



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
Természettudományi és Informatikai Kar

Szerves Kémiai Tanszék

Tudományos Diákköri Dolgozat

A Ca(II)-ion komplexálódása cukorszármazékokkal

KÉSZÍTETTE:

Hancsákné Dudás Csilla

Kémia BSc III. évfolyam

TÉMAVEZETŐK

Dr. Pálinkó István, egyetemi docens

Dr. Sipos Pál, egyetemi docens

Szeged

2012

Tartalomjegyzék

1. Tartalmi összefoglaló	3
2. Bevezetés és irodalmi áttekintés	4
2.1. Az aldózok és származékaik	4
2.2. Cukortípusú ligandumok fémkomplexei.....	6
2.2.1. A D-glükóz, D-szorbitol és D-glükonát kalciumkomplexei	7
2.3. NMR spektroszkópiáról általában	9
3. Célkitűzés.....	11
4. Kísérleti munka	12
4.1. Felhasznált anyagok.....	12
4.2. Oldatkészítés	12
4.3. NMR mérések.....	13
4.4. Molekulamodellezés	13
5. Eredmények és értékelésük.....	14
5.1. A glükonáttartalmú rendszerek vizsgálata	14
5.1.1. Az 1H és ^{13}C NMR jelek asszignálása	14
5.1.2. A glükonát protonálódásának vizsgálata	16
5.1.3. $CaGluc^+$ komplex.....	17
5.2. A $CaGlu^{2+}$ komplexek.....	24
5.3. A $CaSor^{2+}$ komplex.....	28
6. Összefoglalás	31
7. Irodalomjegyzék.....	32
8. Köszönetnyilvánítás	33

1. Tartalmi összefoglaló

A TDK-munkám célja a Ca^{2+} -ionok és cukorszármazékok között lejátszódó reakciók vizsgálata semleges vizes oldatban multinukleáris NMR spektroszkópiával és a számítási kémia módszereivel. Ligandumként D-glükonátot, D-glükózt vagy D-szorbitolt használtunk. Az oldat ionerősségét állandó értéken tartottuk ($I = 1 \text{ M}$).

A komplexképződés tényét (mindhárom ligandum esetén) ^{13}C és ^{43}Ca NMR spektroszkópiával bizonyítottuk. A ^{13}C NMR mérésekből származó kémiai eltolódás értékek változásából megbecsültük a komplexképződés egyensúlyi állandóit, és azt is megállapítottuk, hogy az 1:1 összetételű komplexek a domináns részecskék. A kapott egyensúlyi állandók is azt mutatták, hogy ugyan van komplexképződés, de a kapott komplexek stabilitása – a várakozásnak megfelelően – meglehetősen kicsiny.

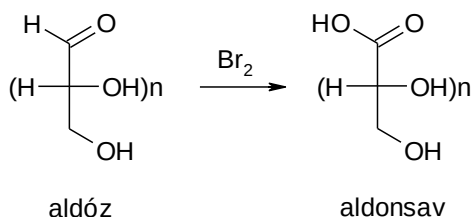
2D ^1H – ^{43}Ca NMR spektrumok elemzése alapján valószínűsítettük a fémion kötőhelyeit, és ennek alapján felépítettük komplexeink molekulamodelljeit. Az így megalkotott kezdeti modellek geometriáját optimalizáltuk HF 6-31 G** *ab initio* számításokkal. A Ca-glükonát komplex kation szerkezetét optimalizáltuk vizes oldatban is. Ehhez a kiindulási geometriát a HF 6-31 G** szerkezet szolgáltatta. Az oldószert explicit vízmolekulákkal szimuláltuk. A számításokat, a rendszer nagy mérete miatt, szemiempirikus kvantumkémiai módszerrel (PM3) végeztük el.

NMR mérések és molekulamodellzés együttes alkalmazásával felderítettük a fémion kötőhelyeit vizes oldatokban. Kiderült, hogy minden alkalmazott cukorszármazék többfogú ligandumként viselkedett, és komplexálódás során mintegy körülölelték a Ca(II) -iont.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

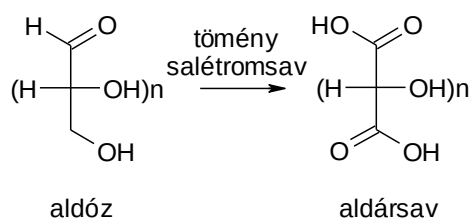
2.1. Az aldózok és származékai

Az aldózok (polihidroxialdehidek) könnyen oxidálható vegyületek. Enyhén savas közegben brómmal formilcsoportjuk karboxilcsoporttá oxidálható, a keletkező vegyületet aldonsavnak nevezzük. (1. ábra)



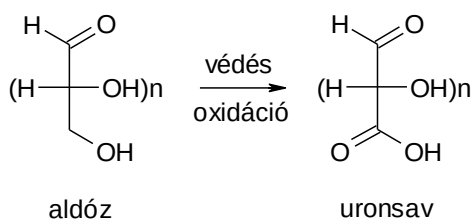
1. ábra Aldózok oxidációja aldonsavvá.

Tömény salétromsavval a formilcsoport mellett a lánc másik végén levő hidroximetil-csoport is oxidálható. Az így keletkező polihidroxidikarbonsavat aldársavnak vagy cukorsavnak nevezzük. (2. ábra)



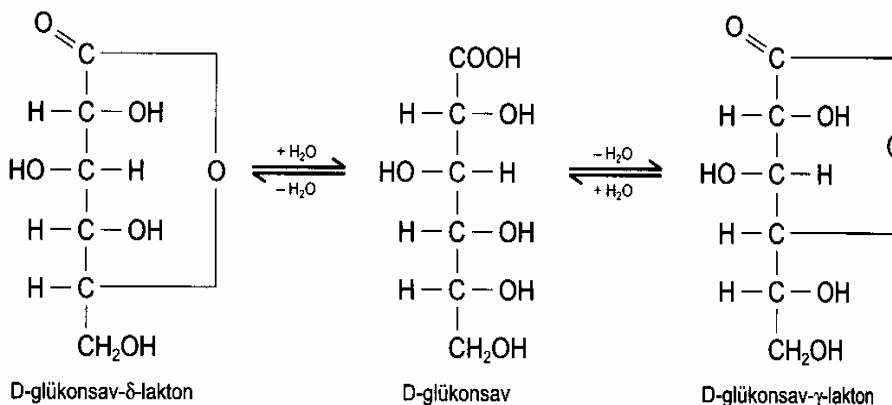
2. ábra Aldózok oxidációja aldársavvá.

Az aldózok úgy is oxidálhatók, hogy az oxocsoportot átmenetileg megvédjük. Ilyenkor csak a láncvégi hidroximetil-csoport oxidálódik karboxillá. Az így képződő vegyületet uronsavnak nevezzük. (3. ábra)



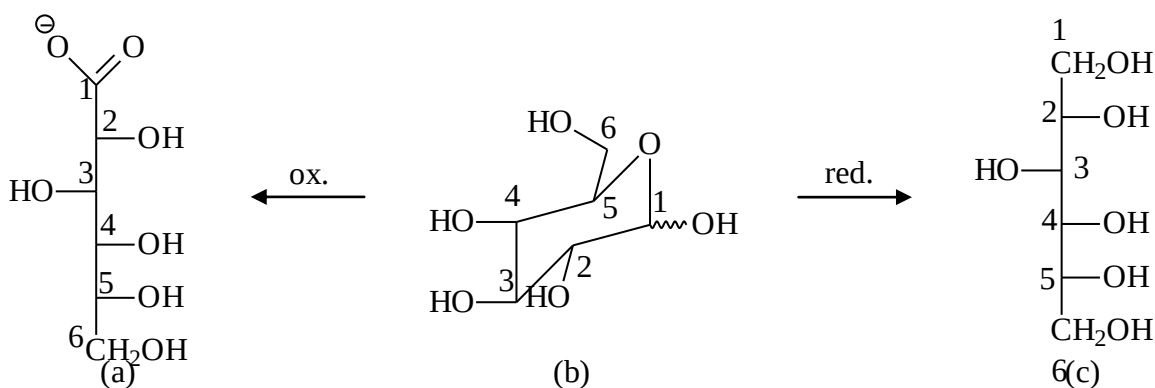
3. ábra Aldózok oxidációja uronsavvá.

Egyik oxidált forma sem nyíltláncú alakban fordul elő, savas közegben molekulán belüli észterképzéssel gyűrűs szerkezetű laktonokká alakulnak (4. ábra). Öt- és hattagú laktonok képződése egyaránt bekövetkezhethet, de az öttagúak stabilisabbak. Közel semleges, vagy lúgos oldatban a nyíltláncú forma dominál.



4. ábra A glükonsav nyílt láncú, δ -lakton, és γ -lakton formája

A kísérleteim szempontjából fontos vegyületek szerkezetét az 5. ábra mutatja.



5. ábra A D-glükonát (a, a későbbiekben Gluc^-), D-glükóz (b, a későbbiekben Glu) és D-szorbitol (c, a későbbiekben Sor) szerkezete a szénatomok későbbiekben használt számozásával.

A D-glükóz (szőlőcukor) a természetben leggyakrabban előforduló monoszacharid (aldohexóz). Szabad állapotban főleg édes gyümölcsökben fordul elő. Kötött állapotban, diszacharidok és poliszacharidok (keményítő és cellulóz) alkotórészeként sokkal nagyobb mennyiségben található a természetben. Fontossága a biológiai folyamatokban alapvető: a sejtek energia- és metabolitforrásként hasznosítják.

Bioszintézise a zöld növényekben a fotoszintézis során szén-dioxidból és vízből kiindulva fotonenergia felhasználásával történik.

A D-szorbitol a D-glükóz redukciója során keletkező polialkohol. Számos gyümölcsben megtalálható. A szervezetben nem alakul át glükózzá, ezért diabetikus készítményekben cukor helyettesítésére édesítőszerként alkalmazzák. Emellett köhögés elleni szirupokban, cukormentes rágógumikban, illetve élelmiszerekben emulgeálószerként, és nedvességnövelő anyagként használják. A C-vitaminyártás fontos intermediere.

A D-glükonát (D-glükonsav) a D-glükóz oxidációs terméke, az egyik leggyakoribb és legtöbbet vizsgált polihidroxi-karboxilát. Biológiai szerepe fontos, és széles körben alkalmazzák a gyógyszerészetben és az iparban. Gyümölcsökben, mézben, teákban, és borokban nagy mennyiségben megtalálható, de észterei is gyakoriak. Élelmiszerek esetén általában cukorból, gombák segítségével állítják elő. Főként különböző fémek megkötésére, valamint savanyúságot szabályozó anyagként alkalmazzák [1,2].

2.2. Cukortípusú ligandumok fémkomplexei

Közismert, hogy az egyszerű cukrok és származékaik (cukorsavak, polialkoholok) vizes oldatban komplexeket képeznek a különböző fémionokkal. A kialakuló komplexek szerkezete és stabilitása a cukormolekula donorcsoportjainak minőségétől és a fémiontól függ.

A csak alkoholos vagy aldehidcsoporthoz tartozó oxigén donoratomot tartalmazó ligandumok esetén a komplexek egyensúlyi viszonyainak pontos meghatározása igen nehéz, mert ezek a komplexek savas és semleges közegben általában kis stabilitásúak. Ezeken az oxigén donoratomokon kicsi az elektronsűrűség, ezért annak ellenére, hogy nagy számban találhatók meg a cukortípusú ligandumokon, nem képesek kiszorítani a vizet a fémion belső koordinációs szférájából. A pH növelésével, lúgos közegben a legtöbb fémion kiválik az oldatból, ezért nagyobb stabilitású komplexek képződése csak erősen lúgos közegben, az OH-csoportok deprotonálódása után várható. Általánosan elmondható, hogy vizes oldatban a komplexképzéshez a ligandumnak legalább három megfelelő térállású hidroxilcsoporttal kell rendelkeznie. A koordináció szempontjából „legjobb” ligandumok azok, melyek gyűrűs formáinak szék konformációjában egymást követően axiális-ekvatoriális-axiális helyzetben tartalmazznak három hidroxilcsoportot.

A polihidroxi-karboxilátok, melyek az OH-csoportok mellett tartalmaznak egy karboxilcsoportot is, nagyságrendekkel stabilisabb komplexeket képeznek a fémionokkal. Már semleges vagy savas közegben is képesek stabilisan koordinálódni a fémionhoz.

A cukortípusú ligandumok vizes oldatában az egyes vegyületeknek különböző izomerjei (anomerjei) lehetnek jelen, melyek eltérő módon viselkednek a fémionokkal. Ez még inkább megnehezíti komplexeik szerkezetének és egyensúlyi viszonyainak vizsgálatát. A hagyományos módszerekkel (pH-metriás vagy ISE [ionszelektív elektród] potenciometriás titrálások, spektrofotometria, kalorimetria, polarográfia) meghatározott stabilitási állandók úgy tekintendők, mint a fémionnak egy adott ligandum különböző formáival képzett komplexeire vonatkozó átlagos érték.

A modern szerkezetvizsgáló módszerek megjelenésével, mint a multinukleáris NMR, CD, FTIR és Raman spektroszkópia, lehetővé vált a fémionhoz koordinálódó OH- és egyéb csoportok azonosítása, illetve a komplexképzés során a ligandumon végbemenő konformáció- és konfigurációváltozás tanulmányozása.

Egy másik lehetséges stratégia a komplexképzés során a fémion valamely fizikai tulajdonságának megváltozásának követése. Ilyen módon például Mössbauer-aktív magokat (Fe, Sn) tartalmazó komplexek lehetséges szerkezete és geometriája, valamint a központi fémion elektronállapota is vizsgálható [3,4].

2.2.1. A D-glükóz, D-szorbitol és D-glükonát kalciumkomplexei

A kalciumion vizes oldatban gyenge komplexeket képez gyűrűs cukortípusú ligandumokkal. ^{13}C NMR mérések azt mutatták, hogy egy viszonylag stabilis Ca-komplex kialakulásának az a feltétele, hogy a ligandum – szék konformációjában – rendelkezze három egymást követő, axiális-ekvatoriális-axiális helyzetű OH-csoporttal [5,6]. Azok a fémionok, amelyek ionsugara megfelelő (kb. $1,0 \text{ \AA}$; $r_{\text{Ca}^{2+}} = 0,99 \text{ \AA}$), stabilis komplexeket képeznek ezekkel a ligandumokkal, mert éppen beférnek a három szomszédos donorcsoport által kialakított üregbe. Azok a gyűrűs cukrok, melyek nem rendelkeznek a megfelelő (ax-eq-ax) szekvenciával (például a Glu), sokkal gyengébb komplexek kialakítására képesek [7]. Ezek oldatához Ca^{2+} -ionokat adva a ^1H NMR spektrumban nem mutatkozott jelentős eltolódás [6]. Termodinamikai mérésekből azonban egyértelműen kiderült, hogy léteznek ezek a komplexek: a Glu Ca^{2+} -komplexének stabilitási állandója Ca^{2+} -ISE potenciometrával 5 L mol^{-1} -nak [8], kalorimetriával $8,7 \text{ L mol}^{-1}$ -nak [9] adódott.

A Sor is gyenge komplexet képez vizes oldatban kalciumionokkal. A ^{13}C NMR jelekben Ca^{2+} hozzáadása során végbemenő változásokból az 1:1 fém:ligandum arányú komplex stabilitási állandóját $0,6 \text{ L mol}^{-1}$ (36°C) és $1,2 \text{ L mol}^{-1}$ (4°C) értékűnek becsülték [10]. A kémiai eltolódásbeli változás a ^{13}C NMR-spektrumokon a Ca^{2+} kötődése során a 3. szénatomon volt a legjelentősebb, kisebb eltolódás volt tapasztalható az 1., 4. és 6. szénatomon, és egészen kicsi a 2. és 5. szénatomon (a számozás az 5. ábrán látható). Ezek közül néhány (C3 és C6) pozitív irányba, néhány pedig (C1 és C4) negatív irányba tolódott el. Mindezekből arra következtettek, hogy a kalcium eltolódásokat több hatás együttese okozhatja, és a kémiai eltolódás megváltozása önmagában nem elegendő a szerkezet meghatározásához.

A polihidroxi-karboxilátok is képesek vizes oldatban a Ca^{2+} -ionok megkötésére [3]. Erősen lúgos közegben nagy stabilitású Ca^{2+} -komplexek képződnek (például izoszacharináttal), ahol a fémion a szénhidrát alkoholátcsoportjaihoz koordinálódik [11,12]. Közepes pH-n az OH-csoportok deprotonálódása nem játszódik le, ezért ezek a csoportok csak kismértékben járulnak hozzá a koordinációhoz, és a képződő komplexek viszonylag gyengék. A kis stabilitás miatt a stabilitási állandók meghatározása igen nehéz, és ezeknek a komplexeknek a szerkezetéről kevés irodalmi adat áll rendelkezésre [3]. Ezek az állítások a $\text{Gluc}^- \text{Ca}^{2+}$ -komplexeire is igazak. A CaGluc^+ -komplex (ionpár) stabilitási állandója ($K_{1,1}$) nagyon kicsi: H^+/Pt -elektroddal potenciometriás mérések alapján $\log K_{1,1} = 1,21$ (20°C , $I \approx 0,20 \text{ M KCl}$) [13]. Ioncsere-egyensúlyi mérésekből $\log K_{1,1} = 1,22$ -nek adódott (25°C , $I = 0,16 \text{ M KCl}$) [14]. Ca^{2+} -ISE potenciometriás mérésekből kapott adatok: $\log K_{1,1} = 1,31$ (25°C , $I = 0,70 \text{ M KNO}_3$) [15] és $\log K_{1,1} = 1,05$ (25°C , $I = 0,50 \text{ M NaCl}$) [16].

Elegendően nagy $[\text{Gluc}^-]_{\text{T}}:[\text{Ca}^{2+}]_{\text{T}}$ aránynál a $\text{Ca}(\text{Gluc})_2^0$ -komplex képződésére utaló mérési adatokat kaptak [16].

A CaGluc^+ -komplexben a fémion kötőhelyei még nem tisztázottak, így a szerkezetre vonatkozóan nincsenek egyértelmű irodalmi adatok. Kézenfekvő, hogy a deprotonált karboxilátcsoport részt vesz a koordinációban, de feltételezhetően valamely alkoholos OH-csoport is koordinálódik. Ez lehet a C2-n levő OH-csoport (öttagú kelátgyűrű), a C3 OH-csoportja (hattagú kelátgyűrű), vagy a C6 OH-csoportja (fej-láb koordináció vagy makrokelát képződés).

2.3. NMR spektroszkópiáról általában

Az NMR spektroszkópia a molekulák szerkezetének és a molekuláris kölcsönhatások vizsgálatának rendkívül hatékony és sokoldalúan alkalmazható kutatási eszköze.

Az általános kiválasztási szabály a következő:

$$\Delta m = \pm 1 \quad (1)$$

ahol Δm a mágneses kvantumszám megváltozása. Az átmenet csak akkor történik meg, ha az alábbi feltétel teljesül:

$$\nu_r = \frac{\gamma}{2\pi} H_k \quad (2)$$

ahol ν_r a két állapot közti frekvencia különbség, γ a mag giromágneses tényezője, H_k a külső mágneses tér erőssége. A rezonanciafrekvencia függ a mag kémiai környezetétől, még ugyanazon elem esetében is eltérő lehet. A rezonanciafrekvenciát egy referenciához viszonyítva kémiai eltolódásnak nevezzük.

$$\delta = \frac{\nu_m - \nu^\circ}{\nu_i} \times 10^6 \quad (3)$$

ahol ν_m a vizsgált mag, ν° pedig a referenciamag rezonanciafrekvenciája, ν_i a készülék működési frekvenciája. A kémiai eltolódást ppm egységekben fejezzük ki, és független az alkalmazott mágneses térerősségtől. Referenciának ^1H és ^{13}C NMR esetén a tetrametilszilán (TMS), ^{43}Ca NMR esetén az 1,0 M CaCl_2 -oldat megfelelő rezonanciafrekvenciáját tekintjük.

A ^1H és a ^{13}C NMR spektrumok szerkezete eltérő. Míg a ^{13}C NMR esetén minden szénatom egy éles vonallal jellemezhető, addig a ^1H NMR csúcsok sokkal szélesebbek, és multiplettet alkotnak, ezért azonosításuk jóval nehezebb.

NMR spektroszkópiával meghatározható a ligandumok protonálódási állandója, valamint a komplexek stabilitási állandója.

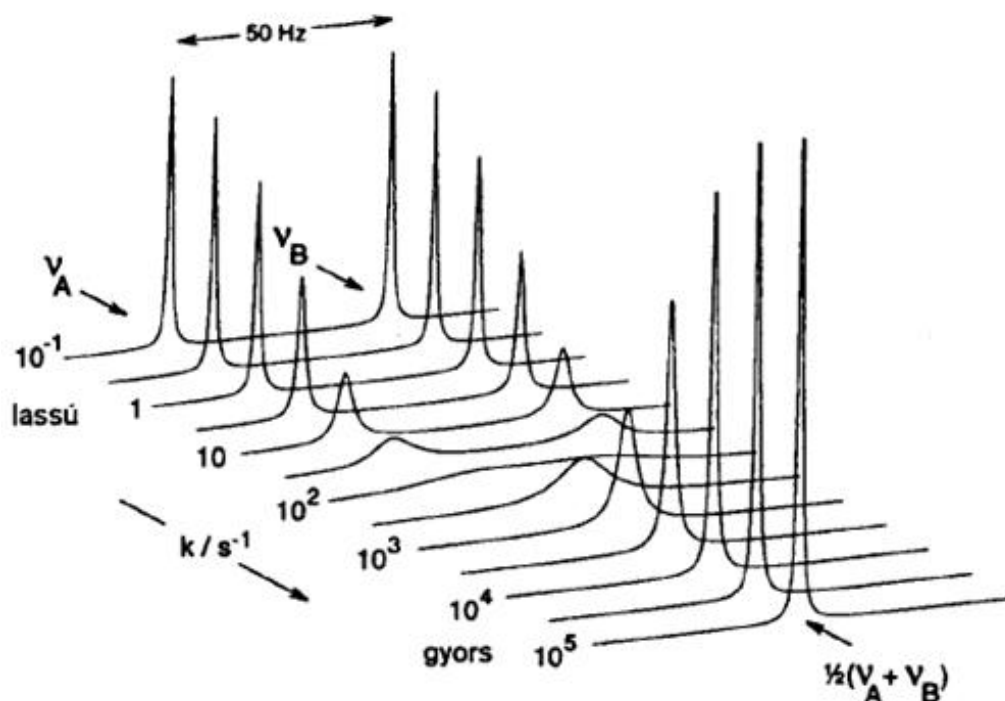
Könnyűvízes oldatok nem alkalmasak ^1H NMR mérésekhez, helyette nehézvizet (D_2O) használunk.

Az NMR időskálán értelmezzük lassú és gyors cserét. Lassú csere esetén jelszélesedés lép fel. Ennek feltétele, hogy a két hely közti frekvenciakülönbség nagy legyen az egyes állapotok élettartamához képest.

$$\tau \gg \frac{1}{\nu_A - \nu_B} \Delta\nu = \frac{k}{\pi} = \frac{1}{\pi} \tau \quad (4)$$

ahol τ az átlagos élettartam, ν_A és ν_B az eredeti jelek frekvenciája, $\Delta\nu$ a sávszélesedés és k a cseresebességi állandó.

Gyors csere esetén sávösszeolvadást tapasztalunk, de már félérték-növekedés nélkül.



6. ábra A lassú és gyors csere szemléltetése NMR spektroszkópiában [17].

Lassú csere esetén két csúcsot látunk. Protonálódás esetén az egyik a deprotonált, a másik a protonálódott vegyület jele. Komplexképződés esetén a szabad ligandum jele az egyik, a komplex jele a másik csúcs.

Kísérleteinkben a ligandumok Ca(II)-komplexei között várhatóan gyors csere játszódik le. Az összeolvadt sávok helyét a következő egyenlettel számolhatjuk ki:

$$\delta_{\text{mért}} = \frac{[L]}{c_L} \delta_L + \frac{[CaL]}{c_L} \delta_{CaL} \quad (6)$$

ahol $\delta_{\text{mért}}$ az összeolvadt sáv helye, c_L a teljes ligandum koncentráció, δ_L a ligandum határeltolódása, δ_{CaL} a komplex határeltolódása.

Ha a $\delta_{\text{mért}}$ kémiai eltolódás elegendően nagyszámú különböző $[L]_T:[Ca^{2+}]_T$ aránynál rendelkezésünkre áll, akkor a legkisebb négyzetek módszerének alkalmazásával mind a stabilitási állandó, mind a CaL-komplex határeltolódásai meghatározhatók.

3. Célkitűzés

TDK-munkám célja a Ca^{2+} -ionok komplexképződési tulajdonságainak vizsgálata semleges vizes oldatban multinukleáris NMR spektroszkópiával és a számítós kémia módszereivel. A Ca^{2+} -ion ligandumaként D-glükonátot, D-glükózt és D-szorbitolt használtunk.

A Ca(II)-tartalmú rendszerek tanulmányozása során az alábbi célokat tűztük ki:

- megvizsgálni, hogy képződik-e komplex a fémion és a ligandumok között semleges oldatban,
- meghatározni a komplexek egyensúlyi állandóit NMR spektroszkópiával,
- valószínűsíteni a ligandumok kötőhelyeit 2D ^1H – ^{43}Ca NMR spektrumok segítségével,
- az NMR mérések alapján felépíteni a komplexek modelljeit és optimalizálni azokat vákuumban és lehetőség szerint vizes közegben is.

4. Kísérleti munka

4.1. Felhasznált anyagok

Az oldatok készítéséhez az alábbi anyagokat használtam:

- vízmentes D-glükóz (Sigma Aldrich, $\geq 99\%$)
- vízmentes D-szorbitol (Sigma Aldrich, $\geq 99\%$)
- vízmentes Na-glükonát (Sigma Aldrich, $\geq 99\%$)
- vízmentes CaCl_2 (Reanal, analitikai tisztaságú), felhasználás előtt egy éjszakán át $200\text{ }^\circ\text{C}$ -on szárítva és P_2O_5 fölött tárolva
- NaCl (Spectrum 3D, analitikai tisztaságú)
- sztenderdizált HCl-törzsoldat (Merck, $c_{\text{HCl}} = 3,571\text{ M}$)
- D_2O (Merck, $99,95\%$)
- Milli Q víz

4.2. Oldatkészítés

A Glu és a Sor vizsgálata során a két anyag minden mintában $0,200\text{ M}$ koncentrációban volt jelen. A Ca-tartalmú rendszerekben a kalcium-klorid koncentrációját $0,020$ – $0,320\text{ M}$ között szisztematikusan változtattam ($[\text{Ca}^{2+}]:[\text{Sor/Glu}] = 0,1$ – $1,6$). Az ionerősséget minden esetben $I = 1,0\text{ M}$ -re állítottam be nátrium-kloriddal.

A NaGluc-os rendszerekben a glükonátion koncentrációja $0,200\text{ M}$ volt. A protonálódás vizsgálata során olyan oldatsorozatot készítettem, melyben $[\text{HCl}]:[\text{Gluc}^-] = 0,00$ – $1,00$ között változott. Az ionerősséget itt is NaCl-dal állítottam be $I = 1,0\text{ M}$ -re. A Ca-tartalmú rendszerekben a kalcium-klorid koncentrációja $0,020$ – $0,400\text{ M}$ között változott. Az ionerősséget NaCl-dal állítottam be, és az $I = 1,00$ – $4,00\text{ M}$ között változott.

A ^1H NMR mérések kivitelezése érdekében a mintákhoz 20% (v/v) D_2O -ot adtam.

A minták nem pontos beméréssel készültek, hanem a felhasznált anyagokból először törzsoldatot készítettem, majd pontos térfogatméréssel 10 cm^3 -es mérőlombikokban mértem össze a megfelelő oldatokat, és Milli Q vízzel állítottam őket jelre. Ezekből a mintákból $0,5\text{ cm}^3$ -t pipettáztam NMR csövekbe, majd $0,1\text{ cm}^3$ D_2O -ot

adtam hozzájuk. Az NMR mérésekhez 5 mm-es NMR csöveket használtam (Sigma-Aldrich).

4.3. NMR mérések

A spektrumokat egy Bruker Avance DRX 500 NMR spektrométerrel vettük fel, melyben egy 5 mm-es szélessávú szonda található, z irányú mágneses térgradienssel. A minták hőmérséklete a mérések alatt 25 ± 1 °C volt. A mágneses tér homogenizálását víz és nehézvíz elegyére végeztük el. A ^1H NMR spektrumok felvétele során az adatgyűjtés 32 vagy 64 szkemből állt. A ^{13}C NMR spektrumok esetén a ^{13}C izotóp kisebb előfordulása (1,1 %) miatt 256 vagy 512 szkent vettünk fel. A ^{43}Ca NMR mérések során 64k (64×1024) felvételt készítettünk. Erre azért volt szükség, mert a ^{43}Ca -izotóp rendkívül ritka, a természetes kalcium-vegyületekben mindössze 0,135 %.

4.4. Molekulamodellezés

Az NMR mérésekből kapott adatok alapján felépítettük a CaGlu^{2+} (α - és β -anomer), a CaSor^{2+} és CaGluc^+ komplex kationok molekulamodelljeit. Az így megalkotott kezdeti modellek geometriáját optimalizáltuk H(artree)-F(ock) 6-31 G** *ab initio* számításokkal (Hyperchem program [18]). Az optimalizálást 0,1 gradiensnorma eléréséig folytattuk.

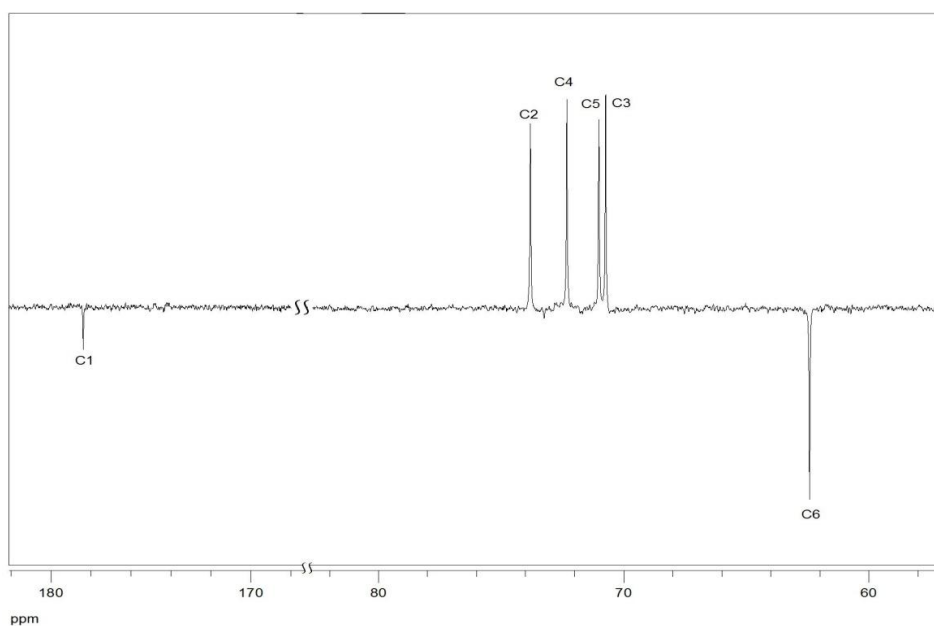
A komplexek vizes oldatának modellezését PM3 szemiempirikus kvantumkémiai módszerrel végeztük [19]. Az optimalizálás kiindulási állapotát az *ab initio* számításokból kapott komplex kationok képezték. Az oldatot explicit vízmolekulák és a megfelelő komplex egy ionjával szimuláltuk. Egy 216 vízmolekulából és a komplex kationból álló rendszer geometriáját optimalizáltuk, amíg el nem értük a 0,1 gradiensnormát. Az explicit vízmolekulák alkalmazása miatt a modell nagymértékben megközelíti a valóságot, azonban a rendszer nagy mérete miatt modellezésre csak szemiempirikus módszert alkalmazhattunk. Az optimalizálás után a vízmolekulákat eltávolítottuk, és kiszámítottuk a komplex HF 6-31 G** energiáját (single point energy calculation), amelyet összevetettünk a vákuumban végzett optimalizálással kapott molekulageometria energiájával.

5. Eredmények és értékelésük

5.1. A glükonáttartalmú rendszerek vizsgálata

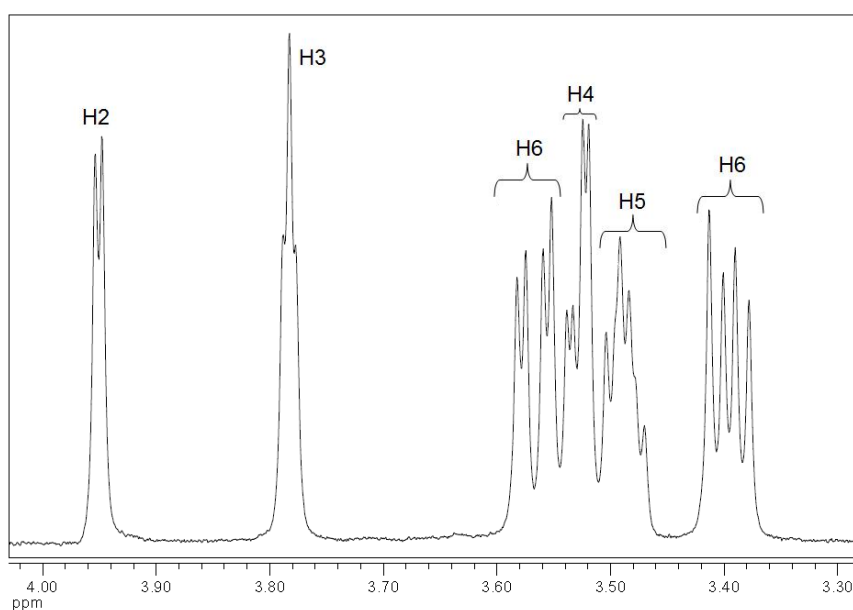
5.1.1. Az ^1H és ^{13}C NMR jelek asszignálása

A NaGluc oldatának ^{13}C NMR spektrumán 6 jól elkülönülő csúcsot figyelhetünk meg, melyek a glükonácion hat szénatomjához tartoznak (7. ábra).



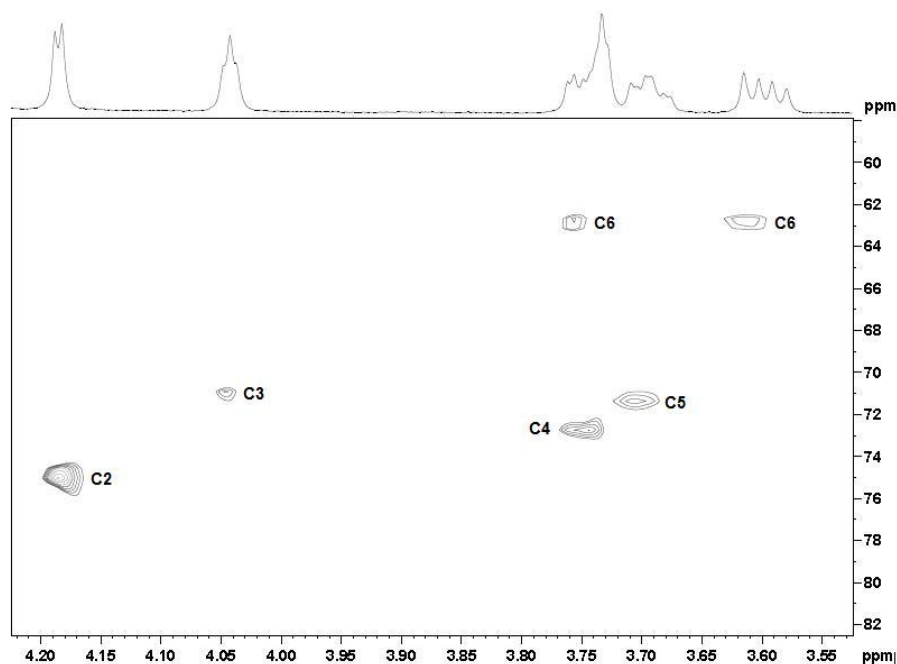
7. ábra 0,2 M NaGluc oldat ^{13}C NMR spektruma a szénatomok számozásával.

A NaGluc-oldat ^1H NMR spektruma sokkal összetettebb, az egyes protonokhoz multiplettek tartoznak, amik gyakran át is fednek egymással (8. ábra).



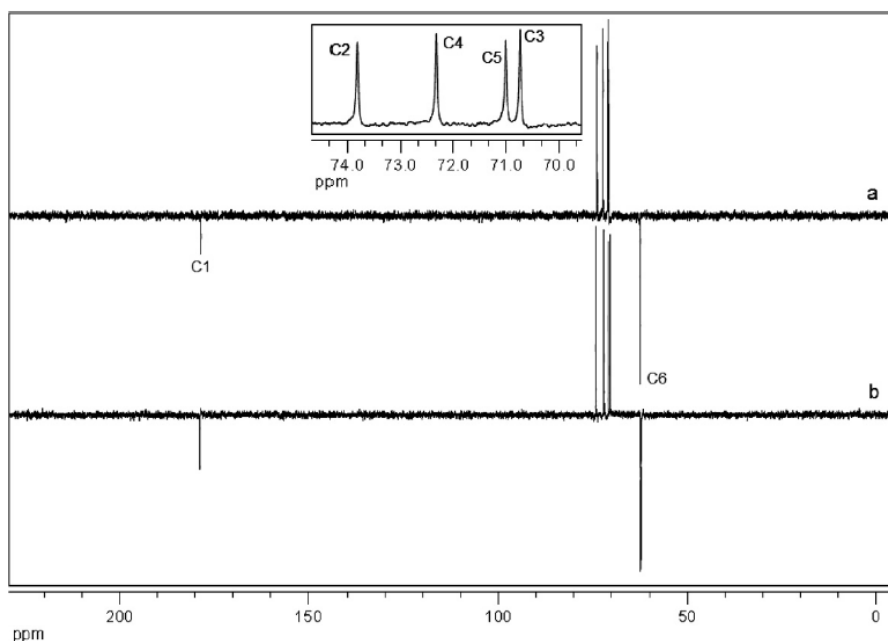
8. ábra 0,2 M NaGluc oldat ^1H NMR spektruma a megfelelő számozással.

Az egyes C- és H-atomokhoz tartozó csúcsok azonosítása 2D HSQC ^1H - ^{13}C NMR spektrum alapján történt (9. ábra).



9. ábra A NaGluc 2D ^1H - ^{13}C NMR spektruma (0,2 M).

A 10. ábrán a NaGluc-oldat spektruma látható Ca^{2+} -ionok nélkül és jelenlétében. A fémion hozzáadása során a jelek multiplicitása nem változott, így megállapítható, hogy a csere a Ca^{2+} -komplex és a szabad ligandum között gyors az NMR időskálán.



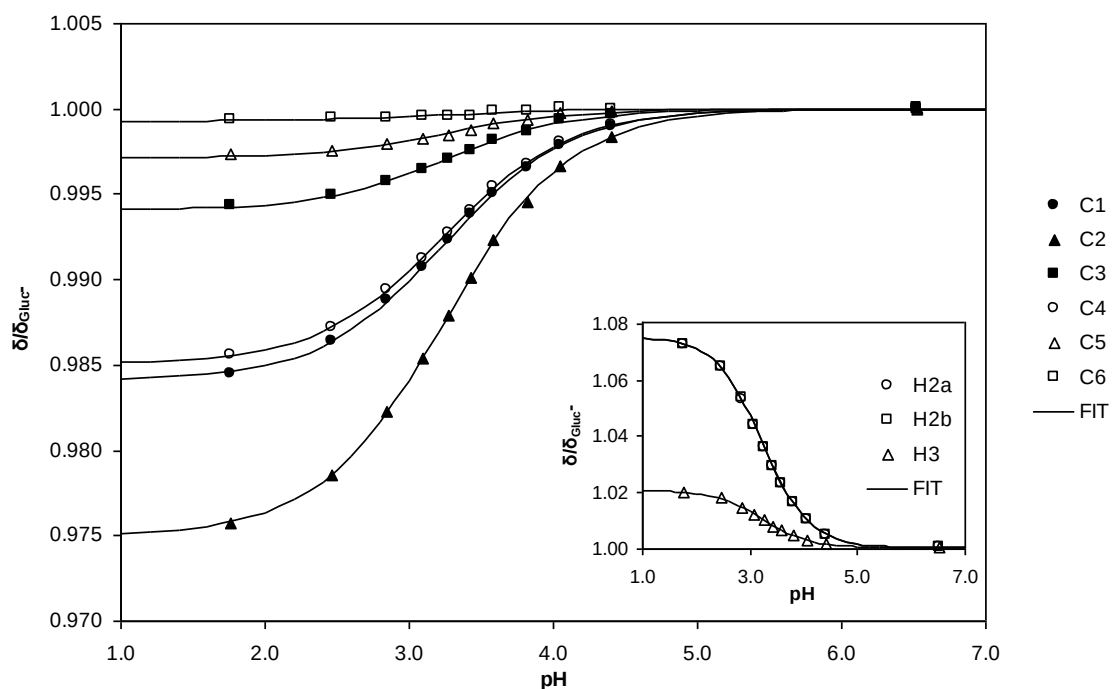
10. ábra 0,200 M NaGluc oldat ^{13}C NMR spektruma $[\text{Ca}^{2+}]_T:[\text{Gluc}^-]_T = 0,0$ (a) és 1,4 (b) oldatösszetételnél.

5.1.2. A glükonát protonálódásának vizsgálata

A NaGluc ^1H NMR spektrumában a H2 és H3 protonok csúcsai jól meghatározottak, míg a H4-H6 protonok (valószínűleg a H6 dupla kvartett jele miatt) nehezen olvashatók le.

A NaGluc-oldat pH-ját ~6,6-tól ~1,8-ig változtattuk HCl-oldat hozzáadásával ($[\text{Gluc}^-] = 0,200 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M NaCl}$). Ennek hatására a ^{13}C NMR csúcsok a magasabb értékek felé, míg a ^1H NMR csúcsok az alacsonyabb értékek felé tolódtak el. A pH-csökkentés hatására pH $\approx$ 3,8 alatt újabb csúcsok jelentek meg a ^{13}C NMR spektrumon a laktonizáció miatt.

A Gluc^- protonálódási állandóját a H2 és H3 ^1H NMR, ill. a C1-C6 ^{13}C NMR csúcsok pH-változás hatására történő eltolódásaiból határoztuk meg. A H2 és H3 protonok ^1H NMR kémiai eltolódásai, illetve a C1-C6 szénatomok ^{13}C NMR kémiai eltolódásai a pH függvényében a 11. ábrán láthatók. Az egyszerűbb megfigyelés érdekében a mért kémiai eltolódásokat a deprotonált ligandum megfelelő kémiai eltolódásaival normáltuk (a későbbiekben is a normált értékeket ábrázolom).



11. ábra A C1-C6 szénatomok határeltolódással normált ^{13}C NMR kémiai eltolódásai (nagy ábra), ill. a H2 és H3 protonok ^1H NMR kémiai eltolódásai (belső ábra) a pH függvényében. A folytonos vonalak az illesztett görbék.

A mért értékekre a PSEQUAD [21] programmal illesztettünk görbéket. Ennek alapján a Gluc^- protonálódási állandója a ^1H NMR mérések alapján $\log K_s = 3,23 \pm 0,01$ -nek, a ^{13}C NMR mérések alapján $\log K_s = 3,24 \pm 0,01$ -nek adódott, ahol K_s :

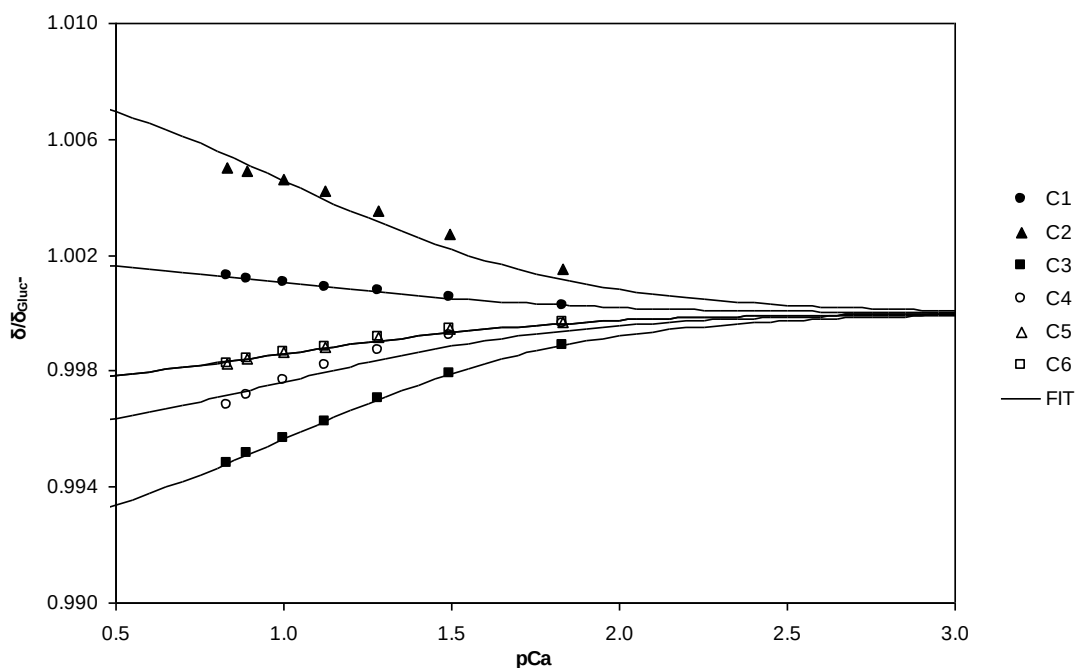
$$K_s = \frac{[\text{HGluc}]}{[\text{H}^+][\text{Gluc}^-]}$$

Ez gyakorlatilag megegyezik az irodalomban közölt $\log K_s = 3,30 \pm 0,02$ értékkel [20], a különbség az ionerősségek közti eltérés, valamint az üvegelektrodok eltérő kalibrációs protokollja miatt lehet.

5.1.3. CaGluc^+ komplex

Ca^{2+} -ionok hozzáadására a Gluc^- ^1H NMR kémiai eltolódásai igen kis mértékben, 0,03-0,06 ppm között változtak meg, még a karboxilát-csoporthoz legközelebb lévő, nem cserélődő proton jele is. Emiatt, valamint a C4-C6 szenekeken található nem cserélődő protonok átfedő spektrumai miatt a ^1H NMR spektroszkópiai adatokból nem tudtuk meghatározni a CaGluc^+ -komplex képződési állandóját.

A ^{13}C NMR spektrumban ezzel szemben szignifikáns eltolódásokat tapasztaltunk a kalciumionok hozzáadása révén. Az egyes szénatomok komplexképzés miatti kémiai eltolódásait az 1. táblázat és a 12. ábra tartalmazza.



12. ábra A Gluc^- szénatomjainak mért és számított ^{13}C NMR kémiai eltolódásai a $p\text{Ca}$ függvényében. A folytonos vonalak a számított görbék.

Ligandum	K _{1,1} (L mol ⁻¹)	C1		C2		C3		C4		C5		C6	
		δ (ppm)	Δδ (ppm)	δ (ppm)	Δδ (ppm)	δ (ppm)	Δδ (ppm)	δ (ppm)	Δδ (ppm)	δ (ppm)	Δδ (ppm)	δ (ppm)	Δδ (ppm)
D-glükonát	9.8 (0.2) ^a	178.38	0.38	73.80	0.68	70.72	-0.62	72.30	-0.35	70.99	-0.20	62.40	-0.18
D-glükóz													
α-anomer	1.5 (0.2) ^{a,b}	91.85	-0.29	71.25	-0.17	72.58	-0.22	69.42	-0.33	71.17	-0.29	60.43	-0.34
β-anomer	1.7 (0.2) ^{a,b}	95.64	-0.21	73.98	-0.26	75.56	-0.21	69.42	-0.31	75.64	-0.25	60.57	-0.28
D-szorbitol	1.6 (0.2) ^c	62.33	-0.14	72.72	-0.02	69.46	-1.03	70.94	0.47	70.88	0.26	62.66	0.56

1. táblázat A CaL (L = Gluc⁻, Glu, Sor) komplexek ¹³C NMR adatokból számított képződési állandója, I = 1 M NaCl ionerősség és pH ≈ 6,5 mellett. A ligandumok egyes szénatomjainak határeltolódásai (δ), valamint a komplex (CaL) és a szabad ligandum (L) határeltolódásainak különbsége (Δδ = δ_{CaL} - δ, azaz a kémiai eltolódás változása a komplexképzés hatására).

$$K_{1,1} = \frac{[CaL]}{[Ca^{2+}][L]}$$

a: számított stabilitási állandó mind a hat szénatom kémiai eltolódását figyelembe véve

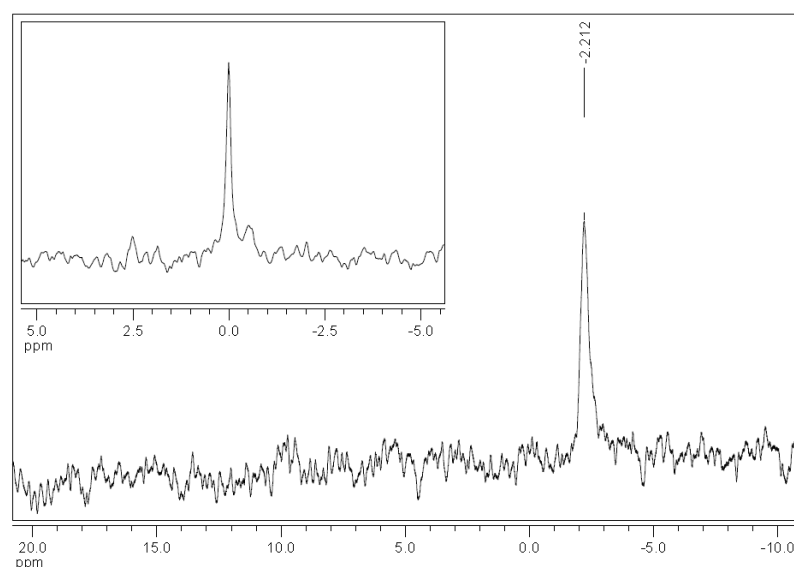
b: a szövegben leírt számítási mód

c: számított stabilitási állandó a C3, C4 és C6 kémiai eltolódásait figyelembe véve

A stabilitási állandók és a komplexek összetételének meghatározására a PSEQUAD programcsomag felhasználásával kétféle illesztési protokollt alkalmaztunk: az egyik során csak a C1 és C3 szénatomok kémiai eltolódásainak változását illesztettük, míg a másikon minden szénatom kémiai eltolódásának változását felhasználtuk az illesztéshez. Az optimalizáció során a Gluc^- -ion határeltolódásait állandó értéken tartottuk. Az illesztési paramétereket (vagyis a mért és a modell alapján számolt kémiai eltolódások egyezését) az első módszer alapján kiválónak, míg a második módszer alapján szintén elfogadhatónak találtuk, a két módszerrel ugyanazt az egyensúlyi állandót kaptuk: $K_{1,1} = 9,8 \pm 0,2 \text{ L mol}^{-1}$. Megjegyzendő, hogy 3-20 közötti $K_{1,1}$ -ekkel a kísérleti eredmények szintén kielégítően leírhatóak.

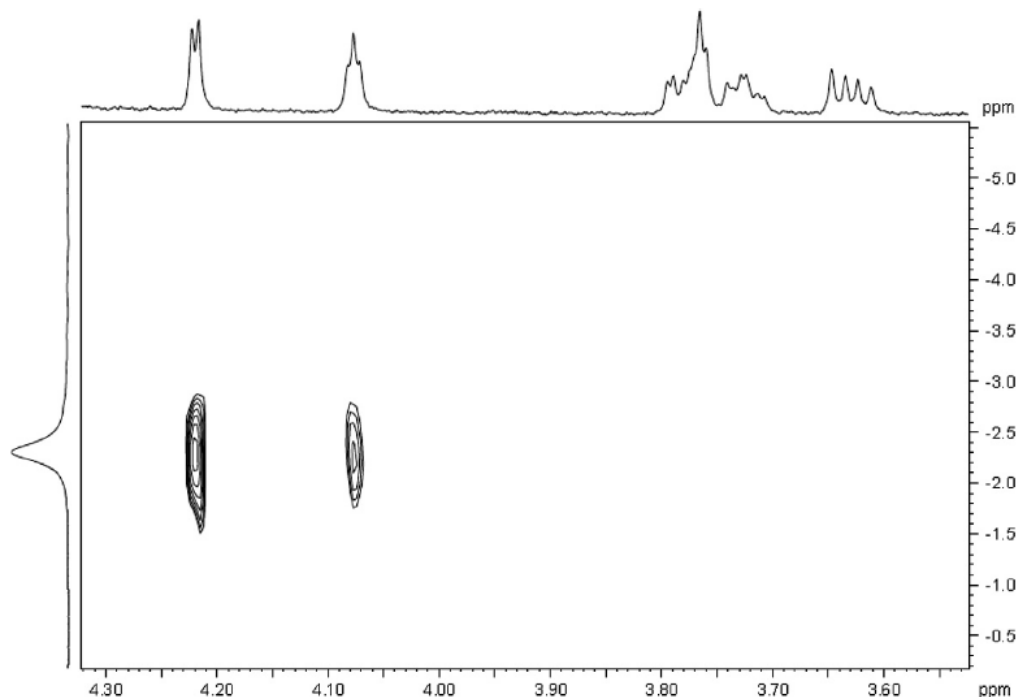
A legnagyobb $\text{Gluc}^-:\text{Ca}^{2+}$ aránynál a mért és a számított kémiai eltolódások között szisztematikus eltérések tapasztalhatók. Ennek oka valószínűleg az irodalomban már feltételezett, de részletesen nem jellemzett CaGluc_2^0 -komplex keletkezése [16]. Ugyanakkor ennek az eltérésnek a mértéke annyira kicsi, hogy nem teszi lehetővé az 1:2 összetételű részecske képződési állandójának kiszámítását.

Gluc^- hozzáadásának hatására a hidratált Ca^{2+} -ion ^{43}Ca NMR csúcsa fokozatosan az alacsonyabb frekvenciák felé tolódott el és jelentősen kiszélesedett (a félértékszélesség 1,2 Hz-ről 13,1 Hz-re nőtt 0,200 M NaGluc koncentráció mellett) (13. ábra). A ^{43}Ca NMR kémiai eltolódás megváltozása, valamint a számított stabilitási állandó alapján a CaGluc^+ -komplexben a Ca^{2+} kémiai eltolódása a hidratált Ca^{2+} -ionhoz képest $-2,2 \text{ ppm}$.



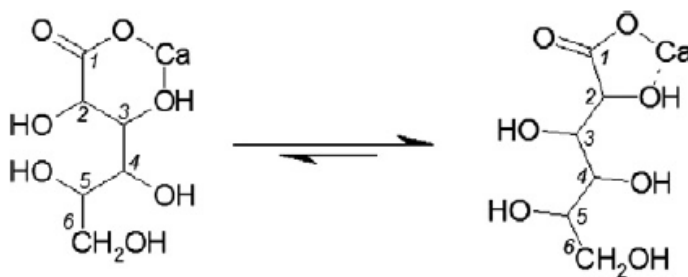
13. ábra $[\text{CaCl}_2] = 0,200 \text{ M}$ oldat ^{43}Ca NMR spektruma $[\text{NaGluc}] = 0,200 \text{ M}$ jelenlétében (nagy spektrum), és NaGluc nélkül (belső spektrum).

A ligandum kötőhelyeinek meghatározása érdekében 2D ^1H - ^{43}Ca NMR mérést végeztünk (14. ábra).



14. ábra 2D ^1H - ^{43}Ca NMR spektrum $[\text{Ca}^{2+}]_T = 0,200\text{ M}$ és $[\text{NaGluc}]_T = 0,200\text{ M}$ oldatösszetételénél.

A spektrum azt mutatta, hogy a fémion a glükonát C2 és C3 OH-csoportjához egyaránt koordinálódik, emellett a karboxilát-oxigén kötődése nyilvánvaló, így a komplexképződésnek két lehetséges kimenetele képzelhető el. Az egyik szerint a 15. ábrának megfelelő kötési izoméria lép fel, öt- és hattagú gyűrűs szerkezetű komplexek tartanak egymással egyensúlyt az oldatban.

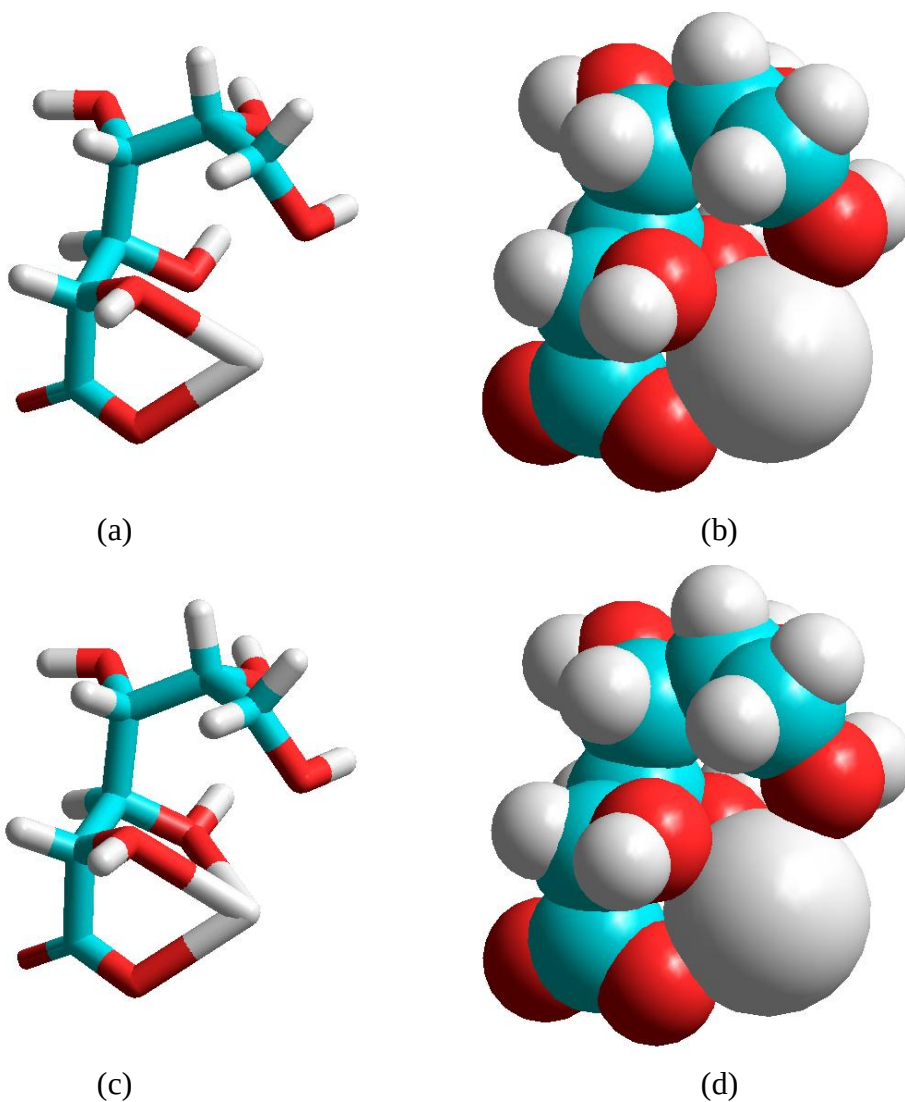


15. ábra Öt- és hattagú gyűrűs szerkezetű kalcium-glükonát komplexek egyensúlya

A másik szerint a glükonátion tetradentát ligandumként viselkedik a karboxilát-oxigének és a C2 és C3 OH-csoportokon keresztül.

A legvalószínűbb szerkezet felderítése érdekében minden lehetséges szerkezetet modelleztünk mind vákuumban (HF 6-31 G** *ab initio* optimalizálás), mind vizes oldatban explicit vízmolekulákat alkalmazva (PM3 szemiempirikus számítás).

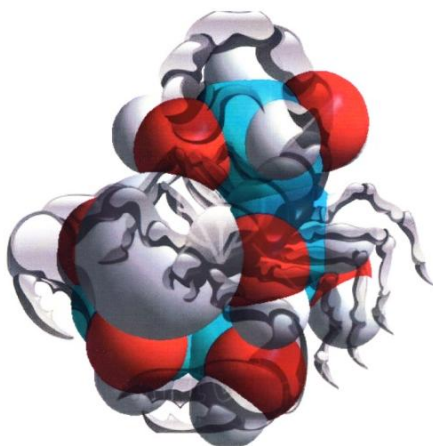
Az *ab initio* számításokból kapott szerkezetek a 16. és 18. ábrán láthatók.



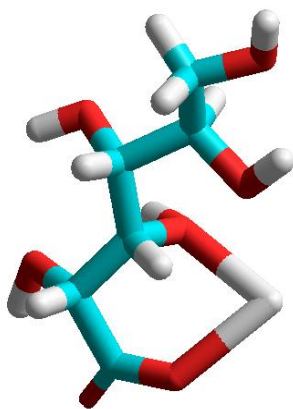
Ca–O(C1): 222 pm (222 pm)
 Ca–O(C2): 245 pm (245 pm)
 Ca–O(C3): 239 pm (239 pm)
 Ca–O(C4): 525 pm (525 pm)
 Ca–O(C5): 418 pm (418 pm)
 Ca–O(C6): 242 pm (242 pm)

16. ábra Az izolált CaGluc^+ komplex ion szerkezete HF 6-31 G** *ab initio* számítások eredményeképp, kiindulási szerkezetként ötagú (a és b) illetve egyidejűleg öt- és hattagú (c és d) gyűrűs szerkezetet alkalmazva, a Ca–O kötéstávolságok feltüntetésével (c és d szerkezetre vonatkozó adatok zárójelben).

A 16. ábráról kiderül, hogy (nagy meglepetésünkre) öttagú gyűrűs szerkezetet nem kaptunk eredményül, ehelyett a Ca^{2+} -ionhoz az O(C1), O(C2) és O(C3) mellett a terminális, C6-hoz kapcsolódó OH-csoport is koordinálódik. Tehát a fémion úgy helyezkedik el, hogy a lehető legtöbb oxigénatom vegye körül, ezzel egy „skorpionát” típusú komplexet létrehozva (17. ábra).

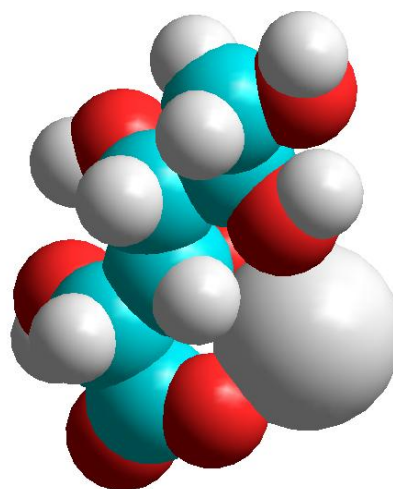


17. ábra A Gluc^- úgy öleli körül a Ca^{2+} -iont, mint egy skorprió: a fej, az ollók és a farok egy-egy oxigénatomot szimbolizálnak.



(a)

Ca–O(C1): 221 pm
 Ca–O(C2): 457 pm
 Ca–O(C3): 230 pm
 Ca–O(C4): 479 pm
 Ca–O(C5): 508 pm
 Ca–O(C6): 254 pm

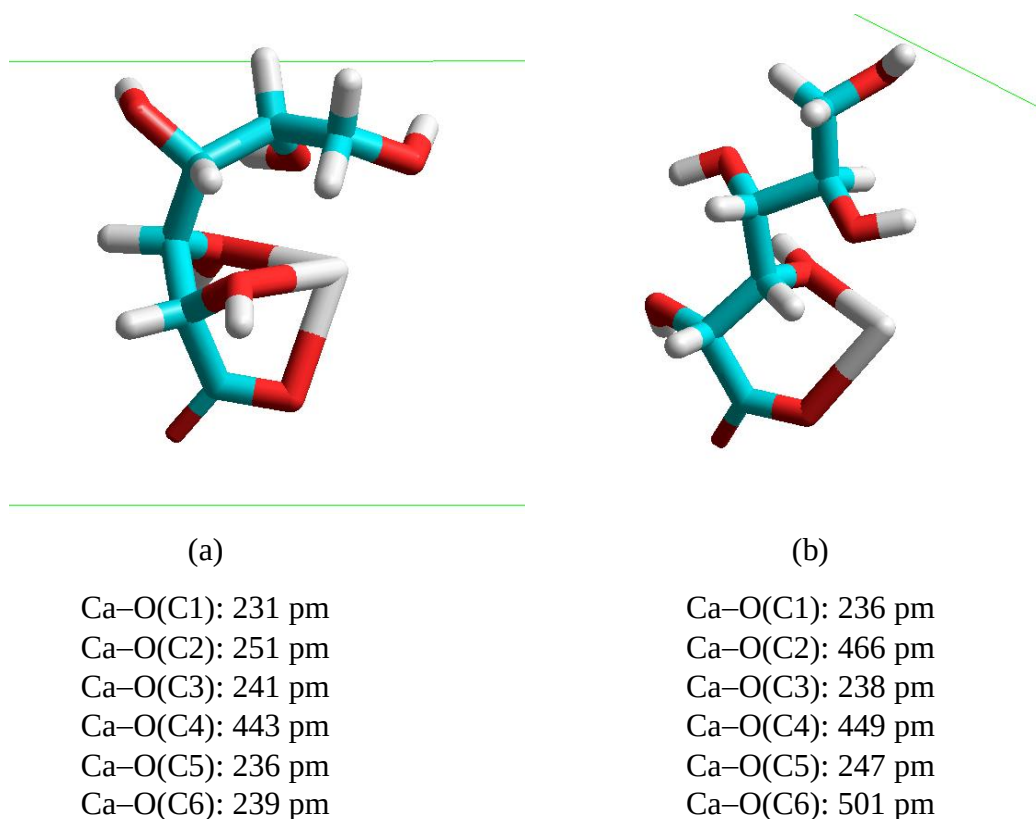


(b)

18. ábra Az izolált CaGluc^+ komplex ion szerkezete HF 6-31 G^{**} ab initio számítások eredményeképp, kiindulási szerkezetként hattagú gyűrűs szerkezetet alkalmazva, a Ca–O kötéstávolságok feltüntetésével.

A 18. ábra azt mutatja, hogy a Ca^{2+} -ion az O(C1), O(C3) és O(C6) atomokkal létesít kölcsönhatást. Termodinamikailag az első feltételezés bizonyult kedvezőbbnek.

A vizes oldatra vonatkozó számítások eredménye a 19. ábrán látható.

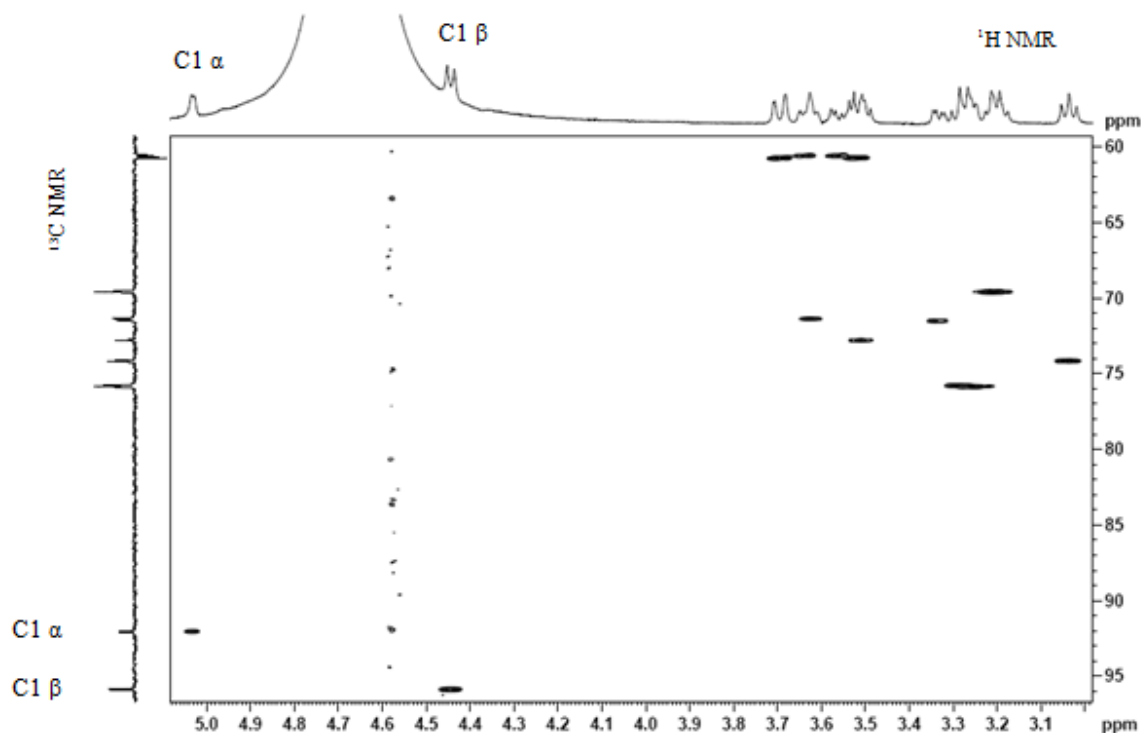


19. ábra A CaGluc^+ komplex ion vizes oldatbeli optimalizált szerkezete explicit vízmolekulák alkalmazásával, kiindulási szerkezetként az *ab initio* számításokból kapott öttagú (a) illetve hattagú (b) gyűrűs szerkezetet alkalmazva, a Ca–O kötéstávolságok feltüntetésével.

Öttagú gyűrűs szerkezetből kiindulva a vizes oldatbeli optimalizálás eredményeképp azt kaptuk, hogy a Ca^{2+} -ion még inkább beágyazódik az oxigénatomok által képzett „kehelybe”, mint az izolált komplex esetében: az O(C1), O(C2), O(C3), O(C5) és O(C6) atomokkal is létesít kölcsönhatást. A hattagú gyűrűs szerkezetből kiindulva az eredmény egy olyan komplex, melyben a fémion az O(C1), O(C2) és O(C5) atomokhoz koordinálódik. A két komplex képződési entalpiája 130 kcal/mol-lal eltér, az (a) szerkezet a termodinamikailag stabilisabb.

5.2. A CaGlu^{2+} komplexek

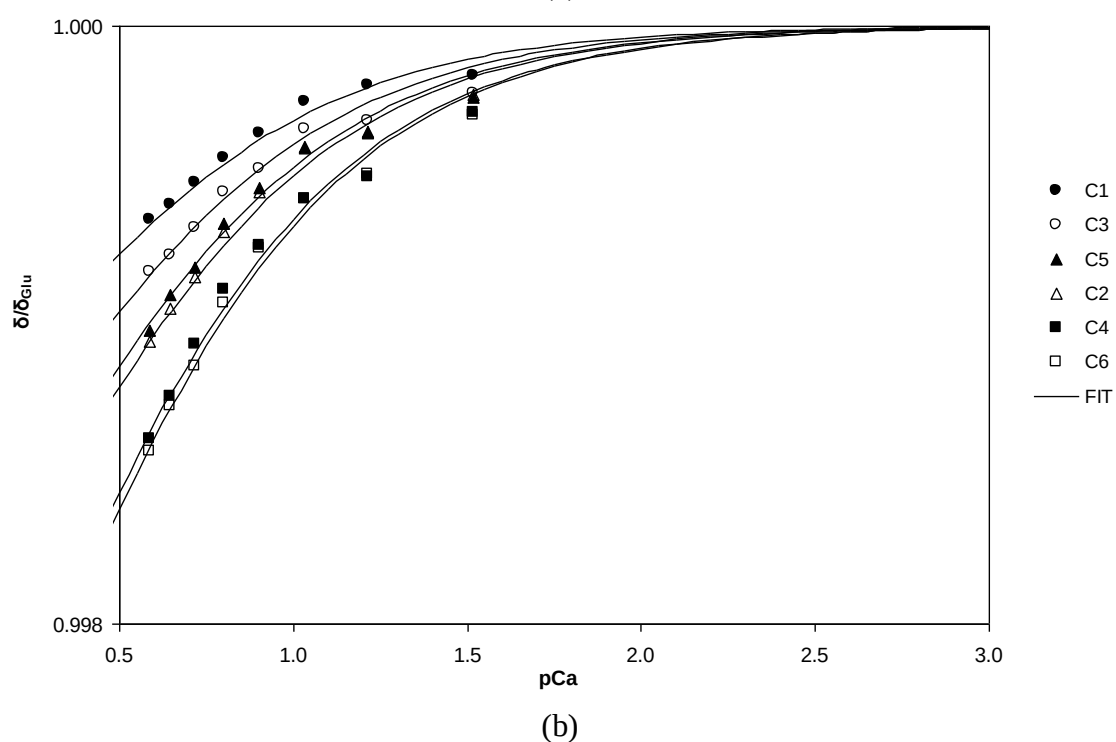
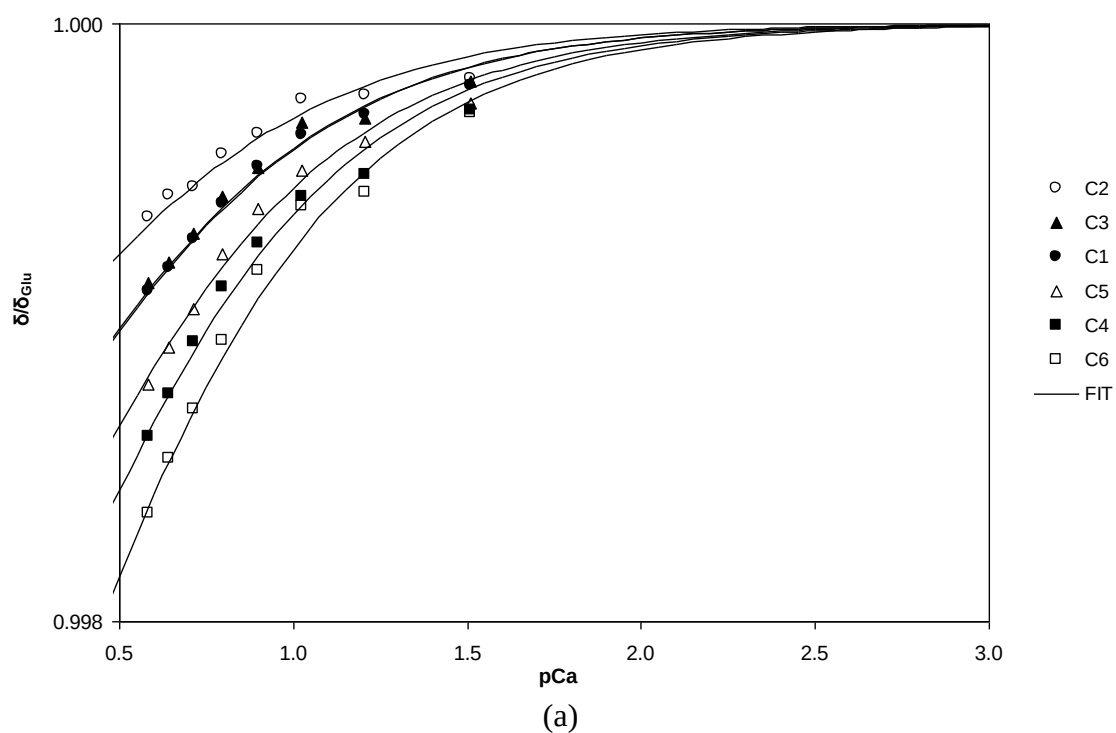
Mivel a D-glükóznak vizes oldatban az α - és β -anomerje egyaránt jelen van, a ^{13}C NMR spektrumon 12 csúcs látható. Ezek kémiai eltolódásait az 1. táblázat tartalmazza. Az egyes szénatomokhoz tartozó csúcsok azonosítása 2D HSQC ^1H - ^{13}C NMR spektrum alapján történt (20. ábra).



20. ábra A D-glükóz 2D ^1H - ^{13}C NMR spektruma (0,2 M).

Kalcium-ionok hozzáadására a jelek multiplicitása nem változott, de a csúcsok pozíciója szisztematikusan és szignifikánsan az alacsonyabb értékek felé tolódott el, (21. ábra). Ha feltételezzük, hogy ez az eltolódás a komplexképzésnek tudható be, akkor megállapítható, hogy a csere a Ca^{2+} -komplexek és a szabad ligandumok között gyors az NMR időskálán.

A δ vs. $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{T}}$ függvényekből megkíséreltük meghatározni a keletkezett komplexek stabilitási állandóját. Ehhez figyelembe vettük mind a két anomer jelenlétét.



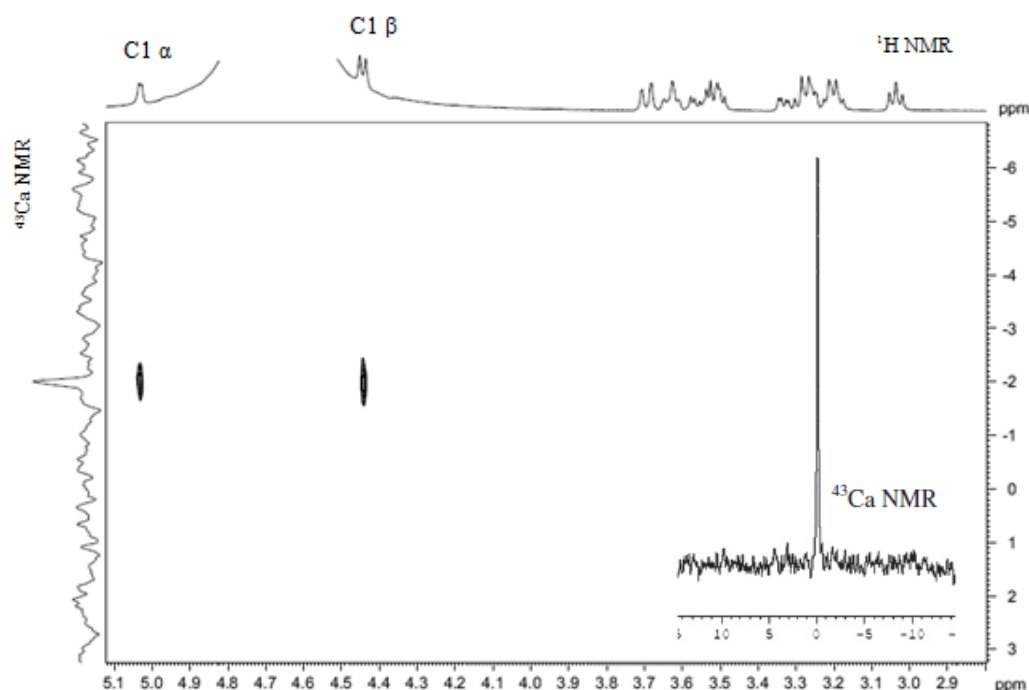
21. ábra A Glu szénatomjainak mért és számított ^{13}C NMR kémiai eltolódásai a $p\text{Ca}$ függvényében. Az (a) ábrán az α -anomerhez, a (b) ábrán a β -anomerhez tartozó értékek láthatók. A folytonos vonalak a számított görbék.

A D-glükóz ^1H NMR spektrumából az α - és β -anomer aránya 36:64-nek bizonyult, bár ez az egyensúly kalciumionok hozzáadására az α -anomer képződésének irányába tolódott el. Ez elég bonyolulttá tette a rendszert, ezért azzal a feltételezéssel becsültük meg a stabilitási állandókat, hogy csak az α -anomer, ill. csak a β -anomer van

jelen. A két stabilitási állandó: $K_{1,1} = 1,5 \pm 0,2 \text{ L mol}^{-1}$ (α -anomer), $K_{1,1} = 1,7 \pm 0,2 \text{ L mol}^{-1}$ (β -anomer). A két érték gyakorlatilag megegyezik, ez jelzi, hogy mindkét anomer ugyanolyan módon kötődik a fémionhoz. Meg kell azonban jegyezni, hogy az ezekhez az értékekhez közeli értékekkel a kísérleti adatok szintén kielégítően leírhatóak.

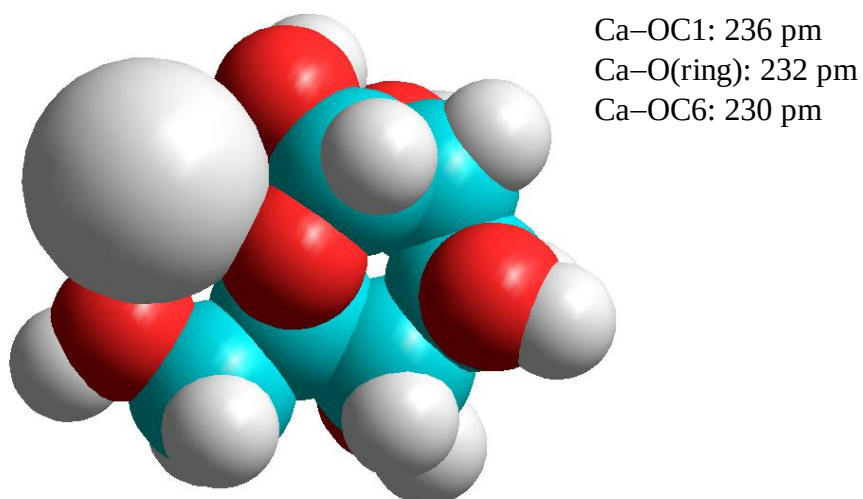
A ^{43}Ca NMR spektrumon (22. ábra) a kémiai eltolódásban pozitív eltolódást észleltünk a glükóz hozzáadása során. Ez az eltolódás ugyanolyan irányú és mértékű, mint a glükonátos rendszerekben megfigyelt eltolódás.

A 2D ^1H - ^{43}Ca NMR spektrum (22. ábra) azt mutatta, hogy mindkét anomer esetén a glikozidos hidroxilcsoport részt vesz a komplexképzésben. A spektrumból nem derül ki, hogy más hidroxilcsoport is koordinálódik-e közvetlenül a Ca^{2+} -ionhoz. Feltételezhető, hogy az éterkötés oxigénje is kötődik a fémionhoz, és a Glu kétfogú ligandumként kötődik a Ca^{2+} -ionhoz.

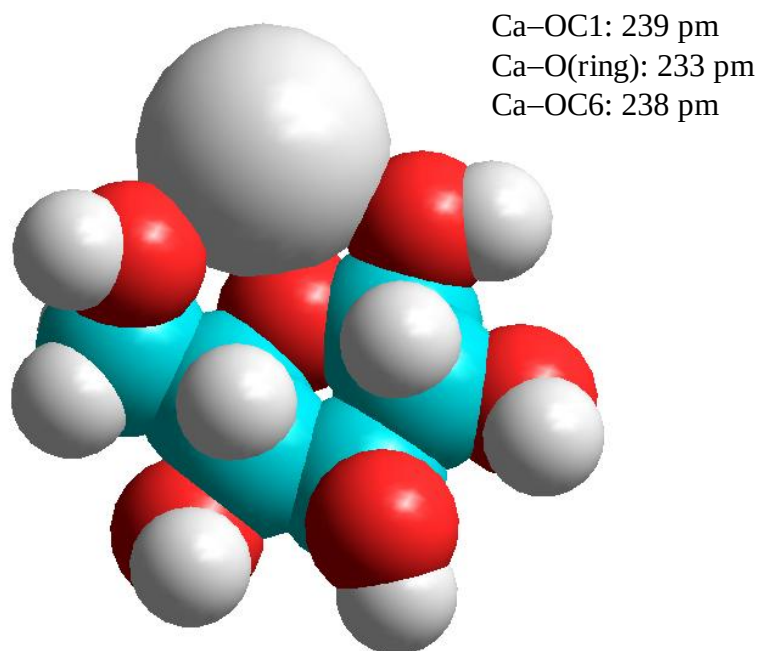


22. ábra 2D ^1H - ^{43}Ca NMR spektrum $[\text{Ca}^{2+}]_T = 0,200 \text{ M}$ és $[\text{Glu}]_T = 0,200 \text{ M}$ oldatösszetételénél, és egy $0,2 \text{ M CaCl}_2$ -oldat ^{43}Ca NMR spektruma.

A geometriai optimalizálás a fent említett kötőhelyeken kívül a terminális OH-csoport koordinációját is mutatta. Ez az NMR mérésekből nem derült ki. Ennek oka valószínűleg a gyenge távolható csatolás a terminális szénatomon. A két anomer Ca^{2+} -komplexének optimális geometriáját a kötéstávolságokkal a 23. ábra mutatja.



(a)

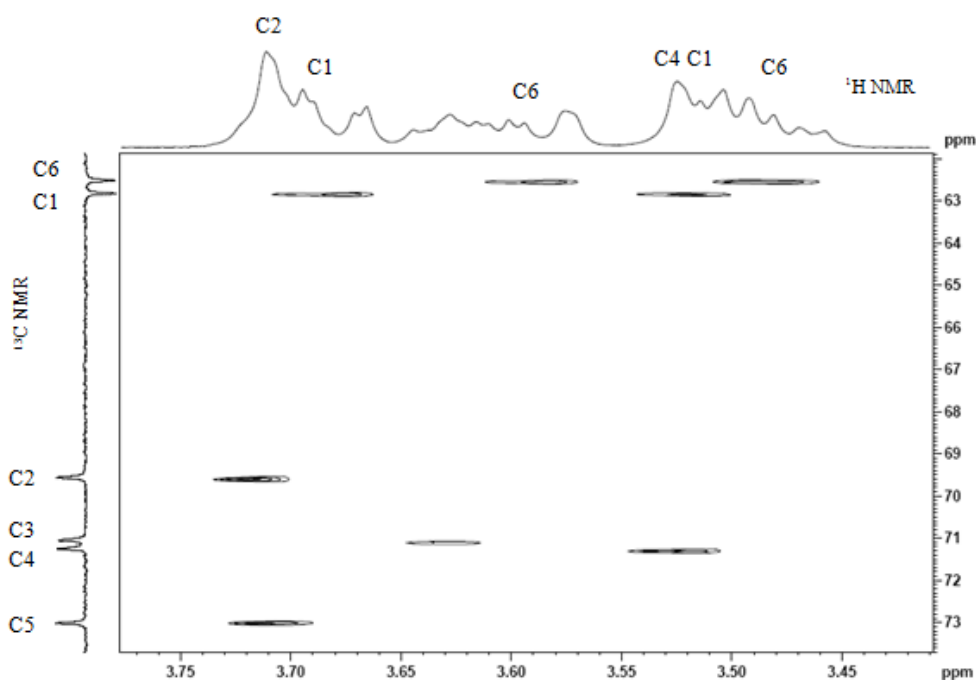


(b)

23. ábra A CaGlu^{2+} -komplex HF 6-31G** *ab initio* módszerrel optimalizált szerkezete. Az (a) ábrán az α -anomer, a (b) ábrán a β -anomer Ca^{2+} -komplexe látható.

5.3. A CaSor^{2+} komplex

A D-szorbitol oldatának ^{13}C NMR spektrumán 6 jól elkülönülő csúcs látható, melyek a szorbitol 6 szénatomjához tartoznak, ezek kémiai eltolódásait az 1. táblázat tartalmazza. A csúcsok azonosítása 2D ^1H - ^{13}C NMR spektrum alapján történt (24. ábra).



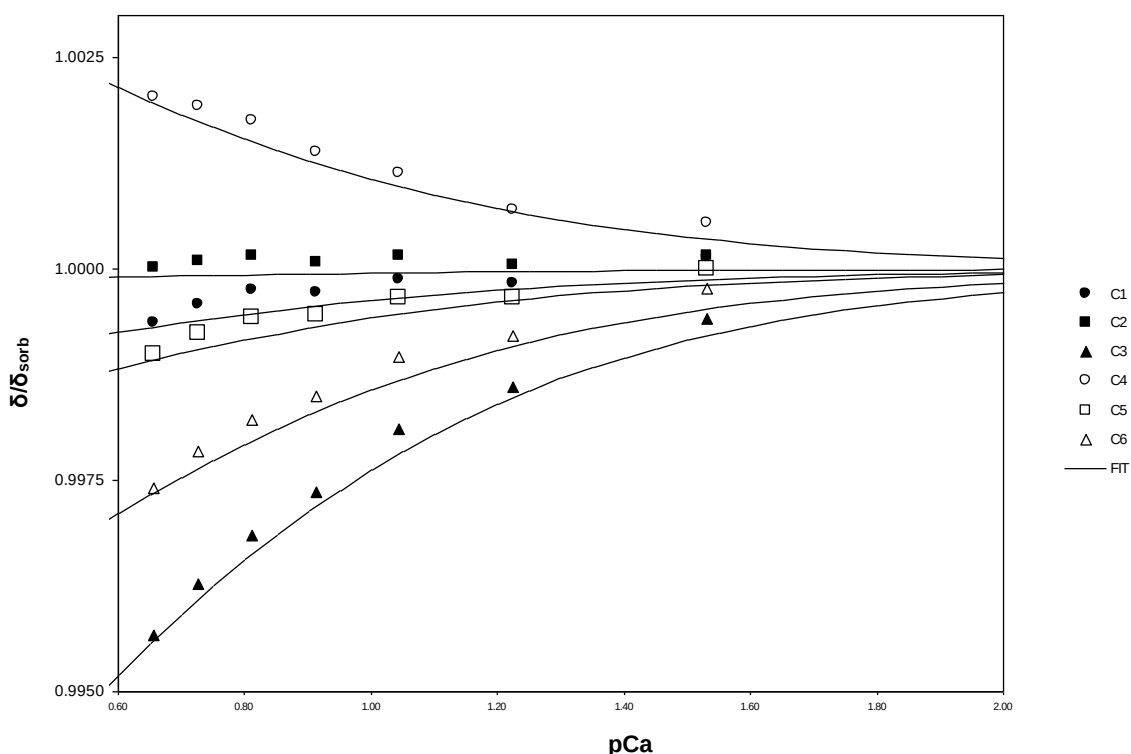
24. ábra A D-szorbitol 2D ^1H - ^{13}C NMR spektruma (0,2 M).

Ahogy a Gluc^- és Glu tartalmú rendszerekben sem, a szorbitol esetében sem változott a jelek multiplicitása a komplexálódás révén, ezért itt is megállapítható, hogy gyors csere játszódik le a komplex és a szabad ligandum között.

A komplexálódás hatására a ^{13}C NMR csúcsok eltolódtak. A C4 csúcs az alacsonyabb, míg a C1-C3, C5 és C6 csúcsok a magasabb értékek felé. A kémiai eltolódás-változások az 1. táblázatban láthatók.

A C1 és C5 eltolódása nem volt elég nagy a komplex képződési állandójának meghatározásához. Méréseink szerint a C1 csúcs helyzet alig változott, ezzel szemben az irodalomban közöltek olyan adatokat, melyek szerint Ca^{2+} hatására a C1 jelentősen eltolódott az alacsonyabb értékek felé [10]. Ennek oka feltehetően az, hogy változó ionerősségek mellett mértek, így az eltolódás valószínűsíthetően a hidratációban bekövetkező változások miatt volt ekkora.

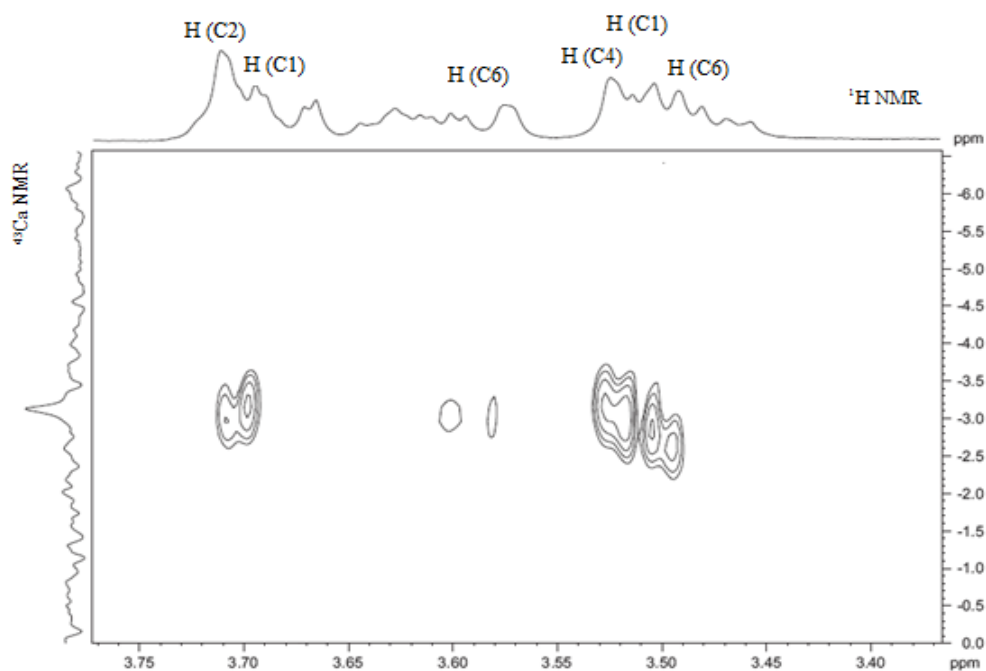
Az egyes csúcsok kémiai eltolódásának változását a pCa függvényében a 25. ábra mutatja.



25. ábra A Sor szénatomjainak mért és számított ^{13}C NMR kémiai eltolódásai a pCa függvényében. A folytonos vonalak a számított görbék.

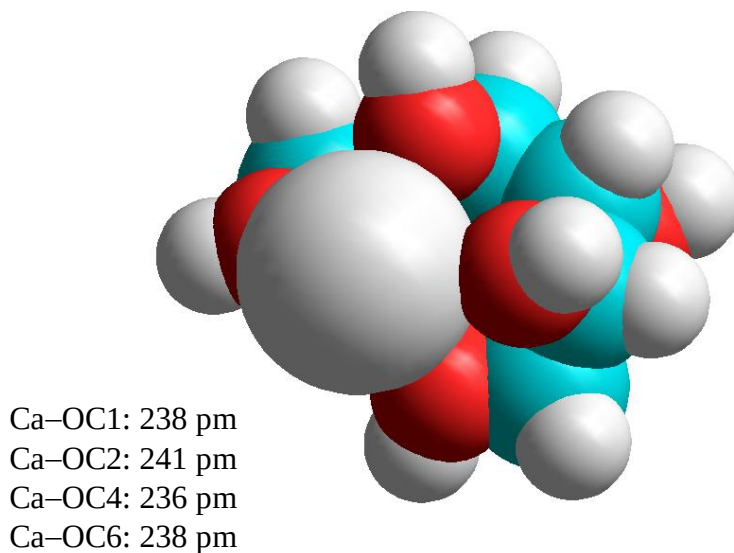
A CaSor^+ -komplex képződési állandóját a C3, C4 és C6 jelek változásaiból számoltuk, és $K_{1,1} = 1,6 \pm 0,2 \text{ L mol}^{-1}$ -nak adódott. Itt is meg kell azonban jegyezni, hogy 0,2 és 4 közötti $K_{1,1}$ értékekkel szintén kielégítően leírhatóak a kísérleti eredmények. A bizonytalanság oka az, hogy a komplex határeltolódása nem határozható meg kísérletileg, és matematikailag korrelál $K_{1,1}$ -gyel.

Ahogy a glükonát és a glükóz esetében sem, úgy a szorbitolnál sem tudtuk a ^{13}C NMR eredményekből a ligandum kötőhelyeit meghatározni. Ehhez 2D ^1H – ^{43}Ca NMR mérést végeztünk (26. ábra), mely azt mutatta, hogy a Sor O(C1), O(C2), O(C4) és O(C6) atomja is koordinálódik Ca^{2+} -ionhoz.



26. ábra 2D $^1\text{H}-^{43}\text{Ca}$ NMR spektrum $[\text{Ca}^{2+}]_T = 0,200\text{ M}$ és $[\text{Sor}]_T = 0,200\text{ M}$ oldatösszetételénél.

A HF 6-31 G** *ab initio* számítások a ligandumon négy kötőhelyet mutattak nagyon hasonló Ca-O kötéstávolságokkal (27. ábra). A ligandum flexibilis, körülöleli a Ca^{2+} -iont a 2D NMR mérések által mutatott oxigénatomokon keresztül.



5. ábra A CaSor^{2+} -komplex HF 6-31G** *ab initio* módszerrel optimalizált szerkezete, a Ca-O kötéstávolságok feltüntetésével.

6. Összefoglalás

A Ca^{2+} -ion hexózszármazékokkal (glükonát, glükóz és szorbitol) való komplexképzési tulajdonságainak vizsgálata során az alábbi eredményeket kaptuk:

- Megállapítottuk, hogy mindhárom ligandummal kimutatható a Ca^{2+} -komplexek képződése.
- ^{13}C NMR mérésekből meghatároztuk az 1:1 fém:ligandum arányú komplexek stabilitási állandóját.
- 2D ^1H – ^{43}Ca NMR spektrumok alapján valószínűsítettük a ligandumok kötőhelyeit, és felépítettük a komplexek modelljeit.
- A felállított modellvegyületek szerkezetét optimalizáltuk vákuumban és a CaGluc^+ komplex kation esetén vizes közegben is, azaz meghatároztuk a komplexek optimális geometriáját.
- Megállapítottuk, hogy mindhárom vizsgált vegyület multidentát ligandumként viselkedik a kalciumionnal szemben, a szerkezet emlékeztet az ún. „skorpionát” típusú, sokkal komplikáltabb ligandumot tartalmazó komplexek szerkezetére.

7. Irodalomjegyzék

1. Furka Á., *Szerves kémia*, Tankönyvkiadó, Budapest, 1991
2. Gergely P., Penke B., Tóth Gy., *Szerves és bioorganikus kémia*, Semmelweis Kiadó, Budapest, 1994
3. Gyurcsik, B., Nagy, L. *Coord. Chem. Rev.* 203 (2000) 81
4. Daniele, P.G., Foti, C., Gianguzza, A., Prenesti, E., Sammartano, S. *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 1093
5. Burgess, J., Raven, E. *Prog. Inorg. Chem.* 61 (2009) 251
6. Angyal, S.J. *Pure Appl. Chem.* 35 (1973) 131
7. Angyal, S.J., Davies, K.P. *Chem. Commun.* (1971) 500
8. Morel, J.-P., Lhermet, C., Morel-Desrosiers, N. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* 84 (1988) 2567
9. Grebennikov, V.N., Vyskrebtssov, B.V., Budarin, L.I. *Russ. J. Inorg. Chem.* 29 (1984) 27
10. Beattie J.K., Kelso, M.T. *Aust. J. Chem.* 34 (1981) 2563
11. Van Loon, L.R., Glaus, M.A., Vercammen, K. *Acta Chem. Scand.* 53 (1999) 235
12. Rhai, D., Hess, N.J., Xia, Y., Rao, L., Cho, H.M., Moore, R.C., Van Loon, L.R. *J. Solution Chem.* 32 (2003) 665
13. Cannan, R.K., Kibrick, A. *J. Am. Chem. Soc.* 60 (1938) 2314
14. Schubert, J., Lindenbaum, A. *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 3529
15. Haas, J.W. *J. Marine Chem.* 19 (1986) 299
16. Masone, M., Vicedomini, M. *Ann. Chim. (Rome)* 71 (1981) 517
17. Sebők, P., *Diplomamunka*, Szeged, 2010
18. Hyperchem 8.0, Hypercube, Gainesville, Florida, 2007
19. Stewart, J.J. P. *J. Comput. Chem.* 10 (1989) 209 (lásd még p 221)
20. Zhang, Z., Gibson, P., Clark, S.B., Tian, G., Zanonato, P.L., Rao, L. *J. Solution Chem.* 36 (2007) 1187
21. Zékány, L., Nagypál, I., Peintler, G. *PSEQUAD for Chemical Equilibria*, Update 5.01, 2002

8. Köszönetnyilvánítás

Ez a tudományos diákköri dolgozat egy tanulási folyamat eredményeként jött létre. A téma adott volt, és a tapasztalatok alapján a témavezetők körülhatárolták a módszereket, amelyek a sikeres feladatmegoldáshoz elvezethettek. Hallgatóként az egyes módszerekben már járatos PhD hallgatók mellett és segítségével igyekeztem a mérési (Pallagi Attila és Csendes Zita – NMR mérések) és kiértékelési technikák (Pallagi Attila – stabilitási állandók meghatározása) alapjait megtanulni. A kétdimenziós NMR méréseket Forgó Péter végezte. Témavezetőim segítségével végeztem a kiértékelést. Ők tanítottak meg a molekulamodellező programcsomag használatára is, és az ő tapasztalataik segítségével tudtam a csomag lehetőségeit racionálisan kihasználni. A dolgozat összeállítása során is számíthattam mindkét témavezetőm tanító jellegű segítségére.

Minden segítséget köszönök, további munkámmal igyekszem bizonyítani azt, hogy befektetett energiájuk nem volt hiábavaló.