



[O,N]-donorcsoportú ligandumok, mint potenciális vasmegkötők

Tudományos Diákköri Dolgozat

Lihi Norbert
I. évf. Vegyész MSc

Témavezető: Dr. Várnagy Katalin
Egyetemi docens

Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék
Debrecen, 2012

Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönöm témavezetőmnek, *Dr. Várnagy Katalin* egyetemi docensnek, hogy a három éven át tartó közös munkánk során mind emberi, mind szakmai kérdésekben számíthattam a segítségére. Munkámat mindig nagy figyelemmel kísérte és tanácsaival segítette.

Ezúton szeretném megköszönni *Prof. Dr. Fábíán István* tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetővé tette számomra a dolgozat elkészítését az általa vezetett Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszéken.

Köszönöm *Prof. Dr. Sóvágó Imre* professzor emeritusnak, hogy a Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoportban dolgozhattam.

Köszönöm *Prof. Dr. Farkas Etelka* egyetemi tanárnak és *Dr. Buglyó Péter* egyetemi docensnek, hogy kérdéseimmel bármikor számíthattam a segítségükre.

Köszönöm *Dr. Timári Sarolta* tudományos segédmunkatársnak a CV mérésekben nyújtott segítségét, illetve szakmai tanácsait.

Hálásan köszönöm *Godó Attilának* a preparatív munkában nyújtott segítségét, hasznos tanácsait.

Köszönöm *Dr. Kiss Attila* egyetemi adjunktusnak az IR spektrumok felvételét és az elemanalízis elvégzését, továbbá *Dr. Nagy Lajos* egyetemi adjunktusnak a tömegspektrometriás méréseket.

Szeretném megköszönni a D408-as labor összes dolgozójának a munkám során nyújtott segítségüket és hogy a munka elvégzéséhez mindig baráti légkört teremtettek.

A munka elvégzéséhez köszönöm a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024 számú pályázat anyagi támogatását.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Irodalmi előzmények	5
2.1. A vas biológiai szerepe	5
2.2. A vas(III)- és vas(II)ionok koordinációs kémiája	6
2.2.1. A +3-as oxidációs állapot (d^5 elektronszerkezet).....	6
2.2.2. A +2-es oxidációs állapot (d^6 elektronszerkezet).....	7
2.3. A vas(II)- és vas(III)-rendszerek redoxi tulajdonságai.....	8
2.4. Vas-kelátorok	9
3. Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek.....	13
3.1. Felhasznált vegyszerek.....	13
3.2. pH-potenciometria.....	14
3.3. UV-látható spektroszkópia	15
3.4. Ciklikus voltammetria	16
3.5. ^1H -NMR spektroszkópia	17
3.6. Tömegspektrometria.....	17
3.7. Infravörös spektroszkópia	17
3.8. A vas(III)-komplexek előállítása.....	18
4. Kísérleti eredmények és értékelésük	20
4.1. A ligandumok sav-bázis sajátságai	20
4.2. A vizsgált vegyületek vas(III)-komplexei.....	24
4.3. Szilárd fázisú vizsgálatok a vas(III)-rendszerekben.....	30
4.4. A vizsgált vegyületek vas(II)-komplexei	34
4.5. Redoxi paraméterek a vizsgált rendszerekben	37
5. Összefoglalás	39
6. Hivatkozások.....	41

1. Bevezetés

Régóta ismert, hogy számos fémion rendkívül fontos szerepet tölt be az élő szervezetben lejátszódó folyamatokban. Ez lehet egy kismolekula szállítása, tárolása, különböző szintézisek, valamint katalízis. A folyamatokban fémiont tartalmazó metalloproteinek és metalloenzimek vesznek részt. Ezeknek közös tulajdonsága, hogy a fémion nagy szerves molekulákhoz igen gyakran koordinatív kötéssel kapcsolódik.

A fémionok az élő szervezetben meghatározott koncentrációban vannak jelen. Hiányuk, de sok esetben felhalmozódásuk is különböző fajta megbetegedéseket, elváltozásokat eredményezhet. Ezért a fémionoknak olyan kisebb molekulákkal történő vizsgálata, amely molekulák modellezni tudják egy-egy enzim aktív centrumát vagy a vizsgált fémionhoz specifikusan kötődnek, lehetőséget adhat a fémion háztartás felborulása miatt kialakuló betegségek kezelésére.

Ezen fémionok közül a vas az élő szervezet legnagyobb mennyiségben előforduló nyomeleme. Fő szerepe az oxigén molekula szállítása, tárolása, valamint különböző elektrontranszfer folyamatoknak a közvetítése. Utóbbi esetben a vas(II)- és vas(III)ionok közötti vegyértékváltás által valósul meg a transzferfolyamat. A vas felhalmozódásának egyik betegségét talasszémiás megbetegedésnek nevezzük. A gyógykezelés során a vasat el kell távolítani a szervezetből. Ennek egyik legfontosabb módszere a vérátömlesztés, valamint a mikrobiális sziderofór deszferrioxamin alkalmazása. Utóbbinak nagy hátránya azonban, hogy csak intravénásan adható. Emiatt a gyógyászatban megjelent az olyan új készítményekre való igény, amelyeket szájon át is szedni lehet, megoldva ezzel az infúziós kezelés helyhez kötöttségének problémáját. Ezeket a vegyületeket vas-kelátoroknak nevezzük, amelyekkel szemben támasztott elvárások [1]:

- A vas megkötése irreverzibilis és szelektív legyen
- A létrejövő komplex ne legyen toxikus
- A komplex ne vegyen részt katalitikus folyamatokban
- A komplex kinetikailag inert legyen és a székletben választódjon ki

A vas-kelátorokkal rendkívül széles körű irodalom foglalkozik, szintézisüktől kezdve biológiai, orvosi alkalmazásukig. A vegyületek oldategyensúlyi vizsgálata, sav-bázis karakterének megismerése azonban sok esetben hiányos. Az irodalomban található eredmények meghatározása gyakran különböző koncentrációjú szerves oldószer-víz elegyben

történt, a vizes oldatra vonatkozó eredményeket pedig extrapolálással nyerték [2]. Továbbá az is elmondható, hogy a vizsgálatokat sok esetben csak vas(III)ionnal végeztek, a vas(II)-komplexek stabilitásának megállapítása pedig ciklikus voltammetriával történt, amely akkor fogadható el, ha azt feltételezzük, hogy a redukció során a fémion koordinációs szférája nem változik.

A fentiek alapján célul tűztük ki három potenciális vas-kelátor oldategyensúlyi vizsgálatát, valamint komplexképződésük tanulmányozását vas(II)- és vas(III)ionokkal szilárd fázisban is. Vizsgálati módszerként pH-potenciometriát, UV-látható spektroszkópiát, ciklikus voltammetriát, ESI-MS-t és ^1H -NMR-t alkalmaztunk. A szilárd fázisú vizsgálatokat IR spektroszkópiával és elemanalízis segítségével egészítettük ki.

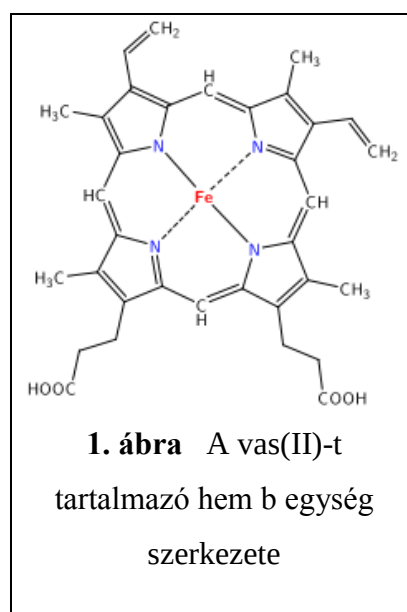
2. Irodalmi előzmények

2.1. A vas biológiai szerepe [3,4]

A vas az élő szervezetben jelenlevő, legnagyobb mennyiségben előforduló nyomelem. Egy átlagos emberi felnőtt szervezet 4 gramm vasat tartalmaz, amelyből 3 gramm hemoglobin formájában található meg. Ez a mennyiség jól mutatja a vas egyik legfontosabb funkcióját, az oxigén szállítását, tárolását. Emellett különböző redoxi folyamatok közvetítését is ezek a fémionok végzik.

Az oxigén szállítása a vérben a hemoglobin által valósul meg. Röntgenkristallográfiás vizsgálatok alapján szerkezete régóta ismert. Négy alegységből épül fel, amelynek mindegyike egy fehérjemolekulát tartalmaz egy összekevert hélix, vagy spirál formájában. Ezen fehérjék mindegyike egy-egy vastartalmú hem csoporthoz koordinálódik. A vas a hem egység belsejében protoporfirin vázhoz kötött (1. ábra). A koordináció a protoporfirin IX négy nitrogénatomján, illetve a disztális hisztidin imidazol nitrogénatomján keresztül valósul meg. Az oktaéderes elrendeződésű vas(II) kristályterében a hatodik koordinációs hely magának az oxigénnek van fenntartva. Az oxigén felvételekor a disztális hisztidin elfordulása után a vashoz koordinálódik az oxigénmolekula, amelynek során a vas a nagy spinszámú állapotából a kis spinszámú állapotába kerül. A folyamat ionsugárcsökkenéssel jár, így a vas belefér a protoporfirin váz síkjába. Ha ez a folyamat a dezoxihemoglobin egyik alegységében bekövetkezik, az átrendeződés olyan mértékű, hogy a többi alegységben is megtörténik az oxigén koordinációja.

Az élő szervezetben lejátszódó elektrontranszfer folyamatok közvetítését végző vastartalmú fehérjéknek két nagy csoportja ismert. Egyik típusuk az ugyancsak hem csoportot tartalmazó citokrómok, másik pedig a vas-kén fehérjék. A citokrómok további három csoportja - az *a*, *b* és *c* - a glükóz molekuláris oxigénnel bekövetkező oxidációjában töltenek be közbenső szerepet. Szerkezetük hasonló a korábban említett hemoglobinnéhoz: a vas a protoporfirin váz négy nitrogénatomjával, továbbá a hisztidin aminosav imidazol nitrogénjén keresztül létesít koordinatív kötést. A különbség a hatodik koordinációs helyben van. A



citokróm *a* és *b* esetén újabb imidazol nitrogén, a citokróm *c* esetén pedig a metionin tioéter kénatomja koordinálódik. A legegyszerűbb vas-kén fehérje a rubredoxin, amelyben a vasat négy cisztein kénatomja veszi körül. A szervezetben lejátszódó transzferfolyamatokban számos reakciólépés valósul meg, amelyben a vas a +2 és +3-as oxidációs állapot között változik.

Abban az esetben, ha a vas koncentrációja a szervezetben lecsökken, vashiányos állapot alakul ki. Ennek oka lehet a hiányos táplálkozás, vérvesztés vagy terhesség. A betegség tünetei a vérszegénység (anémia), melynek során kevesebb oxigén tud a tüdőből a szervezetbe jutni. Emiatt gyakori kísérőként jelentkezik a fáradtság, kimerültség, fejfájás. Kezelés hiányában csecsemőknél fejlődési zavarok, felnőtteknél szívproblémák léphetnek fel. A betegség azonban könnyen kezelhető, egészséges étrenddel (babfélék, tojás és a borsó is magas vastartalmú táplálékok), vaspótló gyógyszerkészítményekkel, valamint megfelelő mennyiségű C-vitamin fogyasztással (a vas felszívódását a C-vitamin elősegíti [4]) kellő mennyiségű vas juttatható a szervezetbe. Ezzel szemben a vas felhalmozódása már komolyabb egészségügyi problémát jelent. Mediterrán területeken igen elterjedt örökletes betegség a β -talasszémia. A betegség molekuláris magyarázata ismert, nevezetesen a hemoglobint felépítő négy aminosavlánc egyikének elégtelen termelődése okozza ezt az örökletes betegséget. A kezelése tüneti, infúzióval bevitt deszferrioxamint (Desferal) intravénásan vagy bőr alá fecskendeznek be, általában 8-10 órán keresztül naponta, heti öt alkalommal. Emiatt a betegség rendkívüli mód kihat a páciens életminőségére, valamint magának a deszferrioxaminnak a toxikussága sem elhanyagolható. Mellékhatásként a csontok deformációja, látási és hallászervi panaszok, az agy szövetállományának mérgezése és további más hatások léphetnek fel [5].

2.2. A vas(III)- és vas(II)ionok koordinációs kémiája [3]

2.2.1. A +3-as oxidációs állapot (d^5 elektronszerkezet)

A vas leggyakoribb oxidációs formáját a +3-as forma jelenti. Koordinációs kémiai viselkedését tekintve komplexei egyaránt lehetnek nagy- és kis spinszámúak, amelyeket az oktaéderes geometria jellemez, de sok esetben másfajta elrendeződés is megvalósul a központi fémion körül. Kis méretű, kompakt kation, ennek következtében számos átmeneti fémiontól eltérően, az O-donortartalmú ligandumokkal nagyobb stabilitású komplexet képez,

mint a N-donortartalmúakkal. Ezt mutatja az is, hogy amíg a vas(II) esetén létezik ammin-komplex, addig vas(III) esetén az ammin-komplex instabil, vízben disszociál.

A hidratált vas(III)ionok akvakomplexének színe halványlila és csak erősen savas oldatban létezik. A vas(III) elektronkonfigurációja a mangán(II)ionnal egyezik meg, így az várható, hogy csak kis intenzitású, spintiltott átmeneteket tartalmaz. A vasnak azonban a +3-as töltése nagyfokú polarizáltságot fejt ki a környezetében lévő ligandumokra. Ez azzal jár, hogy az intenzív töltésátviteli sávok a kisebb energiájú tartomány felé tolódnak a mangán(II)-komplexekhez képest. A spintiltott átmenetek eredményeképpen a spektrumokat a közeli ultraibolya tartományban a töltésátviteli sávok határozzák meg, ezek gyakran elfedik a látható tartományban a d-d átmeneteket, amelyek a vas(III) spektrumok nehéz kiértékelését vonják maguk után.

A vas(III)ionok O,N-donoratomú vegyeskomplexei régóta ismeretesek. Jelentősek abból a szempontból, hogy az oktaéderes elrendeződés mellett megvalósul a hetes koordinációjú pentagonális bipiramis, illetve az ötös koordinációjú négyzetes piramisos forma is. Ez a nagyspínszámú komplexekben jelentős, ahol a geometria megváltozása nem jár kristálytér stabilizációs energiával, ezáltal az oktaéderes elrendeződéstől eltérő forma is megjelenhet.

2.2.2. A +2-es oxidációs állapot (d^6 elektronszerkezet)

A vas második leggyakoribb oxidációs állapotát a +2-es forma jelenti. Komplexképző sajátságait tekintve N-donortartalmú ligandumokkal a komplexképző hajlamuk nagyobb, mint a vas(III)ionoknak. O-donorú ligandumokkal alkotott komplexeinek stabilitása kisebb, száma kevesebb, mint a vas(III)ionok esetén. Ez a hard-soft elmélettel magyarázható elsősorban. A vas(III) kompakt hard kationként a hard karakterű oxigénnel kedvezőbben lép kölcsönhatásba, mint a vas(II).

A legtöbb vas(II)-komplex oktaéderes elrendeződésű. Halogenidekkel, pszeudohalogenidekkel azonban gyakran a tetraéderes elrendeződés is megvalósul.

2.3. A vas(II)- és vas(III)-rendszerek redoxi tulajdonságai

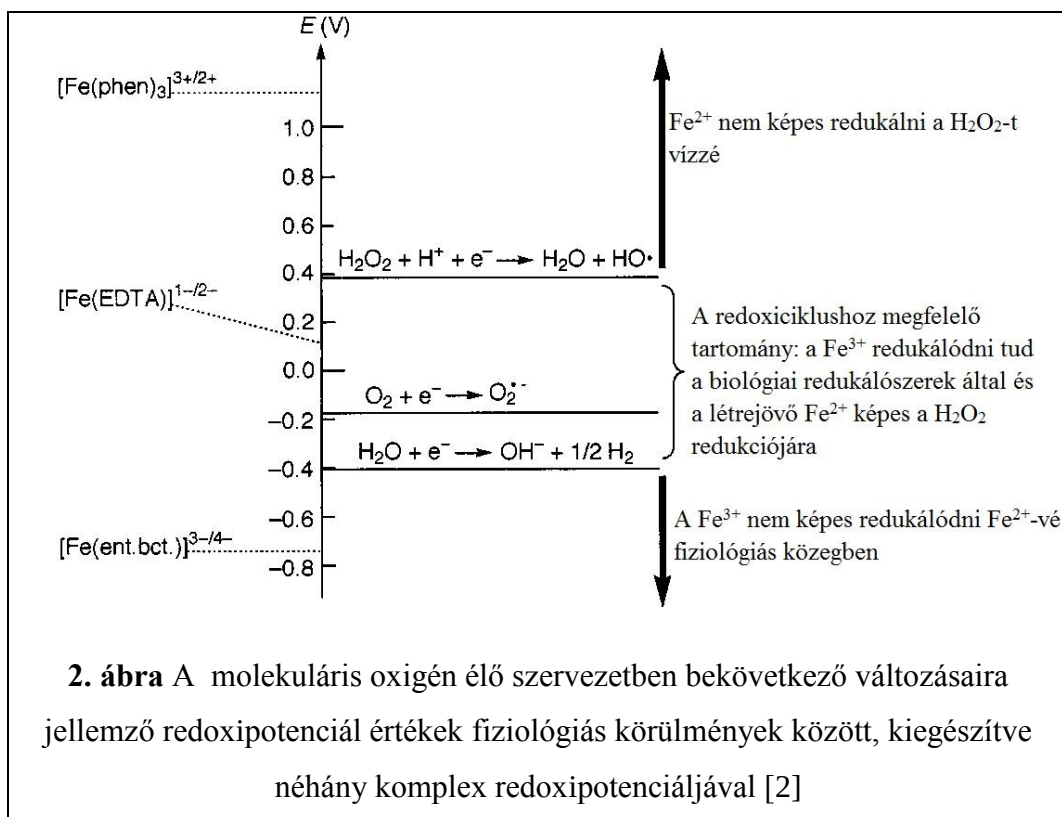
A vas, mint könnyen vegyértékváltó fémion, különböző ligandumokkal képzett komplexei a stabilitás mértékétől függően eltérő standard redoxipotenciál értékkel jellemezhetők. Amíg a vas(III), mint pozitívabb töltésű fémion a negatív töltésű ligandumokkal (EDTA, 8-hidroxi-kinolin) stabilizálható, addig a vas(II) inkább a semleges molekulákkal stabilizálódik (pl. 2,2'-dipiridil), amelyben lehetőség van a töltés delokalizációjára a ligandum π -pályáinak közreműködésével.

Az akvakomplexre vonatkozó standardpotenciál érték pozitív (0,77 V), amely azt jelenti, hogy a vas(III) redukálható hidrogéngázzal, és a vas(II)-akvakomplex nem elég stabilis ahhoz, hogy levegőn eltartható legyen, bekövetkezik a vas(III)-má való oxidációja. Ez savas és semleges pH tartományban lassú folyamat, lúgos közegben azonban a formálpotenciál érték jelentősen lecsökken, a vas(II)ionok rendkívül nagy hajlamot mutatnak az oxidációra, ami magyarázza azt is, hogy kellően lúgos közegben a vas(II) képes a nitrát iont ammóniáig redukálni [3].

A gyógyászatban alkalmazott vasmegkötők formálpotenciáljának a megismerése a képződő komplexek stabilitásának a meghatározás mellett azért is döntő fontosságú, mert ezek a komplexek szerepet játszhatnak az oxidatív stressz kialakulásában. Az oxidatív stressz teljes mechanizmusa ma még vita tárgyát képezi, azonban az elfogadott, hogy vas-katalizált folyamatokban OH gyökök képződnek, továbbá hogy a szuperoxid gyökanion képes redukálni a vas(III)-at vas(II)-vé, amely viszont redukálja a hidrogén-peroxidot OH gyökké és hidroxid ionná. Ez azzal van összefüggésben, hogy a sejtekben az oxigén szintje nagyobb, mint a hidrogén-peroxidé és az oxidatív stressz kezdeti lépése inkább az oxigén molekula és a vas(II) reakciójához rendelhető hozzá, sem mint a hidrogén-peroxidéhoz. A vas(III) redukciója vas(II)-vé azonban nemcsak a szuperoxid gyökanion által következik be, hanem a szervezetben előforduló redukálószeres, mint az aszkorbinsav vagy a tiolok is okozhatják ezt a változást. Azt viszont fontos megemlíteni, hogy a nagy és a kis redoxipotenciálú vas-komplexek nem járulnak hozzá az oxidatív stressz kialakulásához. Emiatt a különböző vas-kelátorok alkalmazásakor nem elég a kialakult komplex stabilitásának az ismerete, hanem annak redoxipotenciál értékéről is szükségesek az ismeretek.

0,4 V felett a vas(II) nem tudja redukálni a hidrogén-peroxidot vízzé és szabad hidroxilgyökké. Ez alatt az érték alatt, $\sim -0,4$ V-ig tart az a tartomány, amelyben lehetőség van a reverzibilis redoxiciklusokra. Itt bekövetkezik a molekuláris oxigén szuperoxid

gyökianionná, illetve a víz hidroxiddá történő alakulása. Ezalatt a potenciálérték alatt a vas(III) nem tud vas(II)-vé redukálódni [2].



Ezek alapján vas-kelátorok alkalmazásakor lényeges, hogy a képződött komplex formálpotenciál értéke fiziológias pH-n a $-0,4$ V alatti vagy $0,4$ V feletti érték legyen.

2.4. Vas-kelátorok

A korábban említett deszferrioxamin negatív hatásai miatt az irodalomban számos vas-kelátorról található információ. Általános elv, hogy a vas(II) felszívódása a kedvező, azonban megkötése vas(III)ionok formájában történik. A gyógyászatban alkalmazható vas-kelátoroknak számos követelménynek kell megfelelni. A képződő komplex stabilitása és redoxipotenciál értéke mellett fontos paraméter a pFe :

$$pFe = -\lg[Fe^{3+}] \quad (1)$$

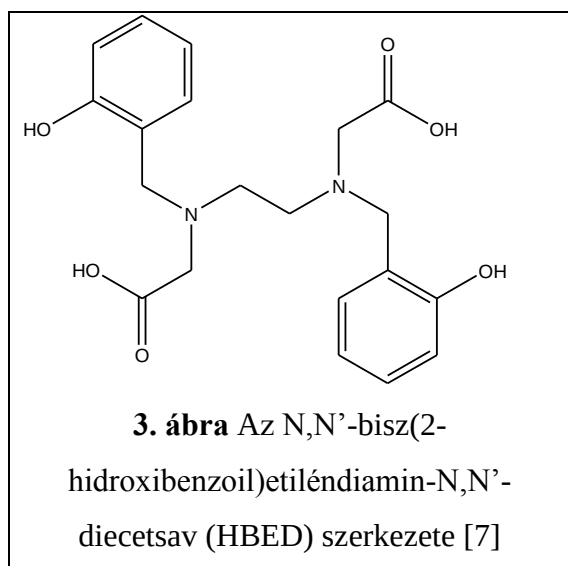
A pFe -t általában $pH=7,4$ -re vonatkoztatva adják meg és értéke minél nagyobb, a vegyület annál jobban alkalmazható vas-kelátorként.

Borsari és munkatársai a természetben megtalálható Máriatövis hatóanyagát, a szilibint vizsgálták a vas megkötése szempontjából. Maga a vegyület flavonoid alapvázú,

antioxidáns hatású, oldalláncban hidroxil csoportokat tartalmaz. Rossz vízoldhatóságú, emiatt a méréseket DMSO és/vagy metanolos közegben végezték. Az eredmények azt mutatták, hogy a szilibin egy fémion megkötésére képes, amelynek során öttagú kelátgyűrű stabilizálja a vas(III)-at. A koordináció kétfogú. Fiziológias pH-n azonban a szabad koordinációs helyre metoxid-csoport tud koordinálódni, amely tovább növeli a komplex stabilitását, de nem ad információt a vizes közegre – mint amilyen az emberi szervezetre is jellemző – vonatkozóan [5].

A mesterségesen előállított potenciális vas-kelátorok általában oxigén donorcsoportokat tartalmaznak (hidroxil, oxo, vagy karboxilát). Ezen kívül gyakran jelen van a molekulában valamilyen nitrogén tartalmú csoport is, ami szintén részt vesz a koordinációban.

Polianionos aminok közül két vegyület, az N,N'-etilénbisz(2-hidroxifenilglicin) (EHPG) és az N,N'-bisz(2-hidroxibenzoil)etiléndiamin-N,N'-diecetsav (HBED) hexadentát ligandumként képes kötni a vas(III)-at. Mindkét vegyület nagy stabilitású komplexet képez a



fémionnal, a lgK érték az EHPG esetén 33,9, míg a HBED-nél (3. ábra) 39,6 [6]. Galey és munkatársai a HBED ligandum észterezését végezték el, valamint az aromás oldallánc szubsztituenseit kezdték módosítani. A módosított HBED származékok lipofilitása, oldhatósága növelhető, ami által könnyebb a szervezetben történő transzport. Az előállított vegyületek vas(III)-komplexeit tekintve a ligandumok a fémionhoz négyfogúan, az (N,N,O,O) donorcsoportokon keresztül

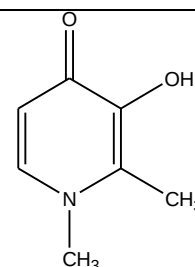
koordinálódnak. Ugyanakkor megállapították, hogy a különböző szubsztituensű HBED vegyületek vas(III)-komplexeinek redoxi paraméterei és redoxipotenciál értékei különböznek, más az oxidatív stressz kialakulásában játszott szerepük. Így például az aromás oldallánchoz kapcsolt metoxi-csoportok kiváltják az oxidatív stresszt, míg a karboxilcsoport metilészterezett származéka már védte az általuk vizsgált U937 nevezetű sejtet az oxidációtól [7].

A vas-kelátorok másik családját a 3-hidroxipiridin-4-on és származékai (4. ábra) adják. A vizsgálatok abból a szempontból fontosak, hogy a ligandumok triszkomplexet képezve telítik a vas(III) koordinációs szféráját, ugyanakkor a nitrogénhez kapcsolható

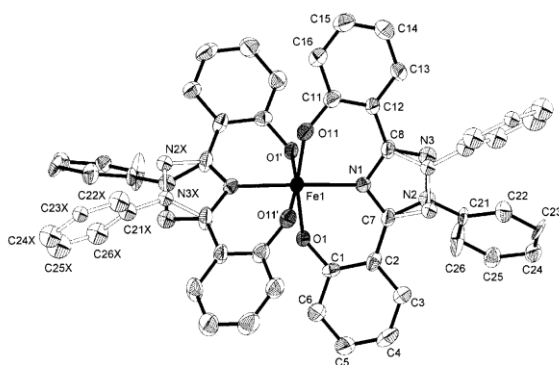
szubsztituensek a lipofilitást is növelni tudják. Az eredmények azt mutatják, hogy a komplex nem tudja katalizálni az OH gyökök képződését a szervezetben, ugyanakkor a vegyület számos vas-tartalmú enzimet inhibeál. Káros hatással van a csontvelőre, illetve agranulocitózist idézhet elő, amelynek hatása, hogy a szervezet fertőzéssel szembeni védekezőképessége lecsökken. Ezért Zhou és munkatársai dendrimerhez peptidkötéssel kapcsolták a 3-hidroxipiridin-4-ont, amelynek eredménye egy olyan vegyület lett, amely 6 fémion megkötésére képes. A komplex stabilitása a HBED vas(III)-komplexének stabilitásához volt hasonló [1].

A 4-[3,5-bisz(2-hidroxifenil)-1,2,4-triazol-1-il]benzoesav (Hypnetri) új, szájon át szedhető vas-kelátorként szolgál [8]. DMSO-ban történő oldategyensúlyi vizsgálatok kimutatták, hogy a fémionhoz két ligandum koordinálódik, létrehozva ezáltal csatolt, hattagú kelátgyűrűket.

A koordinációt röntgenkristallográfiás szerkezetmeghatározás is bizonyította (5. ábra) [2].



4. ábra Az 1,2-dimetil-3-hidroxipiridin-4-on (Ferriprox®) szerkezete



5. ábra A vas(III)-Hypnetri 1:2 összetételű komplexének röntgenkristallográfiás szerkezete [2]

A vegyület ma már a gyógyászatban kapható, Exjade (Novartis) néven. A klinikai tesztek harmadik fázisában bebizonyosodott, hogy a Hypnetri nagyon jól alkalmazható. A páciensek szervezete jól tolerálta, nem volt számottevő mellékhatás, valamint kevesebb mennyiség is elegendő volt a deszferrioxaminhoz képest, továbbá agranulocitózis sem

következett be [9].

Más kutatások megállapították, hogy rákos sejtek vas felvétele a normál sejtekhez képest megnövekedett [10], kifejezetten a ribonukleotid reduktáz esetén. Ez az enzim a dezoxiribonukleotid szintézisében, valamint a sejtosztódásban játszik fontos szerepet. Ezért a vas megkötése ezekben a sejtekben a rákellenes terápia részét képezheti. A kialakuló komplexek vas(II)/vas(III) formálpotenciál értékei az oxidatív stressz tartományába esnek,

vagyis a folyamatban reaktív OH gyök képződik, amely peroxidálja a sejtfal lipid rétegét, oxidálja a proteineket és károsítja a DNS-t [11]. Ezek az eredmények a vas-kelátorok egy másfajta alkalmazási lehetőségét is jelenthetik.

3. Kísérleti körülmények és vizsgálati módszerek

3.1. Felhasznált vegyszerek

Az általunk vizsgált rendszerek mérése vizes oldatokban történt. Az oldatok készítéséhez háromszor ioncserélt vizet használtunk. A felhasznált vegyszerek analitikai tisztaságúak voltak. A ligandumokat *Eugenio Garribba* (Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Sassari) bocsájtotta a rendelkezésünkre, tisztaságuk ismert volt. Ez a három ligandum a nátrium 3-[(2,4-dihidroxifenil)azo]-4-hidroxibenzolszulfonát, a 3-hidroxi-4-[(2-hidroxi-5-metilfenil)azo]-1-naftalinszulfonsav, valamint a 4-[3,5-bisz(2-hidroxifenil)-1,2,4-triazol-1-il]benzolszulfonsav. Magukat a vegyületeket az irodalomban triviális nevekkkel adják meg. Az előbbi sorrend alapján ezek az Anthracene Chrome Red A, Calmagite, valamint a Hyphetri-H₂SO₃H. A dolgozat további részében a vegyületeket az ACRA, CAL és HYP jelöléssel tüntetem fel.

A vas(III)-oldat koncentrációját ismert koncentrációjú nátrium-EDTA mérőoldattal, komplexometriásan határoztuk meg.

A vas(II)-oldatot fém vasból, sósavas oldással nyertük. Mivel a vas(II)ionok rendkívül nagy hajlamot mutatnak az oxidációra, méréseinket oxigénmentes körülmények között kellett végezni. Ehhez egy korábban alkalmazott rendszer regenerálását végeztük el. Ennek működési elve az, hogy fém cinket oldva sósavas króm(III)-klorid oldatban, a felszabaduló hidrogéngáz redukálja a króm(III)ionokat króm(II)ionokká, ezek az ionok pedig alkalmasak a gázpalackból vételezett argon tisztítására. A vas oldása során ezt a katalitikusan tisztított argont buborékolattuk át az oldaton, valamint a fémoldat tárolását és a minták kevertetését is ezzel biztosítottuk. A vas(II)-oldat pontos koncentrációjának a meghatározása ismert koncentrációjú, nátrium-oxaláttal hitelesített kálium-permanganát oldattal, titrálással történt. A savtartalmat a potenciometriás titrálás alapján a GRAN [12] függvény segítségével számoltuk ki. Mivel a fent említett módszer sem zárja ki teljesen azt, hogy bekövetkezzen bizonyos mennyiségű vas(II) oxidációja, ezért kalibráló sor felvétele után meghatároztuk a vas(II)-oldat vas(III) tartalmát. A meghatározás spektrofotometriásan történt, alapja hogy a vas(III)ionok tiocianáttal nagy stabilitású vörös színű komplexet képeznek, amelynek intenzitásából a koncentráció meghatározható [13]. A kapott eredmények alapján a vas(III) szennyezettség kevesebb, mint 1%-nak adódott.

3.2. pH-potenciometria

A komplexképződési egyensúlyok egyik legfontosabb vizsgálati módszere a pH-potenciometria. Vizes oldatokban, fémionnal történő komplexképződésre általánosan az alábbi egyensúlyi folyamat és az erre vonatkozó bruttó stabilitási állandó írható fel:



A koncentrációk és a titrálási adatok ismeretében a ligandumok és komplexek stabilitási állandójának a meghatározása a SUPERQUAD [14] és PSEQUAD [15] nevű számítógépes programmal történt. A program képes a bemenő adatok ismeretében (fémion, ligandum és hidrogénion analitikai koncentrációja, vízionszorzat, titráló oldat koncentrációja, egyedi részecskék pontos vagy közelítő stabilitása) a keresett stabilitási állandókat Newton-Raphson iteráció segítségével közelíteni mindaddig, amíg minimumot nem talál. A stabilitási állandók értékeit a kiindulási komponensekre felírható anyagmérleg-egyenletek adják:

$$c_M = [M] + \sum_{i=1}^n p_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (3)$$

$$c_L = [L] + \sum_{i=1}^n q_i \beta_{pqr} [M]_i^p [L]_i^q [H]_i^r \quad (4)$$

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

A kapott stabilitási állandó értékek alapján az adott rendszerekre jellemző eloszlási görbéket a MEDUSA [16] programmal szerkesztettük meg.

Méréseinkhez pHM 84 (Radiometer) digitális pH mérőt használtunk 6.0234.100 (Metrohm) kombinált üvegelektóddal. A ~0,2 mol/dm³-es pontosan ismert koncentrációjú kálium-hidroxid mérőoldat adagolását Dosimat plus 876 (Metrohm) automata buretta segítségével végeztük. Az elektród kalibrálása 0,050 mol/dm³ koncentrációjú kálium-hidrogénftalátra történt, amelynek pH-ja 298 K hőmérsékleten 4,008. Az állandó hőmérsékletet (25°C±1°C) ultratermosztát segítségével valósítottuk meg.

A minták kiindulási térfogata 10,00 cm³ volt. A fémion és ligandum arányát 1:10, 1:5, 1:3 és 1:1 között változtattuk. A minták állandó ionerősségét (0,20 mol/dm³) megfelelő térfogatú 1,0 mol/dm³ koncentrációjú kálium-nitrát oldat hozzáadásával biztosítottuk. Ez az ionerősség megegyezett a mérőoldat koncentrációjával, de jóval nagyobb volt, mint a minták fémion és ligandum koncentrációjának az összege. Ennek köszönhetően a titrálás során az

oldat ionerőssége állandó maradt. A diffúziós potenciál kiküszöbölésére az Irving és munkatársai által bevezetett módszert alkalmaztuk [17].

3.3. UV-látható spektroszkópia

Az elektrongerjesztési spektroszkópiák analitikai célokra talán legtöbbet alkalmazott módszere az UV-látható spektroszkópia, amelynél gerjesztés hatására, a molekula elektronpályái között létrejövő energia átmenetekről nyerhető információ. Fénybesugárzás hatására bekövetkezik az elektronátmenet, továbbá a rezgési és rotációs szintek gerjesztődnek, amely oldatok esetén fényelnyeléssel valósul meg. A fényelnyelés mértéke függ a vizsgált oldat koncentrációjától, valamint az anyagra jellemző moláris abszorpciós koefficiens értékétől, amelyek között kapcsolatot a Lambert-Beer törvény teremt:

$$A = -\lg\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (6)$$

A: abszorbancia

I_0 : kiindulási fénysugár intenzitása

I: az l cm hosszúságú küvettán áthaladó fénysugár intenzitása

ε : moláris abszorpciós koefficiens

c: koncentráció

l: küvettahossz

A spektrális vizsgálatok eredményeképpen egy adott komplex szerkezetére tudunk következtetni. Így például réz(II)-komplexek esetén a koordinált nitrogén atomok száma jelentősen befolyásolja az abszorpciós spektrumhoz tartozó maximumot, illetve ezen a hullámhosszon a moláris abszorbancia értékét [18]. A $\lambda_{\max}$ értékét a fentiekén kívül befolyásolja a koordinált donorumok kémiai minősége, továbbá a koordinációs szféra geometriája [19].

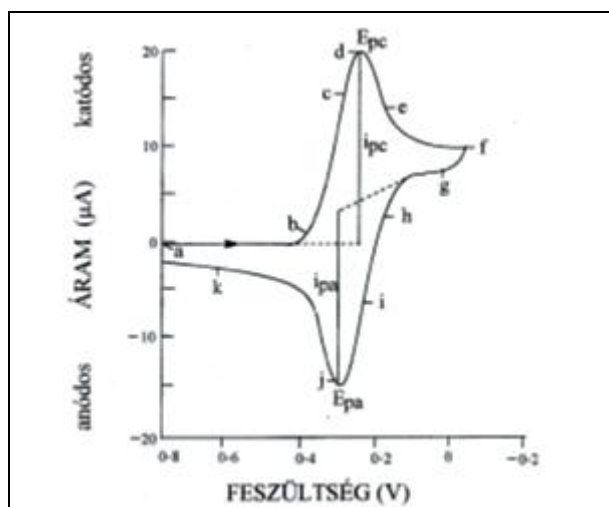
Abban az esetben, ha a fémion hatására a ligandum koordinációja során töltésátviteli sávok, d-d átmenetek jelennek meg, illetve az abszorpciós maximum más hullámhossz tartományba tolódik el, az UV-látható spektroszkópia segítségével a mért abszorbancia változásból lehetőség van a kialakult komplex stabilitásának, valamint az adott komplex egyedi spektrumának a meghatározására. A számolásokat a PSEQUAD programmal végeztük.

Vas-komplexekre vonatkozóan mind a +2-es, mind a +3-as oxidációs állapotú forma oktaéderes elrendeződésű kristályteret alakít ki, amelyben kis- és nagyspinszámú komplexek is megjelenhetnek ligandumtól függően, azonban a vas-komplexek spektrumai sok esetben nehezen értékelhetők a töltésátviteli sávok megjelenése miatt.

3.4. Ciklikus voltammetria

A ciklikus voltammetria a redoxireakciók tanulmányozása mellett lehetőséget ad különböző fémkomplexek jellemzésére is. Előnye, hogy gyorsan nyerhetők vele elektrokémiai információk.

A mérés során változó elektródpotenciál mellett mérjük a munka- és az ellenelektrod között átfolyó áram erősségét. A potenciál változását egy referencia elektródhoz viszonyítjuk, amely általában telített kalomel vagy ezüst/ezüst-klorid elektród. Induláskor egy kezdeti E_i potenciálértékről kezdve lineárisan változtatjuk a potenciált egészen a forduló potenciáláig, ahol a potenciálváltozás előjele megfordul és újra lineárisan változik a következő forduló potenciáláig.



6. ábra A $6 \cdot 10^{-3}$ mol/dm³-es $K_3[Fe(CN)_6]$ oldat ciklikus voltammogramja 1,0 mol/dm³-es KNO_3 ionerősség mellett, 50 mV/s-os pásztázási sebességgel [20]

A rendszeren átfolyó áram erősségét ábrázolva a feszültség függvényében kapjuk a ciklikus voltammogramot, amelyből következtetni lehet a rendszerben lejátszódó redoxi reakciókra.

A 6. ábra a $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ ciklikus voltammogramját mutatja be. A kezdeti potenciálérték 0,8 V (a). A ciklus indulásakor a potenciál csökken, amely nulla áramerősséget eredményez, egészen a formálpotenciálhoz közeli értékig (b, c), ahol megindul a vas(III)ionok redukciója és katódos áram jelenik meg. A katódos áram a maximumát (d) akkor éri el, mikor a teljes

vas(III) mennyisége átalakult. Ekkor az áramerősség lecsökken (e), de nem éri el a nulla értéket. A feszültségváltozás előjelenek megfordulása (f) után a potenciál addig nő (g-i), amíg meg nem történik a vas(II)ionok teljes oxidációja (j), amely után az áram erőssége lecsökken (k).

3.5. ^1H -NMR spektroszkópia

A mágneses magrezonancia méréseket egy ligandum esetén végeztünk a deprotonálódási makrofolyamatok tanulmányozása miatt.

A vizsgálni kívánt szilárd anyagot 99,8%-os izotóptisztaságú D_2O -ban oldottuk fel. DNO_3 illetve NaOD segítségével állítottuk be a közeg pD-jét. A spektrumokat BRUKER AM360 MHz FT-NMR készüléken vettük fel, standardként nátrium-3-trimetil-szilil-propánszulfonátot (TSP) használtunk, amelyre $\delta_{\text{TSP}} = 0$ ppm. A kapott spektrumokat az NMR saját szoftverén, illetve 1D-WinNMR nevű programmal értékeltük ki.

3.6. Tömegspektrometria

Többszörös, illetve polimer szerkezetű molekulák vizsgálata pH-potenciometriával meglehetősen bonyolult, ezért ilyenkor segít, ha tömegspektrometria segítségével a vizsgálni kívánt komplexek pontos tömegéből és fragmentációjából szerkezeti információkat kapunk.

A vizsgálat során a gáz halmazállapotba hozott mintát ionizálják. Az ionizációs technika különböző lehet a vizsgálni kívánt molekula függvényében (pl. elektron, ion, atom). Az így létrejövő ionizálódott részecskék az ionizációs energia változtatásával fragmentjeikre hasadnak szét, amely egy adott molekulára egyedi. Ezek a fragmentek elektromos erőterben gyorsulva tömeg/töltésük szerint csapódnak bele a detektorba.

Méréseinket a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszékén Dr. Nagy Lajos végezte BRUKER micrOTOF-Q 9 típusú készülékkel. A mintákat abszolút etanolban oldottuk.

3.7. Infravörös spektroszkópia

Molekulák funkciós csoportjainak meghatározására jó célt szolgál az infravörös spektroszkópia. A teljes infravörös sugárzás az elektromágneses sugárzás 10 cm^{-1} - 13000 cm^{-1} hullámszámú tartományába esik. Jellemzője, hogy egy adott hullámszám egy bizonyos kötésben dipólusmomentumot indukál, az infravörös sugárzás abszorbeálódik, melynek eredményeképpen rezgési színek keletkeznek.

A rezgés frekvenciája megadható:

$$\nu = \frac{1}{2} \pi \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (7)$$

ahol k : erőállandó

μ : redukált tömeg

Mivel adott kötőcsoportokhoz, illetve molekularészletekhez jól definiált frekvenciák tartoznak, ezen csoportok gerjesztési frekvenciája független – az erőállandók invarianciájának elve miatt – a molekula többi részétől, ami lehetővé teszi az infravörös szerkezetvizsgálatot.

Az IR spektrumok felvételét a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén Dr. Kiss Attila végezte Perkin Elmer FTIR Paragon 1000 PC típusú készülékkel. A szilárd komplex vegyületek kálium-bromid hordozóval voltak összekeverve, majd préselve.

3.8. A vas(III)-komplexek előállítása

Fe(CAL)₂ előállítása

Schlenk edényben 5 cm³ abszolút metanolhoz 40,4 mg (0,1 mmol) Fe(NO₃)₃·9 H₂O-t adtunk, majd a fém feloldódásáig (~5 perc) a rendszert kevertettük. Az így létrejövő oldathoz 71,70 mg (0,2 mmol) CAL abszolút metanolból készült oldatát adtuk hozzá, és fél órán keresztül kevertettük, melynek eredményeképpen sötétbarna színű oldatot kaptunk. Ehhez az oldathoz 21,6 mg (0,4 mmol) nátrium-metoxidot adtunk, majd egy órán keresztül kevertettük. Ez alatt az idő alatt látható változás nem történt. Az oldószer mennyiségének kb. a felét rotációs bepárlón eltávolítottuk, és egy éjszakán keresztül a tömény oldatot hűtőszekrényben tároltuk. Másnap anyagkiválás nem volt tapasztalható, így a metanol eltávolítása után a kapott fekete porszerű anyagot egy napig vákuumban szárítottuk, majd 5 cm³ etanolt adtunk hozzá. Az oldószer mennyiségének felét rotációs bepárlón eltávolítottuk, majd újabb éjszakára hűtőszekrénybe tettük. Másnapra barnás-fekete színű anyag vált ki a lombikban, így azt üvegszűrőn szűrtük és hideg etanollal mostuk, majd vákuumban szárítottuk.

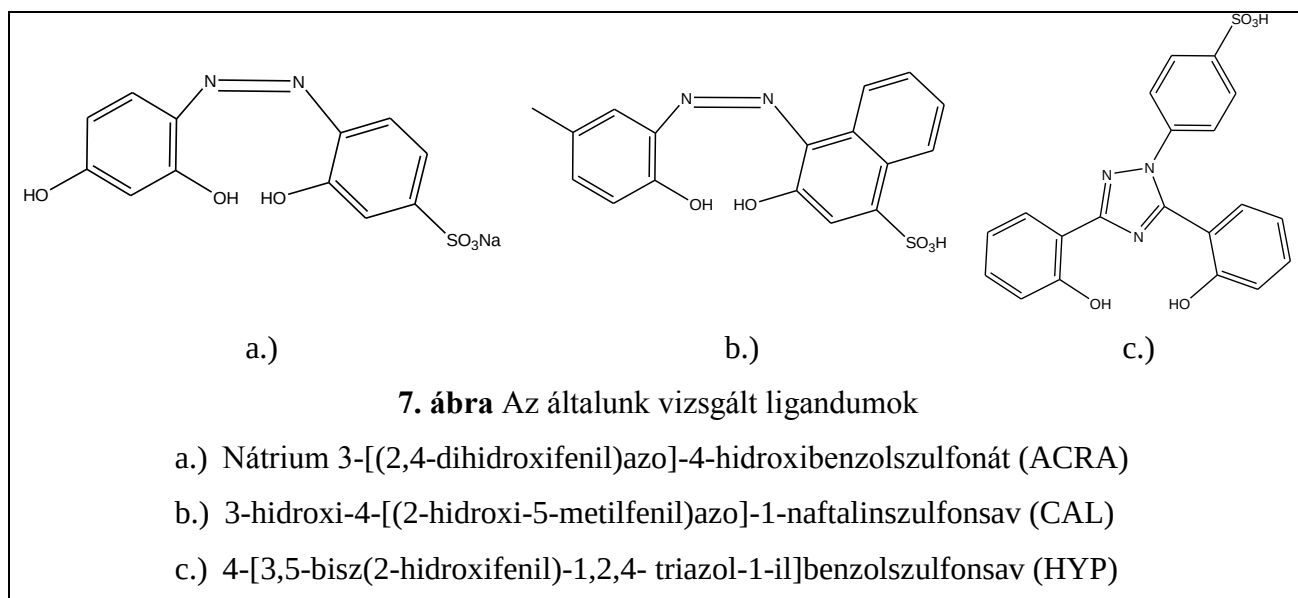
Fe(ACRA)₂ előállítása

Schlenk edényben 5 cm³ abszolút etanolban 40,4 mg (0,1 mmol) Fe(NO₃)₃·9 H₂O-t oldottunk, majd a kapott oldathoz 73,8 mg (0,2 mmol) ACRA-t, illetve 21,6 mg (0,2 mmol) nátrium-metoxidot adtunk és az oldatot két és fél órán keresztül kevertettük. Az oldószer mennyiségének a felét rotációs bepárlón eltávolítottuk, majd a kapott oldatot egy éjszakán keresztül hűtőszekényben tároltuk. Másnap barnás-fekete anyag kiválása volt tapasztalható, amelyet üvegszűrűn szűrtünk és hideg abszolút etanollal mostunk. A kapott terméket vákuumban szárítottuk.

4. Kísérleti eredmények és értékelésük

4.1. A ligandumok sav-bázis sajátosságai

Munkánk során a 4-[3,5-bisz(2-hidroxifenil)-1,2,4-triazol-1-il]benzoesav szulfonsavszármazékának oldategyensúlyi vizsgálatát végeztük el kiegészítve más, hasonló szerkezetű ligandumokkal (7. ábra).



A ligandumok stabilitási állandóit, illetve az ebből származtatható pK értékeket az 1. táblázat mutatja.

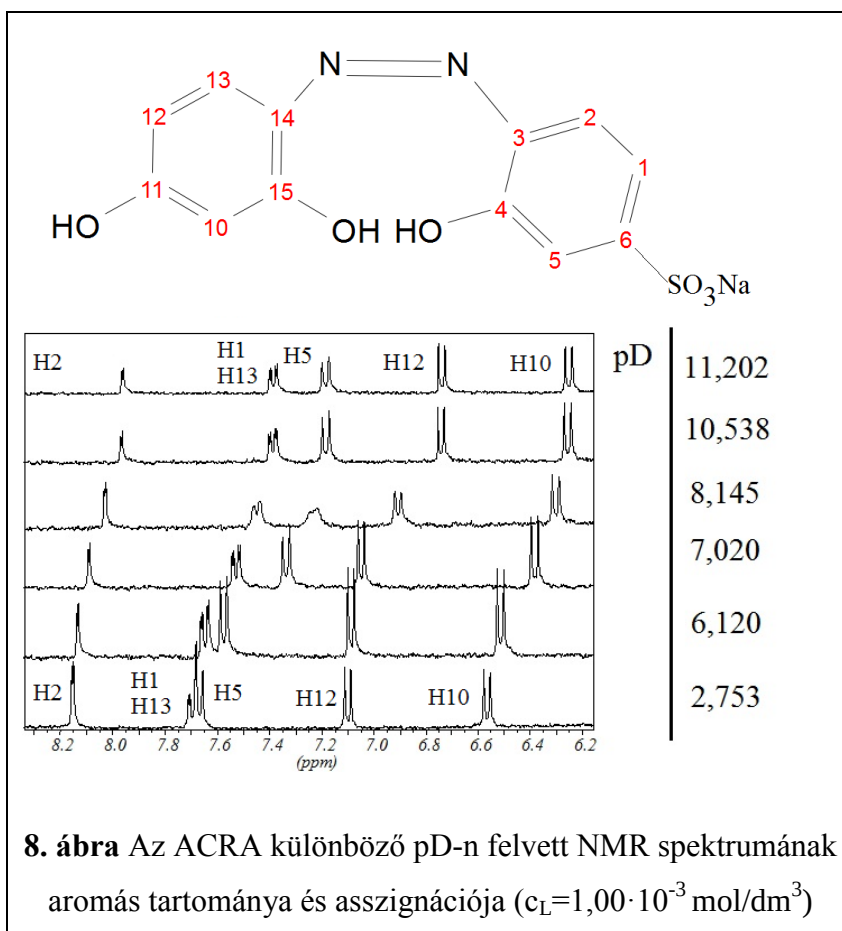
1. táblázat A ligandumok deprotonálódási állandói

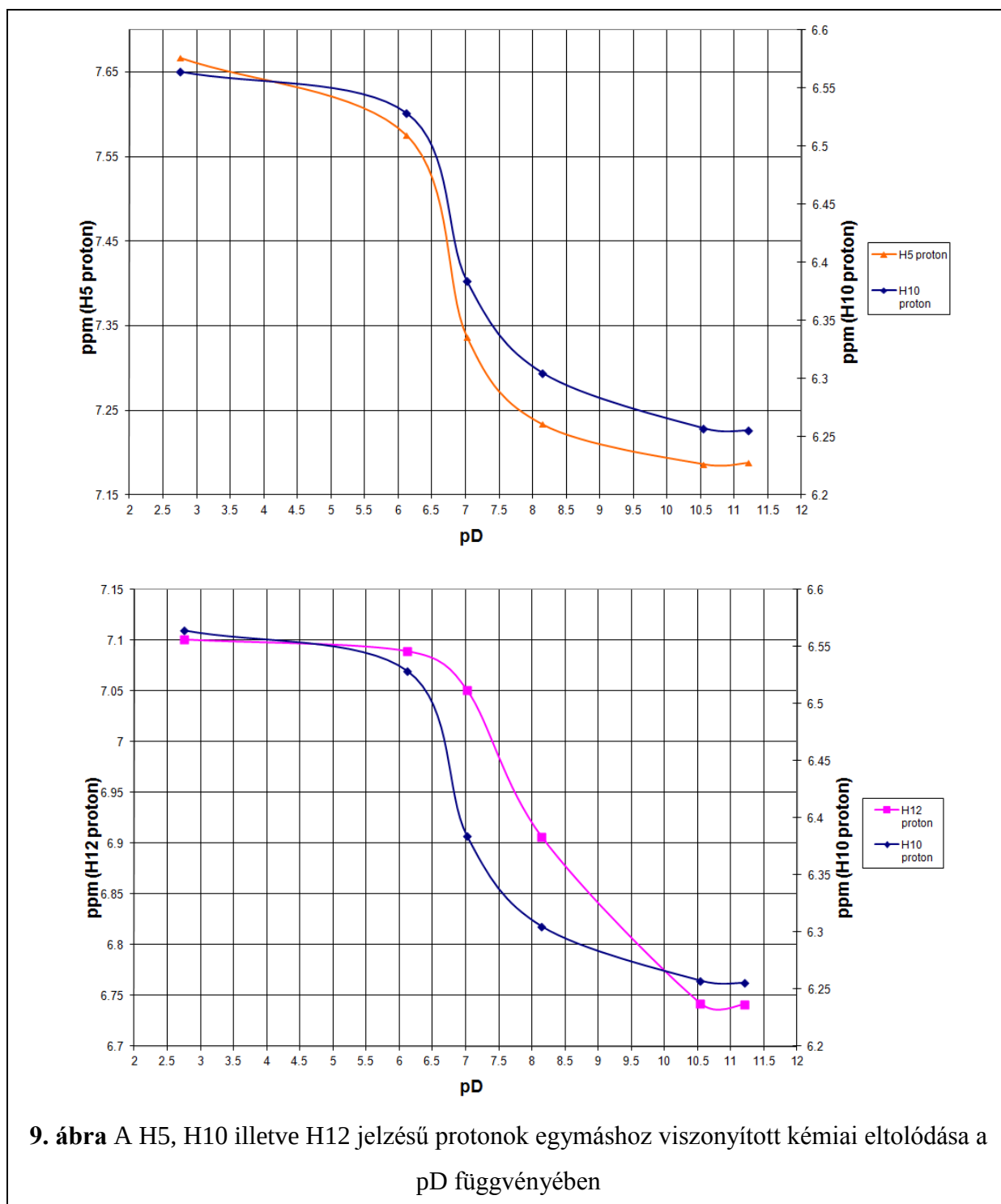
	ACRA		CAL		HYP	Fenol [21]	Rezorcín [22]
Módszer	Potenciometria	Spketrofotometria	Potenciometria	Spketrofotometria	Potenciometria	Potenciometria	Potenciometria
$\lg\beta(\text{HA})$	7,58(1)	7,93(1)	10,86(3)	8,05(1)	10,49(1)	9,86	11,06
$\lg\beta(\text{H}_2\text{A})$	13,93(1)	14,40(1)	19,10(7)		19,17(1)		20,36
$\text{pK}(\text{OH})_1$	6,38(1)	6,47(1)	8,24	8,05(1)	8,68(1)	9,86	9,30
$\text{pK}(\text{OH})_2$			10,86		10,49(1)		11,06
$\text{pK}(\text{OH})_{\text{C11}}$	7,58(1)	7,93(1)					

A pH-potenciometriás adatokból mindhárom ligandum esetén két deprotonálódási állandó határozható meg. A deprotonálódási folyamatok a gyűrűn lévő hidroxilcsoportokhoz rendelhetők hozzá. A kapott értékeket összehasonlítva a fenol pK értékével jól látható, hogy az ACRA esetén mindkettő, míg a CAL és HYP ligandumoknál az egyik pK érték kisebb, a másik pedig nagyobb, mint a fenol pK értéke. Az utóbbi két ligandumnál az egyik hidroxilcsoportnak a deprotonálódása kedvezményezett, ugyanis ez hidrogén híd kialakulását teszi lehetővé. Ez segíti elő az egyik hidroxilcsoportnak a deprotonálódását, míg gátolja a másik csoportét, így a deprotonálódási állandó csak nagyobb pH tartományban játszódik le a fenolhoz képest.

Az ACRA esetén mindkét pK érték kisebb, mint a fenolé. A csökkenést az aromás gyűrűhöz kapcsolódó másik hidroxilcsoport okozhatja, amely hatás a fenol-rezorcín esetén is megfigyelhető. A deprotonálódást követően kialakuló intramolekuláris hidrogénkötés nagyon megnöveli a kötésben résztvevő hidroxilcsoport bázicitását olyan módon, hogy a harmadik hidroxilcsoportéhoz tartozó deprotonálódási állandó pH-potenciometriával nem határozható meg.

Annak eldöntésére, hogy melyik hidroxilcsoportok deprotonálódnak ^1H -NMR spektroszkópia segítségével megfelelő asszignáció után az aromás protonok kémiai eltolódását követtük növekvő pD mellett. Az asszignációt, illetve az NMR spektrumok aromás tartományát a 8. ábra mutatja.



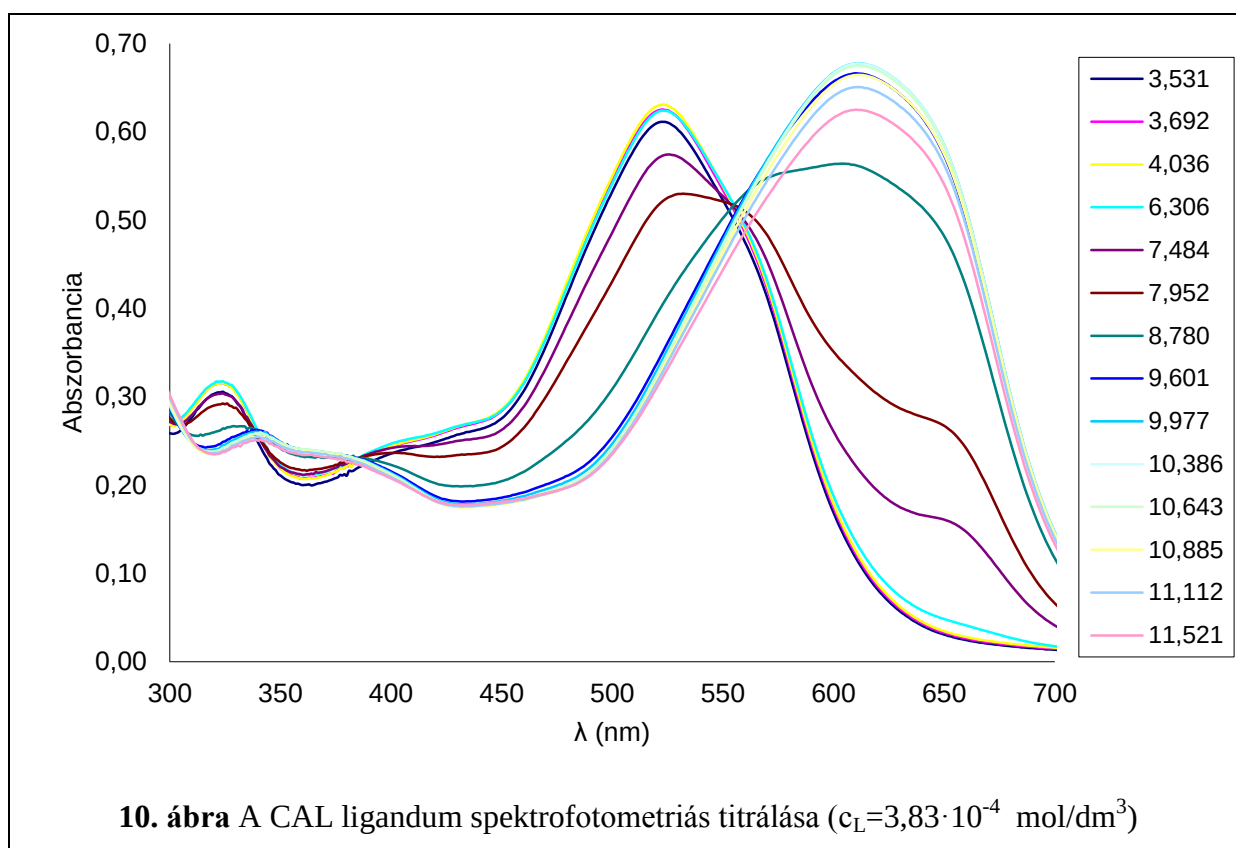


A spektrumok kémiai eltolódásán jól látható, hogy a deprotonálódás hatására az oxigénen megjelenő negatív töltés a kisebb kémiai eltolódás, vagyis a nagyobb elektronsűrűség felé tolja az aromás protonok jeleit. A vizsgálat során az H5, H10, illetve H12 jelzésű protonok kémiai eltolódását figyeltük, ugyanis a deprotonálódás ezen hidrogének eltolódására van a legnagyobb hatással. Az eredményeket a 9. ábra mutatja. A H5, illetve H10 protonok kémiai eltolódása közel párhuzamos, inflexiós pontjuk pD~6,7-nél található. Ezzel szemben a H12

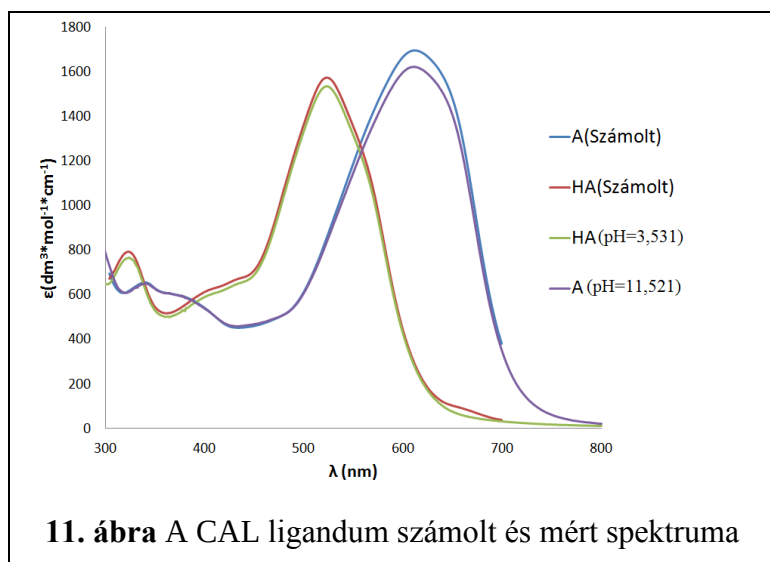
proton eltolódásának változása csak nagyobb pD-n következik be. A H12 proton kémiai eltolódására legnagyobb hatással a C11-es szénatomon lévő hidroxilcsoport deprotonálódása van.

A fentiek alapján az mondható el, hogy az ACRA ligandum első lépésben a C15, vagy C4 hidroxilcsoportján deprotonálódik, majd második lépésben a C11 hidroxilcsoportján. Ez a későbbi modellalkotás miatt lesz fontos.

Ugyanakkor a ligandumok deprotonálódása színváltozással jár, így lehetőség adódott a pK értékek spektrofotometriával történő meghatározására is. A 10. ábra a CAL spektrofotometriás titrálását mutatja be. A spektrumokból jól látható, hogy csak két olyan részecske van jelen, ami eltérő spektrummal jellemezhető. Erre utal a spektrumban megjelenő izobesztikus pont is.



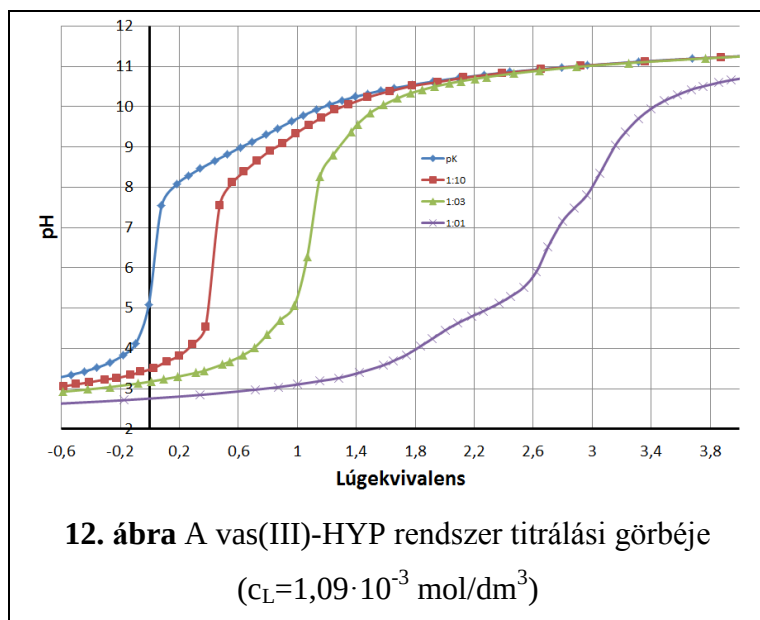
A PSEQUAD program lehetőséget adott a két részecske közötti deprotonálódási egyensúly állandójának meghatározására, ami jó egyezésben van a pH-potenciometriával meghatározott pK értékekkel (1. táblázat). A második hidroxilcsoportra jellemző pK érték azonban a CAL esetén ezzel a módszerrel nem volt meghatározható.



mutatnak.

Az ACRA esetén is elvégeztük a spektrofotometriás titrálást és számolást, az adatok itt is jó egyezésben vannak a pH-potenciometriás mérés eredményeivel, ugyanakkor ismételten csak két hidroxilcsoportnak a deprotonálódása számítható.

4.2. A vizsgált vegyületek vas(III)-komplexei



A PSEQUAD program a stabilitási állandó mellett az adott részecskére jellemző egyedi spektrumot is megadja. A 11. ábra a program által számolt, illetve a kísérleti, két pH értéken felvett spektrumokat mutatja be. Jól látható, hogy a kísérleti, illetve a számolt görbék lefutása azonos, egymással jó egyezést

A vas(III)-rendszerekre mindhárom esetben jellemző, hogy a komplexképződés már az erősen savas pH tartományban elkezdődik. Ez a 12. ábra titrálási görbéjéből is jól látható, ugyanis már az erősen savas tartományban is különböznek a szabad ligandum és a fémes rendszerek titrálási görbéi. Ez nagy stabilitású komplexek jelenlétét mutatja, aminek eredményeképpen pH-

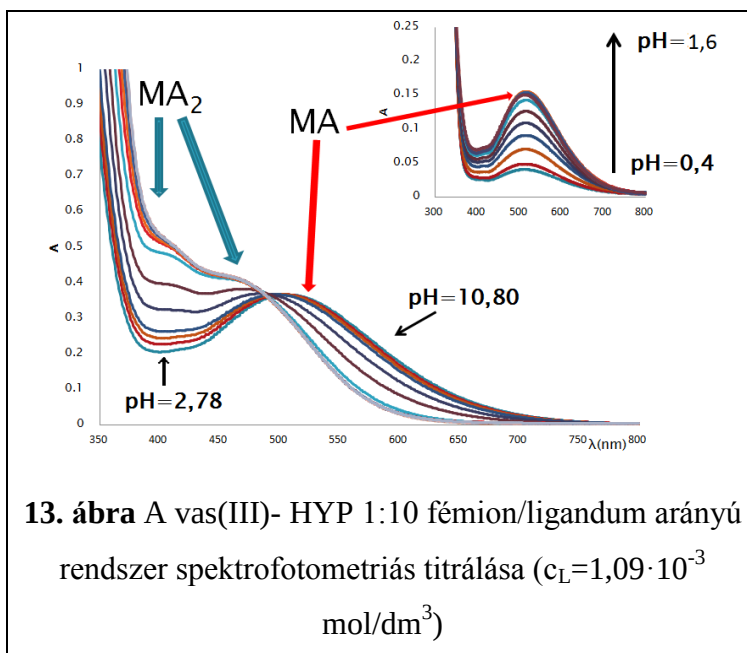
potenciometriával nem tudtuk ezen komplexek stabilitását meghatározni, ugyanis a titrálás savas tartományában gyakorlatilag nincs jelen szabad fémion. Mivel azonban a fémionhoz történő koordináció az UV-látható spektrumban változást okoz a szabad ligandum spektrumaihoz képest, így fotometriásan meghatározható a savas tartományban képződő

komplex stabilitása. A vas(III)-HYP rendszerre jellemző spektrofotometriás titrálás eredményét a 13. ábra mutatja. A spektrumok egy izobesztikus

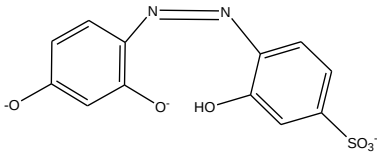
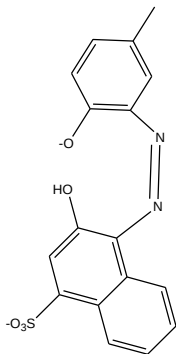
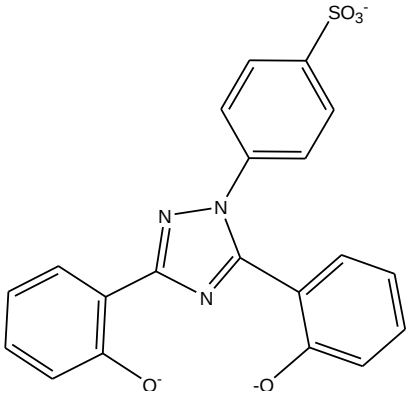
pontban futnak össze, amely két komplex, az MA, illetve MA₂ összetételű komplex egyensúlyát mutatja. A 13. ábra továbbá azt is szemlélteti, hogy extrém savas tartományban képződik az MA komplex és mennyiségének növekedésével párhuzamosan nő az intenzitás.

Az MA komplexre meghatározott stabilitási állandó segítségével a pH-potenciometriás

adatok is értékelhetőek voltak. Az ACRA és a CAL esetén is hasonlóan jártunk el. Itt azonban a szabad ligandum deprotonálódási állandóin kívül szükség volt a szabad ligandum egyedi részecskéinek spektrumára is a kiértékelésben. A CAL esetén csak a fotometriás titrálás adatait lehetett kiértékelni. Ebben az esetben csak az egyik hidroxilcsoportra jellemző pK értéket vettük figyelembe. Emiatt a ligandumok eltérő protonáltsági fokúak voltak, így a 2. táblázatban a fotometriás és pH-potenciometriás mérésekből származtatható komplexek stabilitásán kívül megtalálható, hogy az „A” szabad ligandumban mely csoportok deprotonáltak.

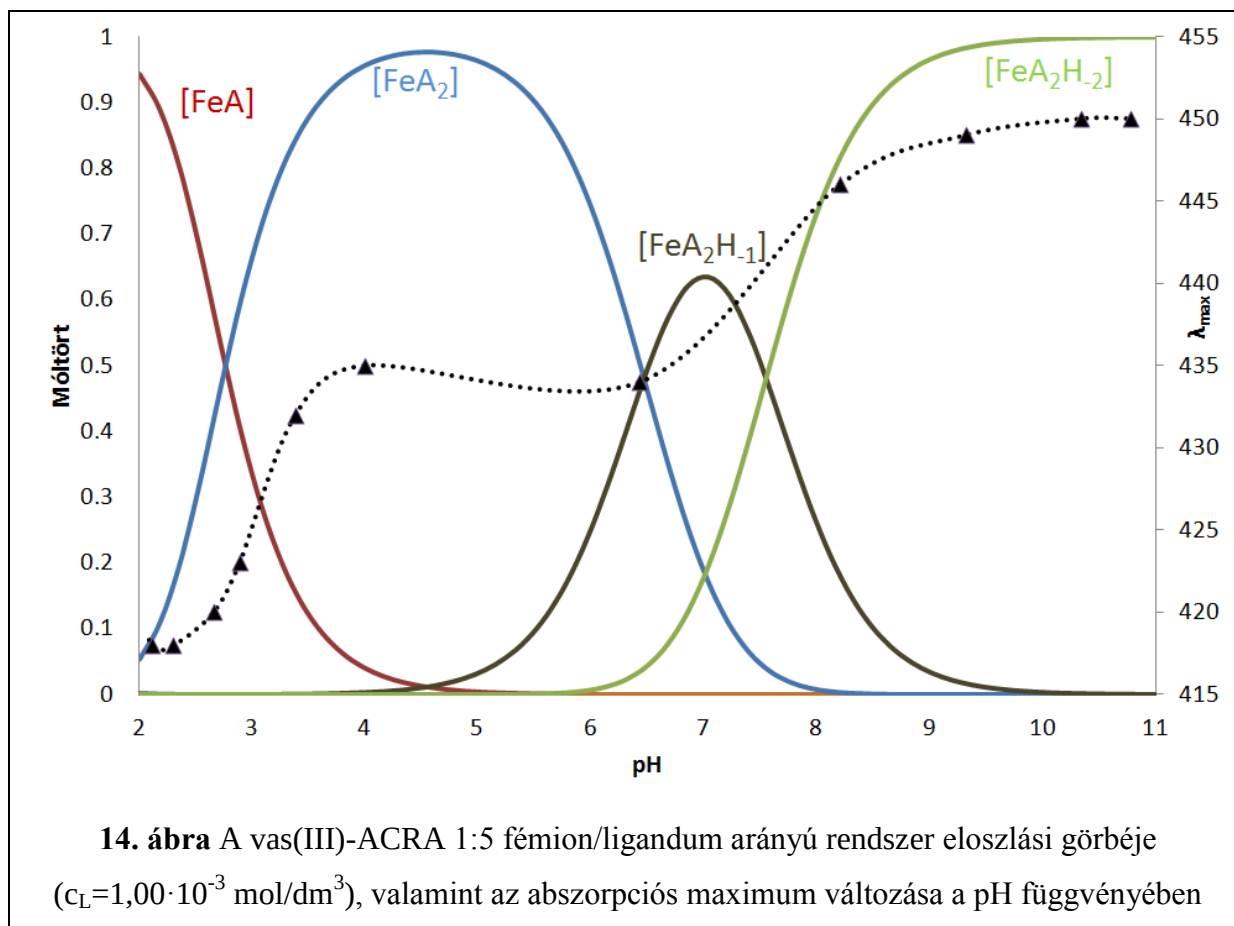


2. táblázat A vizsgált ligandumok vas(III)-komplexeinek stabilitása

	ACRA		CAL	HYP	
A					
	Fotometria	Potenciometria	Fotometria	Fotometria	Potenciometria
lgβ(MA)	15,86(6)	15,86(fix)		20,89(4)	20,89(fix)
lgβ(MAH ₁)			7,7(1)		15,7(1)
lgβ(MAH ₂)					5,7(1)
lgβ(MA ₂)	27,87(7)	27,87(fix)		34,57(5)	36,4(1)
lgβ(MA ₂ H ₁)		21,4(4)	17,38(7)		
lgβ(MA ₂ H ₂)		13,8(5)	14,08(4)		
pK(MA ₂ /MA ₂ H ₁)		6,37	4,30		
pK(MA ₂ H ₁ /MA ₂ H ₂)		7,6			
pK(MA/MAH ₁)					5,19
pK(MAH ₁ /MAH ₂)					10,0

A táblázat adataiból jól látható, hogy nagy stabilitású mono- és biszkomplexek képződnek. A koordináció minden esetben (O,N,O) koordináció, melynek során csatolt öttagú és csatolt hattagú kelátgyűrűk alakulnak ki.

Az ACRA esetén az MA és MA₂ komplex valójában M(AH₁)H, illetve M[(AH₁)H]₂ sztöchiometriával adható meg, amelyben a C11 hidroxilcsoport még protonált, a „fenolos” (C4 és C15 szénatomon levő) hidroxilcsoportok pedig kötődnek a fémionhoz. A pH növelésével megtörténik a C11 hidroxilcsoportok deprotonálódása, amelyben MA₂H₁, MA₂H₂ összetételű komplexek jelennek meg. Ezt a pK(MA₂/MA₂H₁) és pK(MA₂H₁/MA₂H₂) értékek is bizonyítják, ugyanis közel megegyeznek a szabad ligandum C11 hidroxilcsoportjának pK értékével. A deprotonálódás lépcsőzetesen megy végbe, amelyet a 14. ábra eloszlási görbéje is mutat.



Az ábrán ugyanakkor az is jól látható, hogy a hidroxilcsoportok deprotonálódása, a fenolos oxigének koordinációja a spektrumok abszorpciós maximumához rendelhető hullámhossz értékét a kisebb energiájú tartomány felé tolja el, batokróm eltolódást okoz.

A vas(III)-CAL rendszerben, mivel a ligandum eltérő protonáltsági fokú, az MAH_{-1} összetételű komplex jelenti az (O,N,O) koordinációt. Nagyobb pH-tartományban egy második ligandum is koordinálódik a fémionhoz, kezdetben (MA_2H_{-1}) az egyik hidroxilcsoport protonált, nem koordinálódik, majd a következő lépcsőben (MA_2H_{-2}) ez a csoport is deprotonálódik és kötődik a vas(III)-hoz.

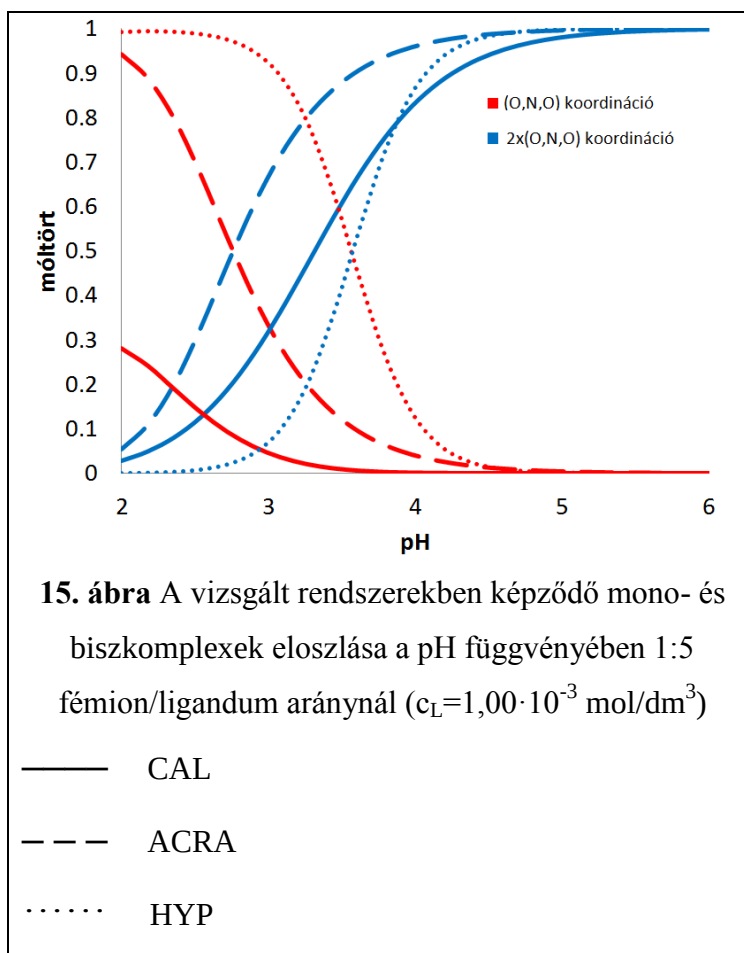
A HYP vas(III) rendszereit tekintve szintén mono- és biszkomplexek képződnek. A 12. ábra titrálási görbéje 1:1 fémion/ligandum aránynál megnövekedett pH-effektust mutat. Ez arra enged következtetni, hogy nagyobb pH tartományban a fémionhoz hidroxidion koordinálódik, amelynek eredményeképpen vegyes hidroxokomplexek jelennek meg.

A vizsgált rendszerekben képződő komplexek koordinációs módját a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat A vizsgált ligandumok vas(III)-komplexeinek koordinációs módjai

	Koordinálódó csoportok		
	ACRA	CAL	HYP
MA	(O,N,O) + OH _{C11}		(O,N,O)
MAH ₁	-	(O,N,O)	vegyes hidroxokomplex
MAH ₂	-		vegyes hidroxokomplex
MA ₂	2x((O,N,O) + OH _{C11})		2x(O,N,O)
MA ₂ H ₁	2x(O,N,O) + O ⁻ _{C11} + OH _{C11}	(O,N) + (O,N,O)	
MA ₂ H ₂	2x((O,N,O) + O ⁻ _{C11})	2x(O,N,O)	

Mivel azonban a ligandumok a vizsgált rendszerekben eltérő protonáltsági fokúak, a mono- és biszkomplexelek stabilitásának összehasonlítása meglehetősen nehéz a stabilitási állandók alapján. A 15. ábra eloszlási görbéjét úgy szerkesztettük meg, hogy egy adott rendszerben összegeztük a különböző sztöchiometriájú, de [O,N,O]-koordinációjú mono- és biszkomplexelek egyensúlyi koncentrációját. Az ábrán jól látható, hogy a stabilitás a HYP, CAL, ACRA sorrendben nő, amely a ligandumok méretével fordítottan arányos. Mivel a HYP a legnagyobb méretű molekula, koordinációja során sztérikus akadályok léphetnek fel, emiatt a biszkomplexelek képződése csak nagyobb pH-n játszódik le. Az ábrán ugyanakkor az is nagyon jól látható, hogy hatos pH felett, továbbá fiziológiás pH-n mindhárom rendszerben kétszeres (O,N,O) koordináció valósul meg, a ligandum telíti a fémion koordinációs szféráját, amely a vas megkötésének szempontjából fontos.



A 4. táblázat az (1) egyenlet alapján számolható pFe értékeket mutatja az általunk vizsgált ligandumokra, és összehasonlításként néhány, az élő szervezetekben, illetve a gyógyászatban előforduló molekulákra.

4. táblázat Vas-kelátorok és az élő szervezet vas-fehérjéinek pFe értékei

(pH=7,4 $c_L=1,00 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³ $c_{Fe(III)}=1,00 \cdot 10^{-6}$ mol/dm³)

Vegyület	pFe	Hivatkozás
ACRA	24,00	
CAL	23,21	
HYP	22,62	
5-hidroxi-2-hidroximetil-pirán-4-on	23,1	[23]
Deferiprone	20,67	[24]
Katekol	14,7	[25]
4-nitrokatekol	19,6	[25]
Szalicilsav	12,1	[25]
5-nitroszalicilsav	12,7	[25]
Enterobaktin	35,6	[26]
Ferrioxamin	26,6	[26]
Transzferrin	23,6	[26]

A táblázat adataiból jól látható, hogy a pFe értékei jó összhangban vannak a 15. ábra eloszlási görbéjével, vagyis a pFe értéke, ezáltal a komplexek stabilitása az ACRA, CAL, HYP sorrendben csökken. Ugyanakkor az is látható, hogy a gombák által termelt sziderofórok tudják a vasat a legjobban kötni, viszont az emberi szervezetben található transzferrin értéke közel hasonló az általunk vizsgált vegyületek pFe értékéhez. A vas-felhalmozódása során az emberi szervezetben megindul a transzferrin szintézis, a vérben koncentrációja megnő. Ugyanakkor ha ezek a vegyületek is a szervezetbe kerülnek, akkor kompetíció alakulhat ki a transzferrin és a vas-kelátorok között, így a transzferrin koncentrációja is lecsökkenhet, mivel a vasat a kelátorként alkalmazott vegyület is megkötí.

4.3. Szilárd fázisú vizsgálatok a vas(III)-rendszerekben

A képződő komplexek nagy stabilitása lehetőség adott a biszkomplexek preparatív előállítására is. A komplexek előállítását a Kísérleti körülmények c. fejezet tartalmazza.

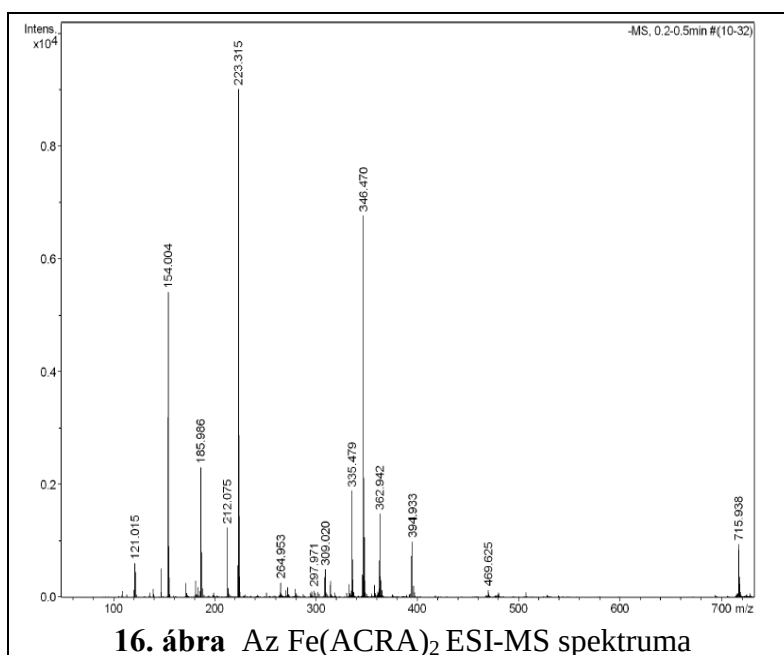
Az 5. táblázat a vas(III)-komplexek elemanalízisének eredményét mutatja a mért, illetve a számított értékekkel.

5. táblázat A vas(III)-komplexek elemanalízisének mért és számított értékei

Összetétel	C%		H%		N%		S%	
	Mért	Számított	Mért	Számított	Mért	Számított	Mért	Számított
Fe(ACRA)_2 $\text{Fe(C}_{12}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_6\text{S)}_2\text{Na}_5$ $+1\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 5\text{H}_2\text{O} +$ $2,5 \text{ NaNO}_3$	27,6	27,5	2,5	2,8	7,9	8,2	5,7	5,9
Fe(CAL)_2 $\text{Fe(C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_6\text{S)}_2\text{Na}_3$ $+3\text{CH}_3\text{OH} + 4\text{H}_2\text{O} + 1,8$ NaNO_3	38,6	38,7	3,3	3,2	7,0	6,8	5,6	5,5

A táblázatban jól látható, hogy akkor kapunk jó egyezést a mért és számított értékekkel, hogyha a szilárd anyagra a komplex, az oldószer és egy szervesetlen só keverékét feltételezzük, vagyis nem teljes mértékben sikerült a komplexet tisztán előállítani. Ezáltal ezek az eredmények nem bizonyítják a korábban valószínűsített koordinációs módot, így további szerkezet-meghatározási vizsgálatokat végeztünk el.

A 16. ábra az Fe(ACRA)_2 ESI-MS spektrumát mutatja be. A spektrumban megjelenő csúcsok kiértékeléséből jól látható, hogy a vas(III)ionhoz valóban két ligandum

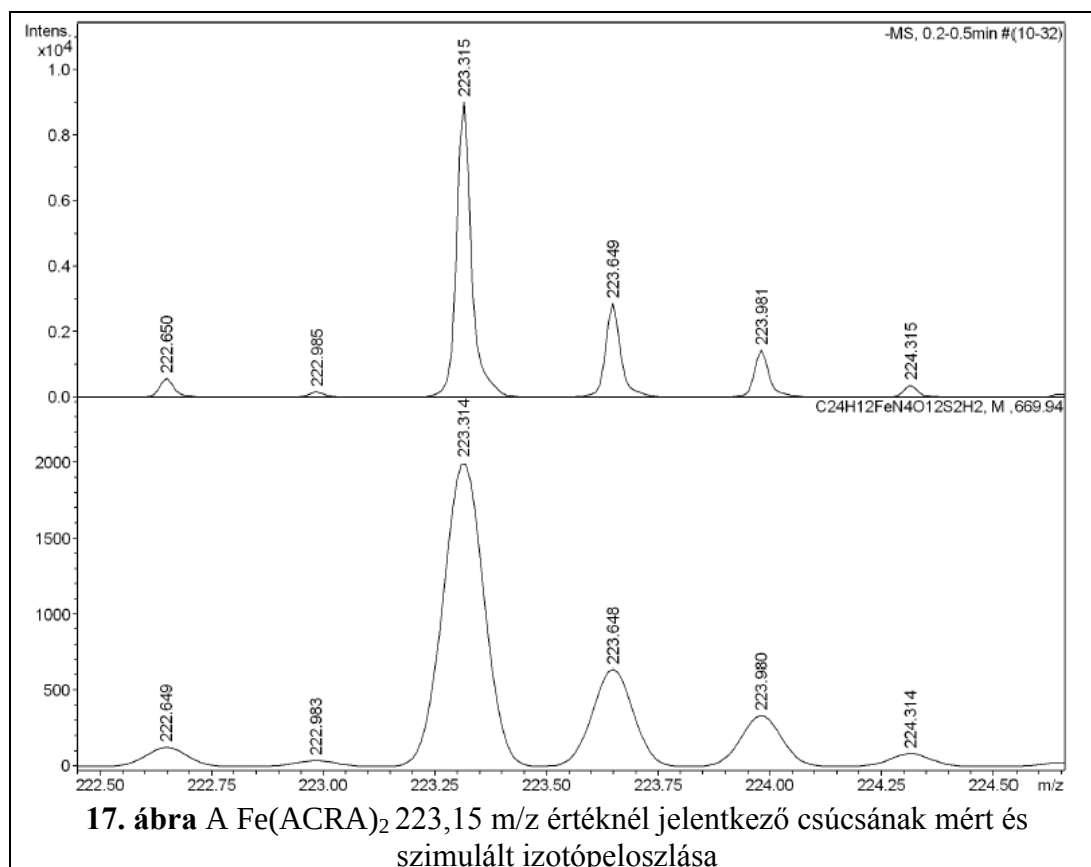


koordinálódik a korábban megállapított módon ESI-MS körülmények között. Ugyanakkor több, nagy intenzitású csúcs is megfigyelhető a negatív módban, amelyben a komplex protonnal, vagy/és nátriumionnal repül (6. táblázat). Ezen részecskék tömeg/töltés értéke jó egyezésben van a számított értékekkel.

6. táblázat Szilárd vas(III)-komplexek tömegspektrumainak m/z értékei és részecskéi negatív üzemmódban

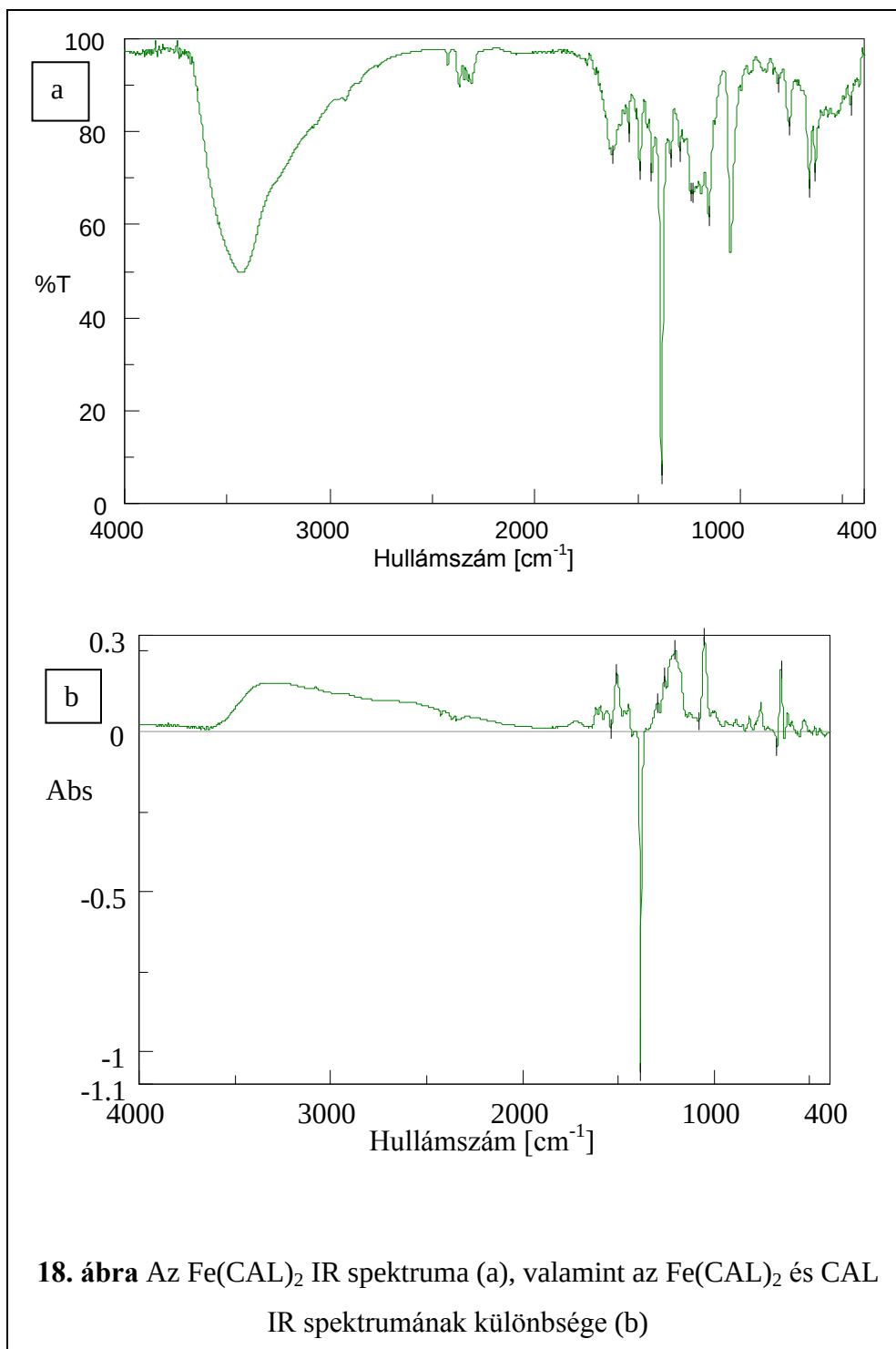
ACRA			CAL		
Részecske	m/z (mért)	m/z (számolt)	Részecske	m/z (mért)	m/z (számolt)
$[\text{H}_2[\text{Fe}(\text{ACRA})_2]]^{3-}$	223,315	223,313	$[\text{Fe}(\text{CAL})_2]^{3-}$	255,336	255,338
$[\text{H}_3[\text{Fe}(\text{ACRA})_2]]^{2-}$	335,479	335,474	$\text{H}[\text{Fe}(\text{CAL})_2]^{2-}$	383,510	383,511
$\text{Na}[\text{H}_2[\text{Fe}(\text{ACRA})_2]]^{2-}$	346,470	346,465	$\text{Na}[\text{Fe}(\text{CAL})_2]^{2-}$	394,503	394,501
$\text{Na}_2[\text{H}_2[\text{Fe}(\text{ACRA})_2]]^{-}$	715,938	715,919	$\text{H}_2[\text{Fe}(\text{CAL})_2]^{-}$	768,031	768,028
-	-	-	$\text{NaH}[\text{Fe}(\text{CAL})_2]^{-}$	790,010	790,010
-	-	-	$\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CAL})_2]^{-}$	811,999	811,992

A 17. ábra a legnagyobb intenzitású csúcshoz tartozó mért, illetve szimulált izotópeloszlást mutatja be. Látható, hogy a molekulacsúcs egymással megegyező lefutású, jól



definiált, valamint a megfelelő tömeg/töltés értékek is jó egyezésben vannak egymással.

Az azonitrogének koordinációját IR spektroszkópia segítségével bizonyítottuk. A 18. ábra a $\text{Fe}(\text{CAL})_2$ komplex, valamint az $\text{Fe}(\text{CAL})_2$ és CAL szabad ligandum IR spektrumának különbségét mutatja be.

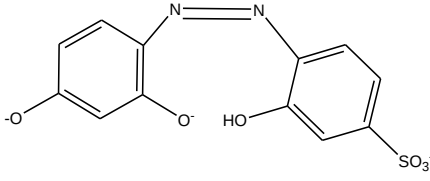
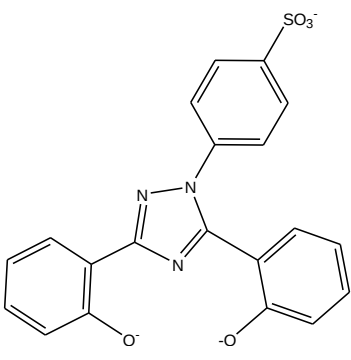


Az ábrán jól látható, hogy a komplex IR spektrumában a $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ tartományban széles OH jel jelenik meg, ez egyértelműen mutatja a víz jelenlétét. Egy nagy intenzitású, új csúcs figyelhető meg 1383 cm^{-1} -nél. Hasonló csúcs az Fe(ACRA)_2 komplexnél 1382 cm^{-1} hullámszámnál jelentkezik. Vagyis a koordináció a szabad ligandumhoz képest a nitrogén-nitrogén kettőskötés rezgési frekvenciáját a kisebb hullámszámú tartomány felé tolja. Ugyanakkor az irodalomban található azo-vegyületek koordinációja fémionhoz a nitrogén-nitrogén kettőskötés rezgési frekvenciáját az $\sim 1460\text{ cm}^{-1}$ hullámhossz tartományhoz rendeli [27]. Ezáltal az valószínűsíthető, hogy az Fe(ACRA)_2 és Fe(CAL)_2 komplexekben a fémion körüli oktaéderes elrendeződésű kristálytér torzul, aminek eredményeképpen a nitrogén-nitrogén kettőskötés kötéstávolsága megnő, és alacsonyabb hullámszámú tartományban válik gerjeszthetővé.

4.4. A vizsgált vegyületek vas(II)-komplexei

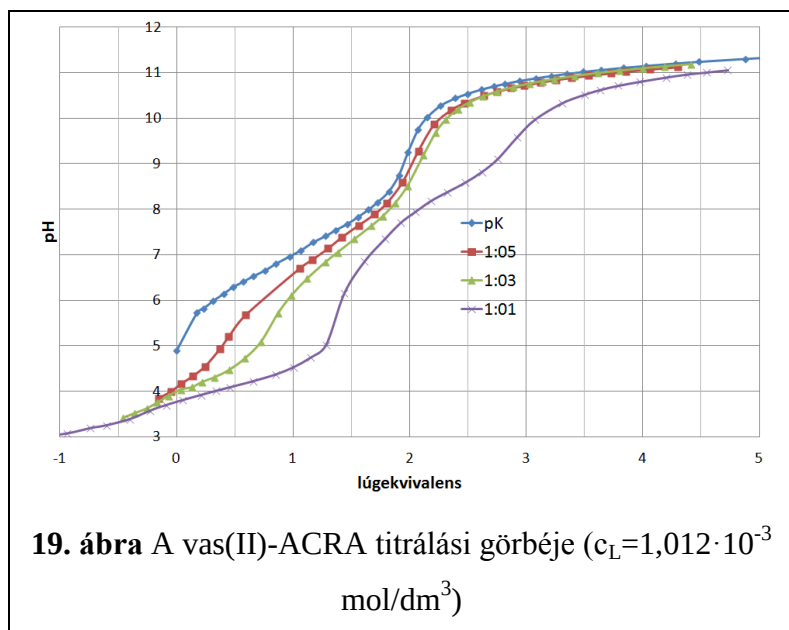
Munkánk során mindhárom vegyület vas(II)ionnal történő oldategyensúlyi vizsgálata megtörtént, azonban a CAL rendszerekben lévő nagy bizonytalanság miatt a kapott adatok nem értékelhetők. A másik két rendszer kiértékelése csak a pH-potenciometriás adatokból történt.

7. táblázat A vizsgált rendszerek vas(II)-komplexei és koordinációs módjai

	ACRA		HYP	
A				
	Stabilitás	Koordináció	Stabilitás	Koordináció
MHA	12,7(1)	(O,N)+OH _{C11}	15,5(2)	(O,N)
MA	6,8(4)	(O,N)+O ⁻ _{C11}	-	-
MAH ₁	-1,3(1)	(O,N,O)+ O ⁻ _{C11}	-	-
MH ₂ A ₂	-	-	31,75(8)	2x(O,N)
MHA ₂	21,13(9)	2x(O,N)+O ⁻ _{C11} +OH _{C11}	21,0(1)	(O,N,O)+(O,N)
MA ₂	13,5(2)	2x((O,N)+O ⁻ _{C11})	9,5(1)	2x(O,N,O)
MA ₂ H ₋₂	-6,7(3)	2x((O,N,O)+O ⁻ _{C11})	-	-
pK(MHA/MA)	5,9		-	
pK(MH ₂ A ₂ /MHA ₂)	-		10,76	
pK(MHA ₂ /MA ₂)	7,63		11,45	
pK(MA/MAH ₁)	8,1		-	
pK(MA ₂ /MA ₂ H ₋₂) _{átlag}	10,1		-	

Az 7. táblázat adataiból látható, hogy a vas(II) rendszerek esetén is mono- és biszkomplexei kialakulására van lehetőség. A ligandumok azonban a fémionhoz a savas és

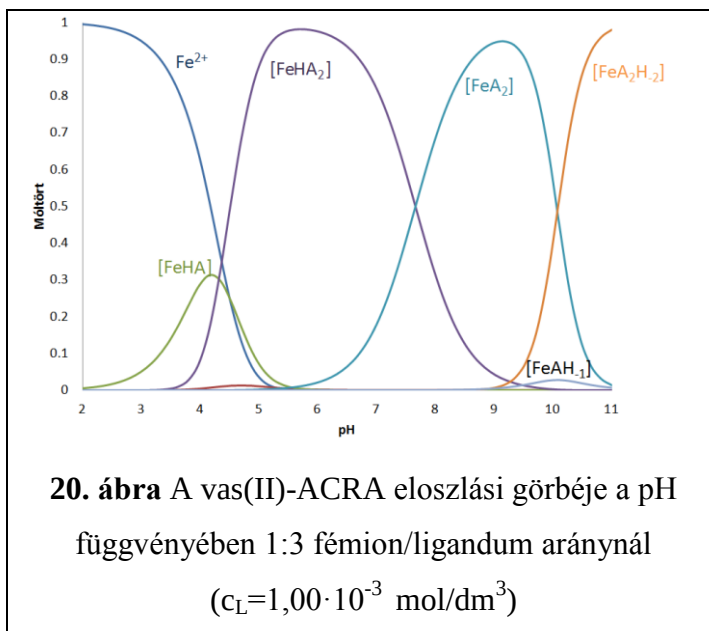
gyengén lúgos tartományában kétfogúan koordinálódnak (O,N)-koordinációval, aminek



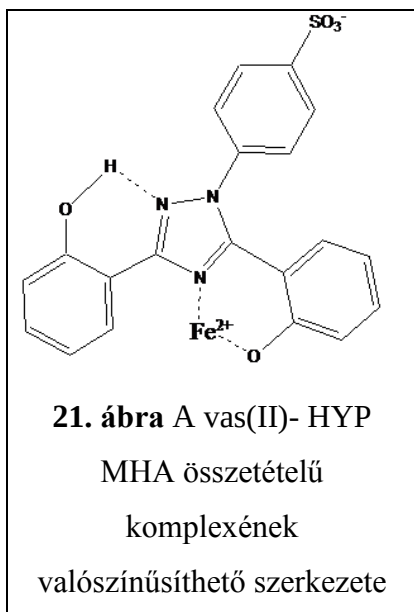
eredményeképpen protonált komplexek is megjelennek. Ezt a 19. ábra titrálási görbéje is jól mutatja, ugyanis a titrálás lúgos tartományában a szabad ligandum és a fémes rendszerek titrálási görbéi együtt futnak, nincs komplexképződésre jellemző pH effektus. Ugyanakkor az ekvimoláris oldat lúgos tartományában egy új lúgfogyasztó folyamat figyelhető meg. Ez alapján az

feltételezhető, hogy a vas(II)ion jelenlétében is megtörténik a második hidroxilcsoport deprotonálódása és koordinációja a fémionhoz. Ez a folyamat ligandumfelesleg esetén csak abban a pH tartományban zajlik le, ahol a szabad ligandum deprotonálódása is lejátszódik, míg ekvimoláris oldatban kisebb pH-n megy végbe.

A vas(II)-ACRA rendszerben a C11 hidroxilcsoport deprotonálódásának eredményeképpen jelenik meg az MA komplex, vagyis ugyanazon sztöchiometria a vas(II)- és vas(III)-rendszerekben másfajta koordinációt jelent. Nagyobb pH tartományban egy második ligandum is koordinálódik a fémionhoz, de az is csak kétfogúan.



A pH növelésével a C11 hidroxilcsoport deprotonálódik, ezt a $pK(MHA_2/MA_2)$ értéke is jelzi, mivel közel megegyezik a szabad ligandum C11 hidroxilcsoportjának pK értékével. pH 10 felett megtörténik az eddig nem koordinálódott hidroxilcsoportoknak a deprotonálódása és kötődése a fémionhoz, amelynek eredményeképpen MA_2H_2



összetételű komplex jelenik meg (20. ábra). Ekvimoláris oldatban pH 8 felett MAH_1 sztöchiometriájú komplex képződik, a deprotonálódásra jellemző állandó kisebb, mint a szabad ligandumra jellemző állandó. Valószínűsíthető, hogy ebben az esetben térbelileg kedvezőbb a ligandum háromfogú koordinációja, mint a biszkomplex esetén.

A vas(II)-HYP rendszert tekintve összhang van az ACRA-val, ugyanis a koordináció itt is csak kétfogú, protonált komplexek vannak jelen. Ugyanakkor a protonált komplexek hidroxilcsoportjának deprotonálódása, illetve koordinációja csak nagyobb pH tartományban következik be.

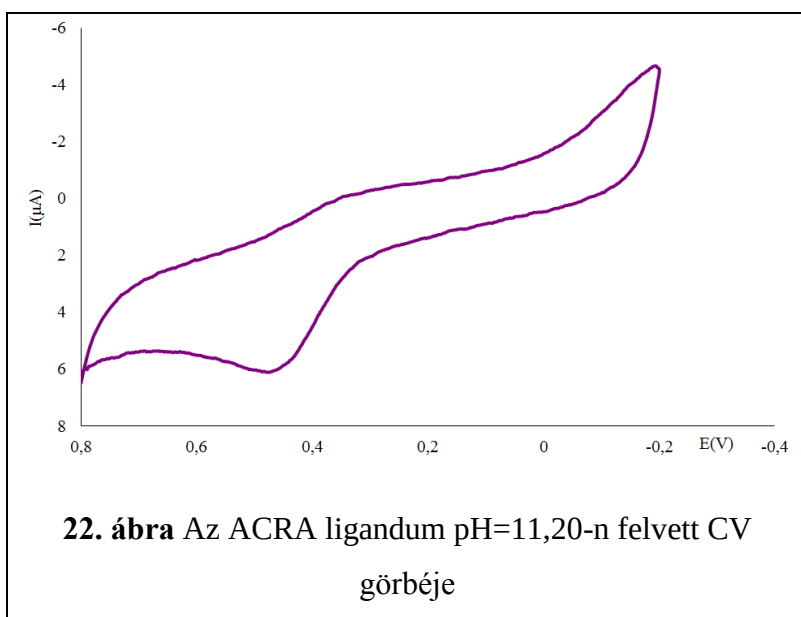
Ennek oka a szerkezeti különbség, ugyanis a HYP molekulában ismert [2], hogy a szén-szén egyszeres kötés menti szabad rotációval a fenolos hidroxilcsoport és az azonitrogén között intramolekuláris hidrogénhid tud kialakulni (21.ábra). Ennek a hidrogénhidnak a jelenléte a szabad ligandumhoz képest a második hidroxilcsoportnak a deprotonálódását a nagyobb pH tartomány felé tolja, amit a $\text{pK}(\text{MH}_2\text{A}_2/\text{MHA}_2)$ és $\text{pK}(\text{MHA}_2/\text{MA}_2)$ értéke is mutat.

A vas(II)- és vas(III)-rendszerekben képződő komplexeket tekintve elmondható, hogy a vas(III) ezen ligandumokkal nagyobb stabilitású komplexeket képez, amelyben a koordináció minden esetben (O,N,O) donoratomokon keresztül játszódik le. Ezzel szemben a vas(II) koordinációja ezen vegyületekhez kevésbé kedvezményezett, ezt mutatja a képződő komplexek kisebb stabilitása, valamint hogy az (O,N,O) koordináció csak nagyon lúgos tartományban következik be.

4.5. Redoxi paraméterek a vizsgált rendszerekben

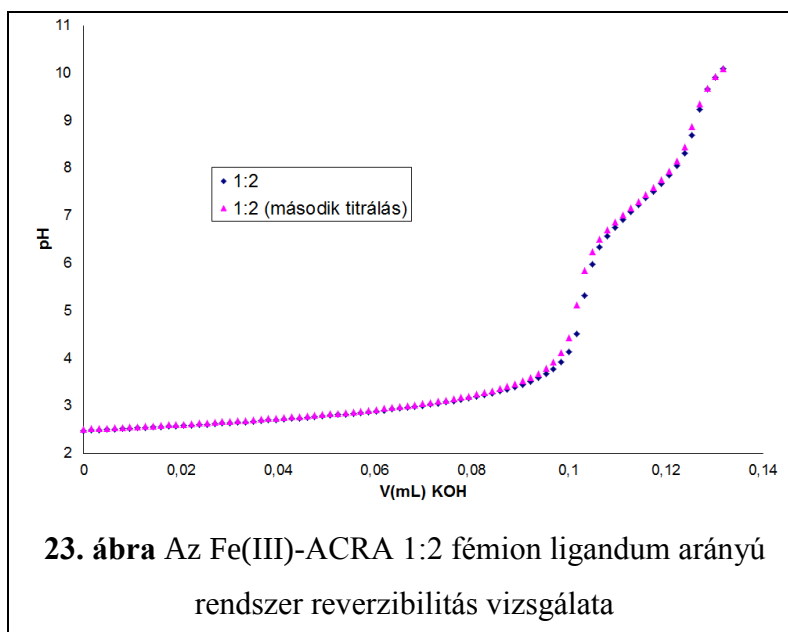
A redoxi folyamatok tanulmányozása miatt két rendszerben (ACRA és HYP) 1:3 fémion ligandum aránynál ciklikus voltammetria mérését végeztük el. Ezek alapján dönthető el, hogy alkalmas-e a fiziológiai pH-n jelen lévő komplex a vas megkötésére, nem fog olyan folyamatokat katalizálni, amelyek az oxidatív stresszt ki tudják alakítani.

Ugyanakkor a teljesen deprotonált ligandumok CV görbéi (22. ábra) jól mutatják, hogy maguk a vegyületek a ciklikus voltammetriás mérés során oxidálódnak, amit a



görbén megjelenő anódos csúcs mutat. Ez felvetette annak a lehetőségét, hogy a potenciometriás titrálások során a vas(III) nem képes-e a ligandumok oxidálására. Ezért potenciometriásan reverzibilitás vizsgálatot végeztünk el a vas(III)-ACRA rendszerben, amelyet a 23. ábra két titrálási görbéje mutat. Kék színnel az első,

rózsaszínnel pedig az első titrálás után visszavasanyított minta titrálási görbéje látható. A két mérés párhuzamos, a titrálási görbék átfedésben vannak, vagyis a titrálás reverzibilis, a kialakuló komplexek megakadályozzák a ligandum oxidációját potenciometriás körülmények között.



A HYP és ACRA vas-rendszerek redoxi folyamatainak kiértékelése ugyanakkor a szabad ligandum oxidációja miatt meglehetősen bonyolult, így ennek a tisztázása a munka folytatását fogja jelenteni.

5. Összefoglalás

Bizonyos fémionok az élő szervezetben lejátszódó folyamatokban meghatározott fontosságúak. A fémion háztartás felborulása azonban sok esetben megbetegedéshez vezet. Ezen fémionok közül a vas, amely az élő szervezet legnagyobb mennyiségben előforduló nyomeleme, létfontosságú az oxigén szállításában, tárolásában, valamint különböző elektrontranszfer folyamatok közvetítésében.

Mediterrán területeken elterjedt örökletes betegség a β -talasszémia. A betegség kezelése tüneti, a korábban alkalmazott eljárások (vérátömlesztés, deszferrioxamin) azonban rendkívül mód kihatnak a páciensek életminőségére. Ezért a gyógyászatban egyre jobban terjednek el azok a fajta kelátor vegyületek, amelyeket szájon át is szedni lehet, megoldva ezzel a fenti módszerek helyhez kötöttségének problémáját.

Ezen kutatások miatt mi két új, potenciális vas-kelátor oldategyensúlyi, redoxi és szerkezeti vizsgálatát végeztük el, valamint összehasonlításképpen egy, a gyógyászatban már alkalmazott vas-kelátor származékát is vizsgáltuk.

Az eredmények azt mutatják, hogy mindhárom vegyület rendkívül nagy stabilitású komplexet képez a vas(III)ionnal, melynek során mono- és biszkomplexek kialakulására van lehetőség. A koordináció minden esetben az aromás hidroxilcsoportok oxigén atomjain, illetve az azonitrogénen keresztül valósul meg. A komplexek stabilitása olyan nagynak adódott, hogy az erősen savas tartományban képződött komplexek képződési állandóját potenciometria segítségével nem lehetett meghatározni, így méréseinket UV-látható spektroszkópiával egészítettük ki. A számított eloszlási görbék alapján az mondható el, hogy fiziológiás pH-n mind a három ligandum biszkomplexet képez, telíti az oktaédes elrendeződésű vas(III)ion koordinációs szféráját, amely a vas megkötésének szempontjából fontos.

A vas-kelátorok fontos paramétere a pFe értéke. Ez minél nagyobb, a vegyület annál alkalmasabb a vas megkötésére. A stabilitási állandók alapján számolt pFe értékek közel hasonlóak voltak az összehasonlításképpen alkalmazott HYP vegyület fiziológiás pH-n számolt pFe értékével, és közel hasonló értékűek voltak, mint a szervezetben megtalálható transferrin pFe értéke. Így ezen ligandumokat a szervezetbe juttatva köztük és a transferrin között kompetíció alakulhat ki.

A komplexek nagy stabilitása ugyanakkor lehetőséget adott a szilárd fázisú vizsgálatokra is. Két vegyület (ACRA, CAL) vas(III)-komplexét állítottuk elő abszolút

etanolos közegben, majd vizsgáltuk a létrejövő komplexeket MS és IR spektroszkópia segítségével. A tömegspektrumok alapján egyértelműen látható a potenciometria alapján feltételezett komplexek megjelenése, a mért és szimulált izotópeloszlások pedig jó egyezésben vannak egymással. IR spektroszkópia segítségével pedig sikerült az azonitrogének koordinációját is bizonyítani.

Az oldategyensúlyi vizsgálatokat vas(II)ionokkal is elvégeztük. Az eredmények itt azt mutatták, hogy ez a fémion kevésbé nagy stabilitású komplexeket képez a vizsgált ligandumokkal, továbbá protonált komplexek megjelenése is leírható volt. Ez a vas megkötése szempontjából fontos, ugyanis a kelátor vegyületeknek a kevésbé reaktív vas(III)ionokat kell erősebben kötnie. A koordináció azonos a vas(III)-komplexekben leírtaknál, ugyanakkor nem protonált biszkomplexek képződése csak ott jelent meg, ahol maga a ligandum is deprotonálódik.

A ciklikus voltammetria segítségével megállapítottuk, hogy a szabad ligandumok oxidációra hajlamosak CV körülmények között. A reverzibilitás vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a vas(III)ionnal létrejövő komplexek elég stabilisak ahhoz, hogy megakadályozzák a ligandum oxidációját, így a komplexképződési folyamatok reverzibilisek voltak. Mivel azonban a fémes rendszerek redoxipotenciálja a ligandumok CV aktivitása miatt nehezen meghatározható, így azok értékelése a munka folytatását fogja jelenteni.

Összefoglalva elmondható, hogy a szervezetben felhalmozódott vas megkötésére az általunk vizsgált ligandumok a képződő komplexek stabilitása és szerkezete alapján alkalmasak lehetnek. Ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek, amelyek bizonyítják, hogy a vizsgált ligandumok szelektíven kötik a fémiont, továbbá, hogy a létrejövő vas-komplexek olyan redoxipotenciállal rendelkeznek, amelyek nem katalizálják a szervezetben lezajló oxidatív stressz folyamatait.

6. Hivatkozások

- [1] T. Zhou, R. C. Hider, Z. D. Liu, H. Neubert, *Tetrahedron Letters*, **45**, 9393 (2004)
- [2] S. Steinhäuser, U. Heinz, M. Bartholomä, T. Weyhermiller, H. Nick, K. Hegetschweiler, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 4177 (2004)
- [3] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Az elemek kémiája*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, p. 1482-1505 (1999)
- [4] Kiss T., Gajda T., Gyurcsik B.: *Bevezetés a bioszervetlen kémiába*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, p. 65-118 (2007)
- [5] M. Borsari, C. Gabbi, F. Ghelfi, R. Grandi, M. Saladini, S. Severi, F. Borella, *J. Inorg. Biochem.*, **85**, 123 (2001)
- [6] C. Hershko, *Molec. Aspects Med.*, **13**, 113 (1992)
- [7] J.-B. Galey, O. Destrée, J. Dumats, P. Pichaud, J. Marché, S. Génard, G. Braccioli, L. L. Capitaine, H. Plessix, L. Brambilla, O. Cantoni, *Free Radical Biology & Medicine*, **25**, 8, 881 (1998)
- [8] E. Nisbet-Brown, N. F. Olivieri, P. J. Giardina, R. W. Grady, E. J. Neufeld, R. Sechaud, A. J. Krebs-Brown, J. R. Anderson, D. Alberti, K. C. Sizer, D. G. Nathan, *Lancet*, **361**, 1597 (2003)
- [9] M. D. Cappellini, A. Cohen, A. Piga, M. Bejaoui, S. Perrotta, L. Agaoglu, Y. Aydinok, A. Kattamis, Y. Kilinc, J. Porter, M. Capra, R. Galanello, S. Fattoum, G. Drelichman, C. Magnano, M. Verissimo, M. Athanassiou-Metaxa, P. Giardina, A. Kourakli-Symeonidis, G. Janka-Schaub, T. Coates, C. Vermeylen, N. Olivieri, I. Thuret, H. Opitz, C. Ressayre-Djaffer, P. Marks, D. Alberti, *Blood*, **107**, 9 (2006)
- [10] D. R. Richardson, E. Baker, *Biochim. Biophys. Acta*, **1**, 1053 (1990)
- [11] D. Sun, G. Melman, N. J. LeTourneau, A. M. Hays, A. Melman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 458 (2010)
- [12] G. Gran: *Acta. Chem. Scand.*, **4**, 599 (1950)
- [13] F. G. Martins, J. F. Andrade, A. C. Pimenta, L. M. Lourenço, J. R. M. Castro, V. R. Balbo, *Ecl. Quim.*, São Paulo, **30**(3), 63 (2005)
- [14] Gans P., Sabatini A., Vacca A., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1195 (1985)
- [15] L. Zékány, I. Nagypál, in *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, 8, (ed.: Leggett D. J.) **291**, Plenum Press, New York (1985)

- [16] I. Puigdomenech, *Hydra/Medusa Chemical Equilibrium Database and Plotting Software*, KTH Royal Institute of Technology, 2004 <http://www.kemi.kth.se/medusa/> freely downloadable software at.
- [17] H. M. Irving, M. C. Miles, L. D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, **38**, 475 (1967)
- [18] D. Nguyen, R. Seyer, A. Heitz and B. Castro, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1025 (1985)
- [19] L. D. Pettit, J. E. Gregor, H. Kozlowski, *Perspectives on Bioinorganic Chemistry* (eds.: R. W. Hay, J. R. Dilworth and K. B. Nolan), JAI Press, London, **1** (1991)
- [20] Farkas E., *Ciklikus voltammetria feladata a műszeres analitika gyakorlato*, Oktatási segédanyag, Debrecen
- [21] J. Bunting, D. Stefanidis, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 779 (1990)
- [22] M. Bartusek, L. Sommer, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **27**, 2397 (1965)
- [23] V. M. Nurchi, G. Crisponi, J. I. Lachowicz, S. Murgia, T. Pivetta, M. Remelli, A. Rescigno, J. Niclós-Gutiérrez, J. M. González-Perez, A. Domínguez-Martín, A. Castiñeiras, Z. Szewczuk, *J. Inorg. Biochem.*, **104**, 560 (2010)
- [24] V. M. Nurchi, G. Crisponi, T. Pivetta, M. Donatoni, M. Remelli., *J. Inorg. Biochem.*, **102**, 684 (2008)
- [25] V. M. Nurchi, T. Pivetta, J. I. Lachowicz, G. Crisponi, *J. Inorg. Biochem.*, **103**, 227 (2009)
- [26] W. R. Harris, C. J. Carrano, S. R. Cooper, S. R. Sofen, A. E. Avdeef, J. V. McArdle, K. N. Raymond, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6097 (1979)
- [27] M. Gaber, G. B. El-Hefnawy, M. A. El-Borai, N. F. Mohamed, *J. Therm. Anal. Calorim.*, **109**, 1397 (2012)