. ábra** Az  $^1\text{H}$  NMR-spektrum (A) peptidamid-, (B) metin- és (C) metiléntartománya (a)  $\text{H}^+$ -AspAsp és (b) Al(III)-AspAsp rendszerében 1:1 fém–ligandum arányánál,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{pH} = 4$ ,  $\diamond$   $\text{CH}_2(1)$ ,  $\bullet$   $\text{CH}_2(2)$

Az egyes  $^1\text{H}$  NMR-jeleket a kísérleti részben említett kétdimenziós módszerekkel azonosítottuk. A terminális  $\text{NH}_2$ -csoport protonjelét az oldószerrel való gyors protoncsere miatt nem látjuk. Az amidprotonok kémiai eltolódása kismértékben függ az aminosav típusától ( $8,3 \pm 0,7$  ppm-nél jelennek meg) [94Kr]. A  $\text{pH} = 3,5$ -nél rögzített AspAsp ligandum  $^1\text{H}$  NMR-spektrumában (4.9. A(a) ábra) az amid NH-proton az  $\alpha\text{CH}$ -protonokkal való csatolás miatt dublettként jelenik meg 8,50 ppm-nél ( $^3J_{\text{HH}} = 7,9$  Hz). A ligandum deprotonálásával a dublett nagyobb terek fele tolódik (8,55 ppm-re  $\text{pH} = 4$ -nél és 8,48 ppm-re  $\text{pH} = 4,5$ -nél). Az Al(III) jelenlétében felvett spektrumot összehasonlítva a ligandum spektrumával, jelentős jelkiszélesedés észlelhető, amint az a 4.9. A(b) ábrán látszik. A rezonanciavonalak kisebb terek fele tolódnak ( $\Delta\delta = 0,01$  ppm).

A két metinproton 4,2–4,7 ppm-tartományban jelenik meg (4.9. B ábra). Az AspAsp-ban található atomokra a 4.10. ábrán látható számozási séma szerint hivatkozom.

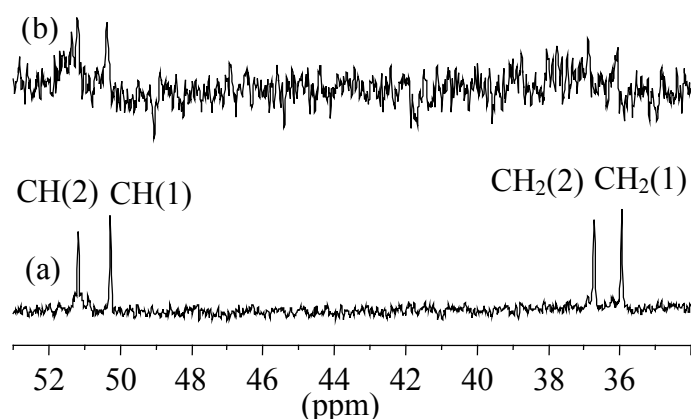


**4.10. ábra** Az AspAsp-ot felépítő atomok számozása

A  $\text{pH} = 4$ -nél felvett  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban a peptid N-terminális végéhez közeli CH(1)-metincsoport jele a metilénprotonokkal történő csatolás miatt egy dublett dublettjeként azonosítható 4,28 ppm-nél ( $^3J_{\text{HH}} \sim 4,4$  Hz és  $^3J_{\text{HH}} \sim 9,4$  Hz). A ligandum deprotonálásával a rezonanciavonalak részleges elkülönülése figyelhető meg, a dublettek kismértékben nagyobb terek fele tolódnak. A peptid C-terminális végéhez közeli metincsoport, CH(2) az amidprotonokkal történő csatolás miatt multipliett jelet ad 4,54 ppm-nél. A víz rezonanciavonalának telítése is hatással van erre a jelre, így a jel alakja torzult. Az Al(III)-ligandum rendszerekben (4.9. B(b) ábra) nagyon széles rezonanciajelek figyelhetők meg, ezért az egyes CH(1)-jelek pontosan nem azonosíthatók. A rezonanciajelek jelentős szélesedése és a kisebb terek fele történő eltolódása nagy valószínűséggel utal a fémion-ligandum között fellépő kölcsönhatásra, a CH(1)-csoportok és a kvadrupólus Al(III) térbeli közelségére. A protoncsere sebessége feltehetően az NMR-időskála tartományába esik.

A metilénsoportokhoz tartozó jelek azonosítása nehezebb volt, mert a  $^1\text{H}$  NMR-spektrum hasonló környezetű metilénprotonokat tartalmaz, a jelek átfednek. Az egyes metilénsoportok protonjai mágneseesen nem egyenértékűek (4.9. C(a) és 4.10. ábra). A  $\text{H}_a(\text{CH}_2)$  és  $\text{H}_b(\text{CH}_2)$  protonok csatolása a  $\text{H}(\text{CH})$ -val tizenhat rezonanciajelet eredményez a 2,7–3 ppm-tartományban. Az N-terminálishoz közeli metilénsoport jele 2,75 ppm és 2,93 ppm-nél ( $^3J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_a(\text{CH}_2)} = 4,6$  Hz,  $^3J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_b(\text{CH}_2)} = 9,4$  Hz,  $^2J_{\text{H}_a(\text{CH}_2)-\text{H}_b(\text{CH}_2)} = 17,6$  Hz) jelenik meg. A C-terminálishoz közeli metilénsoport protonjelei 2,78 ppm és 2,90 ppm-nél ( $^3J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_a(\text{CH}_2)} = 4,8$  Hz,  $^3J_{\text{H}(\text{CH})-\text{H}_b(\text{CH}_2)} = 7,8$  Hz,  $J_{\text{H}_a(\text{CH}_2)-\text{H}_b(\text{CH}_2)} = 16,3$  Hz) találhatóak. Az  $\text{Al}(\text{III})$ –AspAsp rendszerben képződő komplexek nagyon széles rezonanciajeleket okoznak a  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban és így a kötőmódra vonatkozóan, nem hordoznak információt. Nem látunk külön jelet a kötött és szabad ligandum között, ami arra utal, hogy a ligandumcsere-folyamatok semmiképpen sem lassúak az NMR-időskálán.

Az AspAsp ligandum pH = 4-en felvett  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum metin- és metiléntartománya a 4.11. (a) ábrán látható, a hozzá tartozó szerkezetet pedig a 4.10. ábra szemlélteti.



**4.11. ábra** A  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrum metin- és metiléntartománya (a) ligandum jelenlétében, (b) az  $\text{Al}(\text{III})$ –AspAsp rendszer 1:1 fém–ligandum arány esetén,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,01$  mol·dm $^{-3}$ , pH = 4

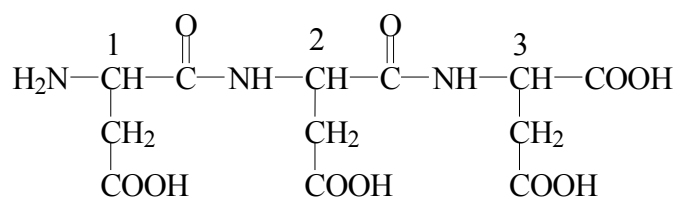
A  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumban négy rezonanciajel azonosítható. A metincsoport, CH(2)-jele 51,2 ppm-nél és a CH(1)-jele 50,3 ppm-nél jelenik meg, míg a metilén szénatomok, CH<sub>2</sub>(1) 36,0 ppm-nél és CH<sub>2</sub>(2) 36,7 ppm-nél okoznak jelet.  $\text{Al}(\text{III})$  jelenlétében (4.11. (b) ábra) gyakorlatilag nincs kémiai eltolódás, csupán igen jelentős jelszélesedés és

jelintenzitás-csökkenés figyelhető meg, amely arra utal, hogy a fémionkoordináció ezekre a csoportokra is hatással van.

Az amidkarbonil- és karboxilcsúcsok kisebb tereknél jelennek meg. A 168,2 ppm-nél levő jel a peptid karbonilszénatomhoz, míg a 175,5 és 175,2 ppm-nél levő jelek a karboxilcsoportokhoz rendelhetők. A 175,5 ppm-nél megjelenő karboxiljel intenzitása kétszerese a 175,2 ppm-nél megjelenő jel intenzitásának, ami arra enged következtetni, hogy ez a rezonanciavonal két átfedő karboxiljelhez tartozik. A karbonil- és karboxiljelek teljesen hiányoznak az Al(III)–ligandum rendszer  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumából. Feltehetően a karboxilátcsoportoknak a kvadrupólus alumínium(III)ionhoz való koordinációja miatt a jelek szélesedése olyan nagymértékű, hogy gyakorlatilag a csúcs beolvad az alapvonalba. Az Al(III)–AspAsp rendszerben képződő AILH és AIL komplexekben legalább kétfogú karboxilátkoordináció valósul meg, de nem zárható ki a háromfogú karboxilátkoordináció sem.

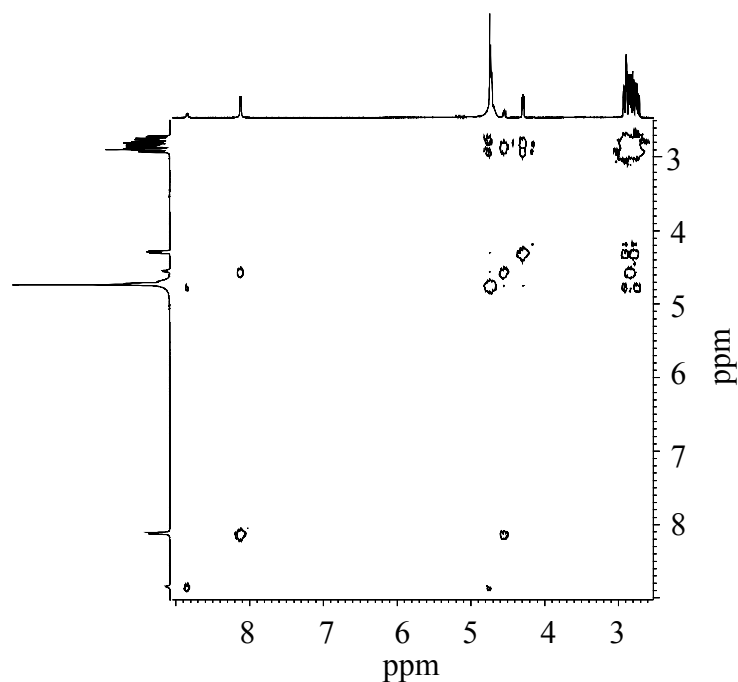
#### 4.2.2.2. NMR-spektroszkópiai mérések az Al(III)–triaszparaginsav rendszerben

Az AspAsp rendszerhez hasonlóan az AspAspAsp rendszerben is a  $^1\text{H}$  NMR-spektrumnak három ppm-tartománya különíthető el: amidprotonok, metincsoport és az alifás metilénsoport protonjainak ppm-tartománya. A terminális aminocsoport protonjainak jelei az oldószerprototonokkal való gyors csere következtében nem észlelhetők az  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban. Az AspAspAsp-ban található atomokra a 4.12. ábrán látható számozási séma szerint hivatkozom.



**4.12. ábra** Az AspAspAsp-ot felépítő atomok számozása

Az amidproton tartományban két dublett jelenik meg 8,84 ppm és 8,12 ppm-nél, amelyeket a kétdimenziós  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-spektrum (4.13. ábra) alapján rendeltünk a megfelelő csoportokhoz.



**4.13. ábra** Az AspAspAsp ligandum  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY spektruma,  $c_{\text{lig}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{pH} = 4$

A  $\text{pH} = 4$ -nél felvett  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-spektrumban 8,12 ppm-nél ( $^3J_{\text{HH}} = 7,8 \text{ Hz}$ ) megjelenő éles dublett a C-terminális közeli peptid amidcsoportnak felel meg, míg a szélesebb dublett 8,84 ppm-nél ( $^3J_{\text{HH}} = 6,8 \text{ Hz}$ ) a peptid N-terminális végéhez közeli, amidcsoportoz tartozik. Ez utóbbi intenzitása fele az előző dublett intenzitásának, ami a vízjel telítésének következménye. A CH(3)-csoport protonjának csatolása az NH-protonnal hasonló intenzitáscsökkenést okoz a peptidamid protonjára is. A ligandum deprotonálódása során az amidprotonok jelei kissé nagyobb terek fele tolnak. A C-terminális NH-protonok 8,17 ppm-ről ( $\text{pH} = 3,5$ ) 8,08 ppm-re ( $\text{pH} = 4,5$ ) tolnak, míg az N-terminális NH-protonok kismértékű nagyobb terek fele történő eltolódást (8,87 ppm-ről ( $\text{pH} = 3,5$ ) 8,81 ppm-re ( $\text{pH} = 4,5$ )) és jelentős szélesedést szenvednek a  $\text{pH}$  növelésével. Az Al(III) koordinációja a ligandumhoz az amidprotonok jeleinek jelentős szélesedését ( $\Delta\delta = 0,008 \text{ ppm}$ ) és nagyobb terek fele történő eltolódását eredményezi.

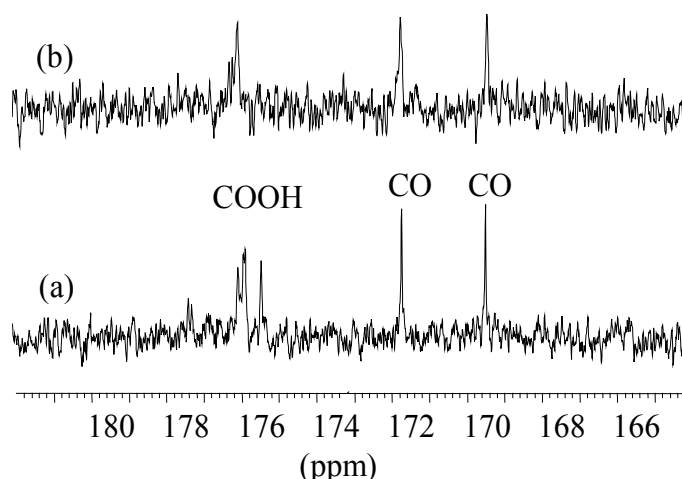
A  $\text{pH} = 4$ -nél felvett  $^1\text{H}$  NMR-spektrum metintartományában (4,2–4,7 ppm) a ligandumnak két multipliett jele azonosítható. Egyik egy éles dublett dublettje 4,29 ppm-nél ( $^3J_{\text{HH}} = 4,7 \text{ Hz}$  és  $^3J_{\text{HH}} = 9,4 \text{ Hz}$ ), míg a másik egy rendkívül széles és torzult multipliett 4,55 ppm-nél. A megfelelő szerkezet (4.12. ábra) és a  $^1\text{H}$ -COSY spektrum (4.13. ábra) alapján a három nem egyenértékű metinproton jelei egyértelműen azonosíthatók.

A metincsoport CH(3) jele kisebb térnél található,  $\delta > 4,70$  ppm-nél (a vízjel alatt), ezért az egydimenziós  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban a vízjelben csak egy vállként jelenik meg. A másik két metinproton jele 4,29 ppm-nél CH(1) és 4,55 ppm-nél CH(2) található. A ligandum karboxilcsoportjainak deprotonálódásával a rezonanciavonalak kismértékű eltolódása következik be:  $\Delta\delta_{\text{CH}(1)} = 0,04$  ppm és  $\Delta\delta_{\text{CH}(2)} = 0,17$  ppm. Az Al(III) koordinálódása a ligandumhoz, itt is a jelek jelentős szélesedésében és a nagyobb terek felé történő eltolódásában nyilvánul meg.

Az alifás metilénprotonok az  $^1\text{H}$  NMR-spektrum 2,6–30 ppm-tartományában adnak jelet. A metinprotonok, valamint a peptid amidprotonjával történő csatolás miatt a spektrum igen bonyolult. A multiplett jelek (2,73, 2,77, 2,84, 2,89 és 2,92 ppm) hozzárendelése a megfelelő metilénprotonokhoz meglehetősen bizonytalan a rezonanciavonalak többszörös felhasadása és átfedése miatt. Valószínű azonban, hogy a 2,73 ppm és 2,92 ppm-nél megjelenő csúcs a  $\text{CH}_2(3)$ -protonokhoz rendelhető, míg a 2,84 ppm-nél található jel a  $\text{CH}_2(2)$ -protonoknak felel meg. A 2,73 ppm és a 2,77 ppm-nél található csúcs a  $\text{CH}_2(1)$ -protonokhoz tartozik. Az Al(III) koordinációja a ligandumhoz ebben az esetben is a rezonanciajelek kismértékű eltolódásában,  $\Delta\delta = 0,02$  ppm (nagyobb terek fele) és jelentős szélesedésében jelentkezik.

A ligandum pH = 4-nél felvett  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumában az AspAspAsp szénatomjai külön jelként azonosíthatók. A metin szénjelek 36,7 ppm és 37,2 ppm-nél találhatók. Al(III) hatására a nagymértékű szélesedés következtében ezek a jelek eltűnnek. A metilénszenek 50,9 ppm-nél szingulettként és 51,2 ppm-nél dublettként jelennek meg meglehetősen kis intenzitású csúcsként, amely arra utal, hogy a metilénsoportok a fém-centrum közelében helyezkednek el.

Kisebb kémiai eltolódás értékeknél találjuk a ligandum peptidkarbonil-, és a karboxilcsoport jeleit, amint azt a 4.14. (a) ábra mutatja. 169,4 ppm és 171,6 ppm-nél éles szingulettet ad a két karbonilcsoport, mely a fém koordinációja során nem tolódnak el és intenzitásuk is alig változik. Ez feltehetően arra utal, hogy a peptid karbonilcsoportok nem vesznek részt a koordinációban. A karboxilcsoport rezonanciavonalai 175,4, 175,8, 175,9 és 176,0 ppm-nél találhatók.



**4.14. ábra** A <sup>13</sup>C NMR-spektrum karbonil- és karboxil-tartománya (a) ligandum jelenlétében és (b) Al(III)–AspAspAsp rendszerben 1:1 fém–ligandum aránynál,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , pH = 4

Az Al(III)-tartalmú minta spektrumában (4.14. (b) ábra) csak egyetlen karboxilátjel észlelhető 176,0 ppm-nél, amely egy nem koordinálódó karboxilátcsoportot valószínűsít (feltehetőleg az N-terminális részhez közeli  $\text{COO}^-$ -csoportot). A többi három karboxilátcsoport valószínűleg koordinálódik a fémionhoz és a karboxilátjelek ezért szélesednek ki olyan mértékben, hogy beolvadnak az alapvonalba. Ez a megfigyelés a potenciometriás eredményekkel összhangban alátámasztja az AspAspAsp ligandum háromfogú koordinációját a képződő AILH és AIL komplexekben, a molekulában egyetlen nem koordinálódó karboxilátcsoport van jelen.

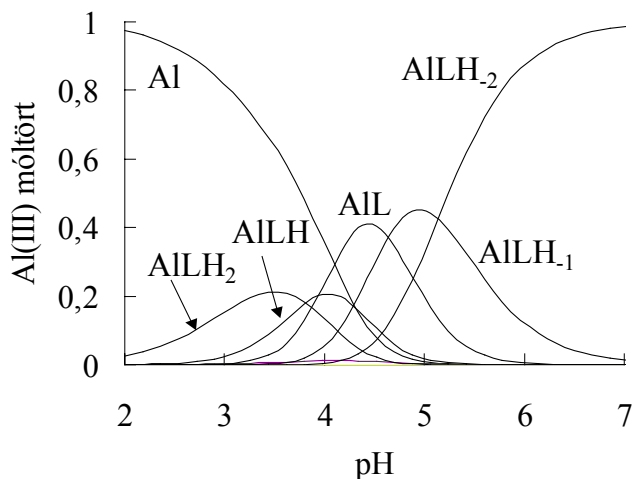
Az Asp-tartalmú di- és tripeptidek vizsgálata azt mutatta, hogy a diaszparaginsav, triaszparaginsav karboxilátcsoportjai nem elegendőek ahhoz, hogy pH = 7-nél az alumínium(III)iont komplex formában, oldatban tartsák. Ehhez feltehetőleg több donorcsoport kedvező elrendeződése szükséges. Ez teljesülhet valamilyen nagyobb oligopeptidben.





Az N-terminálisan védett AcLysSerProValValGluGly heptapeptid három disszociálisan protont tartalmaz, amelyek a vizsgált pH-tartományban deprotonálódnak. A legnagyobb  $pK = 10,33$  egyértelműen a Lys- $\text{NH}_3^+$  csoportjához rendelhető. A terminális glicin karboxilcsoportjának és a glutaminsav  $\gamma$ -karboxilcsoportjának savassága össze mérhető, így a savas pH-tartományban ezek a funkciós csoportok átfedő folyamatokban veszítik el protonjaikat. Összehasonlítva a 4.3. táblázatban szereplő makroszkópikus protonálódási állandókat a különböző Glu-tartalmú oligopeptidek megfelelő állandóival [97Pe], a  $pK = 4,55$  érték a Glu karboxilcsoportjához rendelhető, míg a  $pK = 3,39$  a terminális karboxilcsoportnak felel meg, bár ezek a protonvesztések átfedő folyamatokban játszódnak le. A Ser hidroxilcsoportja gyengén savas lévén a vizsgált pH-tartományban nem deprotonálódik.

A vizsgált Al(III)–peptid rendszer csapadékkiválás nélkül pH  $\sim 10$ -ig volt titrálható, bár a komplexképződés pH = 7–9 tartományban jelentősen lelassult. Ebben a tartományban tíz perc sem volt elegendő az egyensúly beállításához, ezért ezeket a mérési pontokat nem használtuk fel a számolásokhoz. A legjobb illesztést a mért és a számolt titrálási görbék között a 4.3. táblázatban megadott részecskékkel és stabilitási állandókkal kaptuk.



**4.16. ábra** Részecskeeloszlási görbék az Al(III)–AcLysSerProValValGluGly rendszerben,  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Al}} = 0,001 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

A vizsgált pH-tartományban a titrálási adatok alapján 1:1 összetételű komplexek képződnek, amelyek csak protonáltsági állapotukban térnek el egymástól. A különböző kiindulási koncentrációk mellett elvégzett titrálások kiértékelése alapján a többmagvú részecskék képződése egyértelműen kizárható, bár a 4.16. ábrán feltüntetett részecske-

eloszlási görbékből nem látható, hogy a savas pH-tartományban az Al(III) és a peptid között gyenge kölcsönhatás jön létre. 1:1 fém–ligandum aránynál a ligandumnak csak ~30%-a, míg 1:4 fém–ligandum aránynál a ligandumnak ~40%-a koordinálódik az alumínium(III)ionhoz. A titrálás kezdeti pH-ján már jelen van az oldatban az  $AlLH_2$  komplex, amely feltehetően a ligandum karboxilátcsoportján keresztüli koordinációval alakul ki. A következő lépésben a ligandum Glu karboxilcsoportjának deprotonálódásával az  $AlLH$  részecske képződik, amelyben csatolt kelátgyűrű alakul ki, a terminális karboxilát-, a Glu oldallánc karboxilát-, valamint a peptid karbonilcsoportja koordinálódik a fémionhoz. A pH növelésével párhuzamos deprotonálódási folyamatok játszódnak le. Az alumínium(III)ionhoz koordinált vízmolekulák deprotonálódásával rendre az  $AlL$ ,  $AlLH_{-1}$ ,  $AlLH_{-2}$  komplexek képződnek. A komplexképződés semleges pH-tartományban lesz számottevő, amikor szinte kizárólag az  $AlLH_{-2}$  részecske van jelen a rendszerben.

#### 4.3.2. NMR-spektroszkópiai mérések

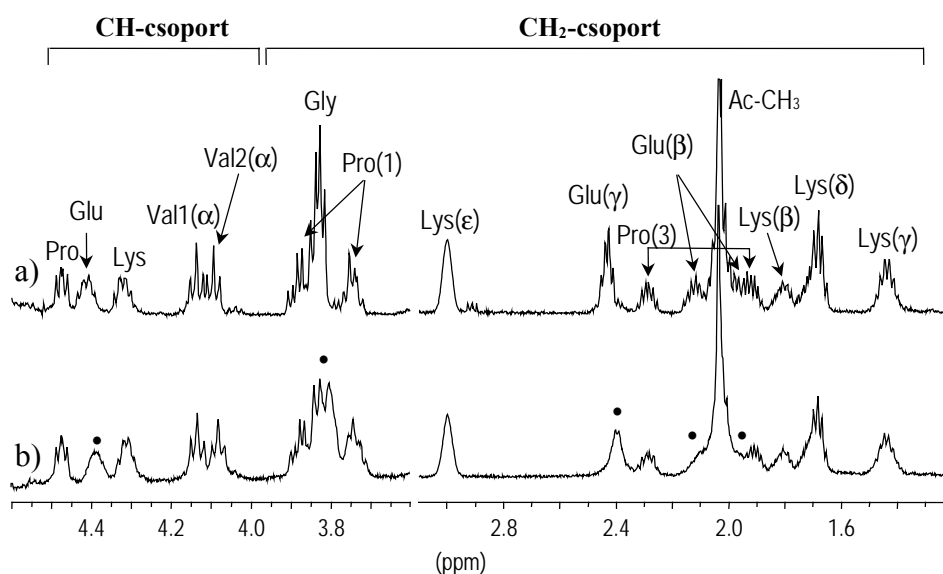
A komplexekben kialakuló kötésmód megállapítására a szabad ligandum oldatában felvett NMR-spektrumok és az ekvimoláris mennyiségben alumínium(III)ionokat is tartalmazó oldatban mért NMR-spektrumok összehasonlító elemzését végeztük el. Elsőként a ligandum  $^1H$  és  $^{13}C$  NMR-jeleit azonosítottuk a kísérleti részben felsorolt kétdimenziós NMR-technikák segítségével.

A ligandum  $^1H$  NMR-spektruma, valamint a ligandum alumínium(III)ion jelenlétében 1:1 fém–ligandum arány mellett felvett protonspektruma a 4.17. ábrán látható.

A metilcsoportok  $^1H$  NMR-jeleinek azonosításánál abból indultunk ki, hogy az egyetlen szingulett jel 2,03 ppm-nél (4.17. (a) ábra) az N-terminális acetilcsoport metilprotonjához tartozik. A nagyobb térerőnél, 0,93 ppm és 0,94 ppm-nél jelentkező két részlegesen átfedő dublett a Val metilprotonokhoz rendelhető.

A peptid metilénproton jelei széles 1,3–4,0 ppm-tartományban multiplett csúcsokként tűnnek fel (4.17. (a) ábra). A Lys  $\beta CH_2$ -csoport jelei 1,72–1,81 ppm-tartományban, a Ser  $\beta CH_2$ -csoport jelei 3,84–3,90 ppm, míg a Glu  $\beta CH_2$  jelei 1,98–2,13 ppm-tartományban találhatók meg. A királis szénatom szomszédságában elhelyezkedő metilén csoportoknál gyakran előfordul a rezonanciavonalak további felhasadása, így nem meglepő, hogy esetünkben a Glu metilén csoportjának két hidrogénje kémiaiilag nem egyenértékű, ezáltal

tovább bonyolódik a spektrum. Hasonló felhasadást észleltünk, a Pro-gyűrű hidrogénjeire, amelyek multiplétként azonosíthatók: 1,92, 2,29 ppm és 3,75, 3,84 ppm-nél.

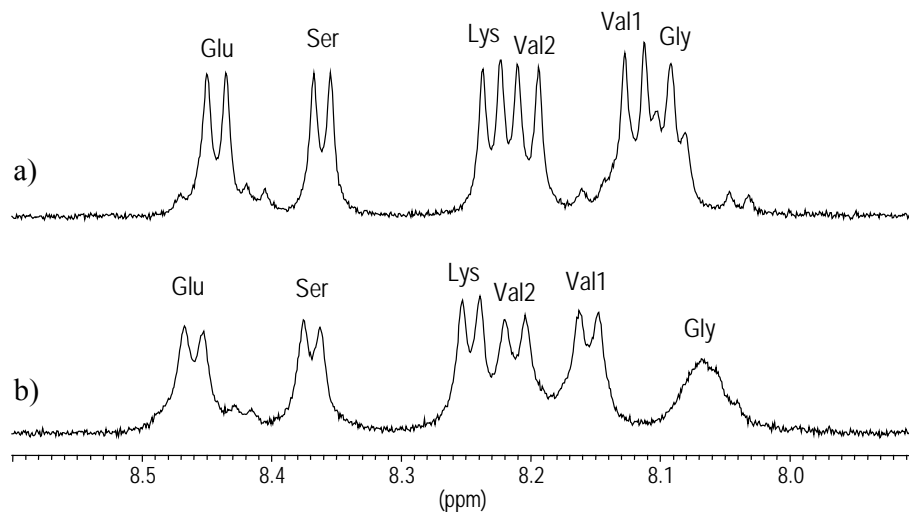


**4.17. ábra** Az AcLysSerProValValGluGly peptid  $^1\text{H}$  NMR-spektrumának metin- és metilén-tartománya (a)  $\text{H}^+$ -ligandum és (b)  $\text{Al(III)}$ -ligandum rendszerében 1:1 fém–ligandum aránynál, (•) szelektív szélesedést jelöl,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{pH} = 4$

A metin protonjelek, amint a 4.17. ábrán látszik, 4,0–4,5 ppm-tartományban jelentkeznek, kivétel csak a Ser metinjele, ami a vízjel alatt található. A metinprotonok a metilénprotonokkal való csatolás miatt multiplétt csúcsokként azonosíthatók: 4,10 ppm-nél Val(1), 4,14 ppm-nél Val(2), 4,32 ppm-nél (Lys), 4,42 ppm-nél (Glu), 4,48 ppm-nél (Pro). Kisebb tereknél, 8,0–8,5 ppm-tartományban, az amidprotonok jeleit láthatjuk (4.18. (a) ábra). A Gly 8,09 ppm-nél triplétt jelet ad, míg a további NH-protonok 8,11 ppm-nél (Val1), 8,19 ppm-nél (Val2), 8,22 ppm-nél (Lys), 8,34 ppm-nél (Ser) és 8,43 ppm-nél (Glu) a metincsoportokkal való csatolás következtében dublettek. A  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban az oldallánc Lys  $\text{NH}_2$ -csoportjának megfelelő protonjelet nem látjuk az oldószerprotonokkal történő gyors csere miatt.

Az alumínium(III)ionokat ekvimoláris mennyiségben tartalmazó oldatokban a  $\text{pH} = 4$ -nél felvett  $^1\text{H}$  NMR-spektrumok a 4.17. (b) és 4.18. (b) ábrákon láthatóak. Egyes protonjelek a szabad ligandum protonspektrumához képest (•) szelektív szélesedést szenvednek, mely egyértelműen utal az  $\text{Al(III)}$  és a peptid között kialakuló gyenge kölcsönhatásra. Mivel a kötött és a szabad ligandum jelei nem különülnek el egymástól és

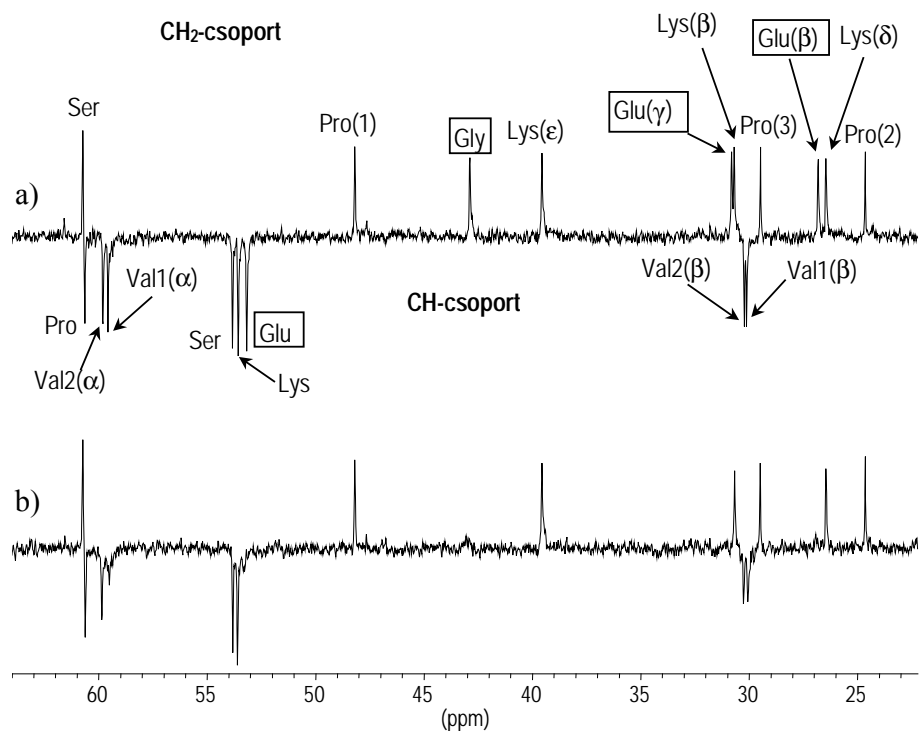
nem észlelhető lényeges kémiai eltolódás sem (az amidprotonok kivételével), feltételezhetően a ligandumcsere-sebessége az  $^1\text{H}$  NMR-időskála tartományába esik.



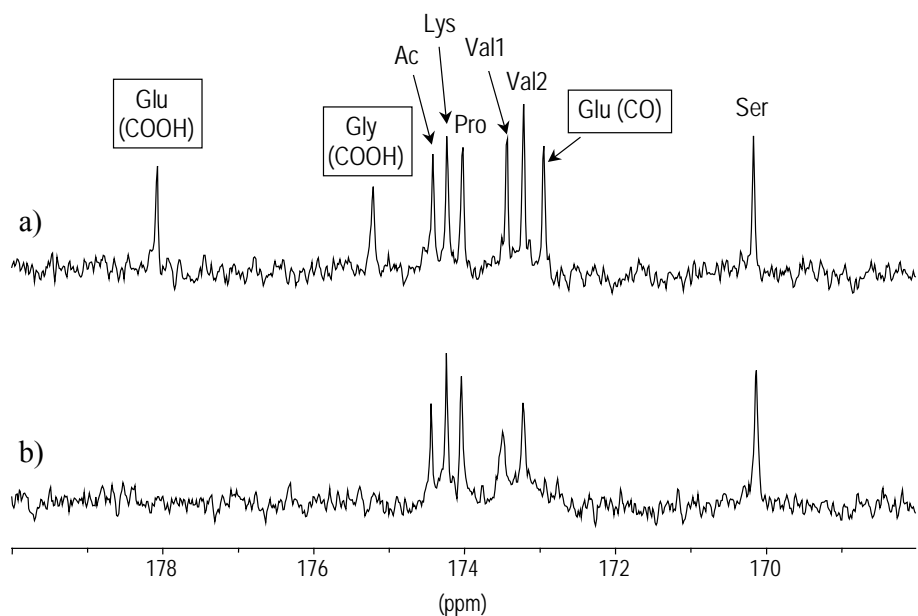
**4.18. ábra** Az AcLysSerProValValGluGly peptid  $^1\text{H}$  NMR-spektrumának amidtartománya (a)  $\text{H}^+$ -ligandum és (b)  $\text{Al(III)}$ -ligandum rendszerében 1:1 fém-ligandum arányánál,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{pH} = 4$

$\text{Al(III)}$  hatására a Glu ( $\beta$ -,  $\gamma$ ) metilén- és metincsoportjának, valamint a Gly metilénsoportjának jele szélesedik ki (4.17. (b) ábra). A Gly peptidamid jele a nagyobb terek fele tolódik el, és jelentős mértékben kiszélesedik, míg a Val(1)-csoport amidjele kisebb terek felé tolódik lényeges jelalak változás nélkül. A többi amidcsoport (Val(2), Lys, Ser, Glu) protonjelei kismértékű kisebb terek fele tolódnak el (4.18. (b) ábra).

Hasonló eredményekre vezettek a  $^{13}\text{C}$  NMR-mérések. A peptid  $^{13}\text{C}$  NMR-jelének könnyebb azonosítása érdekében úgynevezett csatolási állandó modulált  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumokat vettünk fel (4.19. és 4.20. ábrák), amelyekben a metil-, metincsoportok szénatomjai negatív jelként, míg a metilén-, karbonil-, karboxilcsoport jelei pozitív jelként jelentkeznek. A 4.19. (a) ábrán a 22–61 ppm között láthatók a ligandum alifás szénatomtartományában fellelhető metin- és metilénsoportok jelei, míg 160–180 ppm között, a 4.20. (a) ábrán a ligandum karbonil- és karboxilcsoportok jelei vannak feltüntetve. Megjegyzendő, hogy a karbonilcsoport jelei igen szűk ( $\Delta = 1,5 \text{ ppm}$ ) tartományban jelentkeznek a Ser karboniljel kivételével, mely 170,2 ppm-nél jól elkülönülten jelennek meg. A C-terminális Gly és Glu karboxilátok jelei szintén jól megkülönböztethetően jelennek meg kisebb tereknél, 175,2 ppm és 178,1 ppm-nél.



**4.19. ábra** Az AcLysSerProValValGluGly peptid  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumának metin- és metilén-tartománya (a)  $\text{H}^+$ -ligandum és (b)  $\text{Al(III)}$ -ligandum rendszerében 1:1 fém-ligandum arányánál. A bekeretezett (Glu, Gly) csoportoknak megfelelő  $^{13}\text{C}$  NMR-jelek  $\text{Al(III)}$  jelenlétében eltűnnek,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{pH} = 4$



**4.20. ábra** Az AcLysSerProValValGluGly peptid  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumának karbonil-karboxil-tartománya (a)  $\text{H}^+$ -ligandum és (b)  $\text{Al(III)}$ -ligandum rendszerében 1:1 fém-ligandum arányánál. A bekeretezett (Glu, Gly) csoportoknak megfelelő  $^{13}\text{C}$  NMR-jelek  $\text{Al(III)}$  jelenlétében eltűnnek,  $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $\text{pH} = 4$

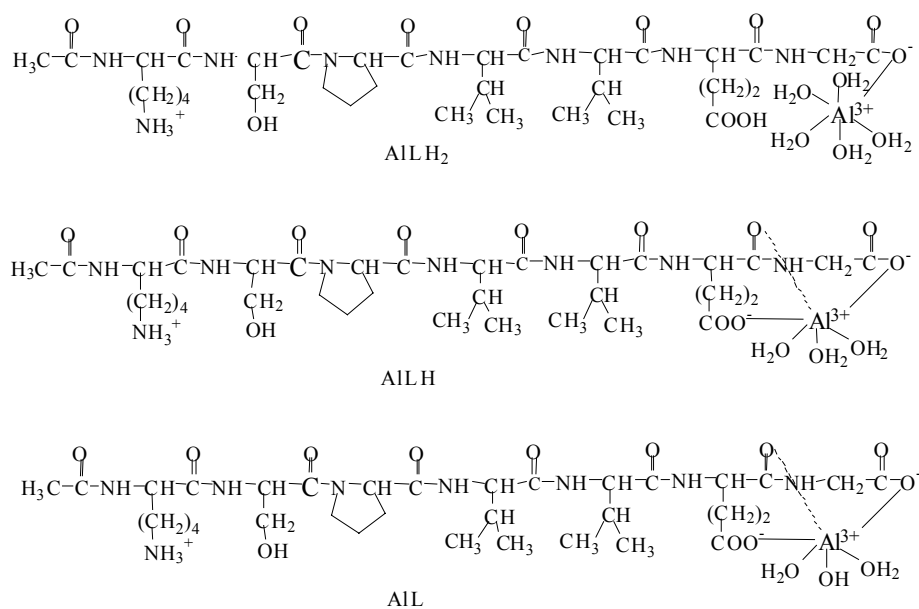
Az egyes jelek hozzárendelését a megfelelő csoporthoz, valamint a kémiai eltolódások számszerű értékét a 4.4. táblázatban foglaltam össze. A 4.19. és 4.20. ábrán nem látható Val metilcsoportok, valamint az acetyl-metilcsoport rezonanciajeleinek a kémiai eltolódás értékei is szerepelnek a 4.4. táblázatban.

**4.4. táblázat** Az AcLysSerProValValGluGly heptapeptid  $^{13}\text{C}$  NMR-paraméterei,  
 $c_{\text{Al}} = c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , pH = 4

Hozzárendelés	$\delta$ (CH) ppm	$\delta$ (CH <sub>2</sub> ) ppm	$\delta$ (CH <sub>3</sub> ) ppm	$\delta$ (CO) ppm	$\delta$ (COOH) ppm
Gly	–	42,9	–	–	175,2
Glu	59,6	26,8 ( $\beta$ ) 30,8 ( $\gamma$ )	–	172,9	178,1
Val1	59,6 ( $\alpha$ ) 30,1 ( $\beta$ )	–	18,0 17,9	173,4	–
Val2	30,2 ( $\alpha$ ) 59,8 ( $\beta$ )	–	18,4 18,5	173,2	–
Pro	60,6	48,2 (1) 24,6 (2) 29,5 (3)	–	174,0	–
Ser	53,8	60,6	–	170,2	–
Lys	53,8	30,7 ( $\beta$ ) 26,4 ( $\gamma$ ) 39,6 ( $\epsilon$ )	–	174,2	–
Ac	–	–	21,8	174,4	–

Alumínium(III)ion jelenlétében (4.19. (b) és 4.20. (b) ábrák) a metilén- és metin szénatomok rezonanciavonalai nem tolódnak el, intenzitásuk is közel változatlan marad. Kivételt csak a Val jelei képeznek, melyek intenzitása csökken, különösen a Val(1) metinjel intenzitása, amely arra utal, hogy a Val(1) a fémcentrum közelében helyezkedik el. Al(III) jelenlétében a Ser-, Pro-, Lys- és Ac-karboniljeleknél nem tapasztaltunk eltolódást. A Val(1) és Val(2) karboniljeleknél, hasonlóan a metin- és metilénszeneknél tapasztaltakkal szintén jelintenzitás-csökkenés figyelhető meg. Ez a jelintenzitás-csökkenés

nem utal a Val csoportok koordinációjára, csupán az Al(III)-okozta peptid konformációváltásnak tudható be. Már az Asp-tartalmú peptideknél is észrevettük, hogy az Al(III) koordinációja a metil- és metincsoportok szénjeleinél jelentős jelintenzitás-csökkenést okoz, de a heptapeptidnél a jelintenzitás-csökkenés még nagyobb, így a Glu ( $\beta\text{CH}_2$ ,  $\gamma\text{CH}_2$  és CH)-szénatomok, valamint a Gly metilén szénatomjelét nem találtuk a  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumban. Az alifás szénatom Glu karboniljele szintén eltűnik a spektrumból, amint az a 4.20. (b) ábrán látszik, feltehetően a karbonilcsoport koordinálódik az alumínium(III)ionhoz. A korábban vizsgált Asp-tartalmú peptidekhez hasonlóan, a heptapeptidnél sem észleltük a Gly, valamint a Glu karboxilát szénjeleit, bár a ligandum spektrumában jól látható csúcsokat adnak 26,8, 30,8, 53,2 ppm-nél (Glu) és 42,9 ppm-nél (Gly). Úgy tűnik, hogy ezek a rezonanciajelek a nagymértékű jelszélesedés miatt beolvadnak az alapvonalba. Az ilyen nagyfokú szélesedés a  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR-spektrumon nagy valószínűséggel, ezen csoportoknak a koordinációban való részvételét jelzi. A peptid C-terminális Gly karboxilátcsoportjának és a Glu oldallánc karboxilátcsoportjának koordinációjára utalnak a molekuladinamikai számolások eredményei is [02Ki], mely szerint a Glu és a Gly C-terminális karboxilátcsoportok negatívan töltött oxigénjei sztérikusan kedvező helyzetben vannak, ahhoz, hogy az alumínium(III)ion koordinálódjon hozzájuk.



**4.21. ábra** Az Al(III)–AcLysSerProValValGluGly rendszerben képződő komplexek szerkezetei

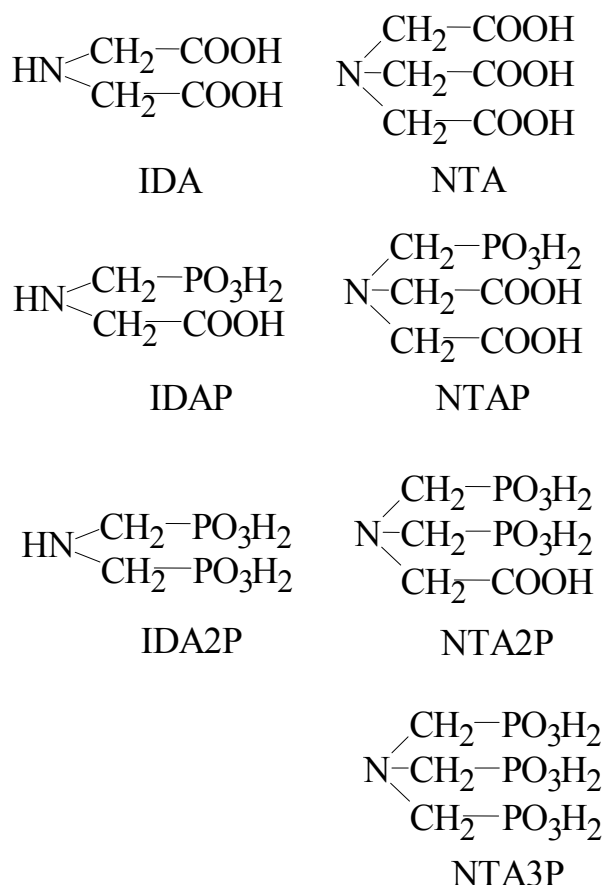


A 4.21. ábrán megadtuk az Al(III)–AcLysSerProValValGluGly rendszerben képződő komplexek javasolt szerkezeteit. Feltételezhetjük, hogy a koordináció az ALLH<sub>2</sub> részecskében a peptid terminális Gly karboxilátcsoportján keresztül valósul meg. Az ALLH komplexben (6+6)-os csatolt kelátgyűrű alakul ki a peptid Gly és Glu karboxilátcsoportjaival, a karbonilcsoport részvételével. Az ALL, ALLH<sub>1</sub> és ALLH<sub>2</sub> komplexek képződése átfedő deprotonálódási folyamatok eredményei, a nemkötő, protonált aminos csoport és az alumínium(III)ionhoz kötött vízmolekulák párhuzamos deprotonálódása játszódik le.

Érdekes, hogy pH = 7-nél felvett <sup>1</sup>H NMR-spektrumok, azaz fiziológias pH-n alumínium(III)ion jelenlétében és távollétében alig különböznek egymástól. Az Al(III) közvetlen koordinációja nem bizonyított az ALLH<sub>2</sub> komplexekben, viszont csapadék-kiválás sem észlelhető a mintában, így valószínűsíthető, hogy az alumínium(III)ion közvetlenül nem koordinálódik a peptidhez. Feltételezésünk szerint a metastabilis Al(III)-hidroxokomplexek, amelyek gyakran előfordulnak az Al(III) vizes oldataiban a hidratált oligopeptiddel hidrogénhidas külsőszférás komplexet alakítanak ki, akárcsak a korábban tárgyalt SalGly Al(III)-komplexénél.

#### 4.4. Az imino-diecetsav, a nitrilo-triecetsav, valamint a teljesen és részben foszfonált származékok koordinációs sajátosságai alumínium(III)ionnal

Biológiai rendszerekben valószínű, hogy a foszfátcsoport tekinthető a leggyakoribb és legfontosabb Al(III)-kötési helynek. Az Al(III)-imino-diecetsav és az Al(III)-nitrilo-triecetsav rendszerek komplexképződésén kívül megvizsgáltuk ezen ligandumok részben vagy teljesen foszfonált származékainak kölcsönhatását alumínium(III)ionnal. Az organofoszfátok C–O–P, míg a foszfonátok C–P kötést tartalmaznak. Fémionkötő-képességeik között a korábbi vizsgálatok jelentéktelen különbségeket mutattak ki [96At]. A foszfonát-származékok, negatív töltésű O-donorcsoportjaik révén erős fémionkötő-képességgel rendelkeznek, különösen a *hard* fémionok iránt nagy az affinitásuk, így várhatóan az alumínium(III)ionnal nagy stabilitású komplexeket képeznek. A vizsgált ligandumok szerkezetét és a továbbiakban használt rövidítésüket a 4.22. ábrán adtam meg.



4.22. ábra Az IDA- és NTA-típusú ligandumok szerkezeti képletei és rövidítésük

Az aminofoszfónátok többfogú ligandumok, maximálisan kettő, illetve három karboxilát- vagy foszfónátcsoportot tartalmaznak a N-donorcsoport mellett. Ennek megfelelően a koordinációs lehetőségek bőségesek, számos kötési izomer képződésére van lehetőség. Koordinációs kémiai szempontból a kérdés az, hogy a képződő Al(III)-komplexekben hány karboxilát-, illetve hány foszfónátcsoport kapcsolódik a fémionhoz és milyen módon. Kérdés továbbá, hogy vajon a ligandumok N-atomja minden esetben koordinálódik-e a fémionhoz vagy sem? Ezekre a kérdésekre a választ elsősorban az NMR-spektroszkópiái, illetve a röntgendiffrakciós mérésektől reméltük.

#### 4.4.1. Potenciometriás vizsgálatok

##### 4.4.1.1. Az Al(III)–IDA-, IDAP-, IDA2P-rendszerek potenciometriás eredményei

Az imino-diecetsav, részben és teljesen foszfónált származékainál a vizsgált pH-tartományban a -COOH, -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> és -NH<sub>2</sub><sup>+</sup>-csoportok deprotonálódása lépcsőzetesen játszódik le.

**4.5. táblázat** Az IDA, IDAP, IDA2P ligandumok protonálódási (lgK) és Al(III) komplexeinek összetétele, stabilitási szorzatai (lg β, zárójelben az állandók utolsó számjegyének becsült hibaértékei láthatók), valamint a komplexek pAl értékei,

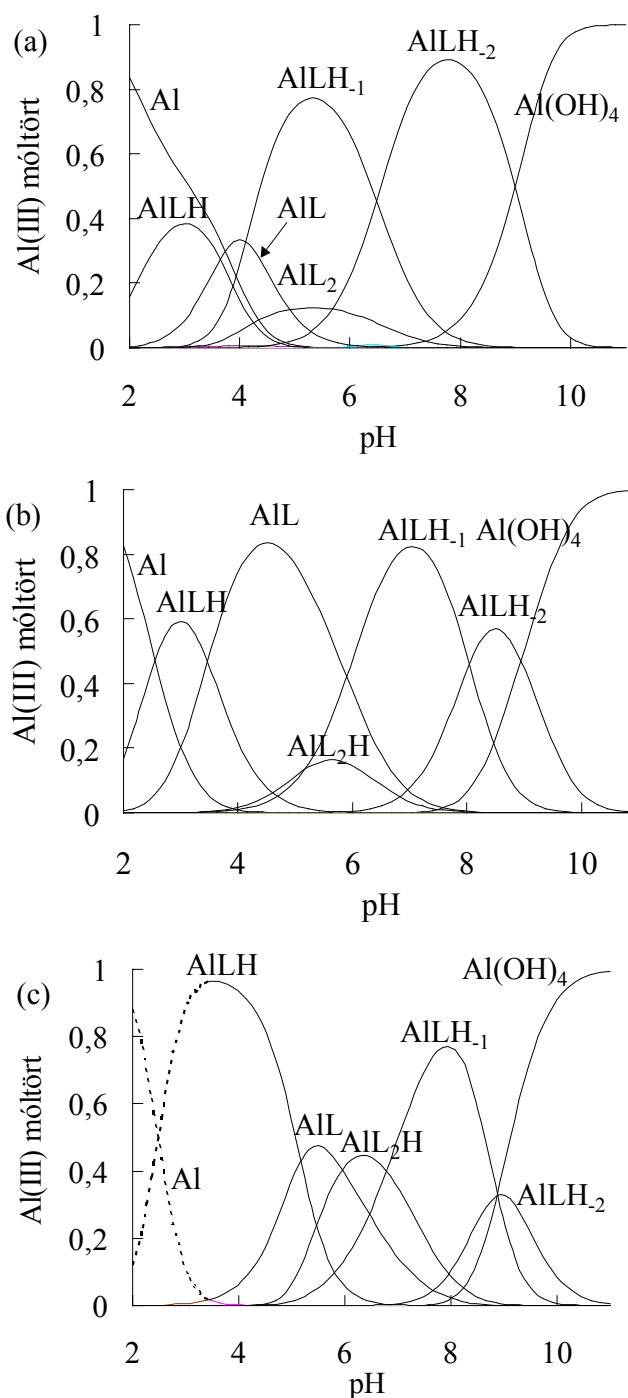
I = 0,20 mol·dm<sup>-3</sup> KCl, t = 25°C

	IDA	IDAP	IDA2P
lg K(NH <sub>2</sub> )	9,30(4)	10,03(4)	10,85(11)
lg K(PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	–	5,38(3)	6,11(9)
lg K(PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	–	–	4,88(4)
lg K(COO <sup>-</sup> )	2,56(4)	2,18(5)	–
lg K(COO <sup>-</sup> )	1,7(7)	–	–
AILH	11,83(7)	15,55(4)	19,41(8)
AIL	8,18(8)	12,08(4)	14,24(9)
AILH <sub>1</sub>	4,07(5)	6,18(6)	7,78(8)
AILH <sub>2</sub>	-2,41(5)	-1,86(8)	-1,10(19)
AIL <sub>2</sub> H	–	24,56(12)	28,42 (16)
AIL <sub>2</sub>	15,33(6)	–	–
Illesztési paraméter <sup>a</sup>	0,0168	0,0073	0,0159
Pontok száma	437	368	188
V(cm <sup>3</sup> ) <sup>b</sup>	1,4–3,3	0,6–1,2	1,0–2,3
pAl	10,55	11,05	11,77

<sup>a</sup> A számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés a mérőoldat cm<sup>3</sup>-ben kifejezve

<sup>b</sup> A mérőoldat fogyása az egyes titrálásoknál cm<sup>3</sup>-ben kifejezve

A pH-metriásan meghatározott protonálódási állandók a 4.5. táblázatban adottak és jó egyezést mutatnak az irodalomban közölt értékekkel [97Bu, 99Sa, 00Sa].



**4.23. ábra** Részecskeeloszlási görbék az a) Al(III)-IDA, b) Al(III)-IDAP és c) Al(III)-IDA2P rendszerekben (a szaggatott vonal arra a pH-tartományra vonatkozik, ahol csapadékképződés miatt nincsenek mérési adatok és így a szimulált adatok csak tendenciát jeleznek),  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Al}} = 0,002 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

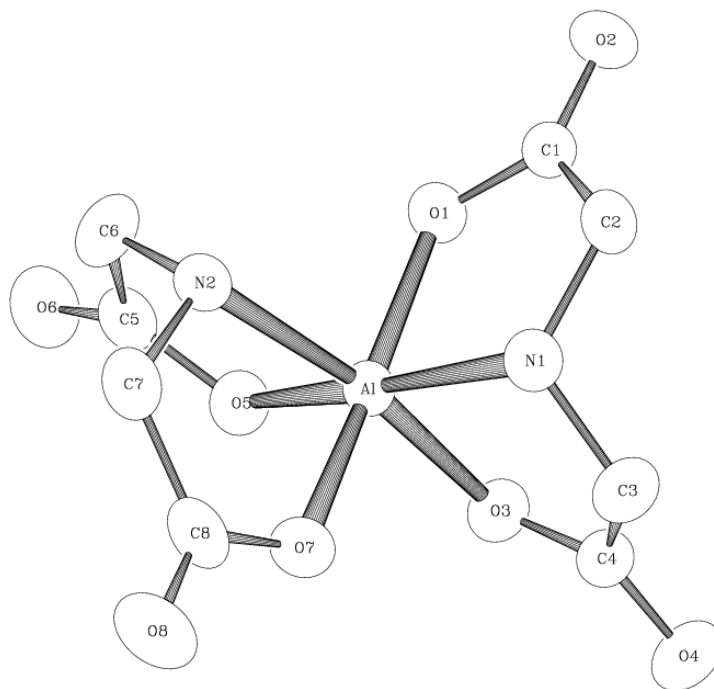
A  $\text{PO}_3\text{H}_2$ -csoport első disszociálódó protonja nagyon savas és ezért már a potenciometriás titrálás kezdetén ( $\text{pH} \sim 2$ ) a ligandum  $-\text{PO}_3\text{H}^-$  deprotonált formában van jelen, míg a karboxil-, és az iminocsoport protonáltak.

Az  $\text{Al(III)}$ -ligandum rendszerekben a különböző fém–ligandum aránynál mért titrálási görbéket döntően egymagvú 1:1 és 1:2 összetételű, különböző protonáltsági fokú  $\text{Al(III)}$ -komplexek feltételezésével tudtuk legjobban kiértékelni. A képződő komplexek összetételét és stabilitási állandóit a 4.5. táblázat tartalmazza, illetve az 1:2 fém–ligandum aránynál számolt eloszlásgörbéket a 4.23. ábra szemlélteti. Mindhárom rendszerre (IDA, IDAP, IDA2P) jellemző a protonált komplexek képződése. A kötémódokra vonatkozólag feltételezhetjük, hogy az  $\text{Al(IDA)H}$  részecskében egyfogú karboxilátkoordináció vagy gyenge kétfogú ( $\text{COO}^-$ ,  $\text{COO}^-$ ) kelátkomplex alakul ki. A nitrogén protonált formában van jelen. Minél több foszfonátcsoport (deprotonálódó proton) van a molekulában annál kedvezőbb az  $\text{AILH}$  protonált komplex képződése (4.23. ábra). Az  $\text{AILH}$  komplex az IDA, IDAP rendszerekben csak  $\text{pH} = 2-4$  tartományban stabilis, viszont az IDA2P rendszer esetén az  $\text{AILH}$  komplex szélesebb,  $\text{pH} = 2-6$  tartományban is az uralkodó részecske.

Az IDA részben és teljesen foszfonált származékainál a karboxilátcsoport mellett a foszfonátcsoport is verseng a fémionért, így a rendszerben különböző kötési izomerek léteznek. Megvalósulhat úgy egyfogú ( $\text{COO}^-$ ) vagy ( $\text{PO}_3^{2-}$ ) koordináció, mind vegyes ( $\text{COO}^-$ ,  $\text{PO}_3^{2-}$ ) kelátképződés 8-tagú gyűrű kialakulásával. A savas közegben képződő  $\text{AILH}$  protonált komplexek  $\text{pK} = 3,65$  (IDA),  $3,47$  (IDAP) és  $5,17$  (IDA2P) értékekkel protont veszítenek, és az  $\text{AIL}$  komplex keletkezik. Valószínű, hogy ebben a deprotonálódási folyamatban az iminocsoport veszi el protonját és átrendeződéssel stabilis (5+5)-tagú csatolt kelátrendszer alakul ki, melyben a ligandum háromfogúan koordinálódik a fémionhoz. A foszfonátcsoportok számának növekedésével nő a komplexek stabilitása (4.5. táblázat). Ez derül ki a  $\text{pH} = 7,4$ -nél számolt,  $0,002 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$   $\text{Al(III)}$  és  $0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  ligandumkoncentrációra vonatkozó  $\text{pAl}$  értékekből is (lásd 4.5. táblázat utolsó sorát). Ugyanez nyilvánul meg a képződő  $\text{AIL}$  részecskék képződési maximumának  $\text{pH}$ -értékbeli eltolódásában is, nevezetesen a  $\text{PO}_3^{2-}/\text{CO}_2^-$  cserével nagyobb  $\text{pH}$  felé tolódik az  $\text{AIL}$  komplex képződési maximuma (4.23. ábra). A  $\text{pH}$ -t növelve az  $\text{AIL}$  részecske további deprotonálódást szenved, a koordinált vízmolekulák protont veszítenek és  $\text{AILH}_{-1}$ ,  $\text{AILH}_{-2}$ , pontosabban  $\text{AIL(OH)}$  és  $\text{AIL(OH)}_2$  típusú vegyes hidroxokomplexek keletkeznek. A vegyes hidroxokomplexek széles  $\text{pH}$ -tartományban stabilak, például az imino-diecetsav esetén az  $\text{AILH}_{-1}$   $\text{pH} = 4-7$  tartományban, míg az  $\text{AILH}_{-2}$  részecske nagyobb,  $\text{pH} = 6-9$  tartományban is stabilis. A hidroxokomplexekben a kötémód változatlan marad, akárcsak

az AIL részecskében a ligandum háromfogú koordinációja valósul meg. Elképzelhető azonban egy geometriaváltás is oktaédresből tetraédresbe. Ez magyarázná a komplexekben az Al(III) savjellegének jelentős mértékű növekedését (az AIL részecskéhez tartozó  $pK(AIL) = 4,11$  érték a hexaakva komplex  $pK(Al(H_2O)_6) = 5,49$  értékhez viszonyítva 1,38 logaritmus egységgel kisebb). Nagyobb pH-tartományban ( $pH > 7$ ) a hidroxidionok kiszorítják a ligandumot az Al(III) koordinációs szférájából és a tetraédres  $[Al(OH)_4]^-$  hidroxokomplex képződik.

Ligandumfeleslegnél, kis koncentrációban képződnek 1:2 összetételű komplexek is ( $AlL_2H$  és  $AlL_2$ ). Érdekes, hogy oldatban az 1:1 összetételű AIL komplex a meghatározó és az egymagvú biszkomplex  $AlL_2$  képződése nem kedvezményezett, mintegy 15%-ban van jelen a rendszerben pH = 4-nél (4.23. ábra), nem is semleges és mégis szilárd, kristályos formában ezt sikerült előállítani. A pH = 4-nél kivált  $K[Al(IDA)_2] \cdot 3H_2O$  egykristály szerkezetét röntgendiffrakciós módszerrel határoztuk meg [02Kis].



**4.24. ábra** Az IDA  $K[Al(C_4H_5O_4N)_2] \cdot 3H_2O$  összetételű Al(III) komplexének kristályszerkezete

Az  $AlL_2$  komplexben a nitrogénatom az Al(III) iránt nagy affinitással bíró karboxilátcsoportok szomszédságában a ligandum háromfogú koordinációját teszi lehetővé, a ligandum karboxilátcsoportjai és a nitrogénatomok telítik az Al(III) oktaédres

koordinációs szféráját (4.24. ábra). Oldatban ugyanilyen (5+5)-ös gyűrűtagszámú csatolt kelátrendszer képződését feltételezzük, amelyben a ligandum háromfogúként koordinálódik a fémionhoz.

#### 4.4.1.2. Az Al(III)–NTA-, NTAP-, NTA2P-, NTA3P-rendszerek potenciometriás eredményei

A nitrilo-triecsav, a részben és teljesen foszfonált származékaik a vizsgált pH-tartományban négy lépésben deprotonálódnak (4.6. táblázat). A kapott protonálódási állandók a táblázatban adóttak.

**4.6. táblázat** A NTA, NTAP, NTA2P és NTA3 ligandumok protonálódási (lg K) és Al(III) komplexeinek stabilitási szorzatai (lg  $\beta$ , zárójelben az állandók utolsó számjegyének becsült hibaértékei láthatók), valamint a komplexek pAl értékei, I = 0,20 mol·dm<sup>-3</sup> KCl, t = 25°C

	NTA	NTAP	NTA2P	NTA3P
lg K(NH <sub>2</sub> )	9,59(7)	10,54(2)	11,51(8)	12,29(12)
lg K(PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	–	5,49(3)	6,31(6)	7,04(8)
lg K(PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	–	–	4,90(6)	5,71(3)
lg K(PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	–	–	–	4,47(5)
lg K(COO <sup>-</sup> )	2,45(6)	2,30(3)	1,96(18)	–
lg K(COO <sup>-</sup> )	1,7 (2)	1,4(15)	–	–
lg K(COO <sup>-</sup> )	1,2(21)	–	–	–
AlH <sub>3</sub>	–	–	–	32,13(9)
AlH <sub>2</sub>	–	20,02(9)	25,25(7)	29,44(6)
AlH	13,05(9)	18,54(4)	22,44(6)	24,84(6)
Al	11,98(4)	15,76(5)	18,11(5)	18,76(7)
AlH <sub>-1</sub>	6,75(5)	9,04(6)	10,05(8)	12,19(7)
AlH <sub>-2</sub>	-1,64(5)	-0,36(6)	-0,42(7)	–
Illesztési paraméter <sup>a</sup>	0,0057	0,0070	0,0053	0,0010
Pontok száma	507	517	620	552
V(cm <sup>3</sup> ) <sup>b</sup>	0,8–2,0	0,7–1,9	0,7–1,4	1,3–2,9
pAl	12,00	13,38	14,05	14,60

<sup>a</sup> A számított és mért titrálási görbék közötti átlagos eltérés a mérőoldat cm<sup>3</sup>-ben kifejezve

<sup>b</sup> A mérőoldat fogyása az egyes titrálásoknál cm<sup>3</sup>-ben kifejezve

A PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> -csoport lg K értéke < 1, ezért ezen érték pH-potenciometriás módszerrel nem határozható meg. A karboxilcsoportok a szokásos pH = 2–3,5 tartományban deprotonálódnak, míg a pH = 4–7 tartományban a PO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>-csoportok vesztik el protonjukat. A legbázikusabb donorcsoport ezen ligandumoknál a tercier aminocsoport, amely

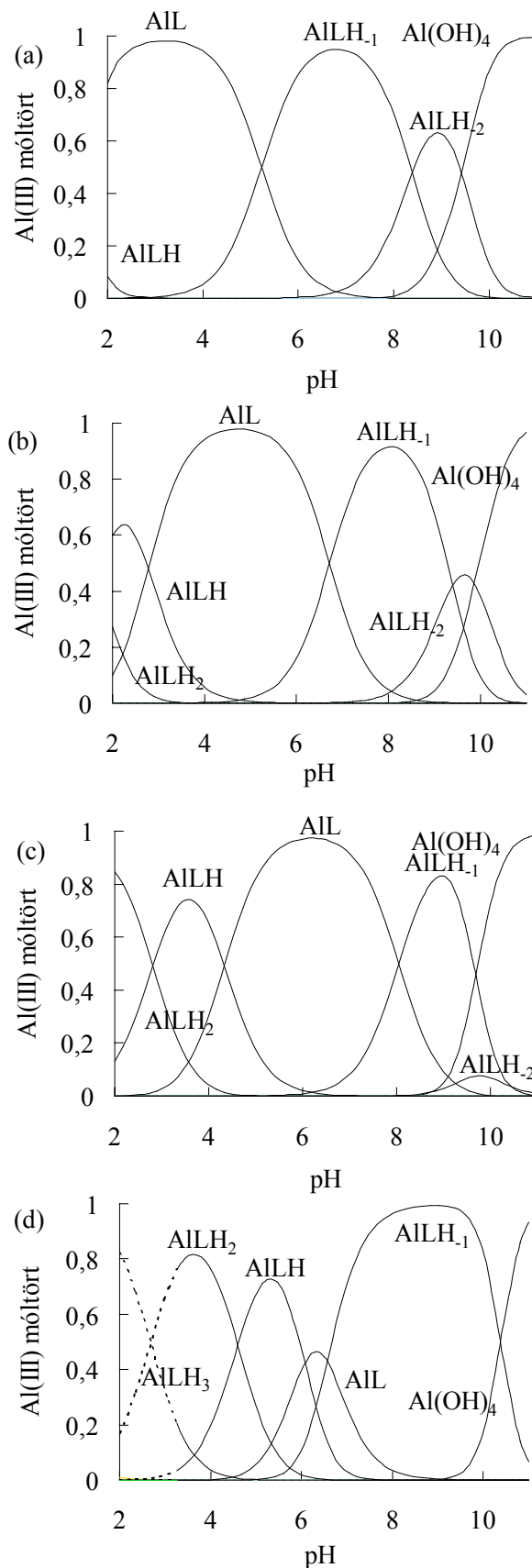
$pK = 9,59$  (NTA),  $10,54$  (NTAP),  $11,51$  (NTA2P) és  $12,29$  (NTA3P) értékkel deprotonálódik (4.6. táblázat). A NTA-származékoknál, akár csak az IDA-származékoknál a bázicitás növekszik a foszfonátcsoportok számának növelésével, hiszen nagyobb lesz a negatív töltéssűrűség, a foszfonátcsoportok között elektrontaszító hatás lép fel.

A nitrilo-trieetsav-, a részben és teljesen foszfonált származékok négyfogú ligandumként viselkednek. Az NTA-típusú ligandumok a legtöbb fémionnal egyáltalán nem képeznek biszkomplexeket, csak 1:1 összetételű komplexeket [97Bu, 99Sa], hiszen az első ligandum négyfogú koordinációja a második ligandum számára csak egy kedvezőtlen kétfogú koordinációt enged meg. A pH-metrián meghatározott Al(III)-komplexek stabilitási állandóit a 4.6. táblázat tartalmazza.

A karboxilátcsoportok foszfonátcsoportokra történő cseréjével a második ligandum koordinációja gátolt a donorcsoportok nagyobb térigénye és a töltés növekedés következtében fellépő taszítóhatás miatt, ezért a NTA-származékok a megfelelő IDA-származékokkal ellentétben nem képeznek biszkomplexeket (4.5. és 4.6. táblázatok). Az Al(III)–NTA-, valamint a NTA részben és teljesen foszfonált rendszerekben az 1:2 fém–ligandum aránynál számolt eloszlásgörbéket a 4.25. ábra szemlélteti. Észrevehető, hogy minél több foszfonátcsoport van jelen a molekulában, annál nagyobb a protonált komplexek képződésére való hajlam. Míg a nitrilo-trieetsavnál az  $AlLH$  részecske csak kis mennyiségben, ( $< 10\%$ ) van jelen, addig a részben foszfonált származékoknál az  $AlLH_2$  komplex nagy mennyiségben (70–80%) képződik. Az NTA3P ligandumnál már savas közegben is,  $pH < 3$ -nál az Al(III) jelentős koncentrációban  $AlLH_3$  komplex formában szerepel. Az NTA-típusú ligandumok Al(III)-iránti nagy affinitásának tulajdoníthatóan a komplexképződés már savas pH-tartományban teljes, az alumínium(III)ion már a titrálás elején kötött formában van jelen, szinte kizárólag protonált komplexek alakjában. A protonált komplexek az  $AlL$  részecskén keresztül  $AlLH_{-1}$ , valamint  $AlLH_{-2}$  vegyes hidroxokomplexekké alakulnak, nagyobb pH-tartományban ( $pH > 8$ ) a hidroxidionok kiszorítják a ligandumot az alumínium(III)ion koordinációs szférájából.

A ligandumok koordinációját tekintve számos koordinációs lehetőség valósulhat meg. A protonált komplexekben a ligandum úgy egyfogú, kétfogú, mind háromfogúként is koordinálódhat a fémionhoz a karboxilátcsoportokon (NTA esetén), valamint a karboxilát-, és foszfonátcsoportokon keresztül a részben foszfonált származékokban. Az NTA3P ligandum esetén a foszfonátkarok erős elektrontaszító hatása miatt nem valószínű, hogy mind a három foszfonátcsoport koordinálódjon a fémionhoz, feltehetőleg csak két foszfonátcsoport koordinálódik az alumínium(III)ionhoz, a harmadik szabadon van.

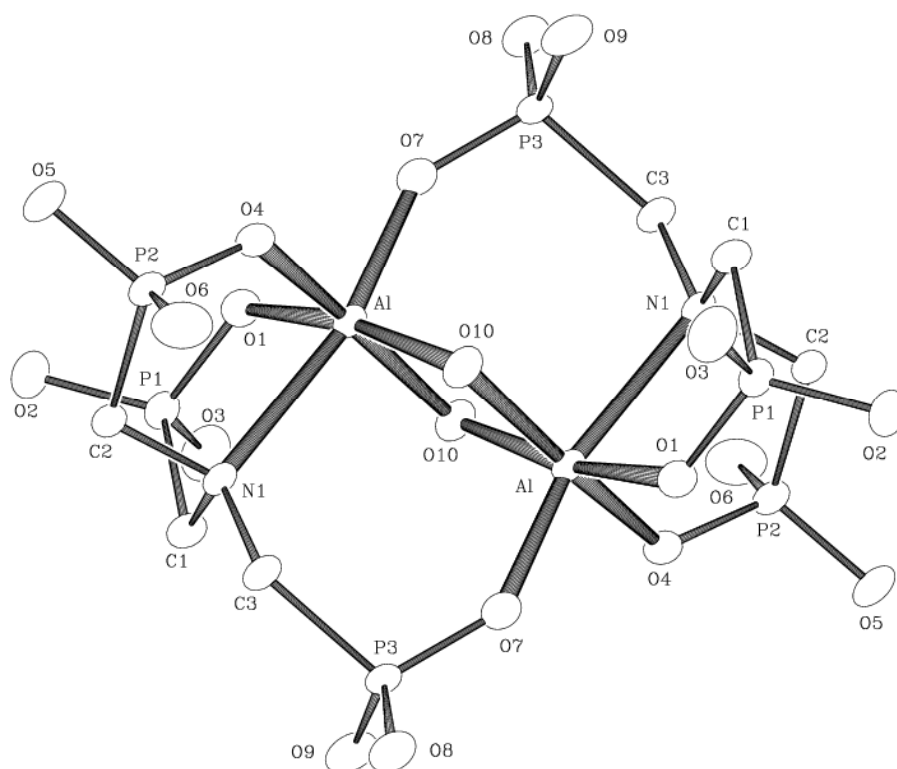




**4.25. ábra** Részecskeloszlási görbék az a) Al(III)-NTA, b) Al(III)-NTAP, c) Al(III)-NTA2P és Al(III)-NTA3P rendszerekben (a szaggatott vonal arra a pH-tartományra vonatkozik, ahol csapadékképződés miatt nincsenek mérési adatok és így a szimulált adatok csak tendenciát jeleznek),  $c_{\text{lig}} = 0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Al}} = 0,002 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

A gyengén savas közegben képződő protonált komplexekben az aminocsoport protonált és nem koordinálódik a fémionhoz. A pH növelésével a protonált komplexek protont veszítenek, kialakul az AIL komplex. Hasonlóan az IDA-származékokhoz a NTA-származékainál is megfigyelhető az AIL komplexek képződési maximumának eltolódása nagyobb pH-értékek felé a foszfonátcsoportok számának növelésével.

A NTA-típusú ligandumok négyfogú ligandumként szoktak viselkedni, foszfonátszármazékaiknál sokkal valószínűbb viszont a háromfogú koordináció kialakulása. Ezt valószínűsíti a Salifoglou csoport által előállított és jellemzett egykristály röntgendiffrakciós szerkezete is, amely a 4.26. ábrán látható [04Sa].



**4.26. ábra** Az Al(III)–NTA3P  $K_8[Al_2(C_3H_6O_9N)_2(OH)_2] \cdot 20H_2O$  összetételű Al(III) komplexének kristályszerkezete

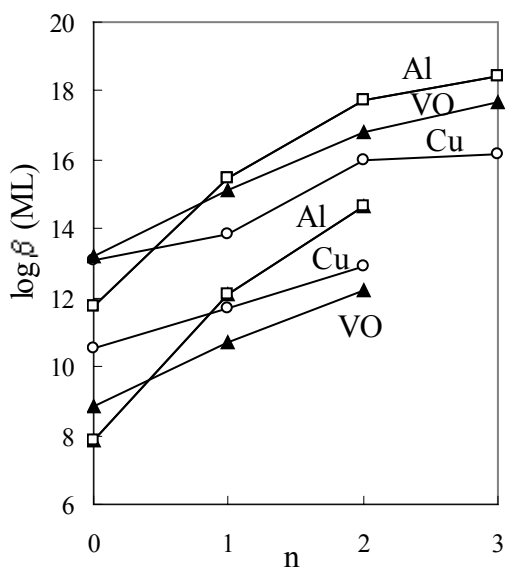
A pH = 8-as oldatból előállított Al(III)-komplex ( $K_8[Al_2(C_3H_6O_9N)_2(OH)_2] \cdot 20H_2O$ ) kristályszerkezete dimer és úgy alakul ki, hogy a két  $OH^-$  híd mellett a harmadik foszfonátcsoport hídligandumként köt össze egy-egy AIL(OH) egységet.

A NTA-származékoknál a pAl-értékek két nagyságrenddel nagyobbak, mint a megfelelő IDA-származékoknál (lásd 4.5. táblázat utolsó sorát). Ez feltehetően a NTA komplexeknél további donorcsoportok koordinációjára utal. A NTA háromfogú

(COO<sup>-</sup>, N, COO<sup>-</sup>){COO<sup>-</sup>}<sub>szabad</sub> vagy négyfogú (COO<sup>-</sup>, COO<sup>-</sup>, COO<sup>-</sup>, N) ligandumként is koordinálódhat az alumínium(III)ionhoz [89Val]. Oldatban a NTA ligandum négyfogú koordinációja az uralkodó, viszont a foszfonátszármazékoknál a foszfonátcsoportok számának növekedésével egyre kevésbé valószínű ez a kötési mód. Az Al(III)–NTA rendszerben az ALL részecske deprotonálódása pH ~ 4-en kezdődik és az ALLH<sub>-1</sub>, ALLH<sub>-2</sub> vegyes hidroxokomplexek képződnek. A foszfonátszármazékoknál a vegyes hidroxokomplexek képződése nagyobb pH-n (pH > 6) kezdődik. Az NTA-típusú ligandumok stabil komplexeket képeznek alumínium(III)ionnal fiziológias körülmények (pH = 7,4) között is (4.25. ábra), az [Al(OH)<sub>4</sub>]<sup>-</sup> részecske csak pH > 8 felett jelenik meg.

#### 4.4.1.3. Az Al(III)-, Cu(II)- és VO(IV)ionok IDA, NTA, valamint a részben és teljesen foszfonált származékok stabilitásának összehasonlítása

Az átmenetifémek közül a Cu(II)- és VO(IV)-komplekképződési állandók meghatározása az Al(III) méréseinkhez hasonlóan 0,2 mol·dm<sup>-3</sup>-os KCl ionerősség mellett történtek, így eredményeinket ezen fémkomplexek stabilitási állandóival hasonlítottuk össze. Ábrázoltuk a megfelelő Al(III), Cu(II) és VO(IV) ML fémkomplexekre kapott stabilitási állandóit a foszfonátcsoportokkal helyettesített karboxilátok számának függvényében (4.27. ábra)



**4.27. ábra** A lgβ(ML) értékei Al(III)-, Cu(II)- és VO(IV)ionok IDA, NTA és vegyes foszfono-karboxilát-, illetve a foszfonoszámazékainál, n jelöli a helyettesített foszfonátcsoportok számát

A különböző Al(III)-komplexek egymáshoz viszonyított stabilitására vonatkozólag megállapíthatjuk, hogy a  $\text{COO}^-/\text{PO}_3^{2-}$  helyettesítéssel a komplexek stabilitási állandói növekednek úgy az IDA-, mint a NTA-származékoknál (lásd a 4.4.1.1. fejezetben a 4.5. táblázatot és a 4.4.1.2. fejezetben szereplő 4.6. táblázatot), akárcsak a megfelelő pAl-értékek (lásd 4.5. táblázat utolsó sorát). A pAl értékek alapján úgy tűnik, hogy a foszfonátszármazékok (IDAP, IDA2P, NTAP, NTA2P, NTA3P) hatékonyabb Al(III)-kötő molekulák, mint az amino-polikarboxilátok (IDA, NTA).

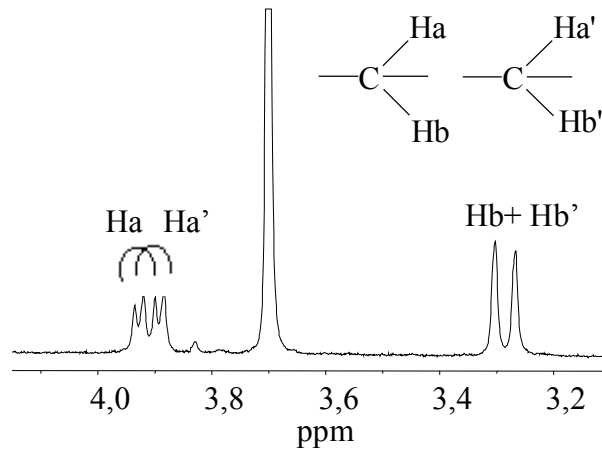
Az Al(III), Cu(II) [97Bu] és VO(IV) [99Sa] aminofoszfonát komplexeinek  $\lg\beta(\text{ML})$  stabilitási állandó értékeit összehasonlítva (4.27. ábra) különbséget találunk a különböző fémionok koordinációs kémiai viselkedésében. Nevezetesen, az Al(III) az aminopolikarboxilátokkal (IDA és NTA) a legkisebb stabilitású komplexeket képezi, míg a foszfonátszármazékokkal (IDA2P és IDA3P) a legnagyobb stabilitású komplexeket alkotja. Az Al(III)-foszfonát komplexeknek a Cu(II)-nél, VO(IV)-nál nagyobb a stabilitása. Az alumínium(III)ion töltése és affinitása is nagyobb az oxigéndonorokhoz, mint a Cu(II)- vagy VO(IV)ionok esetén, így nem meglepő, hogy az alumínium(III)ion nagyobb töltése nagyobb elektrosztatikus hozzájárulást biztosít az Al(III)-komplexek stabilitásához. A Cu(II)- és VO(IV)ionok ML komplexeinek stabilitása között létező különbségeket a különböző kötésmódok meglétével magyarázták [97Bu].

## 4.4.2. NMR-spektroszkópiai vizsgálatok

### 4.4.2.1. Az Al(III)–IDA-, IDA2P-rendszerek NMR-spektroszkópiai mérései

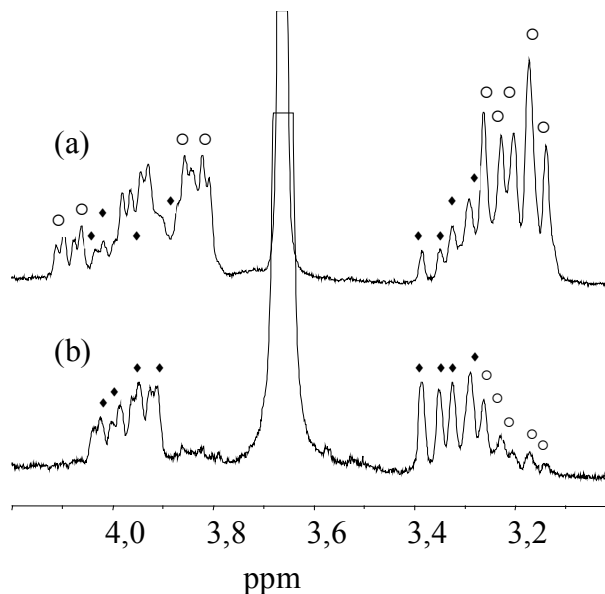
A komplexképződés kimutatására  $^1\text{H}$ - és  $^{31}\text{P}$  NMR-spektroszkópiai méréseket végeztünk. Az Al(III)–ligandum, esetenként már a szabad ligandum protonspektruma is igen bonyolultnak bizonyult, különösen a vegyes karboxilát- és foszfonátcsoportot tartalmazó származékok esetén. A protonspektrum bonyolultságát az asszimmetrikus komplexek képződésével, valamint a különböző kötési izomerek létezésével lehet magyarázni, melyek gyakran előfordulnak az Al(III)–organofoszf(on)át rendszerekben [01Ch]. Az Al(III)-komplexek teljes NMR-viselkedésének leírása rendkívül sok mérés elvégzését, értékelését jelentené (pl.  $^{13}\text{C}$ ,  $^{27}\text{Al}$ -NMR, 2D-NMR), amely nem volt célja munkánknak, így csak a  $^1\text{H}$ - és a  $^{31}\text{P}$  NMR-mérések eredményeire szorítkoztunk, melyeket a kötésmód meghatározására kívántunk felhasználni.

Az imino-diacetsav  $^1\text{H}$  NMR-spektruma a metilénsoportok protonjainak mágneses egyenértékűsége miatt egy szingulett jelből áll, mely a pH növelésével nagyobb terek fele tolódik – 3,88 ppm-ről (pH = 2), 3,66 ppm-re (pH = 5)–, amikor a ligandum  $\text{HL}^-$  formában van jelen, illetve 3,60 ppm-re pH = 9-nél, amikor a ligandum részlegesen  $\text{L}^{2-}$  formában fordul elő. Al(III) hatására a protonspektrumban a szabad ligandum jele (3,71 ppm) mellett három asszimmetrikus dublett: 3,92, 3,90 és 3,28 ppm-nél ( $^2J_{\text{HH}} = 17,85$  Hz) jelenik meg (4.28. ábra). Feltehetően, a nitrogén protonáltsága miatt a metilénsoportok egyes protonjai mágnesesen nem egyenértékűek. A két metilénsoport  $\text{H}_a$  protonjai különböző kémiai eltolódásoknál jelentkeznek, míg a  $\text{H}_b$  protonok egyetlen dublettként ugyanazon eltolódásnál, 3,28 ppm-nél találhatók. Véletlenszerű egybeesésnek tekintjük, hogy a protonspektrumban két pár asszimmetrikus dublett helyett csak három dublett jelenik meg. Ezt a véletlenszerűséget a jelek intenzitásának arányai is alátámasztják, a 3,28 ppm-nél levő jel relatív intenzitása kétszerese a 3,90 és 3,92 ppm-nél megjelenő másik két dublett intenzitásának (4.28. ábra). Ezek a dublettek a pH = 3-nál létező  $\text{AILH}$ ,  $\text{AIL}$  részecskékhez rendelhetők, melyek között gyors protoncserét feltételezhetünk. A dublettek kismértékben magasabb terek fele tolódnak pH = 2–4 tartományban.



**4.28. ábra** Az Al(III)–IDA  $^1\text{H}$  NMR-spektruma, pH = 3,  
 $c_{\text{lig}} = 0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Al}} = 0,025 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

A protonspektrum koncentrációfüggést mutat pH = 5-nél, ahol a részecskeeloszlás alapján az  $\text{AlLH}_{-1}$  és  $\text{AlL}_2$  van egymással egyensúlyban (4.29. ábra). Feltehetően a koncentráció függvényében az 1:1 és 1:2 összetételű komplexek aránya változik, ami az egyes jelek intenzitás növekedésében, illetve más jelek intenzitásának csökkenésében nyilvánul meg.

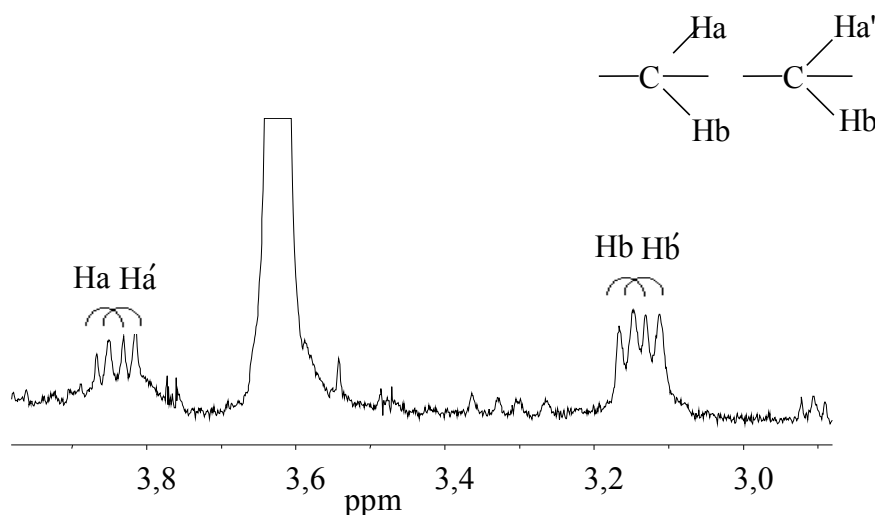


**4.29. ábra** Az Al(III)–IDA  $^1\text{H}$  NMR-spektruma, pH = 5-nél és 1:2 fém–ligandum aránynál, (a)  $c_{\text{lig}} = 0,02 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , (b)  $c_{\text{lig}} = 0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ , (°) jelöli az 1:1 és (♦) jelöli az 1:2 összetételű komplexeket

A pH = 5-nél felvett protonspektrum  $0,004 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  ligandumkoncentrációnál azt

mutatja, hogy a rendszerben az 1:1 összetételű részecskék  $AlL$  és  $AlLH_1$  a meghatározóak, az  $AlL_2$  biszkomplex csak nagyon kis mennyiségben ( $< 10\%$ -ban) fordul elő (4.23.(a) ábra), míg  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  ligandumkoncentrációnál a biszkomplex képződése válik uralkodóvá ( $> 50\%$ ).

A protonspektrum 8-as pH-jú oldatban újra egyszerűsödik (4.30. ábra). A két metilénecsoport mágnesezen nem egyenértékű protonjai négy dublettként jelennek meg:  $3,86 \text{ ppm}$ ,  $3,16 \text{ ppm}$  ( $^2J_{HH} = 17,85 \text{ Hz}$ ) és  $3,85 \text{ ppm}$ ,  $3,14 \text{ ppm}$  ( $^2J_{HH} = 17,40 \text{ Hz}$ ) értékeknél. A dublettek az  $AlLH_2$  komplexhez rendelhetők, melyben a ligandum a két karboxilát- és az aminocsoporton keresztül koordinálódik a fémionhoz, az  $Al(III)$ -körüli koordinációs szférát további két hidroxidion telíti.



**4.30. ábra** Az  $Al(III)$ -IDA  $^1H$  NMR-spektruma,  $pH = 8$ ,  
 $c_{lig} = 0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{Al} = 0,025 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

Az IDA2P ligandum  $^1H$  NMR-spektrumában a protonjelek a  $^{31}P$  atommal való csatolás miatt dublettként ( $J = 4,52 \text{ Hz}$ ) jelentkeznek, utalva a metilénecsoportok protonjainak mágneses és kémiai egyenértékűségére. A  $pH = 3,5-9,0$  tartományban e dublettek kismértékű kémiai eltolódása észlelhető ( $3,12-3,35 \text{ ppm}$ ) a foszfonátcsoport deprotonálásának megfelelően. Az  $Al(III)$  hatására a  $^1H$  NMR-spektrum meglehetősen bonyolult, rendkívül széles jelek jelennek meg. A két ugyanolyan intenzitású szingulett  $2,29$  és  $2,79 \text{ ppm}$ -nél jelenik meg, melyek az 1:1 összetételű komplexekben a metilénecsoportok mágnesezen nem egyenértékű protonjaihoz rendelhetők. Valószínű, hogy a kis intenzitású  $3,42$  és  $3,69 \text{ ppm}$ -nél jelentkező jelek az  $AlL_2H$  biszkomplexhez tartoznak. A koordinált

vízmolekulákat pH > 9-nél a hidroxidion helyettesíti, a komplex jele mellett megjelenik a szabad ligandum jele is.

#### 4.4.2.2. Az Al(III)–NTA-, NTA3P-rendszerek NMR-spektroszkópiai mérései

A nitrilo-trieetsav metilénsoportjainak protonjai kémiailag és mágnesesen egyenértékűek, így a  $^1\text{H}$  NMR-spektrumban egyetlen szingulett jelenik meg, mely a pH növelésével a ligandum lépcsőzetes deprotonálódása következtében nagyobb terek felelődik el. pH > 9 felett jelentős jelkiszélesedés figyelhető meg, a nitrilo-trieetsav  $\text{NH}^+$ -csoportja részlegesen deprotonálódik és így nem tud hidrogénkötéseket vagy egyéb ionos kölcsönhatásokat kialakítani.

Az imino-dieetsav Al(III) komplexeivel ellentétben érdekes, hogy az Al(III)–NTA  $^1\text{H}$  NMR-spektrumában a nitrilo-trieetsav mindhárom metilénsoportja kémiailag és mágnesesen egyenértékű, a teljes, pH = 2–9 tartományban, egy komplexben kötött szimmetrikus szingulett jelenik meg. Az Al(III)–NTA komplexek  $^1\text{H}$  NMR-adatai a 4.7. táblázatban találhatóak.

**táblázat 4.7.** Az Al(III)–NTA rendszerben képződő Al(III)-komplexek  $^1\text{H}$  NMR-paraméterei különböző pH-értékeken

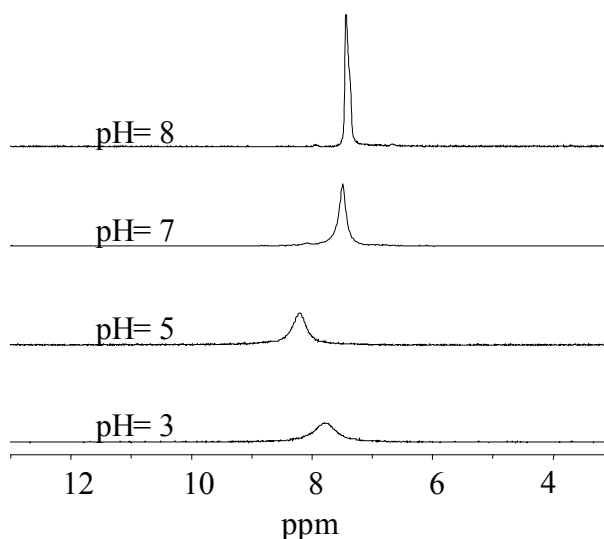
pH	$\delta$ (ppm)	Hozzárendelés
2,0	4,0389	szabad ligandum
	3,7923	AIL
3,5	3,8168	szabad ligandum
	3,7923	AIL
5,0	3,8055	szabad ligandum
	3,7810	AIL+AIL(OH)
7,0	3,8111	szabad ligandum
	3,7075	AIL(OH)
8,0	3,7979	szabad ligandum
	3,6887	AIL(OH)+AIL(OH) <sub>2</sub>
9,0	3,7075	szabad ligandum
	3,6454	AIL(OH) <sub>2</sub>

A metilénsoportok protonjainak mágneses és kémiai egyenértékűsége az AIL komplexben egy meglehetősen szimmetrikus szerkezetet valószínűsítenek, melyben a



három karboxilát- és az aminocsoport koordinálja a fémiont. Oldatban a metilénprotonok teljes egyenértékűsége csak úgy magyarázható, ha a koordinált metilén karboxilátkarok között gyors intramolekuláris mozgásokat feltételezünk. A koordinált vízmolekulák további deprotonálódása, hidroxidionra történő cseréje pH > 5-nél kezdődik, a rezonanciajelek kismértékben nagyobb terek fele tolódnak, az  $AlH_1$  és  $AlH_2$  komplexek keletkeznek. Ezek a részecskék gyors protoncsere-folyamatokban vesznek részt.

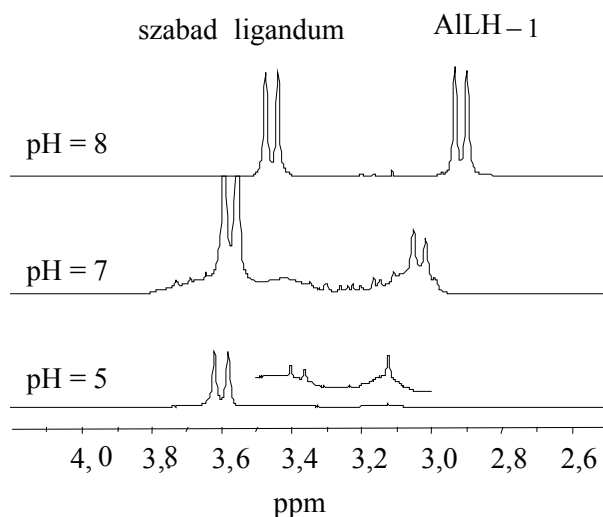
A részben foszfonált származékok  $^1H$  NMR-spektruma meglehetősen bonyolult, úgy a ligandum, mint az Al(III)–ligandum rendszerekben. Az egyes metilénprotonok különböző kémiai környezetben vannak és mágnesezen nem egyenértékűek, asszimétrikus Al(III)-komplexek keletkeznek. Az NTA3P ligandum  $^{31}P$  NMR-spektrumában az egyetlen csúcs a ligandum mágnesezen egyenértékű foszfonátcsoportjainak felel meg (4.31. ábra).



**4.31. ábra** Az NTA3P ligandum  $^{31}P$  NMR-spektruma különböző pH-értékeken

A pH növelésével a rezonanciajel nagyobb terek felé tolódik és keskenyedik, ami annak tulajdonítható, hogy a foszfonátcsoportok lépcsőzetesen deprotonálódnak, valamint gyors belső átrendeződési folyamatok játszódnak le a kialakuló hidrogénhidas szerkezetek között (a különböző protonáltsági állapotú foszfonátcsoportok és a protonált iminocsoport között hidrogénkötés alakul ki). Az Al(III)–NTA3P rendszer  $^1H$  NMR-spektrumában a szabad ligandumnak megfelelő dublett jel 3,70 ppm-nél látható, mely a pH növelésével Al(III) jelenlétében nagyobb terek fele tolódik (3,46 ppm-re). pH = 5–6,6 tartományban az  $^1H$  NMR-spektrum rendkívül bonyolult (4.32. ábra), az AIL részecskének számos izomerje van, amelyek külön csúcsokat adnak. Az AIL izomereket a széles sávok és a nagymértékű átfedések miatt nem tudtuk azonosítani, de feltehetően a ligandumnak háromfajú és

részleges négyfogú koordinációja alakul ki. A foszfonátcsoportok nagy töltése és térigénye miatt nem valószínű, hogy a ligandumnak mind a három foszfonátcsoportja koordinálna az alumínium(III)ionhoz, erre utal a 4.26. ábrán bemutatott AIL kristály röntgendiffrakciós szerkezete is.



**4.32. ábra** Az Al(III)–NTA3P  $^1\text{H}$  NMR-spektrum különböző pH-értékeken,  $c_{\text{lig}} = 0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $c_{\text{Al}} = 0,025 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

Meglepő, hogy  $\text{pH} > 8$  felett a protonspektrum egyszerűsödik, a metilén-csoportok protonjai a foszforral csatolnak, és éles dublettet adnak 2,92 ppm-nél. Ez a dublett az AILH<sub>1</sub> részecskéhez rendelhető. A szimmetrikus szerkezet csak úgy képzelhető el, ha ötös koordinációt feltételezünk, trigonális bipiramisos geometriával. Egy meglehetősen szokatlan szerkezet alakul ki, ekvatoriális síkban három foszfonátcsoport, axiálisan egy nitrogén-atom koordinálódik. A koordinációs szféra hidroxidionnal telített. Az irodalomban csak szilárd formában találtunk erre vonatkozó adatokat, nevezetesen az  $\text{AlCl}_3(\text{PMe}_3)_2$ -re [69Be] és az  $\text{AlCl}_3(\text{morpholine})_2$ -re [84Mü]. Oldatban ilyen szerkezetet még nem mutattak ki, így sokkal valószínűbb, hogy oldatban a pH emelésével nem szimmetrikus Al(III)-komplex alakul ki és az NMR-skálán csak egy átlagolt jelet látunk a molekulán belüli kötéstrendeződés, a belső intramolekuláris mozgások felgyorsulása miatt. Ebben az esetben az AILH<sub>1</sub> komplex fluxionális molekula (olyan molekula, amelyhez nem lehet egyetlen rögzített szerkezetet rendelni, ugyanis a gyors belső dinamikus kötéstrendeződési folyamatok játszódnak le az egyes izomerek között).

## 5. Összefoglalás

Munkánk során megvizsgáltuk a szalicilglicin, diaszparaginsav, triaszparaginsav, AcLysSerProValValGluGly, IDA, IDAP, IDA2P, NTA, NTAP, NTA2P és NTA3P ligandumok kölcsönhatását alumínium(III)ionnal. Meghatároztuk a képződő Al(III)-komplexek összetételét és javaslatot tettünk oldatbeli szerkezetükre. Vizsgálatainkhoz potenciometriás, multinukleáris NMR-spektroszkópai módszereket alkalmaztunk. A szalicilglicin ligandum esetén spektrofotometriás méréseket, valamint dinamikus fényszórás-méréseket is végeztünk.

A dolgozatban ismertetett új tudományos eredmények a következő pontokban foglalhatók össze:

### 1. A szalicilglicin Al(III)-kötő sajátosságának jellemzése

A szalicilglicin gyenge Al(III)-kötő molekulának bizonyult. Az Al(III) egymagvú 1:1 összetételű, különböző protonáltsági állapotú komplexeket (AILH, AIL, AILH<sub>1</sub>, AILH<sub>2</sub>) képez pH = 2–7 tartományban. Úgy tűnik, hogy a Ni(II)- és Zn(II)ionokhoz hasonlóan [94Go, 96Ba] az Al(III) nem képes a vizsgálható pH-tartományban a szalicilglicin amidprotonjának deprotonálódását kiváltani.

Spektrofotometriás módszerrel kimutattuk, hogy az AILH és AIL komplexekben a fenolos hidroxilcsoport protonált, míg pH = 4–6 tartományban képződő AILH<sub>1</sub> komplexben a fenolos hidroxilcsoport deprotonálódik és a ligandum (COO<sup>-</sup>, CO, O<sup>-</sup>)(OH<sup>-</sup>) háromfogú koordinációt alakít ki, egy hidroxidionnal a koordinációs szférában. Nagyobb pH-n (pH > 5,5) a ligandum fenolátcsoportja újra protonálódik. Az AILH<sub>2</sub> = Al(OH)<sub>3</sub>·HL összetételű komplex képződik, amelyben a közvetlen karboxilátkoordináció mellett a fenolos hidroxil feltételezhetően az Al(OH)<sub>3</sub>-hoz kötött hidroxidionokkal csak hidrogénkötésben vesz részt.

Dinamikus fényszórás-mérésekkel igazoltuk, hogy a pH nagymértékben befolyásolja az Al(III)–SalGly rendszerben lejátszódó aggregációs folyamatokat, amely az Al(OH)<sub>3</sub> kiválásához vezet. A ligandum jelenléte késlelteti az Al(OH)<sub>3</sub> csapadék leválását és az Al(OH)<sub>3</sub>·HL komplex képződése révén gátolja az Al(OH)<sub>3</sub> nanorészecskék aggregációját.

## 2. Az Al(III) kölcsönhatása aszparaginsav-tartalmú peptidekkel

Potenciometriás, valamint  $^1\text{H}$  és  $^{13}\text{C}$  NMR-mérések alapján megállapítottuk, hogy a AspAsp és a AspAspAsp ligandumok vizes közegben hasonlóan viselkednek, egymagvú 1:1 összetételű komplexeket képeznek különböző protonáltsági állapotban ( $\text{AlH}_2$ ,  $\text{AlH}$ ,  $\text{Al}$ ,  $\text{AlH}_{-1}$ ). A karboxilátcsoportok számának növekedésével nő a képződő Al(III)-komplexek stabilitása, így az AspAspAsp Al(III) komplexei stabilabbak, mint a AspAsp ligandum megfelelő Al(III) komplexei. A pH növelésével a fém–ligandum aránytól függően pH = 5–6 tartományban csapadék válik ki. E korai csapadékkiválás azt bizonyítja, hogy az Asp karboxilátcsoportjai ilyen kis peptidekben nem képesek elég erősen megkötni a fémiont pH = 7,4-nél, így nem tudják megakadályozni az  $\text{Al}(\text{OH})_3$  kiválását. Ehhez feltehetően több, kedvezőbb elrendeződésben levő oldallánc donoratomokra van szükség.

Az NMR-mérések azt igazolták, hogy a fémcentrumtól távol levő N-terminális karboxilátcsoport (lásd AspAspAsp ligandumot), valamint a karbonilcsoportok nem vesznek részt a koordinációban.

Megállapítottuk, hogy a AspAsp és AspAspAsp ligandumok koordinációja az alumínium(III)ionhoz abban különbözik, hogy a AspAsp ligandumnál kétfogú koordináció a meghatározó, míg az AspAspAsp ligandumnál részleges háromfogú koordináció is megvalósulhat.

## 3. Az AcLysSerProValValGluGly heptapeptid Al(III)-kötő sajátosságának jellemzése

Az Al(III) és AcLysSerProValValGluGly peptid között savas közegben gyenge kölcsönhatás mutatható ki, a komplexképződés semleges pH-tartományban lesz meghatározó, amikor az  $\text{AlH}_2$  az uralkodó komplex. A rendszerben csak egymagvú 1:1 összetételű komplexek képződnek ( $\text{AlH}_2$ ,  $\text{AlH}$ ,  $\text{Al}$ ,  $\text{AlH}_{-1}$ ,  $\text{AlH}_{-2}$ ).

Az NMR-mérések igazolták, hogy gyengén savas közegben a heptapeptid C-terminális Gly, az oldallánc Glu karboxilátcsoport, valamint a peptid karbonilcsoportja kötik az alumínium(III)iont.

Közel fiziológiás körülmények között a heptapeptid oldatban tartja az alumínium(III)iont. Hasonlóan, mint a szalicilglicin esetén az  $\text{Al}(\text{OH})_3$  nanorészecskékhez külszférasan kapcsolódó peptidmolekulák akadályozzák meg az  $\text{Al}(\text{OH})_3$  makroszkópikus kiválását.

Mindezek alapján úgy gondoljuk, hogy méréseink megerősítik a korábbi eredményeket, melyek szerint a peptidek alumínium(III)ionnal való intra- és inter-

molekuláris kölcsönhatásának szerepe lehet az Alzheimer-kórt kísérő plakkok és fonadékok képződésének, ha nem is kiváltásában, de fokozásában mindenféleképpen.

#### 4. *Az imino-diacetsav, a nitrilo-triacetsav, valamint a részben és teljesen foszfonált származékaik koordinációs sajátosságai alumínium(III)ionnal*

Azt találtuk, hogy a részben és teljesen foszfonált származékok az IDA- és NTA-hoz hasonlóan hatékony Al(III)-kötő molekulák, a fémion hidrolízisét és az Al(OH)<sub>3</sub> csapadék kiválását pH > 8-ig képesek megakadályozni. Kimutattuk, hogy nagy stabilitású, döntően 1:1 összetételű komplexek képződnek alumínium(III)ionnal, több donor-csoportjukkal koordinálnak a fémionhoz, csatolt kelátokat alakítva ki. A vegyes karboxilát-foszfonát rendszerekre jellemző a kötési izomerek képződése. Az Al(III)–NTA, valamint az NTA részben és teljesen foszfonált származékok Al(III)-komplexeinél azt találtuk, hogy 1:2 összetételű komplexek nem képződnek, feltehetően a foszfonát-ligandumok nagy térigénye és a ligandumkarok között fellépő taszító hatás következtében.

A pAl értékek alapján arra következtettünk, hogy a foszfonátszármazékok erősebb Al(III)-kötő képességűek, mint a megfelelő karboxilátszármazékok. A karboxilátcsoportok foszfonátcsoportokra történő kicserélése növeli a pAl értékeket, azaz csökkenti a szabad Al(III) koncentrációt.

Az NMR-mérések alapján kiderült, hogy az IDA, NTA és foszfonátszármazékaik oldatbeli szerkezeteinek belső dinamikája különböző. NTA esetén gyors intramolekuláris mozgások léteznek, szimmetrikus szerkezetű komplexek alakulnak ki, míg az IDA esetén képződő komplexek nem szimmetrikusak, a vizsgált magok sem kémiaiilag, sem mágnesesen nem egyenértékűek. Az NTA<sub>3</sub>P ligandum AlLH<sub>-1</sub> komplexe ugyanakkor a metilén foszfonátkarok gyors belső mozgása következtében fluxionális molekula.

Figyelemre méltó, hogy az oldatbeli részecskeeloszlás ellenére, szilárd fázisban egymagvú 1:1 komplexeket nem sikerült előállítani IDA-val, csupán 1:2 összetételű komplexet. Ennek szerkezetét meg is határoztuk.

## 6. Summary

Aluminium is the most abundant metal in the earth's crust. Despite its abundance, its human toxicity remained disputed until the mid-1970s. The bioavailability of aluminium was rather limited under normal conditions due to the occurrence in the nature only in bound forms with other elements, mostly in insoluble forms. The problem arised when as a consequence of acid rain the pH of natural and soil water decreased and hence, the mobility of the Al(III) ion (the concentration of soluble Al(III) compounds) increased. Other major sources of aluminium exposure, like nutrition, pharmaceutical products, antiperspirants etc. also contribute to the increased level of aluminium. These soluble inorganic and organic Al(III) complexes can easily enter living organisms, which have not thus far developed effective protection mechanisms against the toxicity of this metal ion. A series of clinical and epidemiological studies have demonstrated the relationship between aluminium toxicity and the occurrence of some human disorders such as osteomalacia in the bones, microcytic anemia in the red blood cells or neurodegenerative diseases in the brain (dialysis encephalopathy or dialysis dementia, Alzheimer's disease).

The neurotoxic effect of Al(III) on living organisms is beyond any doubt and aluminium has been shown to interfere with a variety of cellular metabolic processes. The possible damaging effects of Al(III) on tissues may originate in its ability to replace Mg(II) and Ca(II) in their biologically important complexes [91Ma, 94Ma, 99Ex]. An important issue in understanding the toxicity of aluminium is the solubility and speciation of Al(III) compounds, which are strongly pH dependent, whereas the solubility of organically complexed Al(III) is correlated with the concentration and type of dissolved organic ligands. In humans, neither the metabolism of Al(III) nor the mechanism of its toxicity is elucidated yet. In order to get more information about its toxic effects in humans, it is very important to know the speciation of Al(III) in the main biofluids and tissues. In the light of this consideration, the aim of our work was to characterise the interaction of Al(III) with biologically important molecules like peptides, peptide like ligand as salicylglycine and the aminoacid type ligands like iminodiacetate (IDA), nitrilotriacetate (NTA) and their phosphonic derivatives such as N-(phosphonomethyl) glycine (IDAP), imino-bis(methylene-phosphonic acid) (IDA2P) as well as N-(phosphonomethyl) iminodiacetic acid (NTAP),

N,N bis(phosphono-methyl)glycine (NTA2P) and nitrilo-tris(methylene-phosphonic acid) (NTA3P).

The following results were obtained:

1. The SalGly, a dipeptide analogue proved to be weak Al(III) binder. Various mononuclear 1:1 complexes in different protonation states AILH, AIL, AILH<sub>1</sub> and AILH<sub>2</sub> are formed in the pH range 2–7. Similarly to Ni(II) and Zn(II) complexes, no indication of deprotonation and coordination of the peptide amide group was observed in the case of Al(III).

As the phenolic-OH group has a characteristic band at 298 nm, which is shifted to 326 nm upon deprotonation, the protonation state of the phenolic-OH group could be monitored by UV-vis spectrometry. In the complexes AILH and AIL the phenolic-OH group of SalGly remains protonated. Deprotonation of the phenolic-OH group starts in the pH range 4–6, where the AILH<sub>1</sub> complex is formed. In this complex SalGly is possible bound to Al(III) in a tridentate way (COO<sup>-</sup>, CO, O<sup>-</sup>) and an OH<sup>-</sup> is also present in the coordination sphere of the metal ion. Interestingly, increasing the pH the ligand reprotonates in species AILH<sub>2</sub> formed at pH > 5.5. Besides the direct coordination through the COO<sup>-</sup> donor the phenolic-OH is assumed to be in hydrogen bonding with the metastable hydrolytic product of Al(III). Dynamic light scattering measurement demonstrated that the direct or outer-sphere coordination of the ligand to Al(III) has a great influence on the aggregation behaviour of the Al(OH)<sub>3</sub> nanoparticles. Namely, SalGly through the formation of the proposed outer-sphere type complex AILH<sub>2</sub> or more precisely Al(OH)<sub>3</sub>·HL hinders aggregation. The adsorption or outer-sphere binding of the ligand on the surface of Al(OH)<sub>3</sub> nanoparticles was pH dependent; the extent of adsorption of SalGly increased with increasing pH.

2. The ligands AspAsp and AspAspAsp behave similarly in aqueous solutions, as they form mononuclear 1:1 complexes in different protonation states. The greater number of carboxylic groups are in the system, the more stable the complexes that are formed. Accordingly, the Al(III) complexes of AspAspAsp are more stable, than the AspAsp corresponding Al(III) complexes.

The coordination of the AspAsp and AspAspAsp ligands to Al(III) differs mainly in the binding mode, namely the AspAsp ligands prefers a bidentate coordination, while for the AspAspAsp ligand formation of a partial tridentate coordination is more probable. Upon increase of the pH, depending on the metal ion to ligand ratio, precipitation occurs at pH ~ 5 to 6. This indicates that the low level of preorganization of the terminal and side-chain COO<sup>-</sup> groups in small peptides, such as AspAsp and AspAspAsp is not sufficient to keep the Al(III) ion in solution and to prevent the precipitation of Al(OH)<sub>3</sub> at physiological pH. To achieve this, a more specific arrangement of the side-chain donors is necessary.

3. The interaction between Al(III) and the AcLysSerProValValGluGly heptapeptide is fairly weak in the acidic pH range. Complex formation becomes predominant only in the neutral pH range when the species ALLH<sub>2</sub> is formed. The Al(III)–peptide system could be described with presumption of species 1:1 ligand to metal ratio. NMR measurements confirmed coordination of the peptide to Al(III) through the terminal carboxylate group of Gly and the side chain carboxylic function of Glu, with participation of the central peptide carbonyl group in the weakly acidic pH range.

The Al(III)–AcLysSerProValValGluGly heptapeptide can keep the Al(III) ion in solution and can prevent the precipitation of Al(OH)<sub>3</sub> at physiological pH, presumably by outer-sphere coordination. Similarly as in the case of SalGly, peptide molecules bound to Al(OH)<sub>3</sub> nanoparticles will prevent macroscopic occurrence of Al(OH)<sub>3</sub> precipitate. Our studies support that Al(III), as inter-chain links between oligopeptides may play even more important role in the aggregation of neuropeptides than can play the intramolecular Al(III) binding and in this way Al(III) may be involved in Alzheimer's disease.

4. The phosphonic derivatives of IDA and NTA are very effective binders of Al(III), they can prevent hydrolysis of the metal ion and precipitation of the Al(OH)<sub>3</sub> even in equimolar solutions up to pH > 8. Mainly 1:1 ligand to metal ratio complexes are formed with Al(III). Characteristic is the existence of binding isomers with tridentate and tetradentate coordination in the mixed carboxylate-phosphonate systems.



Substitution of  $\text{CO}_2^-$  by  $\text{PO}_3^{2-}$  increases the pAl values, which suggest a weaker metal binding capacity of the carboxylic derivatives than the phosphonic ones.

Usually no symmetrical arrangement of the donor atoms can ordinarily be expected with any of these ligands. However, the rate of the intramolecular rearrangement motions within the complex molecules seems to be different for the IDA and the NTA derivatives. According to the  $^1\text{H}$  NMR spectra of Al(III) complexes with IDA, complex formation results in the inequivalence of the two protons in each  $\text{CH}_2$  group resulting in formation of complexes with low symmetry and the parallel formation of various binding isomers. At the same time, the  $\text{CH}_2$  groups of NTA and its derivatives are chemically and magnetically equivalent, resulting in high symmetry complexes. The complex  $\text{AlLH}_1$  formed in case of NTA3P ligand is fluxional, through the fast intramolecular motions of the methylenephosphonate arms.

Interestingly the bis complexes are hardly formed due to the large spatial requirement of the ligands and the electrostatic repulsion between the 1:1 complex and the charged second ligand moiety.

## 7. Irodalomjegyzék

- [38Da] C.W. Davies, *J. Chem. Soc.*, 2093 (1938)
- [50Gr] G. Gran, *Acta Chem. Scand.*, **4**, 559 (1950)
- [62Da] C.W. Davies, *Ion Association*. Butterworths, London, p. 41 (1962)
- [66Pa] M.V. Park, *J. Chem. Soc.(A)*, **7**, 816 (1966)
- [67Ir] H. Irving, M.G. Miles, L.D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **38**, 475 (1967)
- [69Be] I.R. Beattie, G.A. Ozin, H.E. Blayden, *J. Chem. Soc. (A)*, 2535 (1969)
- [72Si] M.K. Singh, M.N. Srivastava, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **34**, 567 (1972)
- [76Ba] C.F. Baes, R.E. Mesmer, *The hydrolysis of cations*, Wiley, New York, p. 112 (1976)
- [81La] R.B. Lauffer, *Chem. Rev.*, **87**, 901 (1981)
- [81Öh] L.O. Öhman, W. Forsling, *Acta Chem. Scand.*, Sect. A, **35**, 795 (1981)
- [82Öh] L.O. Öhman, S. Sjöberg, *Acta Chem. Scand.*, Sect. A, **36**, 47 (1982)
- [83Co] M.J. O'Connell, J. Rubin, A.J. Schutt, C.G. Hoertel, L.K. Kools, *Cancer Treat. Rep.* **67**, 1141 (1983)
- [83Ha] R.L. Hayes, K.F. Hubner, *Met. Ions Biol. Syst.*, **16**, 279 (1983)
- [83Si] N. Siegel, R. Coughlin, A. Haug, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **115**, 512 (1983)
- [83Sie] N. Siegel, R. Coughlin, A. Haug, *Biochim. Biophys. Acta.*, **744**, 36 (1983)
- [84Ak] J.W. Akitt, N.B. Milić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 981 (1984)
- [84Kf] P. Kafarski, P. Mastarlerz, *Beitr. Wirkst. Forsch.*, 21, 1 (1984)
- [84Mü] G. Müller, C. Krüger, *Acta Crystallogr.*, Sect. C, **40**, 628 (1984)
- [84Ta] C.H. Taliaferro, A.E. Martell, *J. Coord. Chem.*, **13**, 249 (1984)
- [85Ak] J.W. Akitt, J.M. Elders, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **81**, 1923 (1985)
- [85Br] P.L. Brown, R.N. Sylva, G.E. Batley, J. Ellis, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1967 (1985)
- [85Ga] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1195 (1985)
- [85Mo] R.J. Motekaitis, A.E. Martell, *J. Coord. Chem.*, **14**, 138 (1985)
- [85Ro] *Roundup Herbicide* by Monsanto, Monsanto Co., St. Louis, MO, 9, (1985)
- [85St] N.H. Sternberger, L.A. Sternberger, J. Ulrich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **82**, 4274 (1985)
- [86At] F.R. Atherton, C.H. Hassal, R.W. Lambert, *J. Med. Chem.*, **29**, 29 (1986)

- [87Br] M. Le Breton, J.L. Moriniere, B. Danree, O. Chasseray, C. Rousseau, J.Y. Lacolle, *Eur. Pat. Appl.*, p. 25 (1987)
- [87Ge] M. Gervais, G. Commenges, J.P. Laussac, *Magn. Res. Chem.*, **25**, 594 (1987)
- [87He] T. Hedlund, S. Sjöberg, L.O. Öhman, *Acta. Chem. Scand.*, Sect. A, **41**, 197 (1987)
- [87Ki] T. Kiss, Cs. Simon, Zs. Vachter, *J. Coord. Chem.*, **16**, 225 (1987)
- [87Ku] V.P. Kukhar, V.A. Solodenko, *Usp. Khim.*, **56**, 1504 (1987)
- [87Ma] R.B. Martin, J. Savory, S. Brown, R.L. Bertholf, M.R. Wills, *Clin. Chem.*, **33**, 405 (1987)
- [87Sa] K. Sawada, T. Araki, T. Suzuki, *Inorg. Chem.*, **26**, 1199 (1987)
- [87Th] A.R. Thompson, A.C. Kunwar, H.S. Gutowsky, E. Oldfield, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2317 (1987)
- [88La] J.P. Laussac, P. Lefrencier, M. Dardenne, J.F. Bach, M. Marraud, M.T. Cung, *Inorg. Chem.*, **27**, 4094 (1988)
- [88Le] V.M.Y. Lee, L. Ötvös, Jr., M.J. Carden, M. Hollósi, B. Dietzschold, R.A. Lazzarini, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 1998 (1988)
- [88Ma] R.B. Martin, *Met. Ions Biol. Syst.*, **24**, 1 (1988)
- [88Mac] T.L. Macdonald, R.B. Martin, *Trends Biochem. Sci.*, **13**, 15 (1988)
- [88Mu] G. Mukherjee, S. Sarkar, *Indian J. Chem.*, **27A**, 514 (1988)
- [88Sm] P.H. Smith, K.N. Raymond, *Inorg. Chem.*, **27**, 1056 (1988)
- [88Ta] G.J. Taylor, *Metal ions in Biol. Syst.*, **24**, 123 (1988)
- [89Ak] J.W. Akitt, J.M. Elders, X.L.R. Fontaine, A.K. Kundu, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1889 (1989)
- [89Be] M.F. Beal, M.F. Mazurek, D.W. Ellison, N.W. Kowall, *Neuroscience*, **29**, 339 (1989)
- [89Dr] C.T. Driscoll, W.D. Schecher, in *Aluminium and Health*, ed.: H.J. Gitelman, Marcel Dekker, New York, 27 (1989)
- [89Ic] K. Ichimura, H. Kihara, T. Yamamura, K. Satake, *J. Biochem. (Tokyo)*, **106**, 50 (1989)
- [89Ki] T. Kiss, I. Sóvágó, R.B. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 3611 (1989)
- [89Le] T.E. Lewis (Ed), *Environmental Chemistry and Toxicology of Aluminium*, Lewis Publisher, Chelsea (1989)
- [89Sa] K. Sawada, T. Araki, T. Suzuki, K. Doi, *Inorg. Chem.*, **28**, 2687 (1989)

- [89Va] G.B. Van der Voet, M.F. Van Ginkel, F.A. de Wolff, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **99**, 90 (1989)
- [89Val] G.C. Valle, G.G. Bombi, B. Corain, M. Favarato, P. Zatta, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1513 (1989)
- [90Dh] M.A. Dhansay, P.W. Linder, R.G. Torrington, *J. Phys. Org. Chem.*, **3**, 248 (1990)
- [90Ha] W.R. Harris, J. Sheldon, *Inorg. Chem.*, **29**, 119 (1990)
- [90Ma] A.E. Martell, R.J. Motekaitis, R.M. Smith, *Polyhedron*, **9**, 171 (1990)
- [90Só] I. Sóvágó, *Biocoordination Chemistry*, ed. K. Burger, Ellis Horwood, New York (1990)
- [91Da] P. Davies, M.A. Weiner, D.R. Holleman, J.R. Goldstone, *Lancet*, **338**, 325 (1991)
- [91Ga] J.F. Galely, B.D. Reverand, A. Lebkiri, L.D. Pettit, S.I. Pyburn, H. Kozlowski, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2281 (1991)
- [91Ka] P. Kafarski, B. Lejtzak, *Phosp. Sulf. Silicon.*, **63**, 193 (1991)
- [91Ki] T. Kiss, I. Sóvágó, R.B. Martin, *Inorg. Chem.*, **30**, 2130 (1991)
- [91Ma] R.B. Martin, *Aluminium in chemistry biology and medicine* eds. M. Nicolini, P.F. Zatta, B. Corain, Cortina International, Verona (1991)
- [91Mc] D.R.C. McLachlan, A.J. Dalton, T.P. Kruck, M.Y. Bell, W.L. Smith, W. Kalow, D.F. Andrews, *Lancet*, **337**, 1304 (1991)
- [91Wa] C.J. Pike, A.J. Walencewicz, C.G. Glabe, *Brain. Res.*, **563**, 311 (1991)
- [91Yo] G. You, D.J. Nelson, *J. Inorg. Biochem.*, **41**, 283 (1991)
- [91Zé] L. Zékány, I. Nagypál, G. Peintler, *PSEQUAD for Chemical Equilibria*, Technical Software Distributors, Baltimore, Maryland (1991)
- [92Co] B. Corain, A. Tapparo, A.A. Sheikh-Osman, G. Bombi, P. Zatta, M. Favarato, *Coord. Chem. Rev.*, **112**, 19 (1992)
- [92Fa] S.J.A. Fatemi, D.J. Williamson, G.R. Moore, *J. Inorg. Biochem.*, **46**, 35 (1992)
- [92Ho] M. Hollósi, L. Urge, A. Perczel, J. Kajtár, I. Teplan, L. Ötvös, G.D. Fasman, *J. Mol. Biol.*, **223**, 673 (1992)
- [92Ma] R.B. Martin, *Aluminium in Chemistry, Biology and Medicine*, 3-20, (Eds.: M. Nicolini, P.F. Zatta, B. Corain), Cortina Intl., Raven Press, New York (1992)
- [93Ar] N. Arispe, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 10573 (1993)
- [93Ara] J.M. Aramini, H.J. Vogel, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 245 (1993)

- [93Ex] C. Exley, N.C. Price, S.M. Kelly, J.D. Birchall, *FEBS Lett.*, **324**, 293 (1993)
- [93Or] C. Orvig, in *Coordination Chemistry of Aluminium*, ed.: G.H. Robinson, Ch3, VCH, New York, 85 (1993)
- [93Sa] K. Sawada, T. Miyagawa, T. Sakaguchi, K. Doi, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 3778 (1993)
- [93Zb] E. Zboinska, B. Lejczak, P. Kafarski, *Microbiol. Letters*, **108**, 225 (1993)
- [94Al] E. Alberico, G. Micera, D. Sanna, *Polyhedron*, **13**, 1763 (1994)
- [94Bl] S.W.A. Bligh, C.T. Harding, A.B. McEwen, P.J. Sadler, *Polyhedron*, **13**, 1937 (1994)
- [94Ex] C. Exley, N.C. Price, J.D. Birchall, *J. Inorg. Biochem.*, **54**, 297 (1994)
- [94Go] E.B. Gonzales, N.N. Daeid, K.B. Nolan, E. Farkas, *Polyhedron*, **13**, 1495 (1994)
- [94Ho] M. Hollósi, Z.M. Shen, A. Perczel, G.D. Fasman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **9**, 4902 (1994)
- [94Ja] D.E. Jane, P.L. Jones, P.C. Pook, *Br. J. Pharmacol.*, **112**, 809 (1994)
- [94Je] M.J. Bojczuk, T. Kiss, H. Kozłowski, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 811 (1994)
- [94Jo] J.G. Joshi, M. Dhar, M. Clauberg, *Environ. Health Perspect.*, **102**, 07 (1994)
- [94Ki] T. Kiss, I. Lázár, P. Kafarski, *Metal-Based Drugs*, **1**, 247 (1994)
- [94Kr] P.J. Kraulis, *J. Mol. Biol.*, **243** 696 (1994)
- [94La] I. Lackó, M. Hollósi, *Magy. Kém. Folyóirat*, **100**, 112 (1994)
- [94Lo] A. Lorenzo, B.A. Yanker, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 12243 (1994)
- [94Ma] R.B. Martin, *Acc. Chem. Res.*, **27**, 204 (1994)
- [94Sh] Z.M. Shen, A. Perczel, M. Hollósi, I. Nagypál, G.D. Fasman, *Biochem.*, **33**, 9627 (1994)
- [94Yo] R.A. Yokel, *J. Toxicol. Environm. Health*, **41**, 131 (1994)
- [94Za] P. Zatta, P. Zambenedetti, V. Bruna, B. Filippi, *Neuro Report*, **5**, 1777 (1994)
- [95Ho] M. Hollósi, S. Holly, Zs. Majer, I. Laczkó, G.D. Fasman, *Biopolymers*, **36**, 381 (1995)
- [95Ko] H. Kozłowski, A. Lebriki, C. Onindo, L. Pettit, *Polyhedron*, **14**, 211 (1995)
- [95No] K.B. Nolan, A.A. Soudia, *Inorg. Chim. Acta*, **230**, 209 (1995)
- [95Wi] Winchell, Harry S.; Klein, Joseph Y.; Cyjon, Rosa L.; Simhon, Elliot D. *PCT Int. Appl.* (Concat Ltd., USA). p. 36 (1995)
- [96Al] Aluminium Chemistry, *Coord. Chem. Rev.*, Special Issue, 149, 1-400 (1996)
- [96Ar] J.M. Aramini, J.A. Saponja, H.J. Vogel, *Coord. Chem. Rev.*, **149**, 193 (1996)

- [96At] K. Atkári, T. Kiss, R. Bertani, R.B. Martin, *Inorg. Chem.*, **35**, 7089 (1996)
- [96Ba] A. Bavoso, L. Menabue, M. Saladini, M. Sola, *Inorg. Chim. Acta*, **244**, 207 (1996)
- [96Fa] G.D. Fasman, *Coord. Chem. Rev.*, **194**, 125 (1996)
- [96Fi] C.E. Finch, J.J. Marchalonis, *Neurobiol. Aging.*, **17**, 809 (1996)
- [96Fl] T.P. Flaten, A.C. Alfrey, J.D. Birchall, J. Savory, R.A. Yokel, *J. Toxicol. Environm. Health*, **48**, 527 (1996)
- [96Ha] W.R. Harris, *Coord. Chem. Rev.*, **149**, 347 (1996)
- [96Hau] A. Haug, V. Vitorello, *Coord. Chem. Rev.*, **149**, 113 (1996)
- [96Ho] H. Holthoff, S.U. Egelhaaf, M. Borkovec, P. Schurtenberger, H. Sticher, *Langmuir*, **12**, 5541 (1996)
- [96Ki] T. Kiss, E. Farkas, *Perspectives in Bioinorganic Chemistry*, **3**, 199 (1996)
- [96Kis] T. Kiss, Az Al(III) kölcsönhatása biomolekulákkal, Akadémiai Kiadó, Budapest (1996)
- [96La] J.P. Laussac, P. Orlewski, M.T. Cung, *Coord. Chem. Rev.*, **149**, 179 (1996)
- [96Mc] P.L. McGeer, M. Schulzer, E.G. McGeer, *Neurology*, **47**, 425 (1996)
- [96Pa] A. Pagenstecher, J. Kirk, E. Dermott, *Acta Neuropathol.*, **92**, 294 (1996)
- [96Par] M. Park, *J.Chem. Soc. (A)*, 816 (1966)
- [96Pe] S.P. Petrosyants, A.B. Ilyukhin, M.A. Malyarik, *Rus. J. Inorg. Chem.*, **41**, 1521 (1996)
- [96Re] Resesarch Issues in Aluminum Toxicity, *J. Toxicol. Environm. Health*, Special Issue 48, 527 (1996)
- [96Sa] R. Sandbrink, T. Hartmann, C.L. Masters, K. Beyreuter, *Mol. Psychiatry*, **1**, 27 (1996)
- [96Sav] J. Savory, C. Exley, W.F. Forbes, Y. Huang, J.G. Joshi, T. Kruck, D.R.C. Mc Lachlan, I. Wakayama, *J. Toxicol. and Environm. Health*, **48**, 615 (1996)
- [96St] M.J. Strong, R.M. Garruto, J.G. Joshi, W.R. Mundy, J. Shaffer, *J. Toxicol. and Environm. Health*, **48**, 599 (1996)
- [96Yo] R.A. Yokel, P. Ackrill, E. Burgess, J.P. Day, J.L. Domingo, T. P. Flaten, P. Trond, J. Savory, *J. Toxicol. and Environm. Health*, **48**, 667 (1996)
- [97Be] C. Behl, *Cell Tissue Res.*, **290**, 471 (1997)
- [97Bu] P. Buglyó, T. Kiss, M. Dyba, M. Jezowska-Bojczuk, H. Kozlowski, S. Boushina, *Polyhedron*, **16**, 3447 (1997)
- [97Ex] C. Exley, *Neuroreport*, **8**, 3411 (1997)

- [97Gr] J.L. Greger, J.E. Sutherland, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, **34**, 439 (1997)
- [97Ki] T. Kiss, I. Sóvágó, I. Tóth, A. Lakatos, R. Bertani, A. Tapparo, G. Bombi, R.B. Martin, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1967 (1997)
- [97Pe] L.D. Pettit, H.K.J. Powell, *The IUPAC Stability Constant Database*, Academic Software and IUPAC, Royal Society of Chemistry, London (1992-1997)
- [98Ki] E. Kiss, A. Lakatos, I. Bányai, T. Kiss, *J. Inorg. Biochem.*, **69**, 145 (1998)
- [98Kis] T. Kiss, K. Petrohán, P. Buglyó, D. Sanna, G. Micera, J. Costa Pessoa, J. Madeira, *Inorg. Chem.*, **37**, 6389 (1998)
- [98Sa] J. Savory, Y. Huang, M.R. Wills, M.M. Herman, *Neurotoxicol.*, **19**, 209 (1998)
- [99Bi] J.S. Birks, V. Iakovidou, M. Tsolaki, *Cochrane Database Syst Rev.*, **2**, CD001191 (1999)
- [99Bu] A. Burns, M. Rossor, J. Hecker, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, **10**, 237 (1999)
- [99Ex] C. Exley, *J. Inorg. Biochem.*, **76**, 133 (1999)
- [99Ra] K.S.J. Rao, J. Ramesh, K.R.K. Easwaran, *Alzh. Rep.*, **2**, 99 (1999)
- [99Ram] S. Ramesh, T.R. Madhav, S. Vatsala, T. Ramakirshna, K.R.K. Easwaran, O. Guillard, R. Delonce, *Alzh. Rep.*, **2**, 31 (1999)
- [99Re] *Report of the American Alzheimer Association*, New York (1999)
- [99Ro] M. Rosler, R. Anand, A. Cicin-sain, *British Med. J.*, **318**, 633 (1999)
- [99Sa] D. Sanna, I. Bódi, S. Bouhsina, G. Micera, T. Kiss, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 3275 (1999)
- [99Yo] T. Yokoyama, H. Abe, T. Kurisaki, H. Wakita, *Anal. Sci.*, **15**, 393 (1999)
- [00By] M.B. O'Byrne, K.F. Tipton, *J. of Neurochem.*, **74**, 2087 (2000)
- [00Ca] M.M. Campbell, R. Jugdaohsingh, K.N. White, J.J. Powell, C.R. McCrohan, *J. Toxicol. Environm. Health*, **59**, 253 (2000)
- [00Gr] S.M. Greenberg, M.K. Tennis, L.B. Brown, *Arch. Neurol.*, **57**, 94 (2000)
- [00Ki] T. Kiss, T. Jakusch, M. Kilyén, E. Kiss, A. Lakatos, *Acta Pharm. Hung.*, **70**, 175 (2000)
- [00Ra] K.S.J. Rao, S. Anitha, K.S. Latha, *Alzh. Rep.*, **3**, 88 (2000)
- [00Ro] V. Rondeau, D. Commenges, H. Jacqmin-Gadda, J.F. Dartigues, *Am. J. Epidemiol.*, **152**, 59 (2000)
- [00Ron] J.C. Rochet, P.T. Lansbury, Jr. *Curr. Op. Struct. Biol.*, **10**, 60 (2000)
- [00Sa] K. Sawada, W. Duan, M. Ono, K. Satoh, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 919 (2000)

- [00Yo] R.A. Yokel, *Neurotoxicology*, **21**, 813 (2000)
- [01Ca] A. Campbell, D. Hamai, S.C. Bondy, *Neurotoxicology*, **22**, 63 (2001)
- [01Ch] D. Champmartin, P. Rubini, A. Lakatos, T. Kiss, *J. Inorg. Biochem.*, **84**, 13 (2001)
- [01Cr] J. Croom, I.L. Taylor, *J. Inorg. Biochem.*, **87**, 51 (2001)
- [01Ex] C. Exley, O.V. Korchazhkina, *J. Inorg. Biochem.*, **84**, 215 (2001)
- [01Fa] K. Fassbender, C. Masters, K. Beyreuter, *Naturwiss.*, **88**, 261 (2001)
- [01Ja] A. Jancsó, T. Gajda, A. Szorcsik, T. Kiss, B. Henry, G. Vanko, P. Rubini, *J. of Inorg. Biochem.*, **83**, 187 (2001)
- [01Kl] M. Klimek, B. Lejczak, P. Kafarski, G. Forlani, *Pest. Management Sci.*, **57**, 815 (2001)
- [01Kö] T. Körtvélyesi, G. Kiss, R.F. Murphy, B. Penke, S. Lovas, *J. Mol. Struct.*, **545**, 215 (2001)
- [02Be] G. Berthon, *Coord. Chem. Rev.*, **228**, 319 (2002)
- [02Ber] Ł. Berlicki, P. Kafarski, *Pest. Biochem. Physiol.*, **73**, 94 (2002)
- [02Da] S. Dayde, D. Champmartin, P. Rubini, G. Berthon, *Inorg. Chim. Acta*, **339**, 513 (2002)
- [02He] M.T. Heneka, E. Galea, V. Gavroluyk, *J. Neurosci.*, **22**, 2434 (2002)
- [02Ki] T. Kiss, M. Kilyén, A. Lakatos, F. Evanics, T. Körtvélyesi, Gy. Dombi, Zs. Majer, M. Hollósi, *Coord. Chem. Rev.*, **228**, 227 (2002)
- [02Kis] M. Kilyén, A. Lakatos, R. Latajka, I. Labádi, A. Salifoglou, C.P. Raptopolou, H. Kozłowski, T. Kiss, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 3578 (2002)
- [02Na] R.R. Navarro, K. Tatsumi, *Sep. Sci. Tech.*, **37**, 203 (2002)
- [02Ta] J.P. Taylor, J. Hardy, K.H. Fischbeck, *Science*, **296**, 1991 (2002)
- [03Ho] D. Hollender, A. Lakatos, P. Forgó, T. Körtvélyesi, Gy. Dombi, Zs. Majer, M. Hollósi, T. Kiss (előkészületben)
- [03Ki] M. Kilyén, I. Labádi, T. Kiss, *Bioinorg. Chem. Apl.*, **1**, 321 (2003)
- [03No] B. Nowack, *Water Res.*, **37**, 2533 (2003)
- [04Fe] E.G. Ferrer, A.C. González Baró, E.E. Castellano, O.E. Piro, P.A.M. Williams, *J. Inorg. Biochem.*, **98**, 413 (2004)
- [04Sa] A. Salifoglou (személyes közlés)



## 9. A szerző egyéb közleményei

1. E. Forizs, L. David, O. Cozar, C. Craciun, M. Venter, **M. Kilyén**, IR and ESR study of Cu(II) nitrazepam complexes, *J. Mol. Struct.*, 408/409, 195 (1997)  
If: 1,122
2. I. Labádi, **M. Kilyén**, S. Kertész, A. Pécsváradi, T. Kiss, Effect of different complexes of aluminium on activity of magnesium-glutamine synthetase system, *Magn. Res.*, **14**, 316 (2001) If: 0,994
3. P. Zatta, M. Ibn-Lkhatat-Idrissi, P. Zambenedetti, **M. Kilyén**, T. Kiss, In vivo and in vitro effects of aluminum on the activity of mouse brain acetylcholinesterase, *Brain Res. Bul.*, **59**, 41 (2002) If: 1,284
4. Á. Dörnyei, **M. Kilyén**, T. Kiss, B. Gyurcsik, I. Laczkó, A. Pécsváradi, L. M. Simon, The effectes of Al(III) speciation on the activity of trypsin, *J. Inorg. Biochem.*, **97**, 118 (2003) If: 2,204
5. V. Di Marco, **M. Kilyén**, T. Jakusch, P. Forgó, Gy. Dombi, T. Kiss: Complexation properties of ethylenediaminetetramethylenephosphonic acid (EDTMP) with Al<sup>III</sup> and V<sup>IV</sup>O, *Eur. J. Inorg. Chem.*, (közlésre elfogadva).

## Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőimnek, **Kiss Tamás** tanszékvezető egyetemi tanárnak és **Labádi Imre** egyetemi docensnek a lehetőséget, hogy doktoranduszként Szegeden folytathattam tanulmányaimat és, hogy az elmúlt évek során figyelemmel kísérték és támogatták PhD munkám elkészülését.

Munkám sikeréhez Thanos Salifoglou, a Krétai Egyetem tanára is hozzájárult, aki lehetővé tette, hogy irányítása alatt fél évig a csoportjában dolgozzak.

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

Köszönetet érdemel Körtvélyesi Tamás, a SZTE Fizikai Kémiai Tanszék egyetemi docense, aki a dolgozatom átnézésével és tanácsaival segítette munkámat.

Külön köszönetet érdemel Jakusch Tamás, aki időt és fáradságot nem kímélve hasznos tanácsokkal látott el, nagymértékben hozzájárult számítógépes ismereteim bővítéséhez, valamint a felmerülő problémák megoldásához. Köszönetet érdemel Lakatos Andrea is, akitől sok hasznos és nélkülözhetetlen tanácsot kaptam.

Megköszönöm Nemes Gáborné egyetemi docensnek, hogy alaposan átnézte és korrektúrázta a készülő dolgozatot.

Végül, de nem utolsó sorban megköszönöm a Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék minden dolgozójának érdeklődésüket és a munkámat segítő kellemes hangulatot.

Kutatásainkat anyagilag az Országos Tudományos Kutatási Alap támogatta (OTKA 23776/97) és a Magyar Oktatási Minisztérium (FKFP 0013/97).