



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar

Szerves Kémiai Tanszék

TDK dolgozat

**Klórpropilezett szilikagélen kovalens
kötéssel immobilizált Mn(II)– és Ni(II)–
védett aminosav komplexek szintézise,
szerkezetvizsgálata és katalitikus
aktivitása**

Varga Gábor

Vegyész MSc I.

Témavezető: Dr. Pálinkó István, egyetemi docens

Csendes Zita, PhD hallgató

Anyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport

2012

Tartalomjegyzék

1.	Bevezetés és célkitűzés	4
2.	Irodalmi áttekintés	6
2.1.	Az enzimek tulajdonságai	6
2.2.	A szuperoxid dizmutázok.....	6
2.2.1.	A vas- és mangántartalmú szuperoxid dizmutáz (Fe-SOD, Mn-SOD) enzimek 7	
2.2.2.	A Cu,Zn-tartalmú SOD enzim.....	8
2.2.3.	A Ni-tartalmú SOD enzim	9
2.3.	Bioinspirált katalízis.....	10
2.3.1.	SOD enzim modellezése.....	12
2.4.	Heterogén katalízis.....	13
3.	Kísérleti rész	16
3.1.	Felhasznált anyagok	16
3.2.	Kovalens kötés kialakítása, komplexképzés	16
3.3.	Nitrogéntartalom meghatározása Kjeldahl módszerrel.....	17
3.4.	Fémion mennyiségi meghatározása induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria (ICP-OES) módszerrel.....	17
3.5.	IR spektroszkópia – analitikai hullámszám-tartomány ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$).....	17
3.6.	IR spektroszkópia távoli hullámszám-tartomány ($500\text{--}200\text{ cm}^{-1}$).....	18
3.7.	Raman spektroszkópia	18
3.8.	UV-Vis diffúz reflektancia spektroszkópia (UV-Vis DRS).....	18
3.9.	ESR spektroszkópia	19
3.10.	Szuperoxid dizmutáz aktivitás mérése	19
3.11.	A ciklohexén oxidálása	20
3.12.	Pásztázó elektronmikroszkóphoz csatolt energiadiszperzív röntgenanalizátor (SEM–EDX).....	20
4.	Eredmények és értékelésük.....	21

4.1. Mennyiségi meghatározás	21
4.2. IR és Raman spektroszkópiai vizsgálatok	23
4.2.1. Mn(II)-tartalmú rögzített komplexek vizsgálata	25
4.2.1.1. Mn(II) központi fémiont tartalmazó L-hisztidin-metilészter tartalmú felületi komplexek rezgési spektrumai	25
4.2.1.2. A Mn(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztein-metilészter-tartalmú komplexek rezgési spektrumai	28
4.2.1.3. A Mn(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztin-dimetilészter tartalmú komplexek rezgési spektrumai	31
4.2.2. Ni(II)-tartalmú komplexek vizsgálata	33
4.2.2.1. A Ni(II) központi fémiont tartalmazó L-hisztidin-metilészter-tartalmú komplexek vizsgálata	33
4.2.2.2. A Ni(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztein-metilészter-tartalmú komplexek vizsgálata	35
4.2.2.3. A Ni(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztin-dimetilészter-tartalmú komplexek vizsgálata	38
4.3. UV-DRS vizsgálatok	40
4.4. ESR spektroszkópiai vizsgálatok	42
4.5. SEM–EDX vizsgálatok	45
4.6. SOD aktivitásmérések eredményei	46
4.7. A ciklohexén oxidációja	47
5. Összefoglalás	51
6. Irodalomjegyzék	53

1. Bevezetés és célkitűzés

A homogén katalizátorok használatának közismert problémája, hogy kedvező tulajdonságaik mellett, a folyamat végén nem, vagy csak nehezen nyerhetők vissza. A hátrány kiküszöbölése, azaz az említett katalizátorok heterogenizálása, ma egy igen fontos feladatnak számít. Számos folyamatot a nagyon jó aktivitással és szelektivitással rendelkező enzimekkel is lehetne katalizálni, gyakran mégis heterogén katalizátorokat alkalmaznak, részben a már említett hátrány miatt.

Annak érdekében, hogy létrehozhatóak legyenek új magas aktivitással, és ami még fontosabb, magas szelektivitással rendelkező katalizátorok, amelyek ráadásul a katalitikus folyamat végén könnyen visszanyerhetők, többféle stratégia alkalmazható. Egyik lehetséges mód az úgynevezett bioinspirált katalizátorkészítés, vagyis az, hogy megpróbálják az enzimek aktív helyeit lemásolni, és különféle hordozókon rögzíteni. A szervezetben található metalloenzimek jó mintául szolgálhatnak ilyen nagyszelektivitású katalizátorok készítéséhez. Mintául szolgálhatnak például a szuperoxid dizmutáz (SOD) enzimek is. A SOD enzimek az élő szervezetben a szuperoxid gyökkanion oxigénre és hidrogén-peroxidra történő bontását katalizálják. Fontos része van tehát a szervezetben a káros oxidatív hatások elleni védekező mechanizmusban.

Az enzimek aktív centrumához hasonló, és valamilyen szilárd felülethez kapcsolt komplexek készítése egy lehetséges útja a kiemelkedő szelektivitással és aktivitással rendelkező heterogenizált katalizátorok előállításának. A homogén katalizátorokhoz képest a heterogenizált katalizátorok stabilitása és élettartama is nagy. Az így előállított modellrendszer heterogenizálásának többféle módja lehetséges, és sokféle szilárd hordozó alkalmazható. Ilyen szilárd anyag lehet például a Merrifield-gyanta vagy a módosított szilikagél.

Munkám célja az volt, hogy kétfajta szuperoxid dizmutáz enzim funkcionális modelljeit, azaz Mn(II)– és Ni(II)–C-védett aminosav (hisztidin, cisztein és cisztin) komplexeket rögzítsek klórpropilezett szilikagél (SG) felületén kovalens kötéssel. Először a C-védett aminosavakat N-alkilezéssel hasonló reakcióval kötöttem a felületre. Az aminosavak felületre kötését követően a fémion–aminosav komplexek kialakítását végeztem el, ligandumszegény (csak felületen kötött aminosav-származékok vehettek részt a komplexképződésben) és ligandumgazdag (a szintéziselegy tartalmazott felületre nem kötött aminosav-származékokat is) körülmények között.

További célom volt a kialakult felületi komplexek lehetséges szerkezetének meghatározása közép/távoli infravörös és Raman spektroszkópia, valamint a Mn(II)-tartalmú minták esetén ESR spektroszkópia, a Ni(II)-tartalmú anyagoknál UV/VIS diffúz reflektancia spektroszkópia felhasználásával.

Feladatomból volt még a rendszerek SOD enzim aktivitásának tesztelése, ezt a Fridovich-Beauchamp tesztreakció segítségével végeztem el, valamint alkalmazásuk a ciklohexén oxidálása során katalizátorként.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az enzimek tulajdonságai

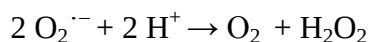
Az élő szervezetekben lejátszódó kémiai reakciók önmagukban rendkívül lassúak lennének, felgyorsításukhoz katalizátorra van szükség. A biológiai rendszerekben a katalízist enzimek végzik. Döntő többségük fehérje. Az enzimek megnövelik a reakciók sebességét, mivel stabilizálni képesek az átmeneti állapotot, így csökken az aktiválási energiának nevezett energiagát. Az enzimek 10^9 – 10^{12} -szeresére képesek megnövelni az általuk katalizált reakciók sebességét. Mivel az enzimek biokatalizátorok, az energetikailag kedvezőtlen folyamatok lejátszódását energiabefektetés nélkül nem tudják előidézni. Mint általában a katalizátorok, az enzimek sem befolyásolják a reakciók egyensúlyi állapotát. Az enzimek további előnyös tulajdonsága, hogy nagyon specifikusak. Kétféle specifitással rendelkeznek szubsztrát- és reakcióspecifitással. Szubsztrátnak az enzim által katalizált reakcióban átalakult molekulát nevezzük. Egy adott enzim csak egy bizonyos molekulával, vagy egy azzal nagyon analóg szerkezetű molekulával képes kapcsolatra, tehát szubsztrátspecifikus. Ennek mértéke az egyes enzimeknél eltérő. A reakcióspecifitás azt jelenti, hogy egy adott enzim egy adott molekulának csak egy meghatározott átalakulását képes katalizálni. Egy másfajta reakcióhoz egy másik enzimre van szükség. Léteznek olyan enzimek is, melyek több reakciót kapcsolnak össze, mivel több, különböző funkciójú, egymással összehangoltan működő kötőhellyel rendelkeznek [1,2].

2.2. A szuperoxid dizmutázok

A szuperoxid dizmutáz enzimek az evolúció különböző szakaszaiban alakultak ki. A legősibbek feltehetőleg a vas-, illetve a mangántartalmú, prokarióta karakterű enzimek voltak. A vastartalmú SOD az evolúció korai szakaszában jött létre, amikor a vas biohosszáférhetősége kedvező volt, a légkör kicsi oxigénkoncentráció miatt oldható Fe(II) formában volt jelen. Az oxigénkoncentráció növekedésével a mangántartalmú SOD-ok vették egyre inkább át az $O_2^{\cdot -}$ (szuperoxid gyökanion) semlegesítésének szerepét. Ekkor még a réz nem nagyon volt hozzáférhető, mivel többnyire rosszul oldható réz(I)-szulfid alakban fordult elő. A későbbi szakaszban, amikor az atmoszféra oxidálódva vált, a kialakult sejtmaggal rendelkező eukarióták sejtjeiben jött létre a rézet és cinket tartalmazó metalloprotein. Ez stabilisan köti a fémeket Cu(I) és Cu(II) állapotban is, ezért nem veszélyes az eukarióták DNS-tartalmára, ellentétben a vas-, illetve mangántartalmú SOD enzimekkel, melyek könnyen

elvesztik Fe(II) és Mn(II) centrumaikat. Az elmúlt években felfedeztek nikkeltartalmazó SOD enzimeket is.

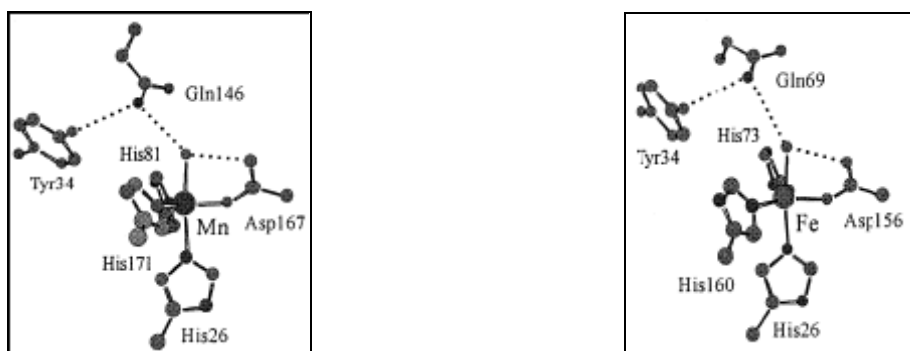
A szuperoxid-dizmutáz a toxikus szuperoxid gyökanion diszproporcionálódását katalizálja oxigénné és hidrogén-peroxiddá.



Működésük alapja az, hogy az M(I)/M(II) redoxipotenciál a réz, illetve M(II)/M(III) a vas és a mangán esetén az $\text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot -}$, illetve a $\text{O}_2^{\cdot -}/\text{O}_2^{2-}$ párok redoxipotenciálja közé esik. Tehát a szuperoxid gyökaniont oxidálni és redukálni is tudják. A keletkező H_2O_2 ugyancsak reaktív, a kataláz, illetve a peroxidáz enzim végzi a semlegesítését [3, 4].

2.2.1. A vas- és mangántartalmú szuperoxid dizmutáz (Fe-SOD, Mn-SOD) enzimek

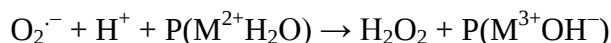
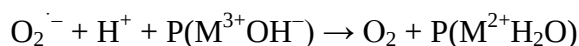
A Fe-SOD enzimet a prokariótákon kívül néhány eukarióta család kloroplasztiszában is izoláltak, a Mn-SOD enzim pedig valamennyi aerob sejtben, illetve, emlősök esetén a mitokondriumokban megtalálható. A metalloenzimek gyakorlatilag homológok (1. ábra). Mindkét fémion körül trigonális bipiramis elrendeződés alakul ki. Az ekvatoriális síkban két hisztidin imidazol-oldallánca és egy aszparginsav karboxilátcsoportja koordinálódik. A harmadik hisztidin és egy vízmolekula vagy egy hidroxidion axiálisan kötődik. Az aktív centrum kialakításában hidrogénkötések révén részt vesz még Tyr-, Trp-, Gln- és Asn-oldallánc is.



1. ábra: A Mn- és a Fe-SOD enzim aktív centrumának szerkezete [6]

A két enzim közel egyforma aktív centruma miatt, a szuperoxid gyökanion dizmutációját hasonló mechanizmus szerint végzik. Az elektrontranszfer folyamatot a Fe(III)/Fe(II), illetve a Mn(III)/Mn(II) redoxipár közvetíti. A katalitikus aktivitás pH-függő. A protontranszfer által kísért elektrontranszfer reakcióban feltehetőleg a Gln- és a Tyr-oldalláncának protonjai vesznek részt. Az aminosavak kissé eltérő elhelyezkedése a Fe- és Mn-tartalmú SOD enzimekben az enzimek redoxi finomszabályozásában játszhat szerepet. A katalitikus ciklusban két félreakció különíthető el. Az első az oxidatív szakasz, amikor egy

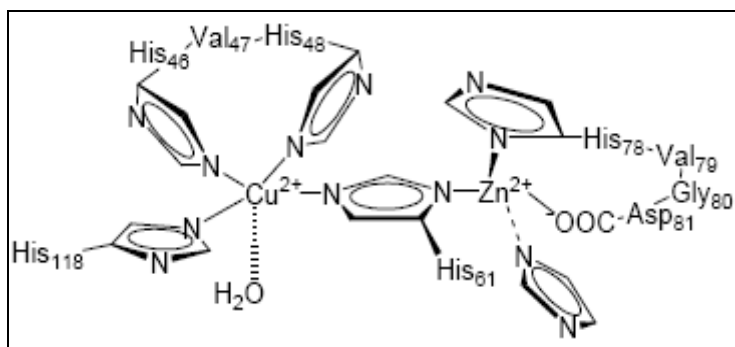
molekula szuperoxid-gyökanion kötődik az aktív centrumban található fémionhoz [M(III)], majd a fémion koordinációs szférájában található OH⁻ felvesz egy protont, az O₂⁻ dioxigénné oxidálódik, a fémion [M(III)] pedig redukálódik [M(II)]. A második a redukzív félreakció során a szuperoxid-gyökanion a fémion redukált alakjához koordinálódik, és az előzőleg kötődött vízmolekula egy H⁺ felvételével hidrogén-peroxiddá alakul, az aktív centrum pedig visszanyeri kiindulási állapotát. Tehát mindkét SOD enzim esetében felírhatjuk az alábbi egyenleteket a dizmutációra,



ahol M a Fe- vagy a Mn-ion, P pedig a fehérje [3, 5, 6].

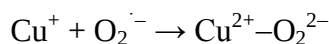
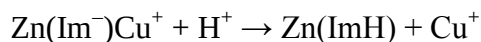
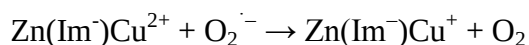
2.2.2. A Cu,Zn-tartalmú SOD enzim

A szuperoxid dizmutázok közül a Cu,Zn-tartalmú a legjobban ismert (2. ábra). A Cu,Zn-SOD enzim az eukarióták citoplazmájában található. Az enzim röntgendiffrakciós vizsgálata alapján tudjuk, hogy két egyforma alegységből áll, melyeket hidrofób kölcsönhatás tart össze. Mindkettő tartalmaz egy réz- és egy cinkiont. A Cu(II)-ion négy hisztidil-oldallánc imidazol-nitrogénjéhez és egy vízmolekulához, a Zn(II)-ion pedig három imidazolnitrogénhez és egy aszparaginsav karboxilátsoportjához koordinálódik. Az egyik hisztidin közös, mely az oxidált formájú fémionokat hídligandumként köti össze a deprotonált imidazolat gyűrűjén keresztül. A réz koordinációs szférája erősen torzult, átmenetet képez a négyzetes piramisos és a trigonális bipiramisos geometria között, a cink(II)-ion pedig közel tetraéderes geometriájú.

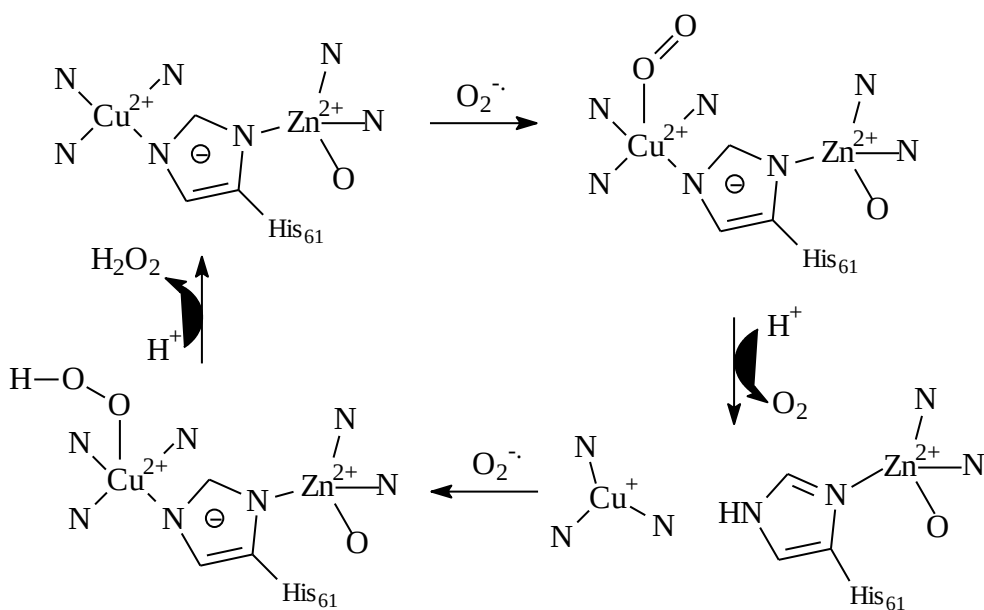


2. ábra: A Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumának szerkezete [6]

A Zn(II)-ionnak nincs szerepe a katalízisben, fő funkciója az aktív szerkezet kialakítása és stabilizálása. A réz(II)-ion vesz részt a katalitikus ciklusban, miközben oxidációs állapota változik. A dizmutálási reakció (3. ábra) a következő egyenletekkel írható le:



A szuperoxid-gyökanion közvetlenül az aktív centrum Cu(II)-ionjához koordinálódik, a vízmolekula helyére. Az első lépésben a Cu(II)-ion O_2 -né oxidálja a $\text{O}_2^{\cdot-}$ -t, a redukált, mostmár Cu(I)-iont egy proton kiszorítja az imidazolátról. Tehát a ligandumhíd megszűnik, és a Zn(II)-ionhoz kapcsolódik az előbbieken közös deprotonált imidazolátgyűrű protonált formája. Így a Zn(II)-ion körül szabályos tetraédes geometria alakul ki. Ez a szerkezet elősegíti a következő $\text{O}_2^{\cdot-}$ redukcióját. Mivel a második félreakcióban az $\text{O}_2^{\cdot-}$ hidrogénkötésekkel közel kerül a még a fehérjéhez kötött koordinatív telítetlen Cu(I)-ionhoz, azt visszaoxidálja Cu(II)-ionná. A keletkező HO_2^- -t a Zn(II)-ion által koordinált hisztidin imidazolnitrogénjéről távozó proton protonálja H_2O_2 -dá. Így visszaalakul a ligandumhíd. A folyamat hajtóereje a Cu(II)-ion affinitása a His-imidazoláthoz. A reakció igen gyors ($k=2 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), közel van a diffúziós határhoz, és így a Cu,Zn-SOD antioxidánsként viselkedve képes a citoszolból eltávolítani a $\text{O}_2^{\cdot-}$ -t, így gátolva az öregedést és a sejtek rákos elfajulását [3, 6, 7, 8].

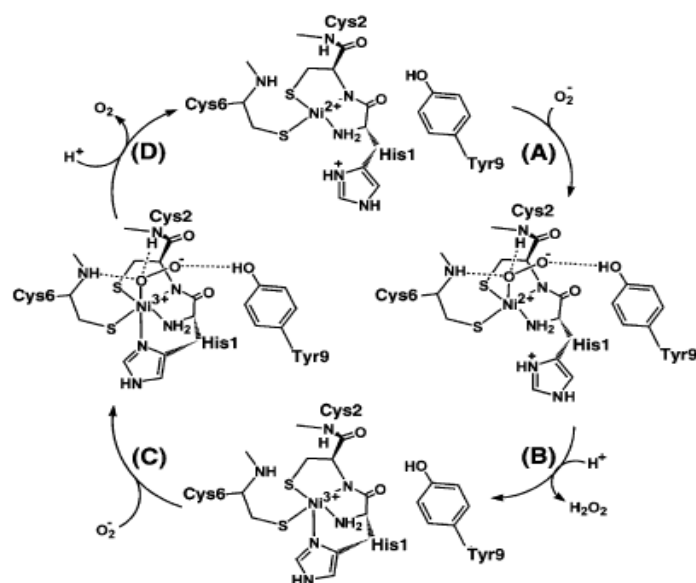


3. ábra A Cu,Zn-tartalmú SOD enzim működésének ábrája [7]

2.2.3. A Ni-tartalmú SOD enzim

Újabban Ni-SOD enzimet azonosítottak a *Streptomyces* törzsben. Enzimatis aktivitása közel annyi, mint a Cu/Zn-SOD enzimé, körülbelül $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ /aktív centrum.

Röntgenkristallográfiás mérések alapján derült fény az aktív centrum jellegére. Oxidált állapotban a nikkel(III)-hoz koordinálódik egy hisztidin imidazolnitrogénje és két ciszteintiolátszortja, az egyik cisztein deprotonált amid nitrogénje és a hisztidin aminocsoportjának nitrogénje. A nikkel koordinációs szférája ekkor négyzetes piramisos. A redukált forma síknégyzetes geometriát mutat, az axiális imidazol disszociálódása miatt. A Ni-SOD enzim működési mechanizmusát a 4. ábra szemlélteti [9].



4. ábra A Ni-SOD működésének mechanizmusa [9]

A szuperoxid dizmutáz enzimek tehát nagyon fontos metalloenzimek. Védik a sejteket az igen reakcióképes szuperoxid-gyökönionoktól, melyek a lebontó folyamatok melléktermékeként keletkeznek.

2.3. Bioinspirált katalízis

Az enzimek előnyös tulajdonságait összevetve, direkt laboratóriumi alkalmazásuk kézenfekvőnek tűnhet, azonban nagyon érzékenyek a körülményekre, szűk nyomás- és hőmérséklettartományban, valamint sótartalmú vizes (fiziológias) oldatban működnek optimálisan. Problémát jelent továbbá az is, hogy az enzimek homogén katalizátorok, ezért a reakcióelegyből való visszanyerésük nagyon nehéz.

Ezeket a hátrányokat kiküszöbölhetjük például úgy, hogy az enzimet rögzítjük különféle hordozókra/ban olyan módszerekkel, hogy a hordozómentes enzim aktivitása és szelektivitása megmaradjon.

Az enzimek immobilizálásának számos előnye van. Legfontosabbak, hogy szerves oldószerekben nő az enzimaktivitás, szélesebb hőmérséklettartományban alkalmazhatók, nő az enantioszelektivitás, a reakció lejátszódása után szűréssel vagy centrifugálással kinyerhető a rögzített enzim, valamint újra felhasználható egy másik reakcióban.

Az enzimeket rögzíthetjük különféle hordozókhoz fiziszorpcióval, ionos kötéssel, vagy kovalens kötéssel.

A fiziszorpció egy egyszerű, gyors és reverzibilis módja az enzim rögzítésének, melynél az enzim hidrogénhíd-kötéssel, van der Waals vagy elektrosztatikus kölcsönhatásokkal kötődik a hordozóhoz. Hátránya az, hogy ezek a kölcsönhatások gyengébbek, mint az elsődleges kötések, ezért az enzim deszorpciója várható [10]. Sok kutatócsoport foglalkozik ezzel a módszerrel. Egy példát említenék, melyben *Candida rugosa*-ból kinyert lipáz enzimet adszorbeáltak réteges cirkónium foszfátokra, foszfonátokra és alkalmazták klórfenoxi propionátok enantioszelektív hidrolízisére. Több esetben sikerült a szabad enzimhez képest nagyobb enantioszelektivitást elérni, a rögzített enzim élettartama megnőtt, és enantioszelektivitása többszöri felhasználás után sem csökkent lényegesen [11].

Az ionos és kovalens kötések esetén kevésbé számíthatunk az enzim lemosódására, azonban a kötése erősség fokozása az enzim konformációjában változásokat eredményezhet, mely hatására az enzim dezaktiválódhat. Ez utóbbi esetben mind az enzim, mind a hordozó használhatatlanná válik [10]. Például tormából kinyert peroxidázt rögzítettek szilika mikrorészecskékre kovalens kötéssel, és tanulmányozták az így nyert anyag peroxidáz aktivitását és stabilitását. A rögzített enzim élettartamának felezési ideje a szabad enzimhez képest 50 °C-on 2-ről 52 órára emelkedett, valamint DMSO 20%-nál töményebb vizes oldatában a rögzített enzim mutatott nagyobb aktivitást [12].

A kovalens kötéssel történő rögzítés a leggyakrabban alkalmazott módszer az enzimek immobilizálására. Többpontos kovalens kötés alkalmazásával nagyobb hőstabilitást érhetünk el, az enzimmolekula szerkezete merevebbé válik. Amennyiben az enzim aktív formáját sikerül rögzítenünk, az kevésbé lesz képes konformációváltozásra és inaktiválódásra [10].

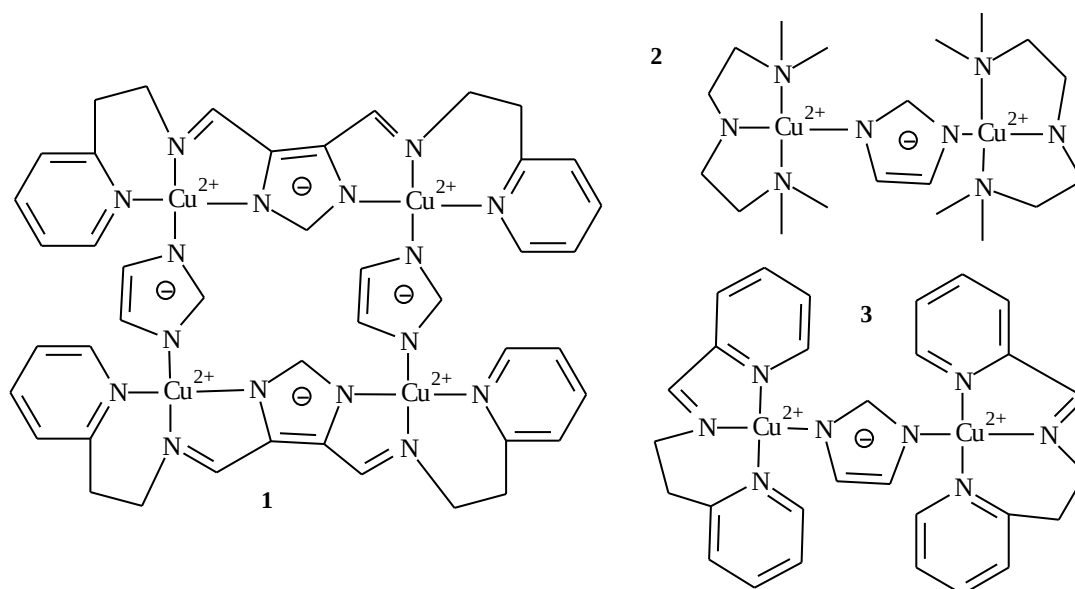
További megoldás lehet az enzimek immobilizálására, ha csapdába zárjuk különféle szerves vagy szol-gél polimerekben. Szol-gél anyagokba rögzítettek *Candida rugosa*-ból kinyert lipázt, mely hatására az enzimaktivitás ötvenkilencszeresére emelkedett a vizsgált észterszintézisben [13].

További megoldás lehet az enzimek funkcionális vagy szerkezeti modellezése, hiszen így az enzimek előnyös tulajdonságai megtarthatók. Funkcionális modellezés esetén nem másoljuk le a fémion környezetét, hanem olyan ligandumokat keresünk, melyekkel az

enzimhez hasonlóan működik a modellkomplex. Szerkezeti modellezéskor pedig arra törekszünk, hogy az enzim aktív centrumát minél pontosabban utánzó modellvegyületeket alakítsunk ki. Mindkét megközelítést sokan alkalmazzák szerte a világon, és mindkét megközelítés hozott már figyelemreméltó eredményeket [7].

2.3.1. SOD enzim modellezése

A Cu,Zn-tartalmú SOD enzim szerkezeti és funkcionális modellezésére irányuló kutatások több kutatócsoport érdeklődését is felkeltették az utóbbi évtizedekben, és mivel a SOD enzimek közül ez a leginkább kutatott, ezen a példán mutatom be, hogyan lehetséges a szerkezeti, illetve funkcionális modellezés. Közlemények sora született meg, amelyekben a Cu,Zn-SOD szerkezetét utánzó modellkomplexekeket vizsgáltak [15, 16, 17, 18]. A természetes enzim szerkezetéből adódóan a vizsgálatok során leginkább imidazoláthidat tartalmazó vegyületeket tanulmányoztak (5. ábra).

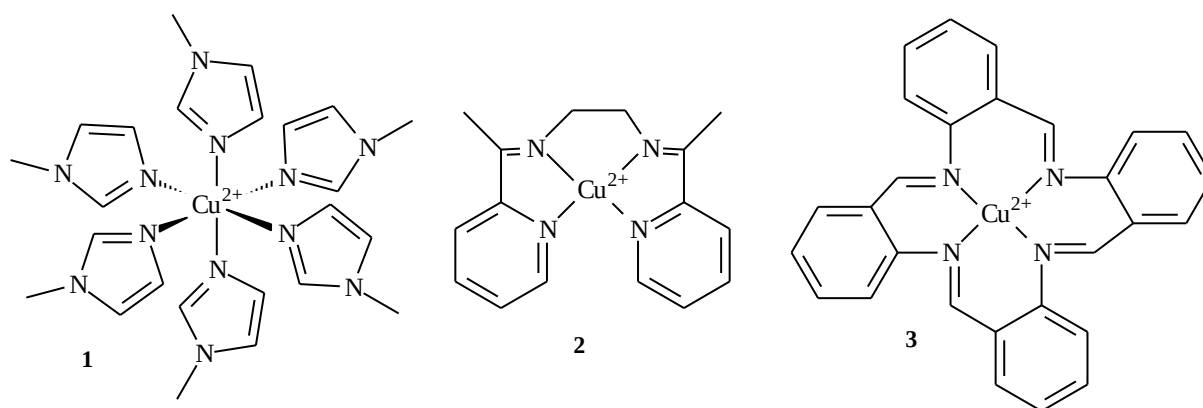


5. ábra: Cu(II)-tartalmú modellrendszerek

Amint az ábrán is látható, ligandumként imidazol- és piridintartalmú makrociklusos vegyületeket, aminokat és imidazolt, míg fémionként réz(II)-iont alkalmaztak. A pontos szerkezetet szilárd állapotban röntgendiffrakciós módszerrel és infravörös spektroszkópiával határozták meg, míg vizes oldatban a leggyakrabban használt mérési módszerek az UV-Vis és ESR spektroszkópia, valamint a potenciometria voltak. Az esetek nagy többségében vizsgálták a komplexek mágneses tulajdonságait is. Az irodalomban fellelhető több olyan cikk is, amelyben beszámolnak többmagvú, imidazoláthidat tartalmazó fémkomplexeke vizsgálatáról, amelyekben ligandumként egyszerű aminokat és imidazolt, míg fémionként

réz(II)-, cink(II)- és nikkel(II)-ionokat használtak [19, 20]. A vizsgálati módszerek a pH-függő ESR spektroszkópia, mágneses vizsgálatok, UV-Vis spektrofotometria, potenciometria és SOD tesztreakciók voltak. A vizsgált komplexek SOD aktivitása minden esetben elmaradt a természetes enzimétől.

A fent említetteken kívül további többmagvú réz(II)–réz(II), réz(II)–cink(II) komplexet is vizsgáltak, mint lehetséges SOD modellvegyületeket [21, 22]. Ligandumként makrociklusos vegyületeken kívül olyan molekulákat (imidazolt, karboxilcsoportot tartalmazó vegyületek) használtak, amelyek képesek hídligandumként viselkedni két fémion között. A vizsgálati módszerek itt is hasonlóak (mágneses mérések, IR spektroszkópia, ESR spektroszkópia, SOD tesztreakció, röntgen-diffrakciós mérések, ciklikus voltammetria, UV-Vis spektrofotometria) voltak, mint az előző esetekben. Néhány esetben a vizsgált komplexek igen jó szerkezeti és működési SOD modellnek bizonyultak. A szerkezeti modellezésen kívül számos olyan munkát közöltek [23, 24], amelyekben a modellkomplex szerkezete ugyan nem hasonlított a Cu,Zn-SOD enzim aktív centrumához, de működésileg igen jól utánozta azt. Ezekben az esetekben egymagvú réz(II) komplexekről van szó, amelyekben ligandumként az előzőekhez hasonlóan imidazolt, makrociklusos vegyületeket, illetve aminokat alkalmaztak. Néhány egymagvú, SOD aktivitással rendelkező réz(II) komplex szerkezete látható a 6. ábrán.



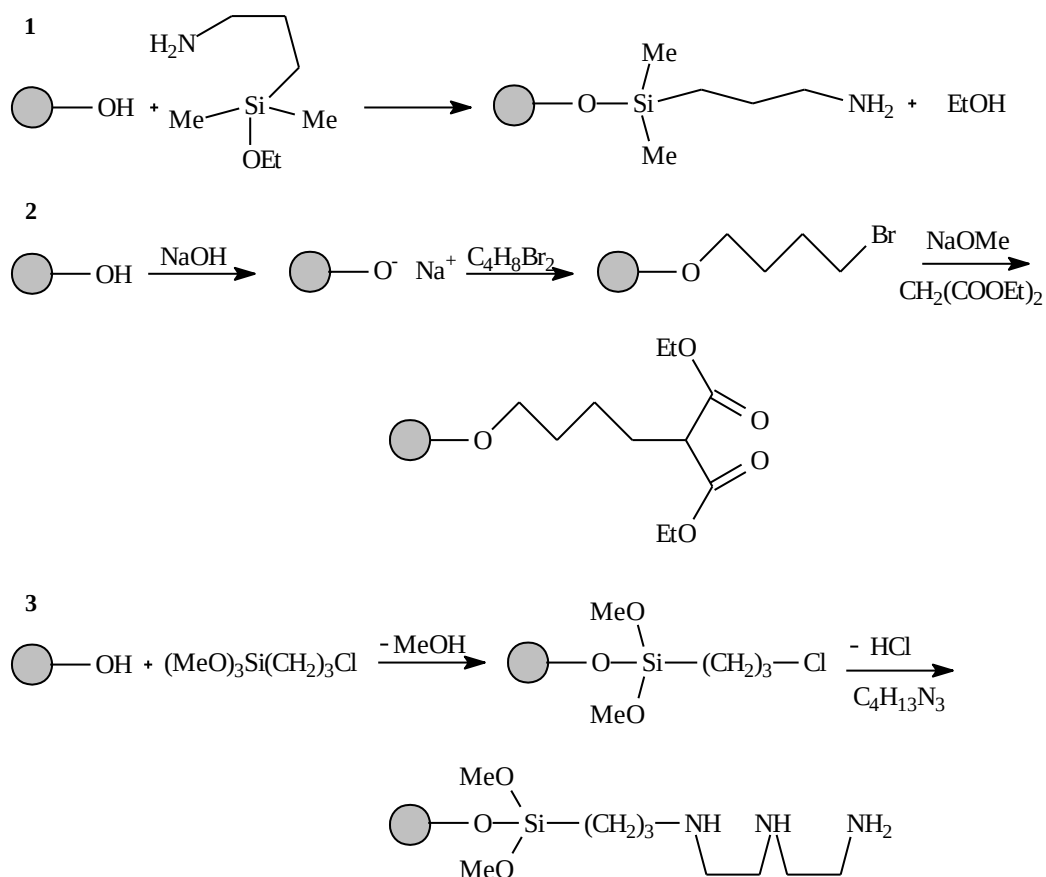
6. ábra: Cu(II)-tartalmú funkcionális modellek

2.4. Heterogén katalízis

A heterogén katalízis sok előnnyel rendelkezik a homogén katalízissel szemben (a termék könnyen elválasztható a katalizátortól, így az újrafelhasználás könnyebb; bizonyos reakcióknál a szelektivitás nagy, stb.), ezért a szilárd hordozóra rögzített fémkomplexek felhasználása heterogén katalizátorként igen elterjedt. Az utóbbi évtizedekben sok esetben használták őket oxidációs-redukciós, polimerizációs, illetve más szerves kémiai reakciók

katalizátoraiként. Ilyen reakciók lehetnek például a hidrogén-peroxid bontása, szuperoxid gyökök dizmutálása, epoxidálás, stb. Szilárd hordozóként szervesetlen mátrixokat alkalmaztak (mint például fém-oxidok, agyagásványok, zeolitok, szilikagél), mivel a szervesetlen hordozóknak számos előnye van például a szerves hordozókkal szemben. Nagyon fontos a kémiai stabilitás (bizonyos esetekben a kémiai inertség), ami a szervesetlen hordozók egyik nagy előnye. A kitűnő mechanikai stabilitás is indokolja használatukat, csakúgy, mint a termikus stabilitás (jobban ellenállnak a hőmérsékletváltozásnak, mint például a polimerek). A modellkomplexek immobilizálása mellett a természetes enzimek rögzítése szilárd mátrixokban is igen elterjedt az utóbbi időben. A heterogenizálástól különböző előnyös tulajdonságokat remélve szuperoxid dizmutáz enzimeket is immobilizáltak [25, 26].

Kísérleti munkámban a funkcionizált szilikagélen történő kovalens kötéssel történő felületre rögzítést használtam, ezért ezt mutatnám be közelebbről. A szilikagél azzal a nagy előnnyel rendelkezik más hordozókkal szemben, hogy felületi hidroxilcsoportjai alkalmasak funkcionizálásra. Ez azt jelenti, hogy kovalens kötéssel tudunk kapcsolni a felülethez arra alkalmas szerves ligandumokat. A ligandumok immobilizálását követően pedig fémionok hozzáadásával a mátrix felületén alakul ki a kívánt komplex. Az ily módon előállított koordinációs vegyületek viszonylag távolabb helyezkednek el a felülettől, ám különféle kölcsönhatásokkal (koordinatív kötés, hidrogénhíd és van der Waals kölcsönhatások) kapcsolatban maradhatnak vele. A funkcionizált szilikagélek előállítására sokféle kidolgozott technika áll rendelkezésre [27], melyek közül néhány módszer a 7. ábrán látható.



7. ábra: Funkcionalizált szilikagél előállításának lehetőségei

A szilikagélen immobilizált fémkomplexek széleskörűbb felhasználása azonban a különböző szerves kémiai reakciók katalizálásában van [28, 29, 30, 31] (epoxidálás, olefin polimerizáció, alkán, alkén, illetve alkohol oxidáció, stb.).

3. Kísérleti rész

3.1. Felhasznált anyagok

A komplexek ligandumaként védett aminosavakat, L-hisztidin-metilésztert (H-His-OMe), L-cisztein-metilésztert (H-Cys-OMe) és L-cisztin-metilésztert (H-Cys-OMe)₂ használtam. $\text{MnCl}_2 \times 5\text{H}_2\text{O}$ Mn^{2+} -ionja, illetve $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ Ni^{2+} -ionja szolgáltatta a központi fémiont. A hordozó, melyen kialakítottam a komplexeket klórpropilezett szilikagél (SG, 8%-ban funkcionizált) volt. Oldószerként 2-propanolt alkalmaztam. Az összes anyag Sigma–Aldrich Chemical Co. termék.

3.2. Kovalens kötés kialakítása, komplexképzés

Az első lépés a C-védett aminosav és a funkcionizált szilikagél közti kovalens kötés kialakítása volt. A kötés az aminosav N-terminálisán, az aminocsoport és a klórpropilezett szilikagél klóratomjának reakciójával létesült, lúgos körülmények között. A reakció N-alkilezéshez hasonló folyamattal ment végbe. Ezután a komplexképzés következett semleges közegben, ligandumszegény (csak az immobilizált aminosavak képesek koordinálódni a központi fémionhoz), illetve ligandumgazdag környezetben (a védett aminosavakat feleslegben alkalmaztam, azaz volt a reakcióelegyben felületre nem kötött aminosav-származék is). Egyfajta ligandumot tartalmazó rögzített komplexeket állítottam elő.

A reakciók általános sémája a következő volt: csiszolatos gömblombikba 0,5 g funkcionizált szilikagélt mértem (~0,35 mmol klórpropilcsoportot tartalmaz), melyhez 2-propanolt (60 cm³) és 1,75 mmol védett aminosavat adtam. A lúgos közeg biztosítására NaOH-ot adagoltam az elegyhez. A gömblombikra visszafolyós hűtőt szereltem és elektromosan fűthető mágneses keverővel a 2-propanol forráspontján visszafolyattam és kevertettem a reakcióelegyet 24 óráig. A kapott szilárd anyagot szűrtem, többször átmostam 2-propanollal, hogy a nem kovalensen kötött (mondjuk adszorbeált) aminosavat eltávolítsam. Ezután a komplexképzés következett. A kapott anyaghoz 1,75 mmol fémsót és 60 cm³ 2-propanolt adtam majd 24 órán keresztül, szobahőmérsékleten, folyamatosan kevertettem az elegyet. A szűrést és az oldószeres mosást követően az anyag felét félretettem (kovalensen kötött komplex ligandumszegény környezetben), a másik feléhez 0,875 mmol védett aminosavat és 60 cm³ 2-propanolt adtam. A szuszpenziót 24 órán át szobahőmérsékleten mágneses keverővel kevertettem. Végül a kapott anyagot szűrtem, 2-propanollal mostam és óraüvegen szárítottam (kovalensen kötött komplex ligandumgazdag környezetben).

Az előállított komplexek: SG–His-OMe–Mn(II), SG– His-OMe–Mn(II)–H-His-OMe, SG–Cys-OMe–Mn(II), SG–Cys-OMe–Mn(II)–H-Cys-OMe, SG–(Cys-OMe)₂–Mn(II), SG–(Cys-OMe)₂–Mn(II)–(H-Cys-OMe)₂, SG–His-OMe–Ni(II), SG–His-OMe–Ni(II)–H-His-OMe, SG–Cys-OMe–Ni(II), SG–Cys-OMe–Ni(II)–H-Cys-OMe, SG–(Cys-OMe)₂–Ni(II), SG–(Cys-OMe)₂–Ni(II)–(H-Cys-OMe)₂.

3.3. Nitrogéntartalom meghatározása Kjeldahl módszerrel

Az előállított anyagok nitrogéntartalmát Kjeldahl módszerével határoztam meg. Az eljárás első lépése a roncsolás. Kjeldahl lombikba analitikai pontossággal bemért mintához 5 cm³ tömény kénsavat és 1 cm³ 30%-os H₂O₂-ot adtam. Katalizátorként CuSO₄-ot alkalmaztam. A reakcióelegyet 30 percen át forraltam, úgy hogy a lombikba egy tölcsért helyeztem, melyen a kénsavgőzök kondenzáltak. Először a szenesedés miatt a lombik tartalma megsötétedett, majd 15 perc elteltével kitisztult. A roncsolás során a mintában található nitrogén (NH₄)₂SO₄-tá alakult. Miután az oldat kihűlt, 40 cm³ vízzel hígítottam, és 50%-os NaOH-oldattal semlegesítettem fenolftalein indikátor jelenlétében. Ezután következett a második lépés, a desztillálás. A Kjeldahl lombikra desztilláló feltétet szereltem, és az ammóniát 20 cm³ 0,05 M-os sósavat és 20 cm³ desztillált vizet tartalmazó elegybe desztilláltam át, mely metilvörös indikátort is tartalmazott. A módszer harmadik lépése a titrálás. A HCl feleslegét 0,05 M-os NaOH-oldattal megtitráltam, majd kiszámoltam a mintában lévő nitrogén mennyiségét.

3.4. Fémion mennyiségi meghatározása induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria (ICP-OES) módszerrel

A mintáinkat nem lehetett közvetlenül szilárd állapotban megmérni, ezért tömény kénsavval elroncsoltuk, semlegesítettük és szűrtük.

A mérésekhez használt ICP-OES készülék egy UNICAM által forgalmazott IRIS Intrepid II XSP Duo készülék, mely az axiális és radiális nézetet is lehetővé teszi a plazmára. A minták porlasztása egy ködkamrán keresztül történt. A mérésekhez belső sztenderdet használtunk, ami ittrium volt. Belső sztenderd alkalmazása a mérés megbízhatóságát növelte.

3.5. IR spektroszkópia – analitikai hullámszám-tartomány (4000–400 cm⁻¹)

Az előállított anyagokat infravörös spektroszkópiával vizsgáltam. A mintakészítés során 10 mg szilikagélen rögzített komplexhez 300 mg KBr-ot mértem, és 8 percen át porítottam a keveréket. A mérésekhez diffúz reflektancia feltétet használtam. A spektrumokat BIO-RAD

Digilab Division FTS-65 A/896 FT-IR spektrofotométerrel vettem fel, 2 cm^{-1} felbontással. Egy spektrumhoz 256 interferogramot gyűjtöttem. A kiértékelést a Win-IR programmal végeztem. Először a minta egysugaras színekéből a KBr egysugaras spektrumának segítségével előállítottam a kétsugaras színeképet. $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományon alapvonal-korrekciót végeztem el, majd simítást alkalmaztam (boxcar módszer), ha szükséges volt. Ezután a hordozó kivonása következett. A dolgozatban csak az informatívabb tartományt ($1850\text{--}600\text{ cm}^{-1}$) mutatom be, és a szerkezeti sajátosságokat is az itteni hullámszám-eltolódások alapján tárgyalom.

3.6. IR spektroszkópia távoli hullámszám-tartomány ($500\text{--}200\text{ cm}^{-1}$)

A távoli IR tartományban a színeképek felvételéhez a Nujoll Mull technikát alkalmaztam. 10 mg mintát szuszpendáltattam egy csepp paraffinolajban, majd ezt a szuszpenziót polietilén ablakra (50 mg polietilénből préseltem) cseppentettem fel, és detektáltam a spektrumot. Egy minta spektrumának felvételéhez 256 interferogrammot gyűjtöttem 4 cm^{-1} -es felbontással. A spektrumok feldolgozása során az $500\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ hullámszám-tartományon alapvonal-korrekciót végeztem, majd simítást alkalmaztam (boxcar módszer), ha szükséges volt. Ezután a hordozó kivonása következett, így állt elő a végleges színekép. A spektrumokat egy BIO-RAD Digilab Division FTS-40V típusú készüléken vettem fel.

3.7. Raman spektroszkópia

A rögzített komplexeket enyhe porítás után egy NMR csőbe töltöttem és detektáltam a spektrumokat. Egy minta színeképének felvételéhez 1024 interferogrammot gyűjtöttem, 4 cm^{-1} felbontás mellett. A spektrumok kiértékelése során végeztem alapvonal-korrekciót, illetve ha szükséges volt, simítást. A méréseket egy BIO-RAD Digilab Division FT-Raman spektrométeren végeztem el.

3.8. UV-Vis diffúz reflektancia spektroszkópia (UV-Vis DRS)

A mérés mintaelőkészítést nem igényelt. A spektrumok feldolgozása során, ahol szükséges volt simítást végeztem. A méréseket egy Ocean Optics ADC1000-USB dióda soros készüléken hajtottuk végre.

3.9. ESR spektroszkópia

A szilárd minták ESR spektrumait mintaelőkészítés nélkül, szobahőmérsékleten vettük fel. A kiértékelés során egy ESR számítógép programot használtunk [32], amely segítségével a mért görbét szimuláltuk és így nyertük ki az információkat. A méréseket egy Bruker EleXsys E500 spektrométeren végeztük el, kvarc ESR küvettában. A spektrométer beállításai a következők voltak: mikrohullámú frekvencia 9,51 GHz, mikrohullámú teljesítmény 12 mW, modulációs amplitúdó 5G, valamint modulációs frekvencia 100 kHz.

3.10. Szuperoxid dizmutáz aktivitás mérése

Az előállított anyagok SOD aktivitást a Beauchamp és Fridovich módszeren alapuló riboflavin–metionin–nitro-blue-tetrazólium (NBT) tesztreakcióval vizsgáltam [33]. A méréseket két kvarcküvettában végeztem, párhuzamosan mérve a vak és a katalizátort is tartalmazó elegyet.

A 3 cm³ reakcióelegy a következő összetevőket tartalmazta:

- 2,8 cm³ 4-(2-hidroxietyl)-1-piperazin-etánszulfonsav (HEPES) puffer (pH=7,5), amely tartalmaz 0,1 mM etilén-diamin-tetraecetsavat (EDTA) és 13,0 mM metionint,
- 0,1 cm³ 5,0 mM NBT oldat,
- 0,1 cm³ 0,2 mM riboflavin oldat,
- a vizsgálandó felületi komplex a megfelelő koncentrációban.

A 3 cm³ vakpróba nem tartalmazott vizsgálandó mintát.

A tesztreakció megvilágítás hatására indul, és aerob körülmények között játszódik le. A küvettákat egy saját készítésű fénykamrába, mely egy belül alumíniumfóliával borított papírdoboz, és két darab, egyenként 15 W-os fluoreszcens égőt tartalmaz, az égők között rögzített helyre tettem. A megvilágítás 10 percig tartott. Ennek hatására a riboflavin oxidálja a metionint és oxigénmolekulákkal történő reakciójában szuperoxid-gyökanionokat termel. Ezek reakcióba lépnek az NBT-vel, melynek színe sárgából kékre változik. A folyamat szabályozható, mivel nem termelődik több szuperoxid-gyökanion, ha kikapcsoljuk a fényforrást. A reakciót spektrofotometriásan követtem úgy, hogy 560 nm hullámhosszon mértem az abszorbancia értékeket. Az immobilizált fémkomplexet is tartalmazó elegyben kisebb a színváltozás, mivel az dizmutálja a keletkező gyökanionok egy részét, tehát az NBT redukcióját inhibiálja. Ebből az következik, hogy minél kisebb a színváltozás annál hatékonyabb a mért komplex.

3.11. A ciklohexén oxidálása

Az előállított rögzített komplexeket felhasználtam katalizátorként a ciklohexén oxidálása során. Oxidálószerként diacetoxi-jodozilbenzolt és perecetsavat alkalmaztam. A reakcióelegyben a ciklohexén (21 μ l):oxidálószer molaránya 5:1 volt. Különböző oldószereket alkalmaztam (1 cm^3) a tesztelés során. A legideálisabb katalizátor-koncentráció megtalálása érdekében változtattam a bemért felületi komplex mennyiségét. A reakcióelegy összeállítása előtt nitrogén átbuborékoltatásával kizártam a levegőt a rendszerből. Belső sztenderdnek toluolt használtam. A ciklohexén oxidációját gázkromatográffal követtem nyomon, az alkalmazott detektor egy lángionizációs detektor (FID) volt.

3.12. Pásztázó elektronmikroszkóphoz csatolt energiadisperzív röntgenanalizátor (SEM–EDX)

A szintetizált felületi komplexek elemtérképét egy Hitachi S-4700 pásztázó elektronmikroszkóphoz csatolt energiadisperzív fluoreszcens spektrométerrel (Röntec QX2) tanulmányoztuk.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. Mennyiségi meghatározás

A munkám során előállított felületi komplexeknek meghatároztam a nitrogéntartalmát a Kjeldahl módszerrel és a fémiontartalmát ICP-OES-sel. Ezekkel a módszerekkel próbáltam megadni a fémion:ligandum arányt az immobilizált komplexekben.

1. táblázat: Mn(II)-tartalmú komplexek nitrogén- és fémiontartalma

	Nitrogéntartalom (mmol/g)	Fémiontartalom (mmol/g)
SG–His-OMe–Mn(II)	0,496	0,120
SG–His-OMe–Mn(II)–H–His-OMe	1,726	
SG–Cys-OMe–Mn(II)	0,605	0,607
SG–Cys-OMe–Mn(II)–H–Cys-OMe	1,955	
SG–(Cys-OMe) ₂ –Mn(II)	0,405	0,243
SG–(Cys-OMe) ₂ –Mn(II)–H–(Cys-OMe) ₂	0,895	

A Mn(II) központi ionnal elkészített immobilizált komplexek nitrogén-, illetve fémiontartalmát az 1. táblázatban tüntettem fel. A nitrogénmeghatározásból az tűnik ki, hogy az elméletileg lehetséges maximális értéknél (~0,705 mmol) kevesebb aminosav kötődik meg a szilikagélen, tehát nem minden klórpropilcsoport cserélődik le aminosavra. A három ligandumszegény környezetben kialakított komplex fémiontartalmát tüntetem fel, mivel a ligandumszegény felületi komplex kialakítása után már nem viszünk be újabb fémion mennyiséget a rendszerbe, a lemosódás pedig elhanyagolhatónak bizonyult, így ez az érték megegyezik a ligandumgazdag felületi komplex fémiontartalmával. Meg kell említenem, hogy a módosított szilikagél felületén is megkötődik a fémion egy része, ez a mennyiség ~0,04 mmol-nak adódott. Ezt úgy határoztuk meg, hogy a szintézis első két lépését végrehajtottuk védett aminosav hozzáadása nélkül. A táblázatban ezt az értéket kivontam a mért fémiontartalomból.

A C-védett hisztidintartalmú minták esetében a ligandumszegény felületi komplex fémion:ligandum aránya ~1:4. Ez kétféleképpen képzelhető el: vagy úgy, hogy a valós fémion:ligandum arány 1:2 és található a felületen olyan aminosav is, melyhez nem

koordinálódik a Mn(II), mivel valószínűleg nem helyezkedhet el egymáshoz olyan közel négy rögzített aminosav, hogy egy fémionhoz koordinálódjanak; vagy úgy, hogy hidrogénhidas kölcsönhatással kapcsolódik egymáshoz két hisztidinmolekula és így jön létre az 1:4 arány. Ligandumgazdag esetben a fémion:ligandum arány $\sim 1:14$, mely többszöröse az elképzelhető maximumnak (1:6), ez alapján azt feltételezzük, hogy hidrogénhíd-kötéssel kapcsolódnak egymáshoz a hisztidinmolekulák.

A C-védett ciszteintartalmú felületi komplexnél összehasonlítva a nitrogéntartalmat a fémiontartalommal, azt következtetést vontam le, hogy a ligandumszegény felületi komplex nagy valószínűséggel 1:1 összetételű, míg a ligandumgazdag környezetben kialakított komplex 1:3 összetételű lehet.

A C-védett cisztinnel alkotott komplexeket vizsgálva megfigyelhető, hogy a ligandumszegény felületi komplex esetében a nitrogén és a fémion aránya $\sim 1:1,7$, tehát valószínűleg 1:1 és 1:2 arányú komplexek találhatók a felületen. A ligandumgazdag komplex összetétele 1:3,7. Ez alapján azt feltételezem, hogy minden fémionhoz két feleslegben adott C-védett cisztin koordinálódik.

Minden rögzített komplexre igaz lehet, hogy vegyes összetételű komplexek találhatók a felületen.

A nikkeltartalmú komplexek nitrogén-, illetve fémiontartalma a 2. táblázatban látható. Ezekről a mintákról is hasonlóak állíthatók, mint a mangántartalmúakról az előbbieken.

A C-védett hisztidintartalmú anyagokban sokkal több aminosav található, mint amennyi csupán koordinációs kölcsönhatásokkal elképzelhető.

A C-védett ciszteintartalmú minták esetén, minden bizonnyal vegyes összetételű komplexek találhatók a felületen.

A C-védett cisztin esetén, ligandumszegény körülmények között 1:1 és 1:2 arányú komplexek képzelhetők el a szilikagélen. A ligandumgazdag környezetben kialakított komplexénél megfigyelhető, hogy a feleslegben adott aminosav mennyisége kevesebb, mint a minta fémiontartalma, ezért azt feltételezem, hogy nem minden fémionhoz koordinálódik rögzítetlen aminosav, tehát a hordozón vegyesen helyezkednek el különböző összetételű ligandumszegény és ligandumgazdag komplexek.

Mindezek alapján látható, hogy bonyolult, heterogén rendszerről van szó, pontosan nem állapítható meg a felületi komplex összetétele.

2. táblázat: Ni(II)-tartalmú komplexek nitrogén- és fémiontartalma

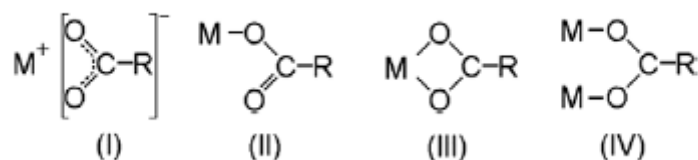
	Nitrogéntartalom (mmol/g)	Fémiontartalom (mmol/g)
SG–His-OMe–Ni(II)	0,576	0,120
SG–His-OMe–Ni(II)–H–His-OMe	2,296	
SG–Cys-OMe–Ni(II)	0,554	0,345
SG–Cys-OMe–Ni(II)–H–Cys-OMe	1,091	
SG–(Cys-OMe) ₂ –Ni(II)	0,505	0,384
SG–(Cys-OMe) ₂ –Ni(II)–H–(Cys-OMe) ₂	0,664	

4.2. IR és Raman spektroszkópiai vizsgálatok

A kísérleti részben leírtak szerint készítettem el a komplexeket. Először a megfelelő védett aminosavat rögzítettem a módosított szilikagélre 2-propanolos közegben. Ezután ligandumszegény, majd ligandumgazdag környezetben hoztam létre a Mn(II)– és Ni(II)– védett aminosav komplexet.

A felületi komplexek szerkezetét, a komplexképzésben résztvevő koordináló csoportokat infravörös és Raman spektroszkópia segítségével határoztam meg.

Az analitikai (közép) infravörös tartományban felvett spektrumokból három fontos információ nyerhető. Megállapítható, hogy az aminosav metilészterek felületre kötése, és a komplexek kialakítása sikeres volt-e. Detektálható az, hogy a védőcsoport hidrolizált-e az alkalmazott lúgos közegben, és ha igen, akkor az így kialakult karboxilátcsoport koordinálódik-e a fémionhoz. Tudjuk, hogy a felületre kötött aminosav spektrumában megtalálhatók a karboxilátcsoportokhoz tartozó aszimmetrikus (ν_{as}), illetve szimmetrikus (ν_{sim}) vegyértékrezgések, ezért minden esetben elmondható, hogy a felületre kötés során hidrolizált a védőcsoport. Amennyiben az ezek között lévő távolság ($\nu_{as}-\nu_{sim}$) a komplexálódás hatására növekszik, akkor egyfogú ligandumként (8. ábra II), ha csökken, akkor kétfogú kelátligandumként koordinálódik a karboxilátcsoport (8. ábra III). Ha a különbség nem változik, akkor elmondható, hogy a koordináció nem jött létre (8. ábra I), ha kis elmozdulás történt a rezgésekben, akkor kétfogú hídligandumként koordinálódhat a karboxilátcsoport (8. ábra IV) [34, 35].



8. ábra: Különböző típusú fémion–karboxilát kölcsönhatások [35]

A harmadik fontos információ az, hogy a ligandumgazdag körülmények között kialakított komplexek esetében a karbonil-csoporthoz tartozó rezgés eltolódik-e, tehát a karbonilcsoport részt vesz-e a koordinációban.

A távoli IR hullámszám-tartományban felvett spektrumok esetében direkt információ nyerhető a fémion és valamely donorcsoport között kialakuló kötésről. A rezgések asszignálása nehéz, mivel a rendelkezésre álló irodalmi adatok nagyfokú eltérést mutatnak. Ezért egy (a kutatócsoportban) kísérleti úton felállított korrelációs táblázatot alkalmaztam a rezgések azonosításra [36]. A 3. táblázat tartalmazza a felhasznált adatokat.

3. táblázat: Korrelációs táblázat: fémion–heteroatom kötéshez tartozó rezgések

rezgés/cm ⁻¹	Mn(II)	Ni(II)
M–N _{amino}	372, 272	373, 264
M–N _{imidazol}	261	264
M–S _{tiolát}	358	357
M–O _{karboxilát}	355, 333	350, 339

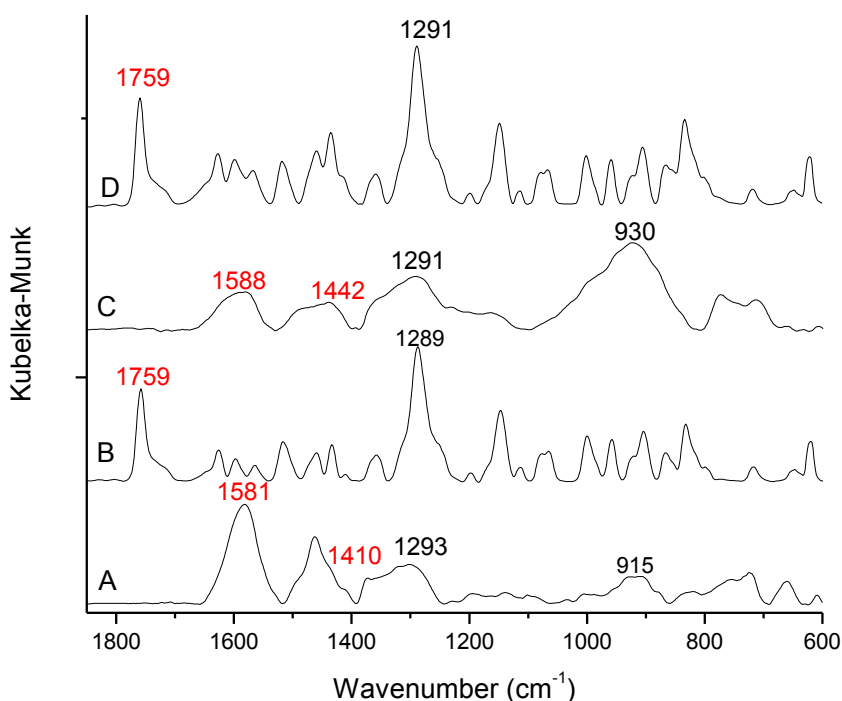
Raman spektroszkópiával is a donorcsoportok koordinációja igazolható, hasonlóképpen ahhoz, ahogyan az IR spektroszkópia esetében már korábban leírtam.

A rezgési spektrumok tárgyalása folyamán a következőkben leírtak szerint fogok eljárni. Először elemzem az analitikai hullámszám-tartományban detektált IR spektrumokat (1850–600 cm⁻¹), egy ábrán feltüntetve a védett aminosav, a felületre kötött aminosav, a ligandumszegény és a ligandumgazdag felületi komplex spektrumát. Ezek után bemutatom a távoli hullámszám-tartományban felvett IR spektrumokat (500–200 cm⁻¹), végül a Raman spektrumokat elemzem (500–200 cm⁻¹).

4.2.1. Mn(II)-tartalmú rögzített komplexek vizsgálata

4.2.1.1. Mn(II) központi fémiont tartalmazó L-hisztidin-metilészter tartalmú felületi komplexek rezgési spektrumai

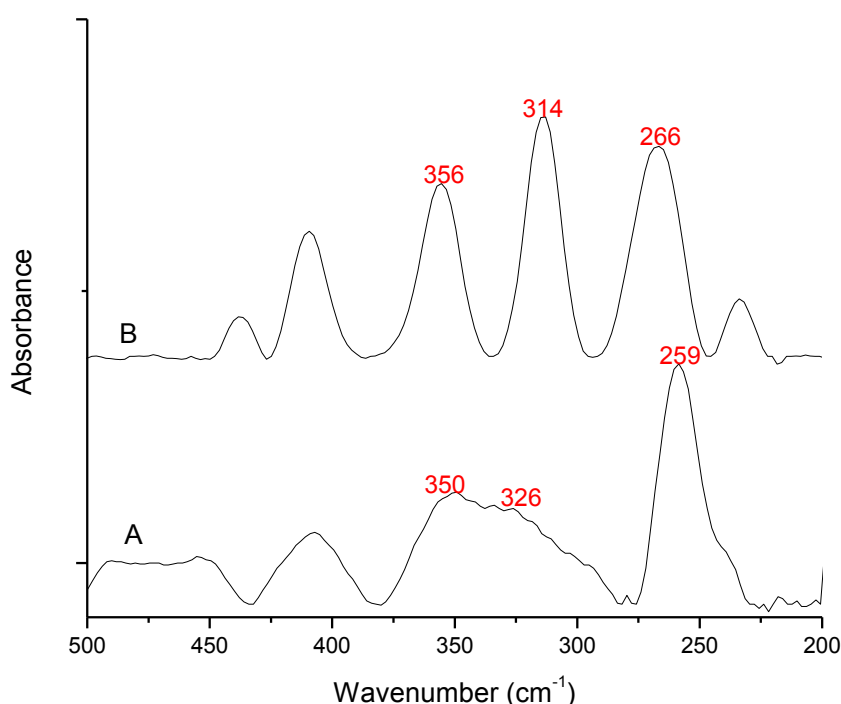
A következőekben az SG–His-OMe–Mn(II), valamint SG–His-OMe–Mn(II)–H–His-OMe rezgési spektrumainak elemzését összegzem. A 9. ábrán láthatóak az analitikai hullámszám-tartományban rögzített IR spektrumok. A védett aminosav felületre kötése sikeres volt, hiszen a hordozó kivonását követően jól strukturált spektrumot kaptam (A). Az alkalmazott lúgos körülmény miatt a védőcsoport hidrolizált, ezt bizonyítja, hogy megjelenik a karboxilátcsoporthoz tartozó aszimmetrikus vegyértékrezgés 1581 cm^{-1} -nél, míg a szimmetrikus vegyértékrezgés 1410 cm^{-1} -nél (ez utóbbi rezgést a Raman spektrum alapján azonosítottam, ott sokkal intenzívebb a szimmetrikus rezgés). Ezek alapján a ligandumszegény komplex spektrumát a felületre kötött aminosav spektrumával kell összevetni. A ligandumszegény felületi komplex esetében (C) $\Delta = \nu_{\text{asCOO}^-} - \nu_{\text{simCOO}^-} = 146\text{ cm}^{-1}$, míg a ligandum esetén ez az érték 171 cm^{-1} , tehát a karboxilátcsoport kétfogú ligandumként koordinálódik.



9. ábra: Közép IR spektrumok; A: SG–His-OMe, B: H–His-OMe, C: SG–His-OMe–Mn(II), D: SG–His-OMe–Mn(II)–H–His-OMe

A ligandumgazdag környezetben kialakított komplex spektruma (D) a szabad L-hisztidin-metilészter spektrumára hasonlít jobban (B), ugyanis a szintézis során az utolsó lépésben már csak szabad aminosavat adunk a rendszerhez, semleges közegben. A tiszta hisztidin spektrumában megfigyelhető 1759 cm^{-1} -nél látható rezgés rendelhető a karbonilcsoporthoz. Ez a sáv nem tolódik el a ligandumgazdag komplex spektrumában, tehát a karbonilcsoport nem vesz részt a felületi komplex kialakításában.

A 10. ábrán láthatóak a tárgyalt hisztidintartalmú mangán(II) komplexek távoli IR spektrumai.



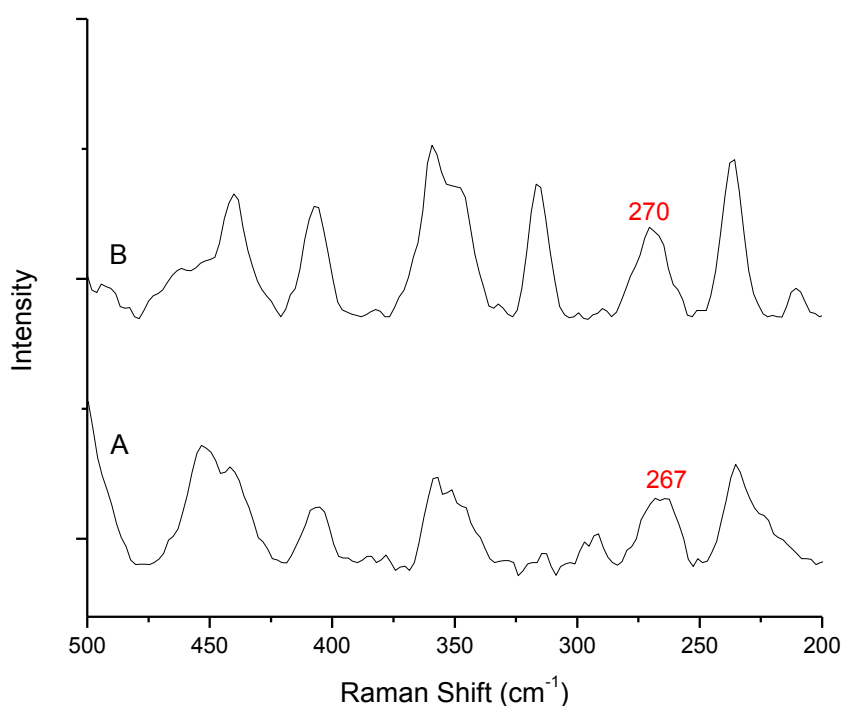
10. ábra: Távoli IR spektrumok; A: SG–His-OMe–Mn(II), B: SG–His-OMe–Mn(II)–H–His-OMe

A korrelációs táblázat segítségével megadhatóak a fémion–heteroatom kötéshez tartozó rezgések sávjai. A ligandumszegény felületi komplex esetében (A) 259 cm^{-1} -nél látható rezgés egyértelműen a Mn(II)–imidazolnitrogén kötéshez tartozó rezgés. Ugyanakkor a fémion–karboxiláttoxigén kötés rezgése is megjelenik egy sávpár formájában 350 cm^{-1} , valamint 326 cm^{-1} hullámszám értékeknél. A ligandumfeleslegben kialakított komplex spektrumában (B) is két éles sáv jelenik meg 356 cm^{-1} -nél és 314 cm^{-1} -nél, amelyek bizonyítékai, hogy van kötés a Mn(II) és a karboxiláttoxigének között. Ezen komplex spektrumában is jól látható rezgési sáv jelenik meg 266 cm^{-1} -nél a hisztidinben található

imidazolnitrogén koordinációjától. Mindkét spektrumban 400 cm^{-1} feletti tartományban megjelenő sávok a rendszerben lévő vízhez/koordinálódott vízhez köthetők [37].

A 11. ábrán láthatóak a tárgyalt komplexek Raman spektrumai. A mangán(II)–imidazolnitrogén kötéshez rendelhető sáv a ligandumszegény komplex spektrumában 267 cm^{-1} -nél látható (A), míg a ligandumgazdag komplex spektrumában 270 cm^{-1} -nél (B) [38]. A többi rezgés a hisztidin spektrumában is megjelenik (nem ábrázoltam).

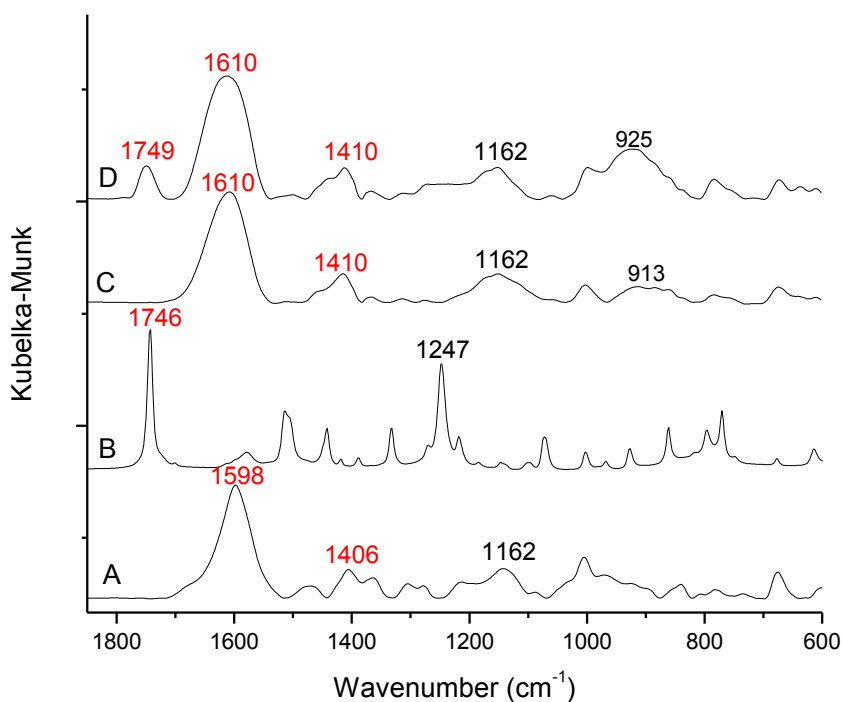
Összességében a rezgési spektrumok értékelése alapján elmondható, hogy az SG–His–OMe–Mn(II) komplex kialakítása sikeres volt, a ligandum koordinálódása a karboxilátcsoport oxigénjein keresztül, valamint az imidazolnitrogén segítségével valósult meg. Ligandumfelesleg hatására a ligandumszegény komplex átrendeződik, a feleslegben adott C-védett hisztidin az imidazolnitrogénjén keresztül kapcsolódik a Mn(II)-ionhoz. Feltételezhetően mindkét immobilizált komplex esetében víz is koordinálódik a központi fémionhoz.



11. ábra: Raman spektrumok; A: SG–His–OMe–Mn(II), B: SG–His–OMe–Mn(II)–H–His–OMe

4.2.1.2. A Mn(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztein-metilészter-tartalmú komplexek rezgési spektrumai

A következőekben a SG-Cys-OMe-Mn(II), illetve a SG-Cys-OMe-Mn(II)-H-Cys-OMe komplexek rezgési spektrumainak elemzését írom le. A 12. ábrán láthatók az adott komplexeknek az analitikai hullámszám-tartományban detektált IR spektrumai. A spektrumok alapján elmondható, hogy mind a szintézis, mind felületre kötés sikeres volt. Ismételten megállapítható, hogy a ligandumszegény felületi komplexet (C) a felületre kötött aminosav spektrumával összehasonlítva kell értelmezni (A), míg a ligandumgazdag környezetben kialakított komplex spektrumát (D) a szabad aminosav spektrumával kell összehasonlítani (B).

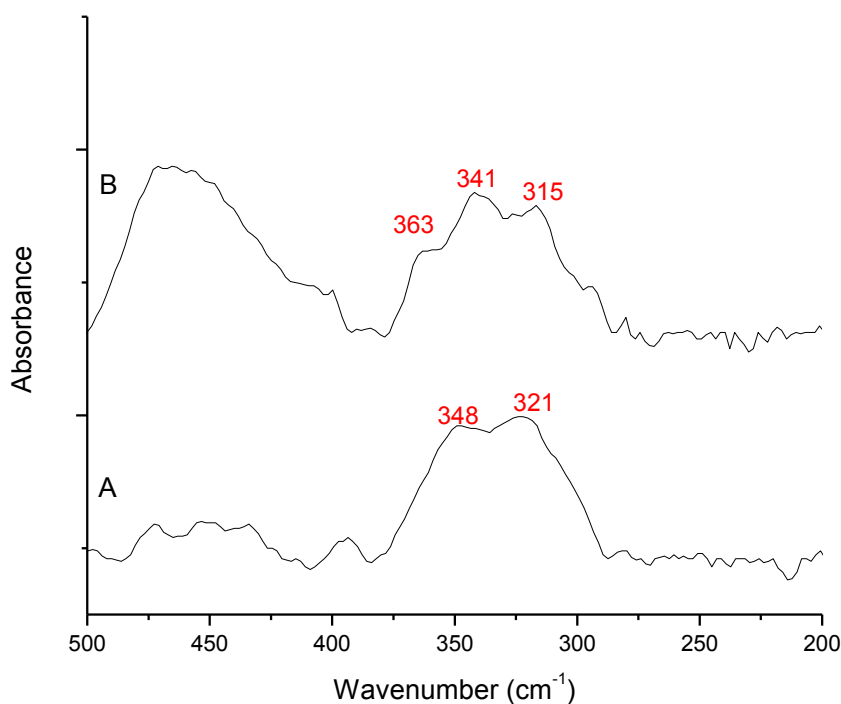


12. ábra: Közép IR spektrumok; A: SG-Cys-OMe, B: H-Cys-OMe, C: SG-Cys-OMe-Mn(II), D: SG-Cys-OMe-Mn(II)-H-Cys-OMe

A felületre kötött aminosav spektrumában ismét megtaláljuk a karboxilátcsoporthoz tartozó rezgéseket (1598 cm⁻¹ és 1406 cm⁻¹), amelyek között a különbség 192 cm⁻¹. A felületi komplex esetében ezek a rezgések elmozdulnak (1610 cm⁻¹ és 1410 cm⁻¹), $\Delta = 200$ cm⁻¹, ez azt jelenti, hogy a karboxilátcsoport részt vesz a koordinációban, méghozzá egyfogú ligandumként. A szabad aminosav spektrumában a karbonilcsoporthoz tartozó rezgés sávja

1746 cm^{-1} látható. Ez a sáv a ligandumgazdag komplex spektrumában nem mozdul el (1749 cm^{-1}), tehát a karbonilcsoport ebben az esetben sem játszik szerepet a komplex kialakításában. A szabad ligandum esetén 2511 cm^{-1} -nél található S–H rezgés (nem ábrázoltam) mindkét esetben eltűnik, tehát a cisztein a tiolátkénen keresztül is koordinálódik. Érdekes ugyanakkor megfigyelni, hogy a ciszteinnel kialakított komplexek spektrumát elemezve jól látszik, hogy ebben az esetben a ligandumgazdag komplex rezgései között megtalálhatók azok, amelyek már a ligandumszegény komplex esetében is megfigyelhetők voltak, ellentétben a hisztidintartalmú termékek spektrumával. Ez azzal magyarázható, hogy a hisztidin jóval nagyobb mennyiségben képes nem koordinált állapotában a felületen maradni (feltehetően hidrogénhidak segítségével), és az általam használt DRIFT-technika érzékeny a felületre.

A 13. ábrán láthatóak az adott komplexek távoli IR spektrumai.

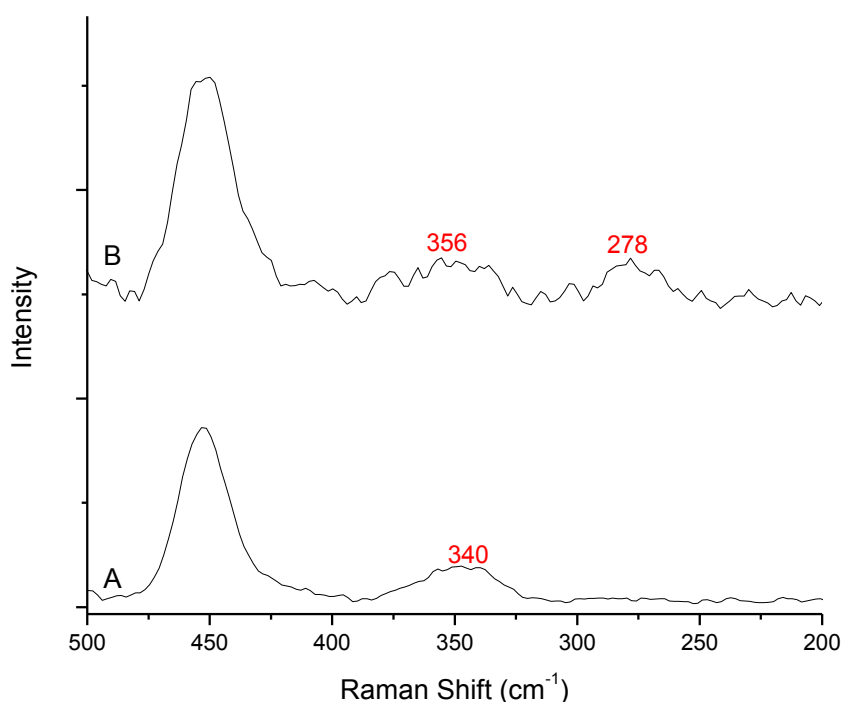


13. ábra: Távoli IR spektrumok; A: SG–Cys–OMe–Mn(II), B: SG–Cys–OMe–Mn(II)–H–Cys–OMe

. A spektrumok értelmezése igen nehéz, mivel széles elnyúlt jelek alkotják a spektrumokat. Ugyanakkor a 370–300 cm^{-1} -nél található sávok alátámasztják a középső tartomány elemzése során leírtakat, tehát a tiolátkén és a karboxiláttoxigén koordinációja valószínűsíthető mindkét esetben. Ligandumgazdag körülmények (B) között 363 cm^{-1} -nél

megjelenő váll arra utalhat, hogy az aminonitrogén is részt vesz a komplexképzésben. A 400 cm^{-1} feletti tartományban megjelenő sávok a mintában lévő vízhez/koordinálódott vízhez köthetők.

A 14. ábrán láthatók az ebben a részben tárgyalt komplexek Raman spektrumai. Ebben az esetben különösen hasznosnak bizonyultak a Raman spektrumok, mivel a távoli IR hullámszám-tartományban sokkal jobban értelmezhetőek, mint az IR spektrumok. Jól láthatóan mindkét spektrumban hasonló helyen (340 cm^{-1} és 356 cm^{-1}) található egy sáv, amelyet a $\text{Mn(II)}\text{-S}$ kötéshez tartozó rezgésként lehet értelmezni. A ligandumgazdag termék spektrumában (B) 278 cm^{-1} -nél megjelenő sáv arra enged következtetni, hogy az aminonitrogén is koordinálódik a mangán(II)-ionhoz. A 450 cm^{-1} -nél lévő sáv a ligandumban is megtalálható.

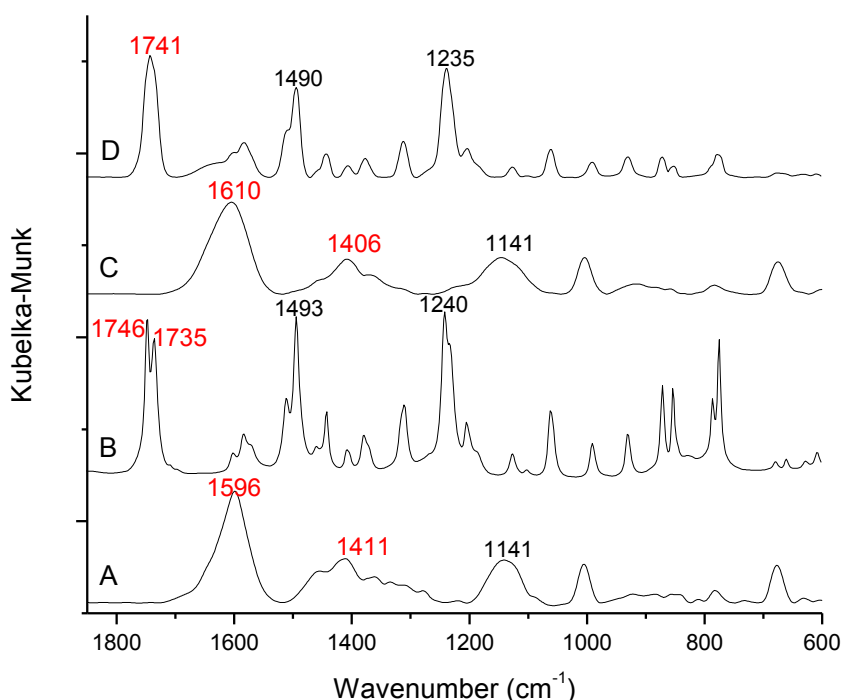


14. ábra: Raman spektrumok; A: SG-Cys-OMe-Mn(II) , B: $\text{SG-Cys-OMe-Mn(II)-H-Cys-OMe}$

Tehát a rezgési spektrumok alapján mindkét komplex esetében elmondható, hogy a Mn(II) -ionhoz a felületen rögzített cisztein részéről a karboxilátcsoport oxigénje egyfogú ligandumként, valamint a tiolátkén koordinálódik, a feleslegben adott C-védett cisztein pedig a tiolátkéne és az aminonitrogéne keresztül kötődik. Vízmolekula mindkét esetben található a koordinációs szférában.

4.2.1.3. A Mn(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztin-dimetilészter tartalmú komplexek rezgési spektrumai

Ebben az alfejezetben bemutatom a SG-(Cys-OMe)₂-Mn(II) és a SG-(Cys-OMe)₂-Mn(II)-H-(Cys-OMe)₂ komplexek rezgési spektrumainak értékelését. A 15. ábrán láthatók az adott termékek spektrumai, a megfelelő szabad aminosav és a felületre kötött aminosav spektruma. Az eddigiekhez hasonlóan ebben az esetben is a felületre kötött aminosavat (A) hasonlítottam a ligandumszegény felületi komplexhez (C), míg a ligandumgazdag komplexet (D) a tiszta aminosavval (B) vettem össze.

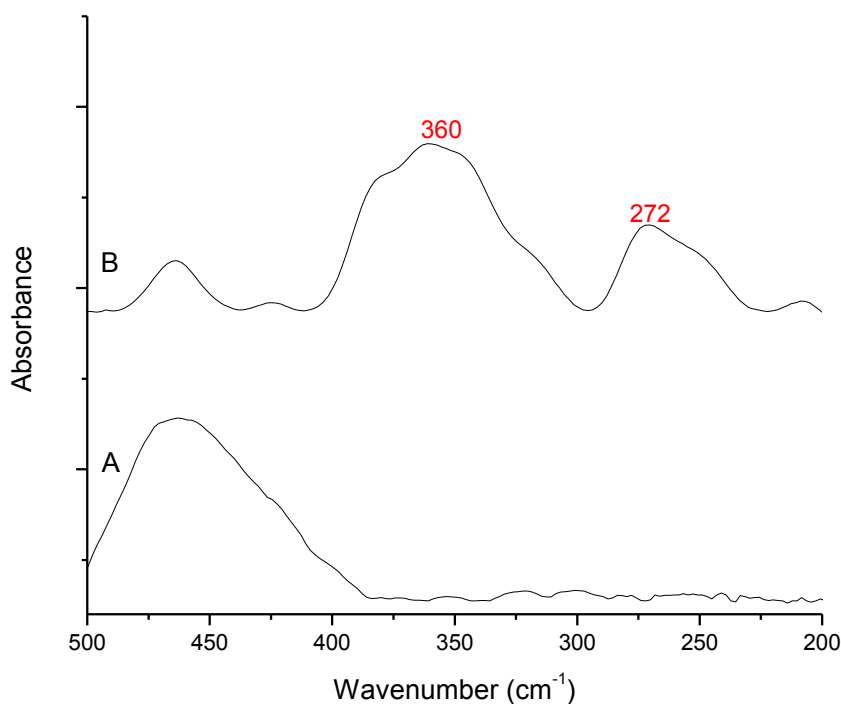


15. ábra: Közép IR spektrumok; A: SG-(Cys-OMe)₂, B: H-(Cys-OMe)₂, C: SG-(Cys-OMe)₂-Mn(II), D: SG-(Cys-OMe)₂-Mn(II)-H-(Cys-OMe)₂

A felületre kötött aminosav esetében a karboxilátcsoporthoz tartozó aszimmetrikus rezgés 1596 cm⁻¹-nél látható, míg az ugyanehhez a csoporthoz tartozó szimmetrikus rezgés 1411 cm⁻¹-nél figyelhető meg, azaz a két sáv között a különbség 185 cm⁻¹. A felületi komplex esetében mindkét sáv elmozdul rendre 1610 cm⁻¹-re, illetve 1406 cm⁻¹-re, míg a különbség a két sáv között 204 cm⁻¹-re nő. Tehát megállapítható, hogy ebben az esetben is koordinálódik a karboxilátcsoporthoz, még hozzá egyfogú ligandumként. A tiszta aminosav spektrumában a karbonilcsoporthoz tartozó rezgések 1746 és 1735 cm⁻¹-nél

találhatók, amelyek tulajdonképpen nem tolódnak el (1741 cm^{-1}) a ligandumgazdag komplex spektrumában sem, vagyis megállapítható, hogy ebben az esetben sem koordinálódik a karbonilcsoport a Mn(II)-ionhoz.

A 16. ábrán mutatom be a két komplex távoli IR-spektrumát. A ligandumszegény környezetben felvett spektrumban (A) a Mn(II)–karboxilát oxigénhez tartozó elnyelés nem jelenik meg, vagy csak nagyon kis intenzitással, így nehéz azonosítani. A ligandumgazdag komplexről (B) elmondható, hogy az aminonitrogén rezgési sávjai megjelennek 360 és 272 cm^{-1} értékeknél.



16. ábra: Távoli IR spektrumok; A: SG–(Cys-OMe)₂–Mn(II), B: SG–(Cys-OMe)–Mn(II)–H–(Cys-OMe)₂

A Raman spektrumok ebben az esetben nem hordoznak többletinformációt, ezért dolgozatomban nem mutatom be azokat.

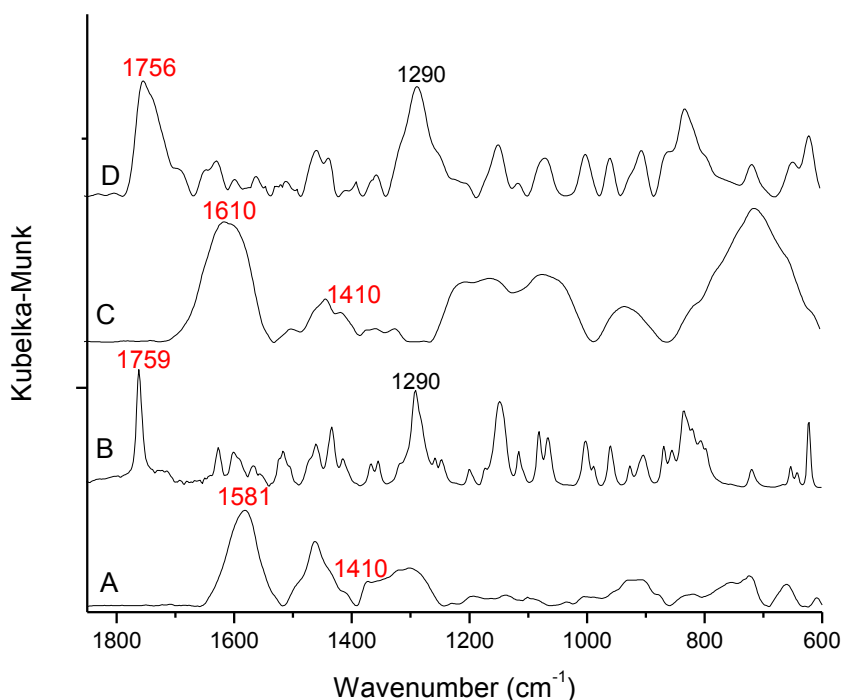
Összességében tehát a cisztinnel kialakított rögzített komplexek esetében az mondható el, hogy ligandumszegény környezetben a koordinációs szférában a karboxilátcsoportok oxigénatomja és vízmolekulák helyezkednek el, a feleslegben adott C-védett cisztein pedig az aminonitrogéneken keresztül koordinálódik a Mn(II)-ionhoz.

4.2.2. Ni(II)-tartalmú komplexek vizsgálata

A meghatározás menete ugyanúgy zajlik a Ni(II)-tartalmú mintáknál is, mint a Mn(II)-tartalmú minták esetében. A távoli IR spektrumok értelmezéséhez használt korrelációs táblázat továbbra is a 4.2.-es alfejezetben feltüntetett 3. táblázat. A komplexek tárgyalását ebben az esetben is három részre fogom bontani a jobb átláthatóság és értelmezhetőség kedvéért, és egy csoportba kerülnek az azonos aminosavat tartalmazó komplexek.

4.2.2.1. A Ni(II) központi fémiont tartalmazó L-hisztidin-metilészter-tartalmú komplexek vizsgálata

Ebben a szakaszban a SG-His-OMe-Ni(II), valamint a SG-His-OMe-Ni(II)-H-His-OMe komplexek vizsgálatával foglalkozom. A 17. ábrán láthatók a komplexek analitikai hullámszám-tartományban detektált spektrumai, a tiszta hisztidin metilészter, valamint a felületre kötött hisztidin spektrumai.

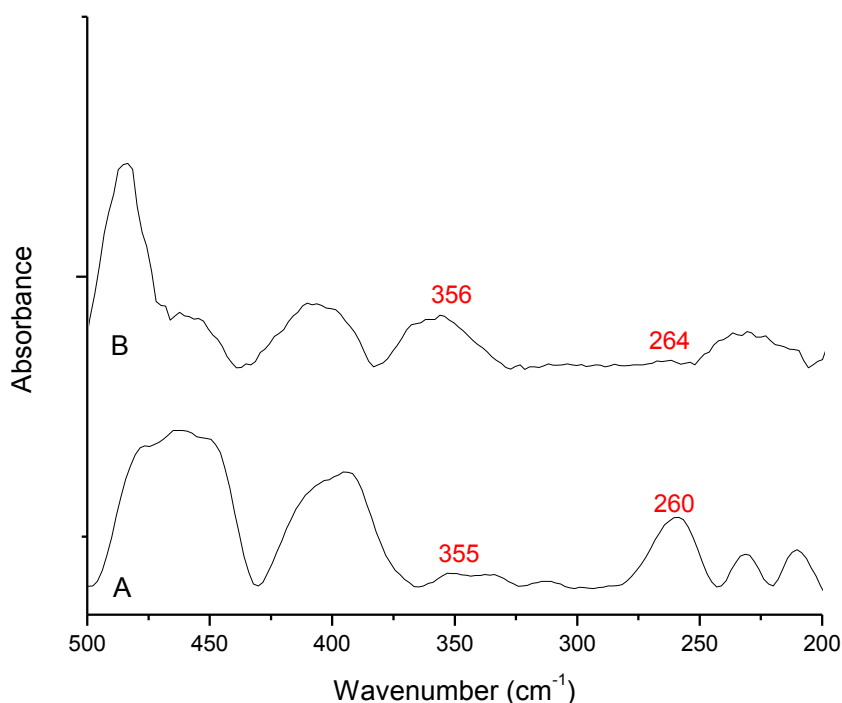


17. ábra: Közép IR spektrumok (1850-600); A: SG-His-OMe, B: H-His-OMe, C: SG-His-OMe-Ni(II), D: SG-His-OMe-Ni(II)-H-His-OMe

A Mn(II)-t tartalmazó mintákhoz hasonlóan, ebben az esetben is a felületi komplexet (C) a felületre kötött aminosav spektrumával (A), míg a ligandumgazdag körülmények között kialakított komplexet (D) a szabad aminosav spektrumával (B) kell összehasonlítani. A felületre kötött aminosav spektrumában a karboxilátrezgésekhez tartozó sávok 1581 cm^{-1}

illetve 1410 cm^{-1} -nél találhatók, a közöttük lévő különbség 171 cm^{-1} . A felületi komplex spektrumában mindkét rezgés elmozdul (1610 és 1410 cm^{-1}), $\Delta = 200\text{ cm}^{-1}$, azaz a karboxilátcsoport egyfogú ligandumként vesz részt a komplex kialakításában. Ha ligandumgazdag komplex spektrumában vizsgáljuk a karbonilrezgéshez tartozó sávot, összehasonlításként meg kell nézni, hogy hol volt ez a sáv a tiszta aminosav spektrumában. 1759 cm^{-1} -nél található meg az aminosavban ez a rezgés, míg a komplexben ez 1756 cm^{-1} értéknél látható, tehát elmondható, hogy a karbonilcsoport nem vesz részt a koordinációban.

A két komplex távoli IR spektrumait a 18. ábrán tüntettem fel. A felületi komplex esetében (A) 260 cm^{-1} -nél megjelenő sáv a nikkel(II)–imidazolnitrogén kötéshez rendelhető sáv, a 355 cm^{-1} -nél megjelenő elnyelés pedig a Ni(II)–karboxiláttoxigén kötéshez rendelhető.

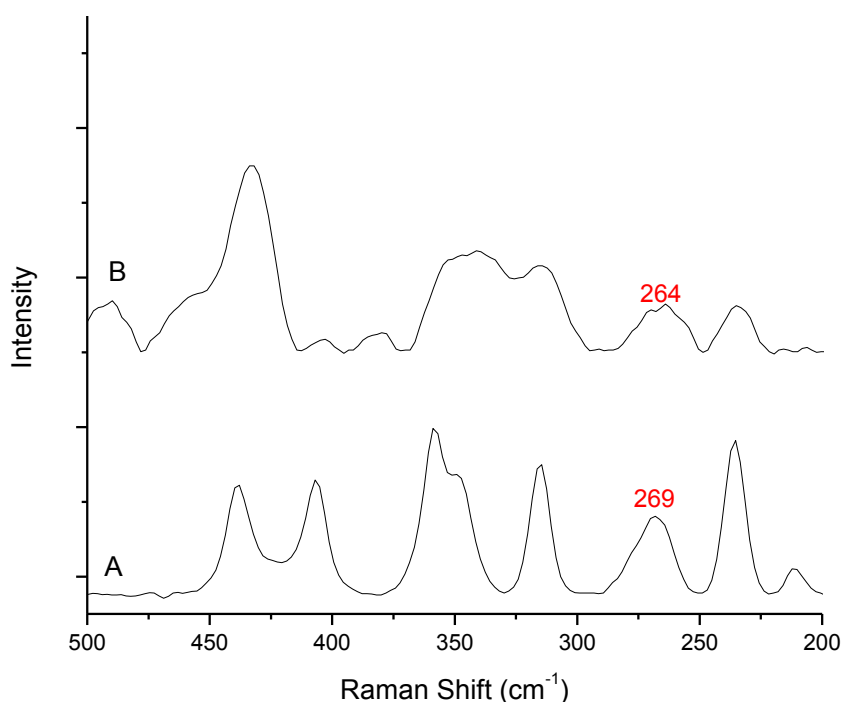


18. ábra: Távoli IR spektrumok; A: SG–His-OMe–Ni(II), B: SG–His-OMe–Ni(II)–H–His-OMe

A ligandumfeleslegben kialakított termék spektrumában (B) látható egy elnyúló sáv, amelynek maximuma 356 cm^{-1} -nél található és a karboxiláttoxigén koordinációjára utal. A víz koordinációját feltételező rezgések itt is megjelennek a 400 cm^{-1} feletti tartományban.

A Raman spektrumokat a 19. ábrán tüntettem fel. A ligandumszegény (A) komplex esetében a 269 cm^{-1} értékeknél található sáv a nikkel(II)–imidazolnitrogén kötéshez tartozik.

Ugyanilyen módon értelmezhető a sáv (264 cm^{-1} -nél) a ligandumgazdag (B) komplex esetében is.

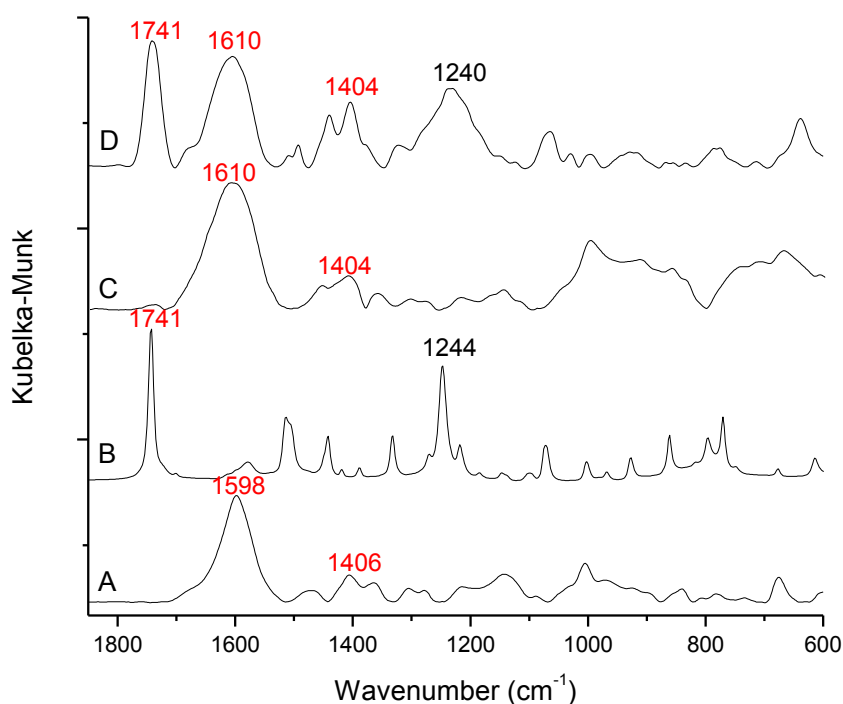


19. ábra: Raman spektrumok; A: SG-His-OMe-Ni(II), B: SG-His-OMe-Ni(II)-H-His-OMe

Összességében elmondható, hogy a SG-His-OMe-Ni(II) komplexben a felületre rögzített aminosav az imidazolnitrogénen és a karboxiláttoxigénen keresztül koordinálódik a központi fémionhoz. A ligandumfeleslegben adott C-védett hisztidin az imidazolnitrogénjén keresztül koordinálódik a Ni(II)-ionhoz.

4.2.2.2. A Ni(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztein-metilészeter-tartalmú komplexek vizsgálata

Ebben az alfejezetben a SG-Cys-OMe-Ni(II) komplex, valamint a SG-Cys-OMe-Ni(II)-H-Cys-OMe komplexek rezgési spektrumait mutatom be. A 20. ábrán látható a két termék közép IR tartományban detektált spektruma (C, D), valamint a szilikagél felületén rögzített (A), illetve a szabad C-védett aminosav spektruma (B).

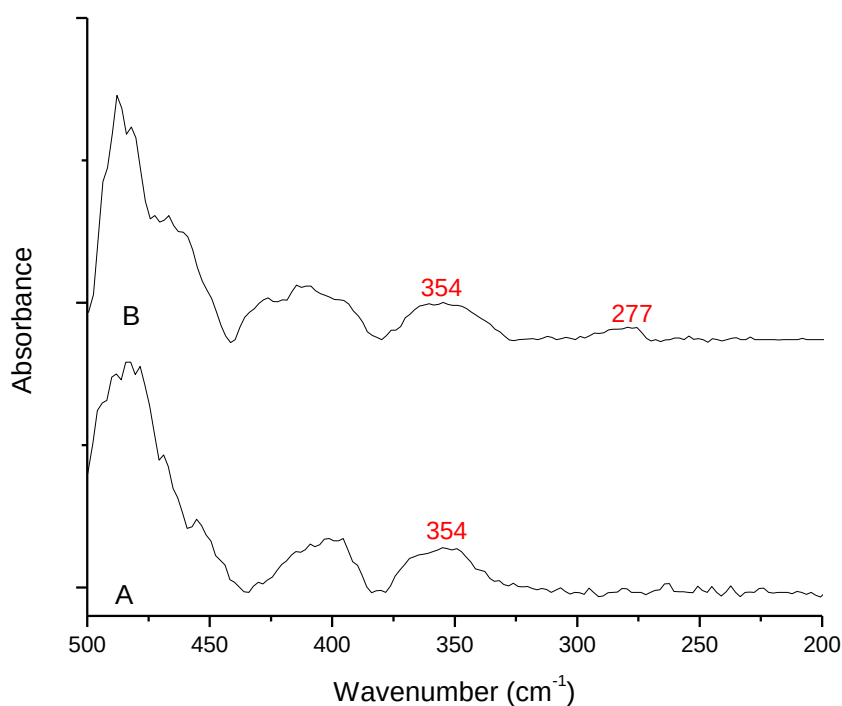


20. ábra: Közép IR spektrumok; A: SG-Cys-OMe, B: H-Cys-OMe, C: SG-Cys-OMe-Ni(II), D: SG-Cys-OMe-Ni(II)-H-Cys-OMe

A már az előzőekben folytatott elemzést követve, ismételten megállapítható, hogy a karboxilátcsoporthoz tartozó két rezgés (1598 cm^{-1} és 1406 cm^{-1}) közötti 192 cm^{-1} különbség a felületi komplex kialakításának hatására 206 cm^{-1} -re nő. A ligandumfeleslegben kialakított komplex esetében pedig megállapítható, hogy a karbonilcsoporthoz tartozó két rezgés (1741 cm^{-1} és 1610 cm^{-1}) közötti 132 cm^{-1} különbség a szabad aminosav spektrumában található, karboxilátcsoporthoz tartozó két rezgés (1598 cm^{-1} és 1406 cm^{-1}) közötti 192 cm^{-1} különbségtől eltérően, a szabad aminosav spektrumában 1741 cm^{-1} -nél jelentkező karbonilrezgés tulajdonképpen nem mozdul el, mivel a ligandumgazdag termék spektrumában ez az érték 1736 cm^{-1} -re változik. A szabad ligandum esetén 2511 cm^{-1} -nél található S-H rezgés (nem ábrázoltam) mindkét esetben eltűnik, tehát a cisztein a tiolátkén keresztül is koordinálódik.

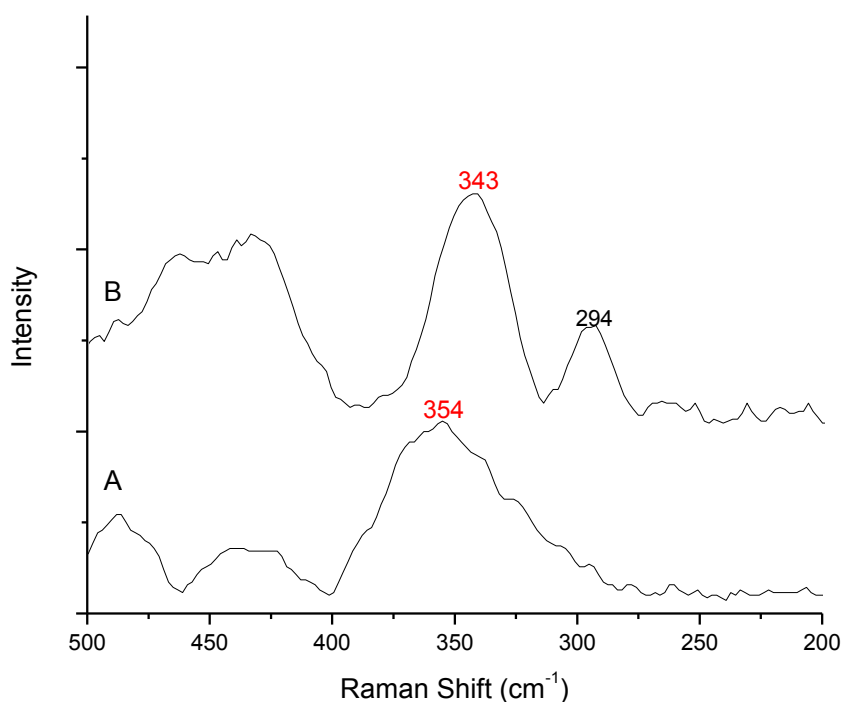
A 21. ábrán az ebben az alfejezetben tárgyalt két komplex távoli IR spektrumait tüntettem fel. A ligandumszegény termék spektrumában (A) 354 cm^{-1} -nél megjelenő sáv vélhetően a tiolátkén és a karboxilátcsoporthoz tartozó koordinációját bizonyítja. Ugyanez elmondható a ligandumgazdag komplex spektrumában ugyanezen hullámszám értéknél megjelenő rezgésről is. A ligandumgazdag esetben 277 cm^{-1} -nél megjelenő sáv az aminonitrogén szerepére utal a

komplexbépzésben. A 400 cm^{-1} hullámszám érték felett megjelenő sávok nagy valószínűséggel a koordinálódott vízhez kapcsolhatóak.



21. ábra: Távoli IR spektrumok; A: SG-Cys-OMe-Ni(II), B: SG-Cys-OMe-Ni(II)-H-Cys-OMe

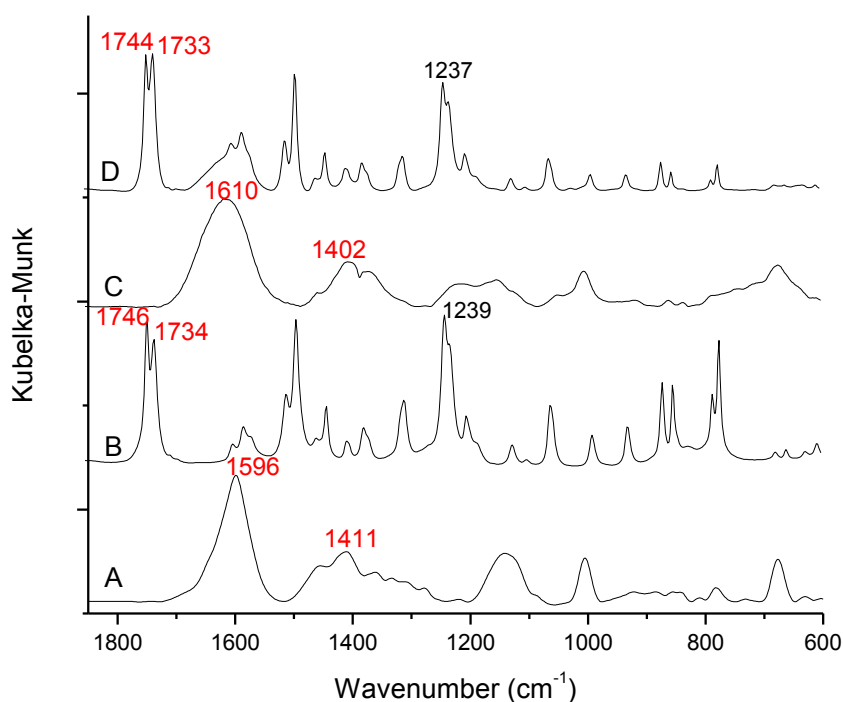
A fémion-kén kötésre bizonyítékkal szolgálnak a komplexekről felvett Raman spektrumok is. Ezeket a spektrumokat a 22. ábrán mutatom be. A ligandumszegény felületi komplex spektrumában (A) intenzív sávként megjelenő 354 cm^{-1} elnyelés a fémion-kén kötéshez kapcsolható. A ligandumgazdag komplex esetében (B) is megjelenik ez az elnyelés 343 cm^{-1} hullámszám értéknél. A ligandumfeleslegben kialakított termék spektrumában 294 cm^{-1} -nél megjelenő elnyelés az aminonitrogén koordinációját igazolja.



22. ábra: Raman spektrumok; A: SG–Cys-OMe–Ni(II), B: SG–Cys-OMe–Ni(II)–H-Cys-OMe

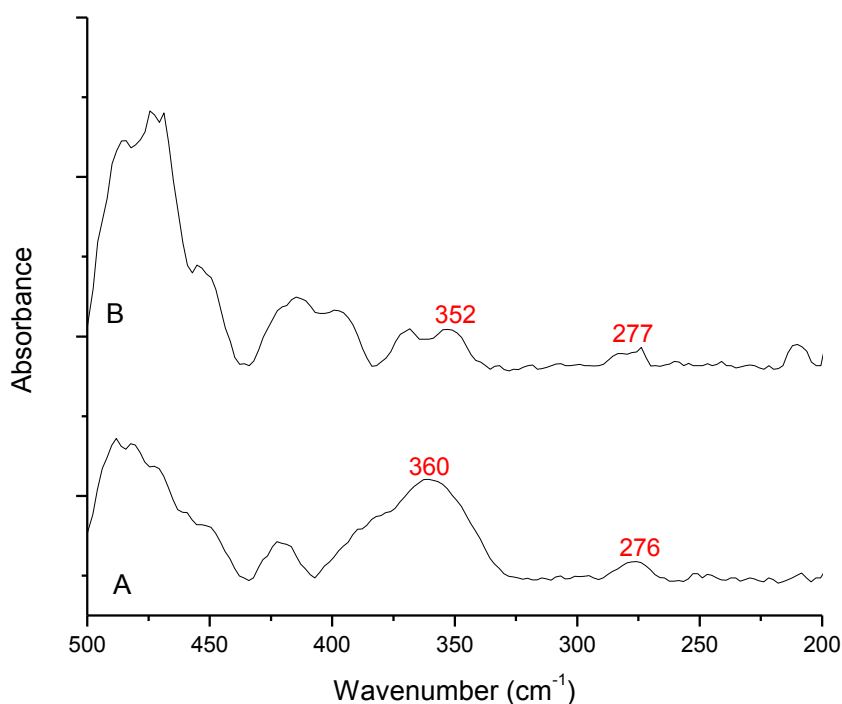
4.2.2.3. A Ni(II) központi fémiont tartalmazó L-cisztin-dimetilészeter-tartalmú komplexek vizsgálata

Ebben az alfejezetben a SG–(Cys-OMe)₂–Ni(II) komplex, illetve a SG–(Cys-OMe)₂–Ni(II)–H–(Cys-OMe)₂ komplex rezgési spektrumait mutatom be. A 23. ábrán láthatóak a közép IR tartományban detektált spektrumok. Ezek elemzésénél a korábbiakban alkalmazott módon jártam el. Megállapítottam, hogy a felületre kötött aminosav spektrumában (A) látható a karboxilátcsoporthoz köthető két sáv (1596 cm⁻¹ és 1411 cm⁻¹) közötti különbség 185 cm⁻¹. Ez a két sáv a komplexálódás hatására elmozdul (1610 cm⁻¹ és 1402 cm⁻¹, $\Delta = 208$ cm⁻¹), amint az a ligandumszegény felületi komplex spektrumán (C) látható. Ez azt jelenti, hogy a karboxilátcsoport egyfogú ligandumként vesz részt a koordinációban. Az is megállapítható, hogy a ligandumgazdag körülmények között kialakított komplexben (D) a karbonilcsoport nem koordinál, mivel a tiszta C-védett aminosav spektrumában (B) található karbonilrezgések pozíciói nem változnak.



23. ábra: Közép IR spektrumok; A: SG-(Cys-OMe)₂, B: H-(Cys-OMe)₂, C: SG-(Cys-OMe)₂-Ni(II), D: SG-(Cys-OMe)₂-Ni(II)-H-(Cys-OMe)₂

A fenti két komplex távoli IR spektrumait a 24. ábrán tüntettem fel. A ligandumszegény felületi komplex spektrumában (A) megjelenő sávpár (360 és 276 cm⁻¹) a fémion-aminonitrogén és Ni(II)-karboxilátóxigén kötéshez tartozó rezgések. Ugyanez mondható el a ligandumgazdag termék spektrumában található sávpárról (352 és 277 cm⁻¹) is. Tehát a ligandumszegény felületi komplex és a ligandumgazdag termék koordinációs szférája hasonló.



24. ábra: Távoli IR spektrumok; A: SG–(Cys-OMe)₂–Ni(II), B: SG–(Cys-OMe)–Ni(II)–H–(Cys-OMe)₂

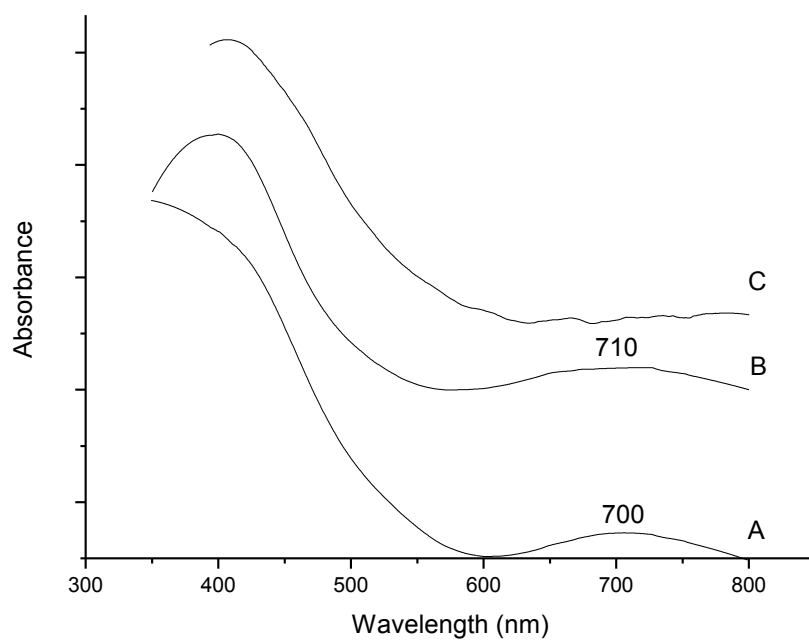
A Raman spektrumok nem árulnak el új információt az immobilizált komplexekkel kapcsolatban, ezért ezeket a spektrumokat a dolgozatban nem tüntettem fel.

4.3. UV-DRS vizsgálatok

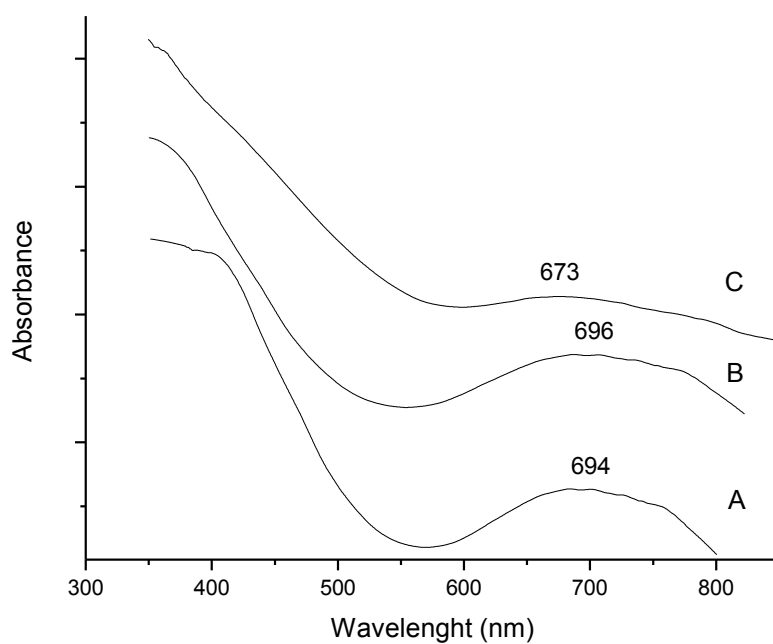
Az immobilizált Ni(II)-komplexeket UV-Vis diffúz reflektancia spektroszkópiával is vizsgáltuk. A módszer segítségével a mintáimban található Ni(II) központi ion koordinációs számáról és a felületi komplexek geometriájáról kaptam információt. A spektrumokból megállapítható, hogy a nikkell(II)-ion síknégyszetes, tetraéderes vagy oktaéderes komplexet képez, mivel a három spin megengedett átmenet eltérő energiájú.

Oktaéderes Ni(II) komplexek spektrumában három hullámhossz-tartományban van elnyelés. A legkisebb energiájú a v_1 átmenet 1300–800 nm, a v_2 750–500 nm és a legtöbb energiát igénylő átmenet a v_3 450–330 nm hullámhossz-tartományban jelenik meg. A tetraéderes komplexek esetén csak egy elnyelés található az UV-Vis tartományban 550–750 nm között. Síknégyszetes komplexeknél pedig mindhárom elnyelés 300 és 450 nm közé esik [39].

A regisztrált spektrumokat a 25. és 26. ábrán mutatom be.



25. ábra: DRS spektrumok; A: SG-His-OMe-Ni(II), B: SG-Cys-OMe-Ni(II), C: SG-(Cys-OMe)₂-Ni(II)



26. ábra: DRS spektrumok; A: SG-His-OMe-Ni(II)-H-His-OMe, B: SG-Cys-OMe-Ni(II)-H-Cys-OMe, C: SG-(Cys-OMe)₂-Ni(II)-(H-Cys-OMe)₂

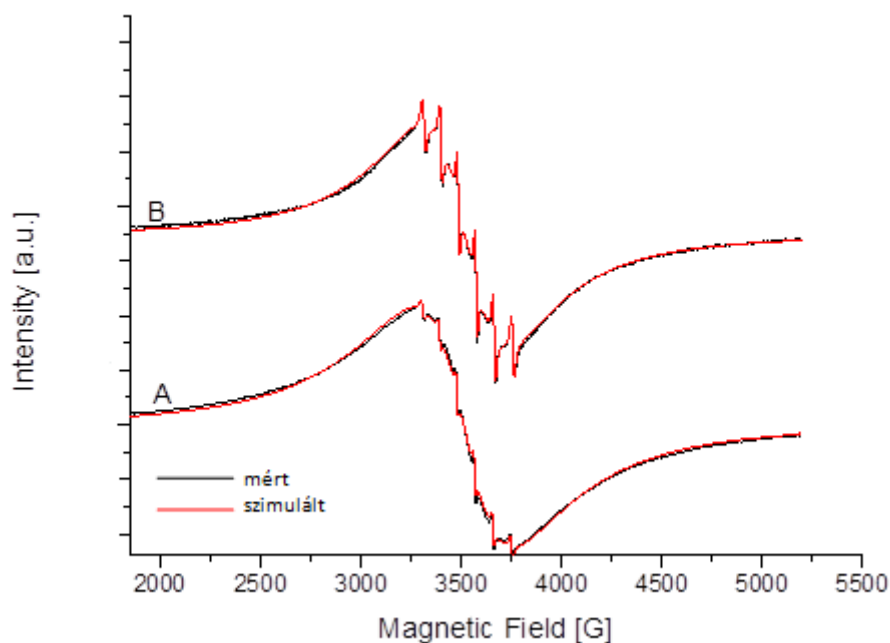
Amint az a spektrumokból látható, a legtöbb komplex esetében oktaédes szerkezet adódott. Kivételt képez ez alól a SG-(Cys-OMe)₂-Ni(II) komplex, amely feltehetőleg síknégyszetes szerkezetet alakított ki. A technikai lehetőségeink korlátai miatt a 350–800 nm-es tartományban rögzítettük a spektrumokat, így a ν_1 átmenet vizsgálatára sajnos nem volt lehetőségem.

A Mn(II)-tartalmú komplexekről is készültek ugyan DRS spektrumok, de ezek a spektrumok nem hordoztak magukban információt, így ezeket nem tüntetem fel a dolgozatban.

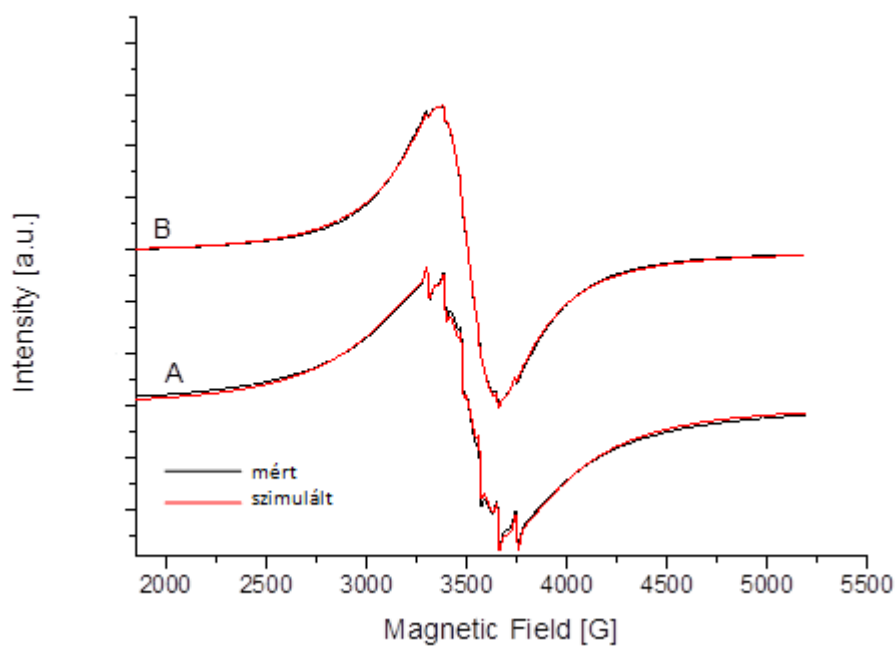
4.4. ESR spektroszkópiai vizsgálatok

Az immobilizált komplexeket az ESR spektroszkópia segítségével is megvizsgáltuk. A Mn(II) komplexek spektrumai jól értelmezhetőek voltak ezzel a módszerrel. A Ni(II) komplexeket 77 K alatt lehet mérni, nekünk azonban csak szobahőmérsékletű mérések elvégzésére volt lehetőségünk.

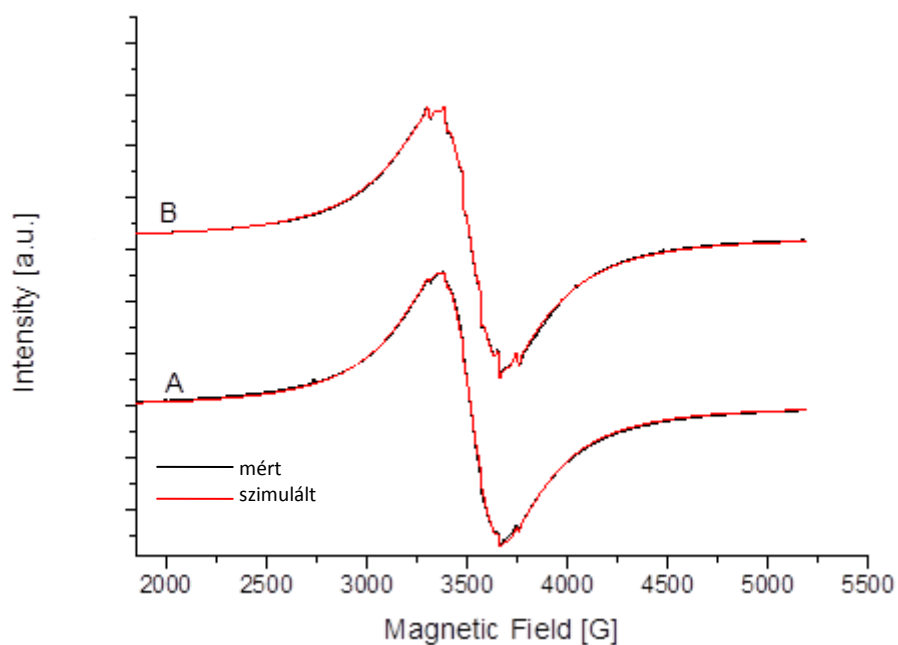
A spektrumokat a 27.–29. ábrákon mutatom be.



27. ábra: ESR spektrumok; A: SG-His-OMe-Mn(II), B: SG-His-OMe-Mn(II)-H-His-OMe



28. ábra: ESR spektrumok; A: SG-Cys-OMe-Mn(II), B: SG-Cys-OMe-Mn(II)-H-Cys-OMe



29. ábra: ESR spektrumok; A: SG-(Cys-OMe)₂-Mn(II), B: SG-(Cys-OMe)₂-Mn(II)-H-(Cys-OMe)₂

A mérések kezdetén megállapítottuk, hogy szilikagélnek, valamint a felületen megkötött aminosavnak nincs ESR spektruma. Minden komplex spektrumát úgy lehetne jellemezni,

hogy a szuperpozíció egy igen széles szingulett jelet, valamint egy hat egységre felhasadt jól feloldott jelet tartalmaz. A széles jel jellemző a kapcsolt Mn(II) centrumokra, amelyeknek a legnagyobb a jelfelhasadása, a véletlenszerű térállásnak, és a centrumok között kialakuló dipoláris kölcsönhatásnak köszönhetően. A jól feloldott komponens nagy valószínűséggel az izolált Mn(II) centrumoktól származik. A hiperfinom jelfelhasadás ez esetben az elektron-spinnek a magspinnel (^{55}Mn , $I=5/2$) való kölcsönhatásából származik. A g értékek nagymértékben közelítik a szabad elektron g értékét, és alapállapotban nincs spin-pálya felhasadás – ezek általában jellemzőek olyan rendezetlen rendszerekre, amelyekben a Mn(II) oxigénatomokkal koordinálódik [40].

A g értékeket a 4. táblázatban foglaltam össze. A második integrál értékeket nem tüntettem fel, csak a megfelelő következtetés vonom le belőlük. Ez pedig az, hogy minden komplex esetében igen nagy a fajlagos fémmegkötő-képesség. A g értékek némi eltérést mutatnak az egyes komplexek között, nagy valószínűséggel a különböző koordinációs szféra miatt, ugyanis a hisztidintartalmú komplexekhez (amelyekben az imidazolnitrogén biztosan koordinálódik) tartozó g érték 1,9984 a feloldott jelre, ez az érték a cisztein-, illetve cisztintartalmú minták esetében eltérnek.

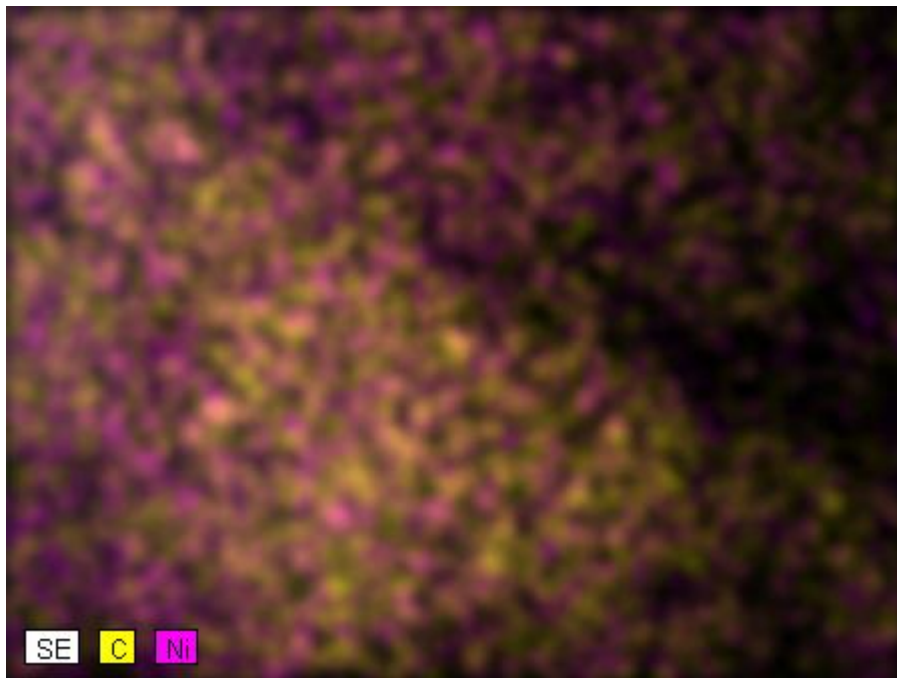
A hiperfinom csatolási állandó minden esetben 88,5 G, ami azt jelenti, hogy a felületi komplexek oktaéderes szerkezetűek [41].

4. táblázat: A különböző komplexekhez tartozó g értékek

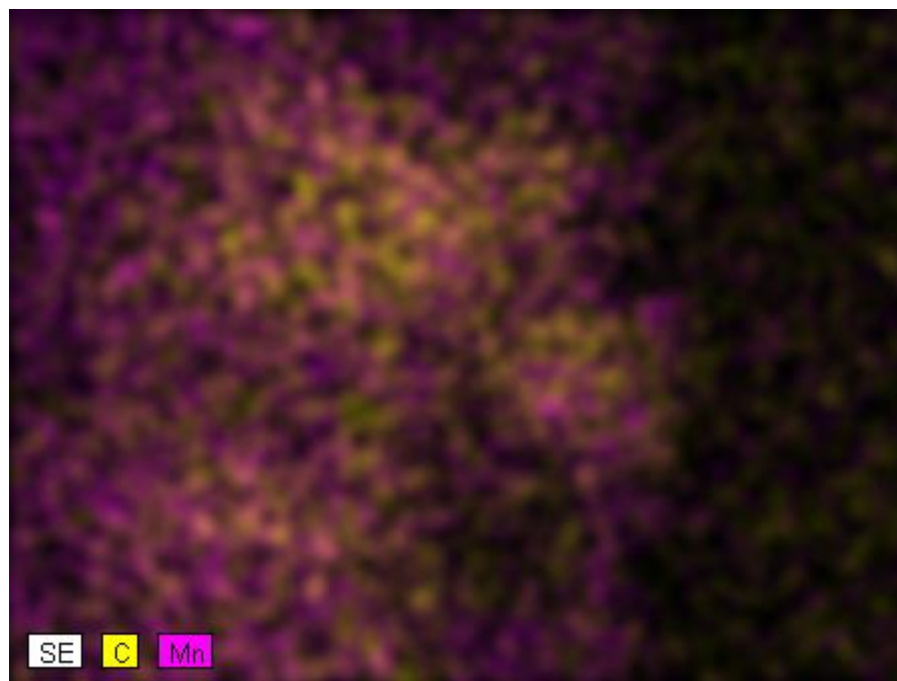
Komplexek	Feloldott jel	Szingulett jel
SG–His-OMe–Mn(II)	1,9984	2,0139
SG–His-OMe–Mn(II)–H–His-OMe	1,9984	2,0132
SG–Cys-OMe–Mn(II)	1,9987	2,0124
SG–Cys-OMe–Mn(II)–H–Cys-OMe	1,9987	2,0146
SG–(Cys-OMe) ₂ –Mn(II)	1,9987	2,0112
SG–(Cys-OMe) ₂ –Mn(II)–H–(Cys-OMe) ₂	1,9987	2,0128

4.5. SEM–EDX vizsgálatok

A pásztázó elektronmikroszkópos, illetve a SEM-hez kapcsolt energiadiszperzív röntgenanalizátorral elvégzett vizsgálataimból látszik, hogy az aminosavak, illetve a fémionok nem egymástól térben elszeparálódva helyezkednek el, hanem nagyjából homogénen oszlik el a szén a felvételen látható fémion-centrumok körül (30. és 31. ábra).



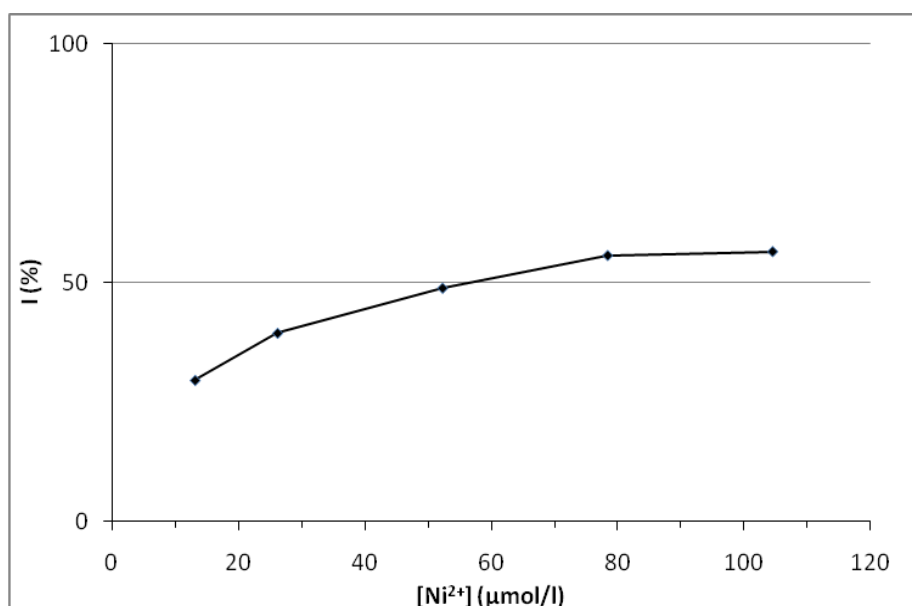
30. ábra: SEM–EDX felvétel; SG–His-OMe–Ni(II)



31. ábra: SEM–EDX felvétel; SG–His-OMe–Mn(II)

4.6. SOD aktivitásmérések eredményei

A klórpropilezett szilikagélen kovalensen rögzített komplexek hatékonyságát a metionin–riboflavin–NBT tesztreakcióval határoztuk meg. Az 560 nm-en mért abszorbancia értékből kiszámoltam az inhibíciót százalékban (I%). $I\% = (A_{\text{minta}} - A_{\text{vak}}) / A_{\text{vak}} \times 100$, ahol A az abszorbancia. Különböző koncentrációjú oldatokat készítettem, majd a számolt inhibíciókat ábrázoltam az immobilizált komplexet tartalmazó oldat fémion-koncentrációjának függvényében. A görbe egyenes szakaszáról leolvastam az IC_{50} értéket, amely az 50%-os inhibícióhoz szükséges fémion-koncentrációnak felel meg. Példaként az SG–His-OMe–Ni(II)–H–His-OMe komplex esetén végrehajtott értékelést mutatom be (35. ábra). A különböző enzimutánzó komplexek hatékonyságát az IC_{50} értékeken keresztül hasonlítottam össze. Minél kisebb ez az érték, annál aktívabb a komplex.



35. ábra: Az inhibíció ábrázolása a Ni(II)-koncentráció függvényében a SG–His-OMe–Ni(II)–H–His-OMe komplex esetén

Az 5. táblázatban összefoglalt eredményeket szemlélve megállapítható, hogy

- minden komplex mutatott SOD aktivitást, a legjobbak kb. másfél nagyságrenddel maradtak el a Cu,Zn-SOD enzim aktivitásától,
- a felületen rögzített Mn(II)–aminosav komplexek aktivitása általában magasabb az azonos összetételű Ni(II)–komplexekénél,
- ez alól kivétel a legaktívabb komplex, mely a SG–His-OMe–Ni(II),
- a Mn(II)-tartalmú komplexek esetén a ligandumgazdag, a Ni(II)-komplexeknél a ligandumszegény körülmények közt szintetizált anyag mutatott nagyobb aktivitást.

A hordozó, a hordozón rögzített aminosavak, illetve a hordozón adszorbeált fémionok aminosav nélkül nem mutattak számottevő SOD aktivitást.

5. táblázat: Az előállított rögzített komplexek IC₅₀ értékei

Komplexek	IC ₅₀ (μM)
Cu,Zn-SOD	0,4
SG–His-OMe–Mn(II)	31
SG–His-OMe–Mn(II)–H-His-OMe	26
SG–Cys-OMe–Mn(II)	39
SG–Cys-OMe–Mn(II)–H-Cys-OMe	30
SG–(Cys-OMe) ₂ –Mn(II)	32
SG–(Cys-OMe) ₂ –Mn(II)–(H-Cys-OMe) ₂	19
SG–His-OMe–Ni(II)	10
SG–His-OMe–Ni(II)–H-His-OMe	59
SG–Cys-OMe–Ni(II)	61
SG–Cys-OMe–Ni(II)–H-Cys-OMe	170
SG–(Cys-OMe) ₂ –Ni(II)	79
SG–(Cys-OMe) ₂ –Ni(II)–(H-Cys-OMe) ₂	91

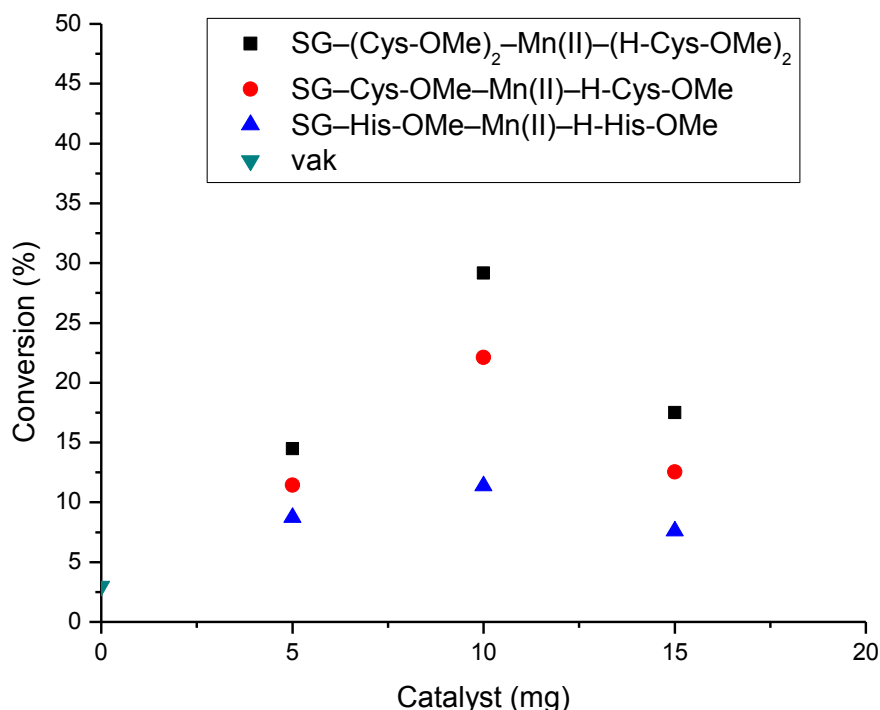
4.7. A ciklohexén oxidációja

A munkám fő célja az, hogy olyan heterogén katalizátorokat állítsak elő, melyek alkalmazhatók különféle szeves vegyületek szelektív oxidálására. A ciklohexén oxidációjában teszteltem katalizátorként az immobilizált komplexeket. A reakció során 4 főtermék keletkezhet: ciklohexén-oxid, 2-ciklohexén-1-ol, 2-ciklohexén-1-on és 1,2-ciklohexándiol [42].

A kísérleti körülményeket a legjobb kitermelés, illetve szelektivitás érdekében variáltam. Először a bemért katalizátor mennyiségét változtattam. A rögzített komplexekből 5, 10, illetve 15 mg-ot mértem be, oxidálószerként diacetoxi-jodozilbenzolt, oldószerként diklórmetánt alkalmaztam, a reakcióidő 1 óra volt. Minden más paraméter megegyezik a kísérleti részben leírtakkal. Az eredményeket azon három mangántartalmú felületi komplexen mutatom be, melyek a SOD aktivitásmérés alapján a legaktívabbnak bizonyultak (36. ábra).

Látható, hogy a koncentrációfüggés maximumgörbe szerint változik, 5 mg katalizátor bemérése esetén a vizsgált komplex még nem fejt ki a maximális hatást, 15 mg esetén pedig

már inhibálja a reakciót. Az optimális mennyiség minden esetben 10 mg-nak bizonyult. A katalizátort nem tartalmazó reakció konverziója 3 % volt. A katalizátor, ilyen körülmények között egyik termékre sem szelektív.



36. ábra: A konverzió ábrázolása a bemért katalizátormennyiség függvényében

Ezután megállapítottam az optimális reakcióidőt, 10 mg katalizátor alkalmazásával. A többi paraméter megegyezett a koncentrációfüggésnél alkalmazottakkal. A reakció minden esetben lejátszódott 1 óra alatt, sem a konverzió, sem a szelektivitás nem változott jelentősen az idő növelésével.

A következő paraméter amit változtattam az oldószer volt. Megvizsgáltam a mintáimat különböző jellegű oldószerekben. A diklórmetán poláris aprotikus oldószer, ebből az oldószer-csoportból még az acetont választottam. Apoláris oldószernek a kloroformot, míg poláris protikus oldószernek a 2-propanolt és a metanolt alkalmaztam. Jól értelmezhető oldószerfüggésről nem beszélhetünk. A legrosszabb konverziókat minden esetben a kloroform produkálta. A szelektivitás véletlenszerűen változik az oldószerekben, kiugróan magas értéket egyik oldószer esetében sem tapasztaltam. A mangántartalmú minták közül a legnagyobb konverziót 10 mg SG-His-OMe-Mn(II) alkalmazásával értem el 2-propanolban (6. táblázat).

6. táblázat: Konverzió és szelektivitás adatok a SG–His-OMe–Mn(II) komplexre

Oldószer	Konverzió (%)	Epoxid (%)	Alkohol (%)	Keton (%)	Diol (%)
diklórmétán	15	31	19	29	21
acetón	22	24	27	29	20
metanol	23	20	25	19	36
2-propanol	28	16	20	34	30
kloroform	7	19	42	22	17

A szilikagélen rögzített Ni(II)-komplexekre is hasonló értékeket kaptam, a legnagyobb konverziót (25 %) a SG–His-OMe–Ni(II) komplex mutatta 2-propanolban.

Végül az oxidálószeret változtattam, először H₂O₂-t alkalmaztam, ekkor azonban nem keletkezett termék, vélhetően azért, mert a szintetizált komplexek kataláz aktivitással is rendelkeznek. Ezek után peracetsavat használtam oxidálószerként, remélve, hogy a kataláz aktivitás kevésbé számít szerves peroxid esetén. Diklórmétánban, acetónban és 2-propanolban végeztem el a méréseket. A peracetsav katalizátor nélkül is oxidálta a ciklohexént, oldószerként megmértem a vak reakciókat is.

Ereményeimet itt is a SG–His-OMe–Mn(II) komplexre mutatom be (7.táblázat), mely a legnagyobb aktivitással és szelektivitással rendelkezett.

8. táblázat: Konverzió és szelektivitás adatok a SG–His-OMe–Mn(II) komplexre

Oldószer	Konverzió (%)	Epoxid (%)	Alkohol (%)	Keton (%)	Diol (%)
diklórmétán (vak)	60	88	0	1	11
diklórmétán	76	98	1	0	0
acetón (vak)	8	49	15	12	24
acetón	23	73	11	11	5
2-propanol (vak)	11	61	2	4	34
2-propanol	14	88	2	1	9

Összeségében elmondható, hogy a peracetsav önmagában is epoxidszelektív oxidálószer, azonban az általam előállított katalizátorok alkalmazásával lehetett növelni az

epoxidszelektivitást és a konverziót. A Ni(II)-komplexekre is hasonló eredményeket kaptam, a legaktívabb és legszelektívebb katalizátor közülük is a SG–His-OMe–Mn(II) volt.

A továbbiakban tervezem a reprodukálhatóság és katalizátor újrafelhasználhatóságának vizsgálatát.

5. Összefoglalás

Munkám során Mn(II)-, illetve Ni(II)- tartalmú védett aminosavat tartalmazó SOD enzim utánzó komplexeket rögzítettem klórpropilezett szilikagélen. A szintézis során funkcionális modellezést alkalmaztam, mivel a szintézis célja az volt, hogy a modellrendszerünk redoxireakciókban az enzimekhez hasonló nagy szelektivitást és aktivitást mutasson, kiegészítve azzal az előnnyel, hogy heterogén katalizátor lévén a reakcióelegyből könnyen kiszűrhető és újrafelhasználható legyen.

A rezgési spektrumok, legfőképpen az analitikai hullámszám-tartományban detektált spektrumok azt mutatták, hogy a szintézis sikeres volt, hiszen a szilárd hordozóra rögzítés után megtalálhatóak voltak az aminosavak rezgési sávjai, majd a komplexképzés után bizonyos sávok eltolódásából következtethettünk arra is, hogy lejátszódott a komplexképzés.

Feladatom volt még az előállított komplexek mennyiségi analízise és szerkezetvizsgálata is. A mennyiségi analízist Kjeldahl-féle nitrogénmeghatározás segítségével, illetve (a fémionokra nézve) ICP-OES módszerrel hajtottam végre.

A szerkezetvizsgálat során a különféle műszeres módszerek segítségével meghatároztam, hogy mely funkciós csoportok vesznek részt a komplexképzésben. A közép infravörös spektrumok alapján megállapítottam, hogy a karboxilátcsoport oxigénje minden esetben részt vesz a komplex kialakításában, valamint a ciszteintartalmú anyagokban a tiolátkén is mindig szerepel a koordinációs szférában. A fémion–heteroatom kötés detektálására a távoli IR spektroszkópiát, illetve a Raman spektroszkópiát alkalmaztam. Kiderült, hogy a hisztidin esetében az imidazolnitrogén koordinációja mindig feltételezhető, a tiolátcsoportot tartalmazó ciszteinnél megfigyelhető a kén koordinációja. Néhány esetben az aminonitrogén is koordinál.

Az ESR spektroszkópia segítségével megállapítható volt, hogy a mangán két különböző környezetben található meg a komplexekben (illetve a felületen). A jól felhasadt jel lokalizált mangáncentrumokhoz köthető. A kiszélesedett jel pedig a térben egymáshoz közeli mangáncentrumokra utal. A g értékek közül a hisztidintartalmú komplexek értéke eltér a többi komplexhez tartozó g értékektől. Minden felületi komplex oktaéderes szerkezetű.

Az UV-DRS segítségével megállapítottam, hogy a nikkelt tartalmazó komplexek egy kivételtől eltekintve oktaéderes szerkezetűek.

Feladataim közé tartozott még az elkészített komplexek SOD aktivitásának mérése, valamint a komplexek katalizátorként való felhasználása a ciklohexén oxidációs reakciójában.

Minden komplex mutatott SOD aktivitást, és a legnagyobb aktivitásúak már csak másfél nagyságrenddel tértek el (kisebbek voltak) a Cu,Zn-SOD enzim aktivitásától. A komplexek képesek voltak katalizáló hatást kifejteni a ciklohexén oxidációja során.

Összességében, tehát sikeresen szintetizáltam SOD enzimet utánzó komplexeket, amelyek mennyiségi analízisét elvégeztem. Sokféle műszeres módszer felhasználásával szerkezeti információkat nyertem az előállított felületi komplexekről. Végezetül pedig két reakcióban teszteltem az előállított termékek aktivitását.

6. Irodalomjegyzék

1. É. S.-Bányai Éva, in Biokémia jegyzet (É. S.-Bányai, szerk.), Szent István Egyetem Kémia és Biokémia Tanszék, Budapest, 2001, pp. 70–87
2. A. Faragó, in Orvosi biokémia (V. Ádám, szerk.), Medicina Könyvkiadó Zrt., 2006, pp. 21–43
3. T. Kiss, T. Gajda, B. Gyurcsik, Bevezetés a bioszervetlen kémiába, Nemzeti Tankönyvkiadó, 2007, pp. 45-58, 135-138
4. B.G. Malmström, L.E. Andreasson, B. Reinhammar, Enzymes, Academic Press New York, 1975, pp. 533–538
5. R.H. Holm, P. Kennepohl, E.I. Solomon, Chem. Rev. 96 (1996) 2239
6. Cs. Kállay, Doktori (PhD) értekezés, Debrecen, 2005
7. I. Pálinkó, in Inorganic Biochemistry: Research Progress. Nova Science Publishers Inc., 2008, Ch 10, pp. 281–303
8. A.F. Miller, Curr. Opin. Chem. Biol. 8 (2004) 162
9. D.P. Barondeau, C.J. Kassmann, C.K. Bruns, J.A. Tainer, E.D. Getzoff, Biochem. 43 (2004) 8038
10. N. Miletic, A. Nastasovic, K. Loos, Biores. Techn. 115 (2012) 126
11. F. Bellezza, A. Cipiciani, U. Costantino, J. Mol. Catal. B 26 (2003) 47
12. A.M. Azevedo, D.M.F. Prazeres, J.M.S. Cabral, L.P. Fonseca, J. Mol. Catal. B 15 (2001) 147
13. J. Chen, W. Lin, Enz. Micr. Techn. 32 (2003) 801
14. A.E. Martin, S.J. Lippard, J. Am. Chem. Soc. 106 (1984) 2579
15. P.K. Coughlin, A.E. Martin, J.C. Dewan, E.-I. Watanabe, J.E. Bulkowski, J.-M. Lehn, S.J. Lippard, Inorg. Chem. 23 (1984) 1004
16. C.-L. O'Young, J.C. Dewan, H.R. Lilienthal, S.J. Lippard, J. Am. Chem. Soc. 100 (1978) 7291
17. R.N. Patel, N. Singh, K.K. Shukla, U.K. Chauhan, Spectrochim. Acta Part A 61 (2005) 287
18. J. S. Pap, B. Kripli, V. Bányai, M. Giorgi, L. Korecz, T. Gajda, D. Árus, J. Kaizer, G. Speier, Inorg. Chim. Act. 376 (2011) 158
19. R.N. Patel, N. Singh, K.K. Shukla, V.L.N. Gundla, U.K. Chauhan, J. Inorg. Biochem. 99 (2005) 651
20. A.L. Abuhijleh, J. Inorg. Biochem. 68 (1997) 167

21. D. Li, S. Li, D. Yang, J. Yu, J. Huang, Y. Li, W. Tang, *Inorg. Chem.* 42 (2003) 6071
22. S. Autzen, H.-G. Korth, R. Boese, H. de Groot, R. Sustmann, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2003) 1401
23. D. Kovala-Demertzi, A. Galani, M.A. Demertzis, S. Skoulika, C. Kotoglou, *J. Inorg. Biochem.* 98 (2004) 358
24. A.E. Martin, S.J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 2579
25. P.K. Coughlin, S.J. Lippard, *Inorg. Chem.* 23 (1984) 1446
26. P.K. Coughlin, A.E. Martin, J.C. Dewan, E.-I. Watanabe, J.E. Bulkowski, J.-M. Lehn, S.J. Lippard, *Inorg. Chem.* 23 (1984) 1004
27. R. Duchateau, *Chem. Rev.* 102 (2002) 3525
28. Y. Iamamoto, K.J. Ciuffi, H.C. Sacco, L.S. Iwamoto, O.R. Nascimento, C.M.C. Prado, *J. Mol. Catal. A Chem.* 116 (1997) 405
29. G. Gelbard, T. Gauducheau, E. Vidal, V.I. Parvulescu, A. Crosman, V.M. Pop, *J. Mol. Catal. A Chem.* 182-183 (2002) 257
30. A. Molinari, R. Amadelli, V. Carassiti, A. Maldotti, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2000) 91
31. J. Jarupatrakom, T.D. Tilley, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 8380
32. Rockenbauer, A., Korecz, L. *Appl. Magn. Reson.* 10 (1996) 29
33. C. Beauchamp, I. Fridovich, *Anal. Biochem.* 44 (1971) 276
34. S.J. Swamy, E. R. Reddy, D. N. Raju, S. Jyothy, *Molecules* 11 (2006) 1000
35. S. K. Papageorgiou, E. P. Kouvelos, E. P. Favvas, A. A. Sapalidis, G. E. Romanos, F. K. Katsaros, *Carb. Res.* 345 (2010) 469
36. G. Varga, Z. Csendes, P. Sipos, I. Pálkó, XXXV. Kémiai Előadói Napok, 2012, pp. 135–137
37. S.F. Parker, K. Shankland, J.C. Sprunt, U.A. Jayasooriya, *Spectrochim. Act. Part A.* 53 (1997) 2333
38. W. Maret, A. K. Shiemke, W. D. Wheeler, T. M. Loehr, J. Sanders-Loehr, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 6351
39. W. Li, G. Zhou, T. C. W. Mak, in *Advanced Structural Inorganic Chemistry*, Oxford Science Publications, 2008
40. S.K. Misra *Phys. B-Cond. Matter* 203 (1994) 193
41. P.F. Rapheal, E. Manoj, M.R. Prathapachandra Kurup, *Polyhedron* 26 (2007) 5088
42. H. Weiner, A. Trovarelli, R. G. Finke, *J. Mol. Cat. A: Chem.* 191 (2003) 217

Köszönetnyilvánítás

A dolgozatom végén szeretném megköszönni mindenki munkáját, aki segített a munkám során.

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek Dr. Pálinkó Istvánnak és Csendes Zitának, hogy lehetővé tették a dolgozat létrejöttét. Köszönetet kell mondanom, amiért elkezdhettem ezen a tématerületen dolgozni, és hogy bármikor fordulhattam hozzájuk segítségért.

Köszönetet szeretnék mondani az Anyag- és Oldatszerkezeti Kutatócsoport minden egyes tagjának, amiért segítettek a munkám során.

Köszönet illeti az ESR-spektrumok felvételéért és a kiértékelésben nyújtott segítségéért Dr. Nagy Nóra Veronikát az MTA Kémiai Kutatóközpontjának munkatársát. Köszönetet szeretnék mondani Dr. Dékány Imrének, az SZTE Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék egyetemi tanárának, hogy lehetővé tette az UV/DRS mérések kivitelezését.

Munkájukat ezúton is köszönöm.