

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

Tudományos diákköri dolgozat

**2,6-bisz(hidroximetil)-piridin, és piridin-2,6-dikarbonsav vegyes ligandumú
fémkomplexeinek szintézise és vizsgálata**

Krekuska Hajnalka

Vegyész MSc, II. évf.

Témavezető: Dr. Gyurcsik Béla, egyetemi docens
SZTE, Szervetlen és Analitikai KémiaTanszék



2014

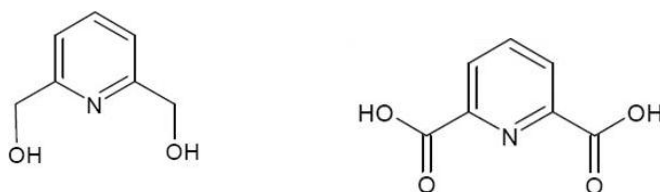
Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és Célkitűzés	3
2. Irodalmi háttérismeretek	4
2.1. Kristályszerkezeti előismeretek	4
2.2. Oldategyensúlyi előismeretek.....	6
3. Kísérleti módszerek és eszközök.....	9
3.1. Kristályosítás	9
3.2. Csillapított teljes reflexiós infravörös spektroszkópia (ATR).....	9
3.3. Röntgendiffrakciós vizsgálatok (XRD)	10
3.4. Potenciometria	11
3.5. A sejtek életképességének vizsgálata a komplexek jelenlétében	12
4. Kísérleti redmények és értékelésük.....	14
4.1. Kristályosítás	14
4.2. Csillapított teljes reflexiós infravörös spektroszkópia (ATR).....	14
4.3. Röntgendiffrakciós vizsgálatok (XRD)	17
4.4. Potenciometria	22
4.5. MTT redukciós vizsgálat	26
5. Összefoglalás.....	28
6. Irodalomjegyzék.....	29

1. Bevezetés és Célkitűzés

A piridin-2,6-dikarbonsavat (1. ábra), triviális nevén dipikolinsavat, először a bakteriális endospórákban mutatták ki, melyeknek, hővel és egyéb sugárzásokkal szembeni ellenálló-képességéhez és általános stabilitásához ez az anyag is hozzájárul. E molekula fémkomplexek, jellemzően kelátkomplexek, kialakítására is alkalmas. Átmenetifém-ionokhoz a karboxilát-oxigéneken, illetve a nitrogén-donoratomján keresztül kapcsolódhat, gyakran dimereket, vagy polimereket alkotva.

A 2,6-bisz(hidroximetil)-piridin (1. ábra), továbbiakban pydime, hasonlóan jó kelátképző, melynek réz(II)komplexeit széleskörűen tanulmányozták. A ligandum jellemzően harapófogószerűen kapcsolódik a fémionokhoz, stabilis biszkomplexekeket képezve. A dipikolinsavhoz hasonlóan, oktaéderes koordinációs geometriát alakít ki a fémion körül.



1. ábra: A vizsgált ligandumok: 2,6-bisz-hidroximetil piridin (balra) és piridin-2,6-dikarbonsav (jobbra)

Mindkét ligandum számos kétértékű fémionnal kialakított törzskomplexének szerkezete ismert. Réz(II)ionokkal vegyes ligandumú komplexüket is előállították. Ennek szerkezetét tisztázták, azonban hasonló komplexek más fémekkel nem ismertek. A vegyes ligandumú komplexekben a komponensek egymás biológiai hatását erősíthetik. Az ilyen irányú kutatások a gyógyszerfejlesztés egyik meghatározó irányát jelentik.

A fentiek alapján munkám céljával tűztem ki

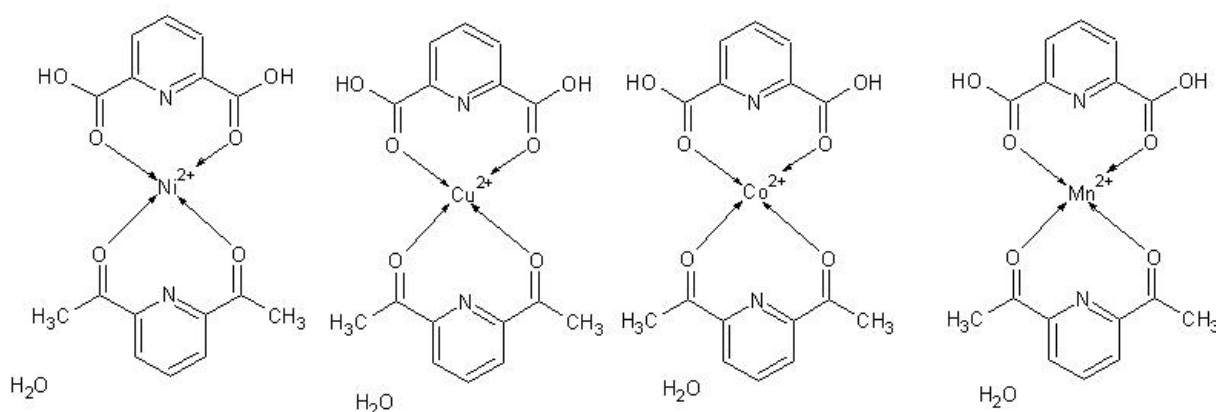
- az említett ligandumok vegyes komplexeinek szintézisét kétértékű átmenetifém-ionokkal;
- ezek szerkezetvizsgálatát csillapított teljes reflexiós infravörös spektroszkópiával és röntgenkristallográfiával;
- ezen vegyületek oldategyensúlyi vizsgálatát;
- a komplexek hatásának vizsgálatát rákos sejtvonalakon.

2. Irodalmi háttérismeretek

2.1. Kristályszerkezeti előismeretek

A dipikolinsavat, először 1936-ban mutatták ki biológiai mintákban [1]. A *Bacillus* valamint *Clostridium* baktérium genusokra jellemző endospórákban található nagy mennyiségben [2, 3], ugyanis hozzájárul azok hővel és egyéb sugárzásokkal szembeni ellenállóképességéhez [4]. E molekula koordinációs kémiája is érdekes. Átmenetifém-ionokat karboxilát-oxigénjeivel összekapcsolva, dimereket vagy polimereket alkot, [5–7], de kelátkomplexeket is képez [8–10].

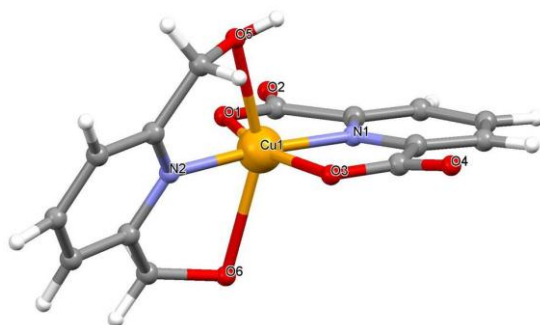
A 2,6-bisz(hidroximetil)piridin [11-13], mellyel az irodalomban 2,6-dimetanolpiridinként [9] is találkozhatunk, réz(II)komplexeit már széleskörűen vizsgálták. E tridentát ligandum [9, 14] harapófogószerűen kapcsolódik a fémionokhoz, igen stabil 1:2 mólarányú komplexeket képezve [12]. Az is ismert, hogy a réz(II) hatos koordinációjú komplexei általában oktaédes szerkezetűek, továbbá a CCD adatbázisában található réz(II) iont és pydimét tartalmazó komplexek minden esetben a koordinációs szféra összenyomott oktaéder alakú [11, 15, 16], amennyiben mindkét axiális pozícióban nitrogénatom található. Mind a pydime [17,18] mind a dipikolinsav [19-23] számos törzskomplexét vizsgálták már különböző fémionokkal. Ezekből látható néhány komplex sematikus szerkezete a 2. ábrán.



2. ábra: Példák a dipikolinsav kétértékű fémionokkal alkotott törzskomplexére [20-23]

Megállapítható, hogy nem csupán a réz(II), de egyéb kétértékű átmenetifém-ionokhoz is harapófogószerűen kapcsolódnak, torzult oktaédes koordinációs szférát alakítva ki. Az is szembetűnő, hogy a dipikolinsav törzskomplexei minden esetben tartalmaznak koordinálódott oldószermolekulát is.

A pydime és dipikolinsav réz(II)ionokkal alkotott vegyes ligandumú komplexét már korábban is tanulmányozták, szerkezete ismert [9]. Azonban hasonló komplexeket más fémekkel még nem állítottak elő.



3. ábra: A pydime és dipikolinsav réz(II)ionokkal alkotott vegyes ligandumú komplexe [9]

Az említett komplex a 3. ábrán látható. A központi fémionhoz a pydime és a pydic is közvetlenül kapcsolódik. A koordinációs szféra megnyúlt oktaéderes szerkezetű, ahol az axiális pozíciót a pydime oxigénjei foglalják el. A pydime oldalán, a ligandum szerkezete miatt, a fémion-nitrogén kötés hossza kisebb, mint a fémion-oxigén kötés hossza. [9] (1-2. Táblázat).

1. Táblázat: A fenti vegyes ligandumú rézkomplex koordinációs szférájának kötéshosszai

Atom1	Atom2	Kötéshossz (Å)
Cu1	O1	2,032(2)
Cu1	O3	2,061(2)
Cu1	O5	2,343(2)
Cu1	O6	2,432(2)
Cu1	N1	1,889(3)
Cu1	N2	1,943(3)

2. Táblázat: A fenti vegyes ligandumú rézkomplex koordinációs szférájának kötésszögei

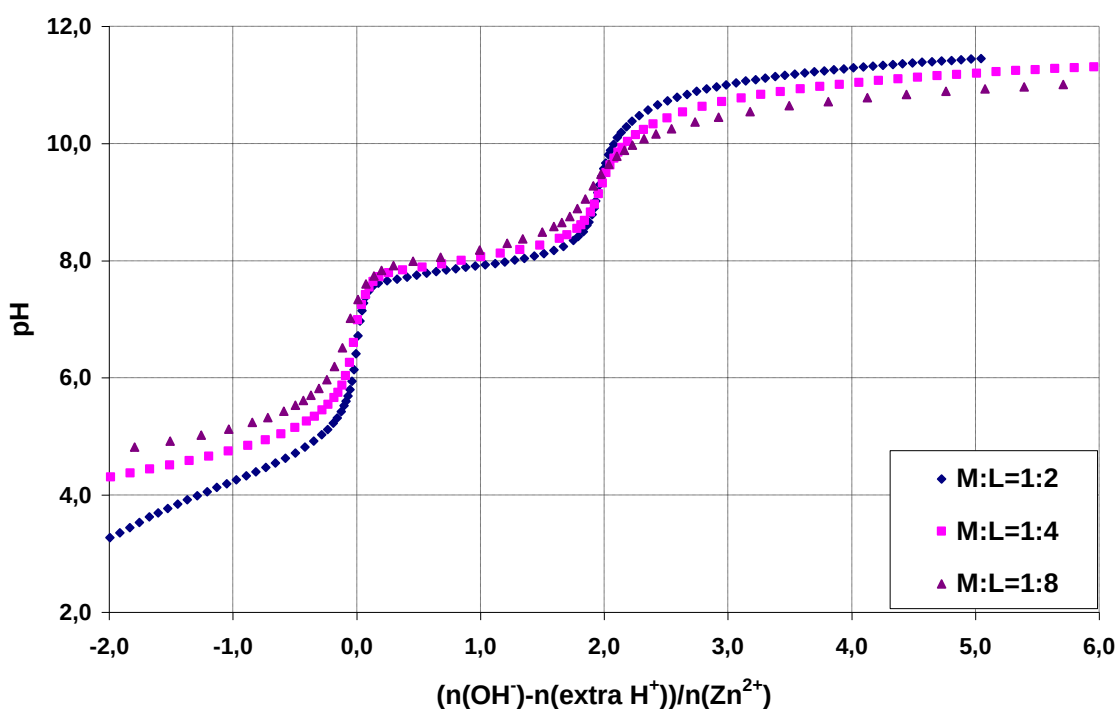
Atom1	Atom2	Atom3	Kötésszög
O1	Cu1	O3	160,5(1)
O1	Cu1	O5	99,56(9)
O1	Cu1	O6	84,21(9)
O1	Cu1	N1	80,2(1)
O1	Cu1	N2	104,6(1)
O3	Cu1	O5	84,59(9)
O3	Cu1	O6	101,28(9)
O3	Cu1	N1	80,4(1)
O3	Cu1	N2	94,9(1)
O5	Cu1	O6	151,51(8)

O5	Cu1	N1	107,3(1)
O5	Cu1	N2	75,92(9)
O6	Cu1	N1	101,23(9)
O6	Cu1	N2	75,81(9)
N1	Cu1	N2	173,9(1)

A kristály ortorombos, a szimmetriát a Pbcn tércsoport jellemzi, ami azt jelenti, hogy egy 180 fokos fő forgatva tükrözési tengellyel, két erre merőleges 180 fokos forgástengellyel, egy horizontális tükrősíkkal, és két vertikális tükrősíkkal rendelkezik. Az elemi cellában 8 molekula foglal helyet, egymással igen erős hidrogén-hidakat, melyeknek kötéshossza 1,885Å, kialakítva.

2.2. Oldategyensúlyi előismeretek

A pydime cink(II)komplexeinek oldategyensúlyi vizsgálatát egy korábbi TDK munka keretei között már elvégeztem. A 4. ábrán a cink(II)-pydime rendszer normált pH metriás titrálási görbéi láthatók különböző fém-ligandum arányoknál.



4. ábra: A Zn^{2+} -pydime rendszer normált pH-metriás titrálási görbéi

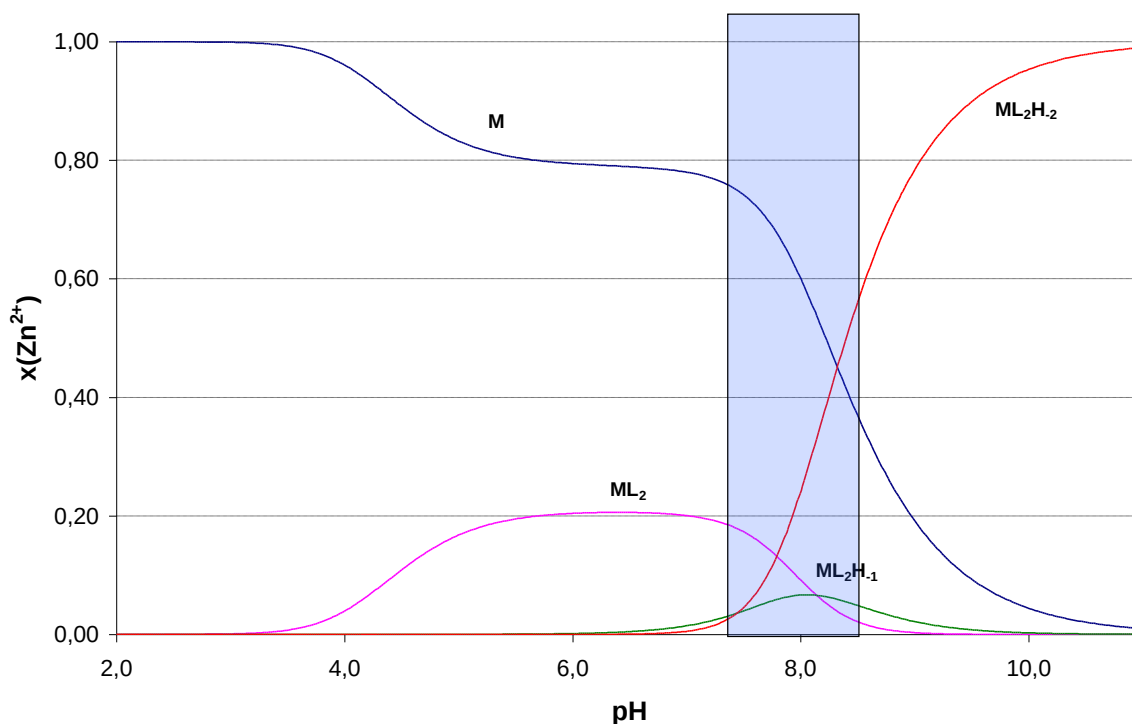
Az ábra alapján megállapítható, hogy a ligandumfelesleg növelése a Zn hidrolízisét a nagyobb pH irányába tolja el, ami a ligandumok koordinálódását bizonyítja. A $\text{pH} \sim 8,0$ körül

képződő csapadék is egyre könnyebben oldódik fel a ligandumfelesleg növelésével. Ez a deprotonálódott ligandum és a fémion közötti erős kölcsönhatást mutatja. Meghatároztuk a képződő komplexek egyensúlyi állandóit is, melyek a 3. táblázatban találhatók.

3. Táblázat: A Zn^{2+} -pydime komplexek képződési állandói:

$\log\beta$	L= pydime
$[\text{LH}]^+$	4,32
$[\text{ML}_2]^{2+}$	4,23
$[\text{ML}_2\text{H}_1]^+$	-3,91
ML_2H_2	-11,35

A táblázat alapján a HySS [24] program segítségével 1:2 fém ligandum arányú rendszerekre az 5. ábrán bemutatott eloszlási diagramot számoltuk ki (5. ábra).



5. ábra: A Zn^{2+} :pydime = 1:2 rendszer eloszlási görbéi; a kiemelt tartományban csapadékképződés volt tapasztalható

Az 5. ábrán jól látszik, hogy a fémion hozzáadása a piridin-nitrogén deprotonálódását alig befolyásolja, azaz a komplexképződés csak ennek deprotonálódása után kezdődik meg. Ennek következtében a komplexképződés tanulmányozása pH-metriás módszerrel bizonytalanná válik. Az eloszlási diagram alapján semleges formában a ligandum igen gyenge

komplexbépzőnek tűnik. Az alkoholos hidroxilcsoport(ok) deprotonálódása viszont stabilis komplexek képződését vonja maga után, így lúgos közegben az ML_2H_2 összetételű részecske válik dominánssá. Fiziológias pH-n az ML_2 komplex mellett a cink(II)ion nagy része ligandumhoz nem kötött formában van jelen az oldatban.

Tanszékünkön, a Szlovák Műszaki Egyetem Szervetlen Kémiai Tanszékével együttműködve, már korábban is vizsgálták piridinszármazékok vegyes réz(II)komplexeit [25, 26]. Megállapították, hogy ezekben a komplexekben a ligandumok mind egymás fémion-affinitását, mind biológiai hatását erősíthetik [26]. A potenciális biológiai hatással bíró vegyületek szinergisztikus hatásának tanulmányozása a gyógyszerfejlesztés egyik meghatározó iránya.

A biológiailag aktív komplexek közül az elmúlt évtizedben fokozott figyelem irányult a réz- és cink komplexekre, ugyanis mind a különböző metalloproteinekben, mint az élő szervezetben ezek a leggyakrabban előforduló nyomelemek [27]. Ezenfelül, számos cink(II)komplexről megállapították, hogy változatos módon képesek a DNS-hez kötődni [28],[29].

3. Kísérleti módszerek és eszközök

3.1. Kristályosítás

Röntgenkristallográfiás mérések elvégzéséhez a komplexeket egykristályok formájában próbáltuk előállítani. A kristályosítási kísérletekhez felhasznált 2,6-bisz-hidroxiometil piridint és a nikkel(II)-acetátot az Aldrichtól, a cink(II)-acetát dihidrátot a La Chemától, a piridin-2,6-dikarbonsavat pedig a Mercktől szereztük be. Oldószerként desztillált vizet, valamint acetonitrilt (Aldrich), alkalmaztam. Minden kísérletnél 20 ml oldószert használtam, és a kísérleteket szobahőmérsékleten kiviteleztem. A fémion : pyridin : dipikolinsav molarány minden esetben 1 : 1 : 1 volt. Amennyiben az oldatokból csapadék kiválását tapasztaltam, ezeket leszűrtem, majd levegőn szárítottam. Az anyaoldatok cink(II) és mangán(II) jelenlétében színtelenek voltak. A nikkel(II) türkizkék, kobalt(II) rózsaszín, míg réz(II) kék színű oldatokat eredményezett.

3.2. Csillapított teljes reflexiós infravörös spektroszkópia (ATR)

Infravörös (IR) fénysugarakkal történő besugárzás hatására a molekulák rezgési és forgási átmenetei gerjeszthetők. Ezeknek az energiája azonban nagyságrendekkel kisebb, mint az UV-VIS tartományban gerjeszthető elektronszinteké. Az infravörös spektroszkópiában a hullámszám (ν) függvényében ábrázoljuk az elnyelést.

$$E = h\nu = hc\bar{\nu}$$

Az adatokból következtetni tudunk az egyes funkciós csoportok meglétére, vagy hiányára, ugyanis az ún. karakterisztikus tartományokban csak az egyes rezgéstípusok figyelhetők meg. A 3700-2600 cm^{-1} tartományban az XH csoportok vegyértékrezgései találhatók, a 2300-2000 tartomány a hármass és kumulált kettős kötést tartalmazó csoportok rezgéseire jellemző. A C = X (X: O, N, C) kettős kötések és aromás gyűrűk jellemző tartománya az 1800-1500 cm^{-1} . Az 1500-650 cm^{-1} között megjelenő részt nevezik „ujjlenyomat tartomány”-nak, melyben az egyes sávok külön-külön csak igen nehezen azonosíthatók, azonban ez a tartomány nagy biztonsággal teszi lehetővé a molekulák azonosítását.

A csillapított teljes reflexiós spektroszkópia módszere alkalmas mind szilárd, mind folyadékminták vizsgálatára. Legelterjedtebben a közeli infravörös tartományban, filmrétegek és átlátszatlan szilárd anyagok abszorpciós spektrumainak felvételére alkalmazzák. A

vizsgálat során egy n_1 refrakciós indexű mintát egy, a mérési tartományban az elektromágneses hullámot áteresztő anyagra helyeznek. Erre alkalmasak pl. a tallium-bromid és -jodid (KRS-5ként ismert), ezüst-klorid, vagy a germánium. Fontos, hogy az erre a célra felhasznált anyag refrakciós indexe nagyobb legyen, mint a mérendő mintáé. A beeső sugárzás teljesen visszaverődik, feltéve, hogy a beesési szög meghalad, egy meghatározott kritikus értéket. A sugárzás a mintába $\sim 20 \mu\text{m}$ mélységig hatol be. Ha a beeső sugárzás hullámhossza megközelíti a minta refrakciós indexét, ami függ a sugárzás hullámhosszától, a visszaverődő sugárzás hullámszáma hirtelen exponenciális csökkenést mutat. Ennek következtében a visszavert fény intenzitása a hullámhossz változásával változik. Az így kapott görbe egy abszorpciós spektrumhoz hasonlít. A gyakorlatban többszörös belső reflexiókat alkalmaznak a lecsengés felerősítésére.

ATR vizsgálatainkat NICOLET 5700 FT-IR (Thermo electron corporation) spektrométeren, Smart Orbit $30\,000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$ sugárforrással, gyémántkristályt alkalmazva végeztük. Az alapvonalat levegőre vettük fel, majd kivontuk a spektrumból.

3.3. Röntgendiffrakciós vizsgálatok (XRD)

A röntgendiffrakció módszere azon alapul, hogy egy gondosan kiválasztott egykristályt egy röntgensugár-nyalábban folyamatosan forgatunk. Az egyes elfordítások szöge ismert. Szerves nehézatomot tartalmazó, vagy biokémiai minták esetén leggyakrabban $\text{CuK}\alpha$, komplex kémiában $\text{MoK}\alpha$, esetleg ritkábban, ásványok, nagy elnyelésű anyagok esetén $\text{AgK}\alpha$ sugárforrást alkalmaznak, ezek röntgensugár hullámhossza ugyanis $1\text{\AA}$ körüli. A detektor a mintáról rugalmasan visszaverődő sugarakat érzékeli. Ily módon kétdimenziós diffrakciós térképet kapunk, melyet Fourier-transzformáció segítségével lehet háromdimenziós elektronsűrűségi térképpé alakítani.

A vizsgált anyag kristályszerkezetét a Bragg-törvény segítségével tudjuk meghatározni:

$$\lambda = 2d \sin \theta$$

Ahol λ a röntgensugár hullámhossza, d a rácssíktávolság 2θ pedig megmutatja, hogy a szórt sugár intenzitásmaximuma milyen szögben helyezkedik el a besugárzási irányhoz viszonyítva. A fenti egyenlet 3 dimenziós formája a következő:

$$4 \sin^2 \left(\frac{\theta}{\lambda^2} \right) = h^2 a^{*2} \dots + 2klb^* c^* \cos \alpha^* .$$

A diffrakciós adatok csak az elemi cella szimmetriájától és adataitól függenek. A diffrakciós pontok (F_{hkl}) és az egykristály adott pontbeli elektronsűrűsége között Fourier-transzformációval tudunk kapcsolatot teremteni, amit az alábbi egyenletek írnak le:

$$F_{hkl} = \iiint \rho_{xyz} \cdot e^{2\pi i(hx+ky+lz)} dx \cdot dy \cdot dz$$

$$\rho_{xyz} = \frac{1}{V} \sum \sum \sum |F|_{hkl} e^{-2\pi i(hx+ky+lz-\alpha_{hkl})}$$

A diffraktométerben felvett visszaverődések adják az F_0 diffrakciós térképet, mely alapján elkészíthetjük a ρ_0 elektronsűrűségi térképet, az alábbiak szerint:

$$\rho_0(xyz) = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l |F_0(hkl)| \cos[2\pi(hx+ky+lz) - \alpha_c(hkl)]$$

Ennek analógiájára modellezhető, az ún. F_c diffrakciós, és ρ_c elektronsűrűségi térkép is. A modell finomítását a legkisebb négyzetek módszere segítségével tesszük meg, vagyis a ρ_0 - ρ_c érték minimumát keressük [30].

$$\rho_0 - \rho_c = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l \|F_0(hkl) - F_c(hkl)\| \cos[2\pi(hx+ky+lz) - \alpha_c(hkl)]$$

Röntgenkristallográfiás méréseinket Siemens P4 diffraktométerrel végeztük. Az intenzitásokat a Lorentz- és polarizációs faktorokkal korrigáltuk. A szerkezet megfejtése közvetlen módszerrel történt, SHELXS-2013 szoftver segítségével, és a teljes mátrix legkisebb négyzetek módszerrel finomítottuk, SHELXL-2013 [31] felhasználásával. Szemiempirikus abszorpciókorrekciókat is végeztünk, a SADABS [32] program segítségével. A geometriai elemzést szintén SHELXL-2013-mal végeztük. A szerkezetek megrajzolásához a Mercury 3.1 [33] programot hívtuk segítségül.

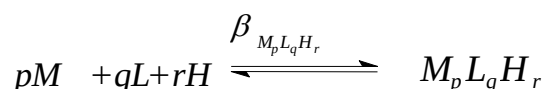
3.4. Potenciometria

Az oldatbeli egyensúlyi vizsgálatok során a protonálódási és komplexképződési állandók meghatározása céljából potenciometriás titrálásokat végeztünk $298 \pm 0,11$ K-en, argon atmoszféra alatt Metrohm Dosimat 665 automata burettával. Az ionerősséget $0,1 \text{ mol/dm}^3$ NaClO_4 oldattal tartottuk állandó értéken. A mérések kezdetén az oldatok kémhatását ismert koncentrációjú HClO_4 mérőoldattal állítottam be pH ~ 2 körüli értékre, majd ismert koncentrációjú NaOH mérőoldattal pH ~ 11 -ig folytattam a titrálásokat. A ligandumkoncentráció a Zn^{2+} -pydime és Zn^{2+} -4FSA biner rendszerek esetén rendre 4 mM és

2 mM volt, míg a cink-pydimine-4FSA terner rendszer vizsgálatakor 1-1 mM volt, a cink koncentráció pedig a fém-ligandum arány függvényében változott. A potenciál értékeket egy Orion 710A pH-mérő és egy Orion gyártmányú kombinált üvegelektrod segítségével regisztráltuk. Az elektrod kalibrálására 0,10 mol/dm³ perklórsavoldatot titráltunk 0,101 mol/dm³ NaOH törzsoldattal. Az így nyert adatsorokat a KALGRAN számítógépes programmal értékeltem ki, a módosított négyparaméteres Nernst-egyenlet [34] segítségével:

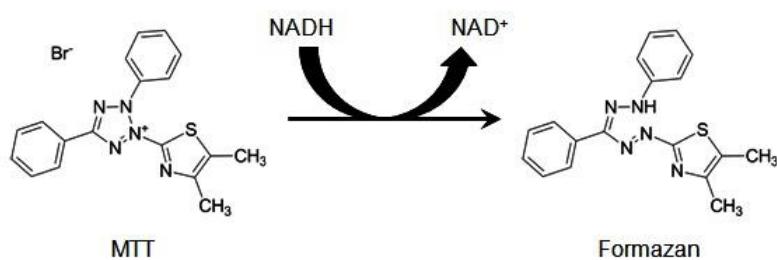
$$E = E_0 + K \cdot \log[H^+] + J_H \cdot [H^+] + \frac{J_{OH} \cdot K_w}{[H^+]}$$

ahol az ismert paraméterek mellett a J_H és J_{OH} az üvegelektrod savas illetve lúgos hibájának, valamint a folyadék–folyadék határfelületi potenciálból adódó hibáknak a korrekciójára szolgáló illesztési paraméterek, és $K_w = 10^{-13,75}$ mol/dm³ [35]. Az elektrod kalibrációja során 0,10 mol/dm³ perklórsavoldatot titráltunk 0,101 mol/dm³ NaOH törzsoldattal $I = 0,1$ mol/dm³ ionerősségnél. A protonálódási és stabilitási állandók számítása a PSEQUAD [36] programmal történt. Az így számított bruttó egyensúlyi állandók a következő általánosított egyensúlyi reakcióra vonatkoznak (a töltéseket az egyszerűség kedvéért elhagytam):



3.5. A sejtek életképességének vizsgálata a komplexek jelenlétében

Az MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromid) tetrazolium redukciós vizsgálat egy olyan széles körben elfogadott, és alkalmazott módszer, amely lehetővé teszi nagyszámú anyag hatásának vizsgálatát a sejtek életképességére. A módszer azon alapul, hogy az élő sejtek a szintelen MTT-t lila színű formazánkrisztályokká alakítják, melynek elnyelési maximuma 570 nm-nél található. A formazánkristályok sejten belüli lokalizációja és az MTT redukció pontos sejtbiológiai mechanizmusa is vitatott. Valószínűsíthető azonban, hogy a NADH vagy más redukáló molekulával történő kölcsönhatás játszódik le (6. ábra).



6. ábra: Az MTT redukciója formazánná

Kísérleteink során az MTT-t 0,5 mg/ml koncentrációban adtuk a vizsgálandó komplexekkel kezelt, majd 24 órán át inkubált sejtkultúrához (tápoldatban hígítva). 3 órás inkubáció után a formazán mennyiségét, amely egyenesen arányos az élő sejtek számával, 570 nm-en, spektrofotométerrel mértük. (Esetenként 630 nm-es referencia hullámhosszat alkalmaznak.) A formazánt DMSO-ban oldottuk az abszorbancia mérése előtt. Az eredmények értékelésénél figyelembe vettük az MTT koncentrációját és az inkubációs időt is, ugyanis az MTT konverziója időfüggő folyamat. Sejtmentes közeget alkalmaztunk negatív összehasonlítóként, és mint háttérrel figyelembe vettük a számításoknál. Az inkubációs idő korlátja a kiváló tús formazánkristályok citotoxikus jellege. Fontos az is, hogy a vizsgált sejtkultúra a növekedés log fázisában legyen, amikor a sejtszám exponenciálisan növekvő, mert a mért abszorbancia csak ekkor tekinthető egyenesen arányosnak a kultúra viabilitásával. A pH megváltozása és a tápanyagok hiánya szintén befolyásolják (csökkentik) az MTT-konverziót. A kapott jel erőssége számos paramétertől függ: az MTT koncentrációja, az inkubáció időtartama, valamint az élő sejtek száma és metabolikus aktivitása.

A felhasznált 0,5 mg/ml-es reagenst az Aldrich által forgalmazott 5 mg/ml-es oldatból hígítással készítettünk. Vizsgálatainkat 24 órás kezelési idővel végeztük el Colo205, Colo320 és U2OS sejtvonalakon. Melyek rendre egy drog-szenzitív és rezisztens végbélrákból, valamint csontrákból származnak. A Colo320 drogrezisztenciája az MDR1 fehérje túlermelésének köszönhető, mely kipumpálja a sejtekből az ellenük alkalmazott tumorellenes szereket, így azok hatása nem érvényesülhet. A lemezek olvasását Asys Jupiter plate readerrel végeztük.

4. Kísérleti redmények és értékelésük

4.1. Kristályosítás

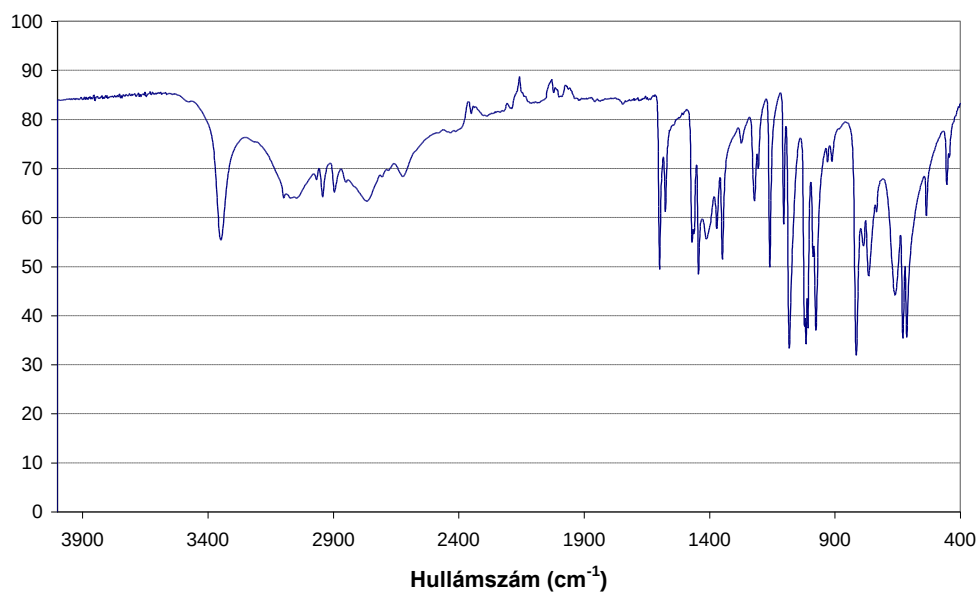
A kristályosítási kísérletek során minden esetben a 3.1. fejezetben ismertetett módon jártam el. Vízből a réz(II) és mangán(II)komplexek, míg acetonitrilből a nikkel(II)komplexek váltak ki. Nikkel(II) és cink(II)komplexek között voltak röntgenkristallográfiás elemzésre is alkalmas egykristályok (4. Táblázat).

4. Táblázat: A kristályosítási kísérletek listája. Az üresen maradt cellák esetén nem volt kristálykiválás/csapadékképződés tapasztalható.

Minta	Összetevők	Mólarány	Oldószer	Oldat színe	Csapadék színe	Kristály színe
HK26	Zn(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	acetonitril	színtelen		
HK27	Ni(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	acetonitril	színtelen	világoskék	
HK28	Zn(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	deszt. víz	színtelen		fehér
HK29	Ni(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	deszt. víz	kékeszöld		türkiz
HK42	Co(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	deszt. víz	rózsaszín		barna
HK43	Fe(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	deszt. víz	vörös		
HK44	Mn(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	deszt. víz	színtelen	fehér	
HK45	Cu(Ac) ₂ , dipikolinsav, pydime	1:1:1	deszt. víz	világoskék	világoskék	

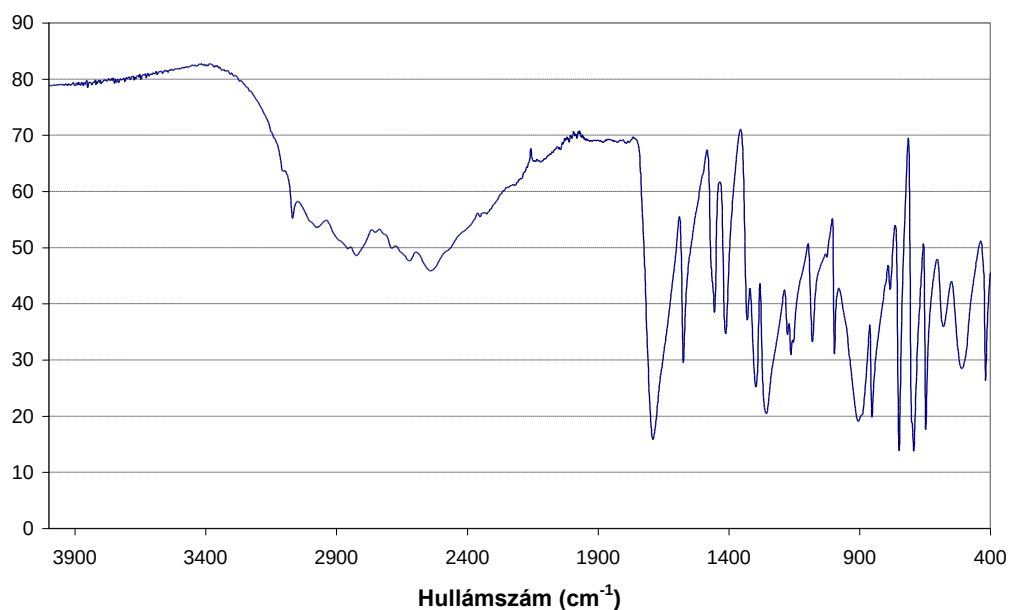
4.2. Csillapított teljes reflexiós infravörös spektroszkópia (ATR)

A kristályosítási kísérletekhez felhasznált ligandumok csillapított teljes reflexiós infravörös spektrumát referenciaként felvettünk, ezek láthatóak a 7-8. ábrán. A pydime spektrumán jól látszik a szabad O-H rezgés, melynek csúcsa ~3400 cm⁻¹-nél található, és ~1600 cm⁻¹-nél a piridingyűrű rezgése is jól megfigyelhető.



7. ábra: A pydime ATR-IR spektruma

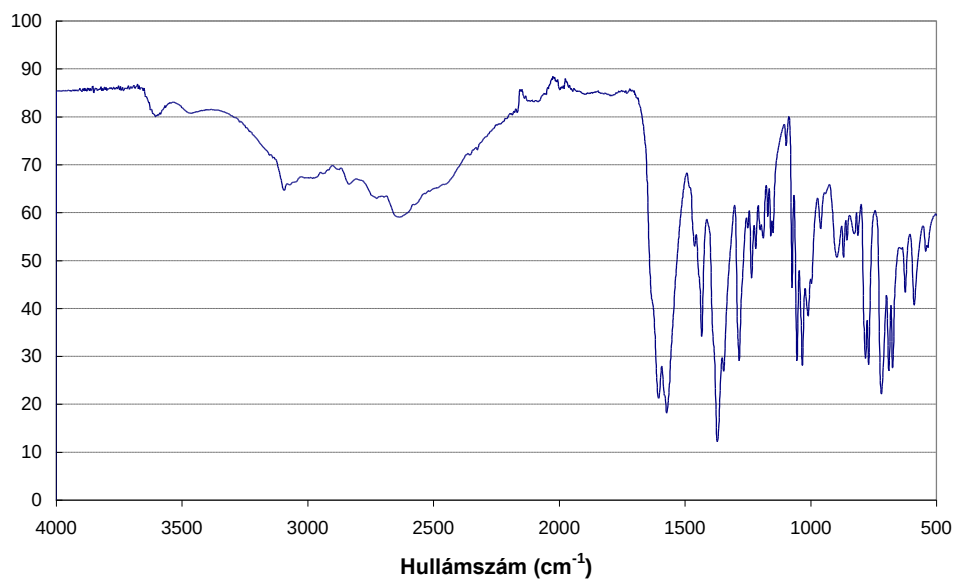
A dipikolinsav spektrumán megfigyelhető, hogy a piridingyűrű $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ -nél található csúcsa az aszimmetrikus karboxilrezgés jelének közelsége miatt kiszélesedik.



8. ábra: A dipikolinsav ATR-IR spektruma

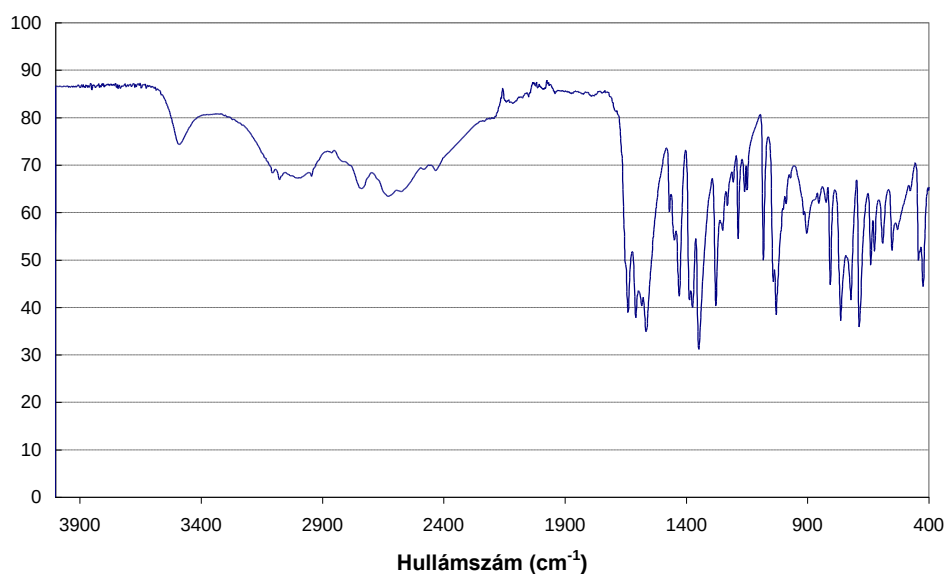
A 9. ábrán a Zn^{2+} pydime-dipikolinsav vegyes komplex csillapított teljes reflexiós infravörös spektrumát mutatjuk be. A $\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ -nél megjelenő, O-H rezgésre jellemző csúcs arra utal, hogy a komplex vízmolekulát tartalmaz. 3000 cm^{-1} környékén egy, a szabad ligandumok spektrumától jelentősen eltérő mintázat figyelhető meg, mely hidrogénhidas kölcsönhatások meglétére utal. 1600 cm^{-1} körül a piridingyűrű és az aszimmetrikus

karboxilrezgések jele található, egymáshoz igencsak közel. A piridingyűrűre jellemző csúcs [37] eltolódik a kialakított kölcsönhatás következtében.



9. ábra: A Zn^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex IR spektruma

A 10. ábrán a nikkel(II)-pydime-dipikolinsav vegyes komplex infravörös spektruma látható, melyen 3489 cm^{-1} -nél megfigyelhető az O-H rezgésre jellemző csúcs, mely arra utal, hogy a komplex vízmolekulát tartalmaz, csakúgy mint az előző esetben. 3000 cm^{-1} körül jelentős eltérés látható a szabad ligandum, és a komplex spektruma között, mely a hidrogénhidas kölcsönhatásoknak tudható be. 1600 cm^{-1} körül a piridingyűrű és a karboxil rezgései egymáshoz igen közel találhatók.

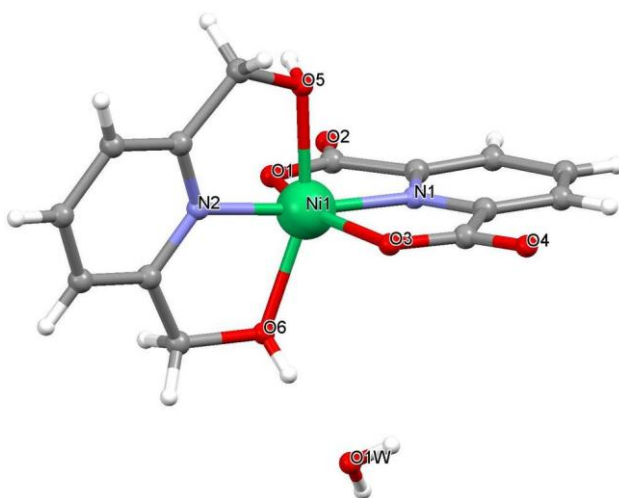


10. ábra: A Ni^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex IR spektruma

Mindezek jó egyezést mutatnak a következő fejezetben ismertetett röntgenkristallográfiás vizsgálatok eredményeivel.

4.3. Röntgendiffrakciós vizsgálatok (XRD)

Az előállított nikkel(II) dipikolinsavval, és pydimevel alkotott vegyes ligandumú komplexe igen nagy hasonlóságot mutat a már korábban ismertetett réz(II)komplexszel[9]. Itt is megfigyelhető a ligandumok harapófogószerű kapcsolódása a központi atomhoz. Különbséget képez azonban a koordinálódott vízmolekula, mely hidrogén-hidakat alakít ki a dipikolinsav karbonil-oxigénjeivel, illetve a pydime alkoholos hidroxilcsoportjaival. A komplex szerkezete a 11. ábrán látható.



11. ábra: A nikkel²⁺-pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex kristályszerkezete

A 5. és 6. táblázatban összefoglalt kötősszögek és kötőshosszak alapján megállapítható, hogy a koordinációs szféra a pydime és dipikolinsav komplexeire jellemző torzult oktaéderes szerkezetű. A kötőshosszak erőteljes hasonlóságot mutatnak a réz(II) esetén megfigyeltekkel (1. Táblázat), azonban a kötősszögekben eltérés mutatkozik, a pydime oldalán nagyobb, míg a dipikolinsav oldalán kisebb szögek figyelhetők meg.

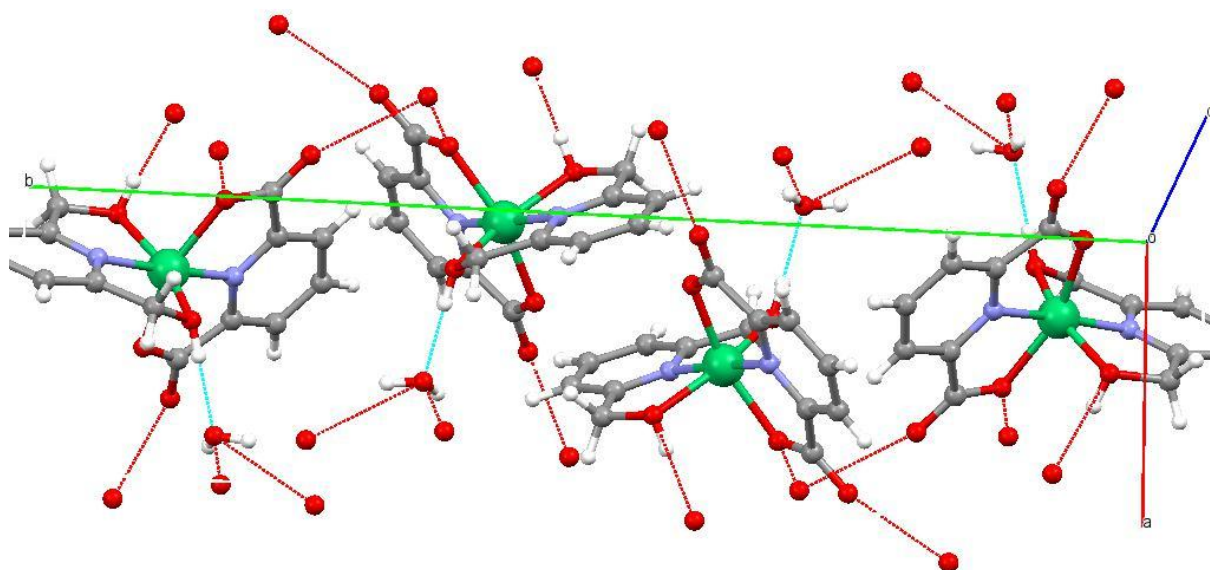
5. Táblázat: A nikkel(II)ion koordinációs szférájában mérhető kötőshosszak a Ni²⁺-pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplexben

Atom1	Atom2	Kötőshossz (Å)
Ni1	N1	1,962(5)
Ni1	N2	1,992(5)
Ni1	O5	2,110(4)
Ni1	O1	2,119(4)
Ni1	O6	2,138(4)
Ni1	O3	2,151(4)

6. Táblázat: A nikkel(II)ion közvetlen koordinációs szférájában mérhető fontosabb kötőszögek a A Ni²⁺-pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplexben

Atom1	Atom2	Atom3	Kötőszög
N1	Ni1	N2	173,5(2)
O1	Ni1	O3	155,9(2)
N1	Ni1	O1	78,3(2)
N1	Ni1	O3	77,8(2)
O5	Ni1	O6	157,4(2)
N2	Ni1	O6	78,2(2)
N2	Ni1	O5	79,3(2)

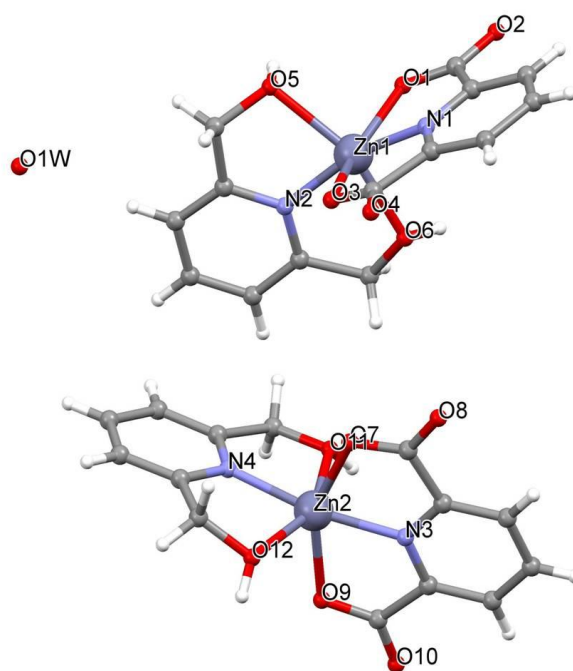
Amint a 12. ábrán látható, négy komplex molekula foglal helyet az elemi cellában. A pydime ligandumok piridinggyűrűi egymással párhuzamosak. Közöttük a laptávolság 6,585 Å, míg a középponti-távolság 6,287 Å, ami túl nagy távolság ahhoz, hogy π - π stacking legyen feltételezhető közöttük, olyan módon, ahogy az a fluoroszalicilsavakkal alkotott vegyes komplexeknél néhány esetben megfigyelhető volt. A monomerek a vízmolekulákkal kialakított hidrogénkötéseken keresztül kötődnek egymáshoz.



12. ábra: A nikkel²⁺-pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex molekuláinak elrendeződése az elemi cellában

A kristály monoklin szerkezetű, és $p2_1/c$ tércsoportba tartozik, mely jellemző a pydime komplexeire[17,18].

A Zn^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex szerkezete is nagyon hasonló az előzőekhez. Egy-egy ligandum kapcsolódik fémionhoz, harapófogószerű elrendezésben. A koordinációs szféra összenyomott oktaéder alakú. Ebben a szerkezetben két komplex molekula kapcsolódik egymáshoz, hidrogénkötésekkel, és egy-egy ilyen dimerhez tartozik egy-egy koordinálódott vízmolekula (13. ábra).



13. ábra: A Zn^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex kristályszerkezete

A 7. táblázatban összefoglalt kötéshosszak nagy hasonlóságot mutatnak a már korábban ismertetett vegyes ligandumú komplexekével, azonban megállapítható, hogy a nitrogének és a dipikolinsav oxigénjei esetén $\text{Cu}^{2+} \langle \text{Ni}^{2+} \langle \text{Zn}^{2+}$, míg a pydime oxigénjei esetén $\text{Ni}^{2+} \langle \text{Zn}^{2+} \langle \text{Cu}^{2+}$ módon változnak.

7. Táblázat: A cink(II)-ion koordinációs szférájának kötéshosszai

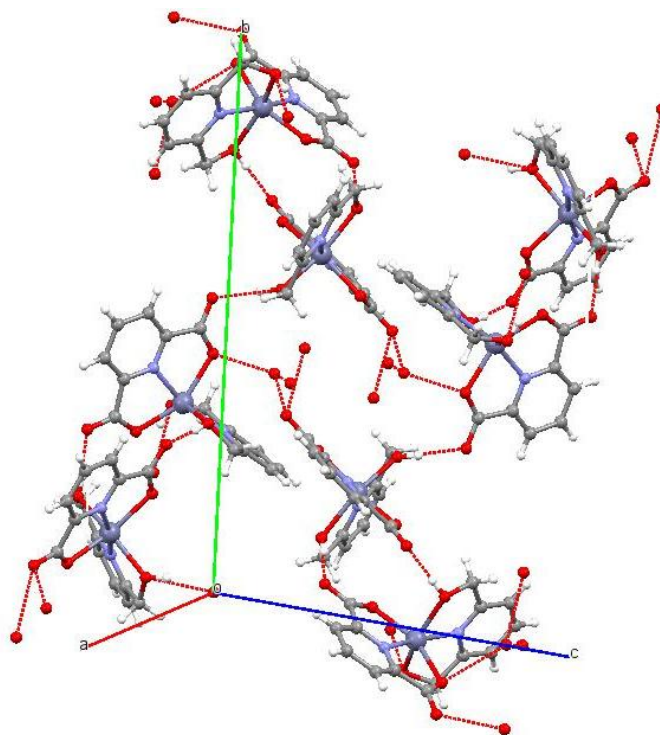
Atom1	Atom2	Kötéshossz (Å)
Zn1	O1	2,125(3)
Zn1	O3	2,200(3)
Zn1	O5	2,217(3)
Zn1	O6	2,177(3)
Zn1	N1	2,006(3)
Zn1	N2	2,017(3)

A kötészögekről összességében elmondható, hogy míg az előző két komplexben megegyezett a nitrogének által bezárt szög, a Zn^{2+} -komplexe esetén ez kisebb. A pydime oxigénjei által bezárt szög, ebben az esetben megegyezik a Cu^{2+} -komplex esetén megfigyelttel, a Ni^{2+} esetén ez az érték kisebb. A nitrogén és a pydime oxigénje között a bezárt szög $\text{Ni}^{2+} \rangle \text{Zn}^{2+} \rangle \text{Cu}^{2+}$ irányba csökken, míg a többi esetben a $\text{Zn}^{2+} \langle \text{Ni}^{2+} \langle \text{Cu}^{2+}$ tendencia figyelhető meg.

8. Táblázat: A cink(II)-ion koordinációs szférájának kötőszögei

Atom1	Atom2	Atom3	Kötőszög
O1	Zn1	O3	152,2(1)
O1	Zn1	O5	89,2(1)
O1	Zn1	O6	92,9(1)
O1	Zn1	N1	77,4(1)
O1	Zn1	N2	115,3(1)
O3	Zn1	O5	94,4(1)
O3	Zn1	O6	96,9(1)
O3	Zn1	N1	76,0(1)
O3	Zn1	N2	92,4(1)
O5	Zn1	O6	151,2(1)
O5	Zn1	N1	114,0(1)
O5	Zn1	N2	76,8(1)
O6	Zn1	N1	94,4(1)
O6	Zn1	N2	76,3(1)
N1	Zn1	N2	164,3(1)

Amint az a 14. ábrán is látható, az elemi cellában négy dimer foglal helyet. A dipikolinsav és pydime molekulák egymáshoz közel párhuzamosak, középpontjaik között a távolság 3,638Å, míg a síkjaik között 3,518Å a távolság. Ezek alapján π - π stacking is feltételezhető közöttük, mely magyarázatot adhat az előzőektől eltérő szerkezetre.

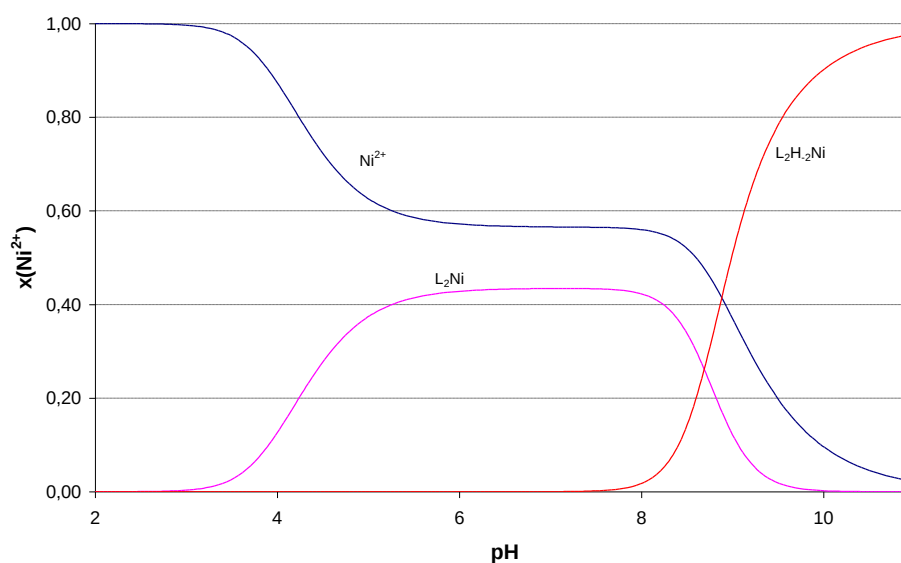


14. **ábra:** A Zn^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex molekulák elhelyezkedése az elemi cellában

A kristály ebben az esetben is monoklin szerkezetű, a $P2_1/n$ térceportba tartozik.

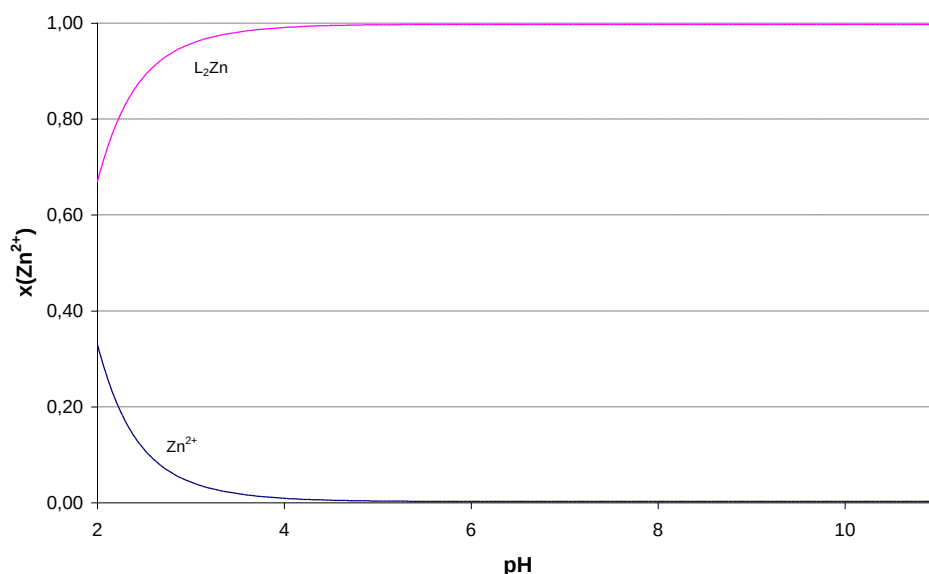
4.4. Potenciometria

A pydime- Zn^{2+} biner rendszer oldatbéli viselkedését már korábban, szakdolgozatom keretén belül vizsgáltam, a Ni^{2+} ionokra vonatkozóan azonban nem álltak ilyen adatok rendelkezésünkre. A nikkel(II)-pydime biner rendszer eloszlási diagramja a 15. ábrán látható.

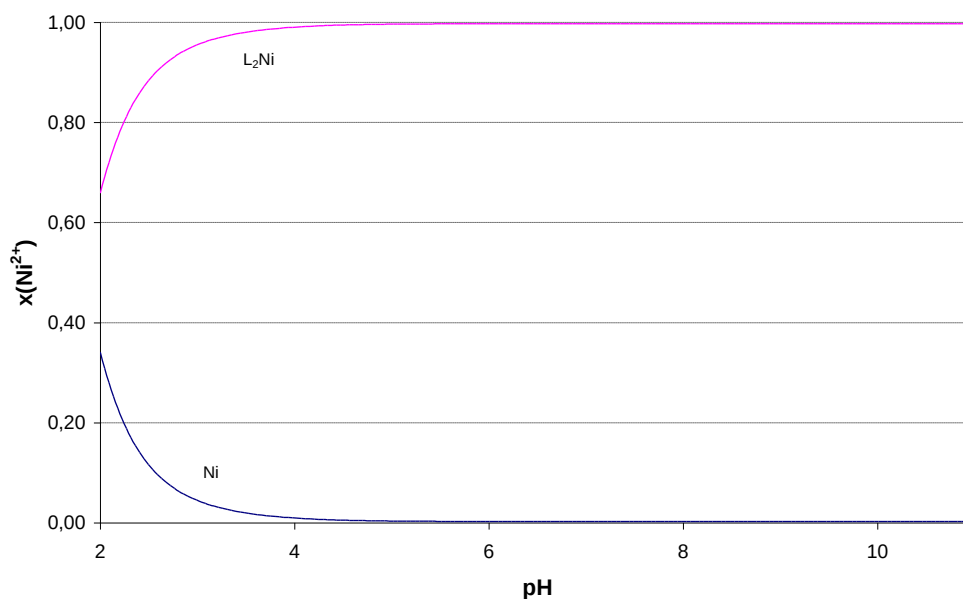


15. **ábra:** A Ni^{2+} -pydime rendszer eloszlási görbéi ($c(\text{Ni}) = 1 \text{ mM}$; $c(\text{L}) = 2 \text{ mM}$)

A biszkomplex csak $\text{pH} \sim 3,0$ felett, míg e komplex kétszeresen deprotonált formája $\text{pH} \sim 8,0$ felett alakul ki, és válik lúgos közegben dominánssá. A cink(II), illetve nikkel(II) - dipikolinsav 1:1 molarányú rendszereinek titrálásánál csapadékképződés volt tapasztalható, vagyis az ML összetételű stabilis komplex nem képződött. 1:2 fém : ligandum arány mellett a komplexképződés mind a két fémion jelenlétében már $\text{pH} \sim 2,0$ körül előrehaladott. $\text{pH} \sim 4,0$ felett a fémionok gyakorlatilag 100%-ban komplex formájában vannak jelen (16-17. ábra). Emiatt a stabilitási állandók értékeinek a szokásosnál nagyobb bizonytalansága figyelhető meg.



16. ábra: Zn^{2+} -dipikolinsav rendszer eloszlási diagramja ($c(\text{Zn}) = 1 \text{ mM}$; $c(\text{L}) = 2 \text{ mM}$)

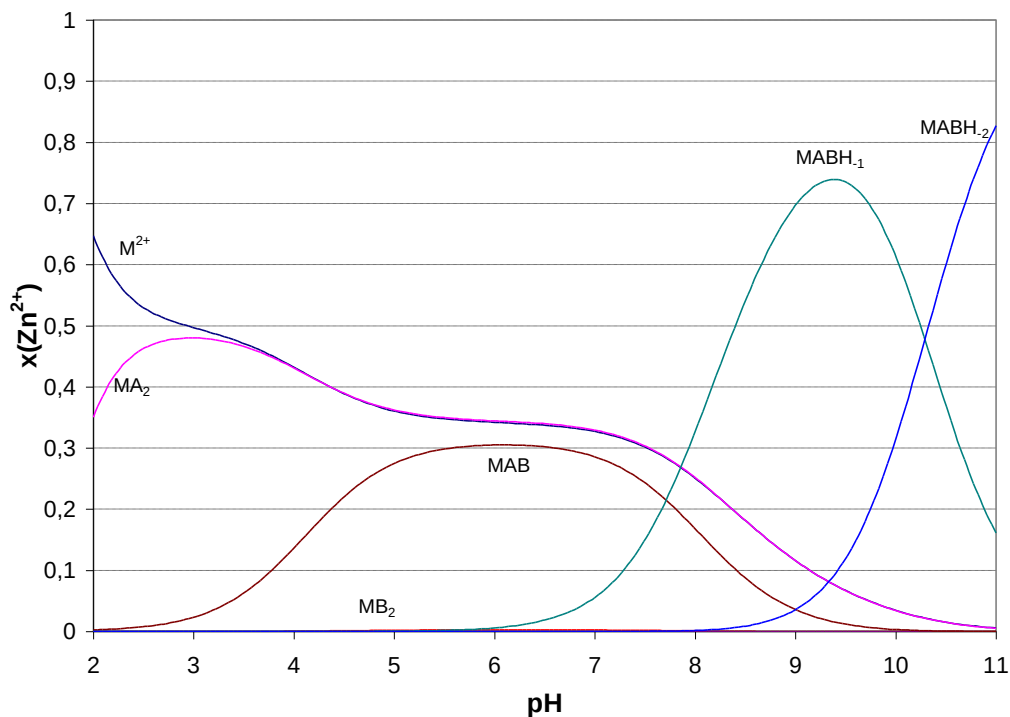


17. ábra: Ni^{2+} -dipikolinsav rendszer eloszlási diagramja ($c(\text{Ni}) = 1 \text{ mM}$; $c(\text{L}) = 2 \text{ mM}$)

A cink(II) vegyes ligandumú komplexeket tartalmazó rendszer eloszlási diagramja, melyet a 9. táblázatban összefoglalt stabilitási állandók alapján számítottunk, a 18. ábrán látható. Csakúgy, mint a biner rendszereknél, itt is megfigyelhető, hogy a dipikolinsavval alkotott törzskomplex már kis pH-n kialakul, és egészen pH ~ 8,0-ig domináns marad. A vegyes ligandumú komplexek kialakulása azonban már pH ~ 4 körül elkezdődik, majd a képződött részecske két egymás utáni deprotonálódási lépcsőn megy át. Az egyszeresen deprotonált terner komplex már domináns részecske pH ~ 8,0 után, majd pH ~ 10,0 felett a kétszeresen deprotonált komplex veszi át a helyét. Ezeket az extra deprotonálódásokat, mivel a vízmolekulák távol helyezkednek el a koordinációs szférától, a pydime alkoholos hidroxilcsoportjaihoz rendelhetjük.

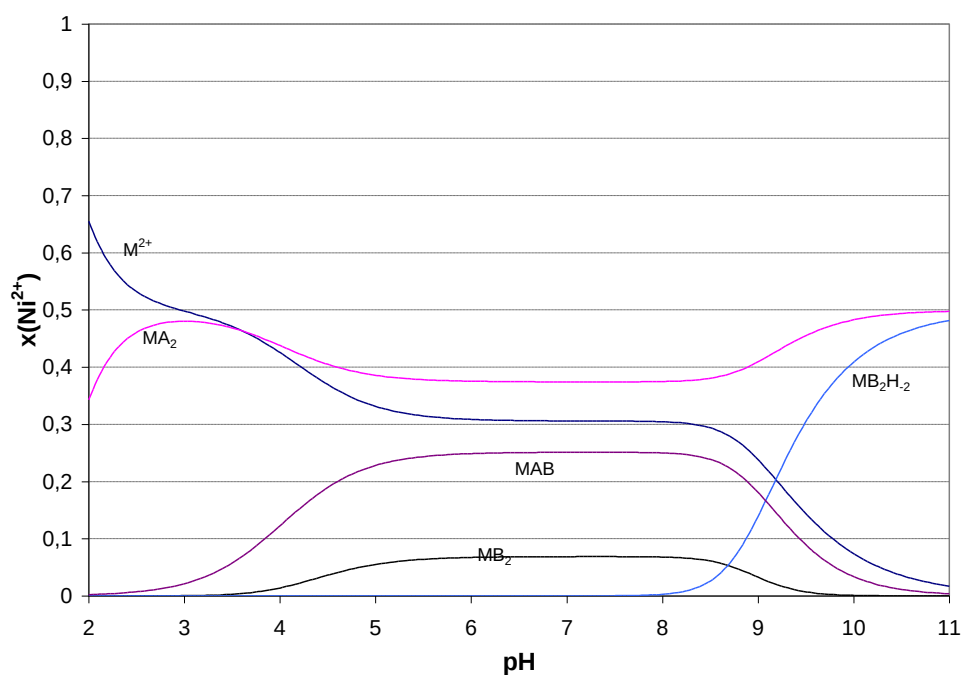
9. Táblázat: A vizes oldatban előforduló részecskék stabilitási szorzatai; A = dipikolinsav, B = pydime

részecske	log β
AH	4,74(1)
AH ₂	7,00(5)
BH	4,35(1)
A ₂ Zn	13,1(2)
A ₂ Ni	13,10(5)
B ₂ Ni	5,7(1)
B ₂ H ₂ Ni	-11,59(7)
ABZn	9,71(7)
ABZnH ₋₁	2,00(3)
ABZnH ₋₂	-8,29(4)
ABNi	9,64(4)



18. ábra: A cink(II)-ionokat tartalmazó terner rendszer eloszlási diagramja; A= dipikolinsav, B=pydime

A nikkel(II)ionokkal alkotott komplex eloszlási diagramján (19.ábra) szintén megfigyelhető a dipikolinsavval alkotott törzskomplex extrém stabilitása. A terner komplex ebben az esetben a 4,0-9,5 pH-intervallumban jelentős, míg bázikus közegben a pydimével alkotott komplex kétszeresen deprotonált formája található meg.

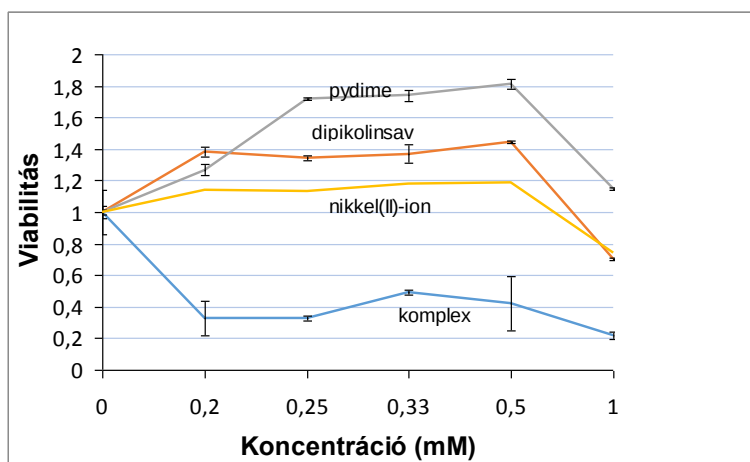


19. ábra: A nikkel (II)-ionokat tartalmazó terner rendszer eloszlási diagramja; A=dipikolinsav, B= pydime

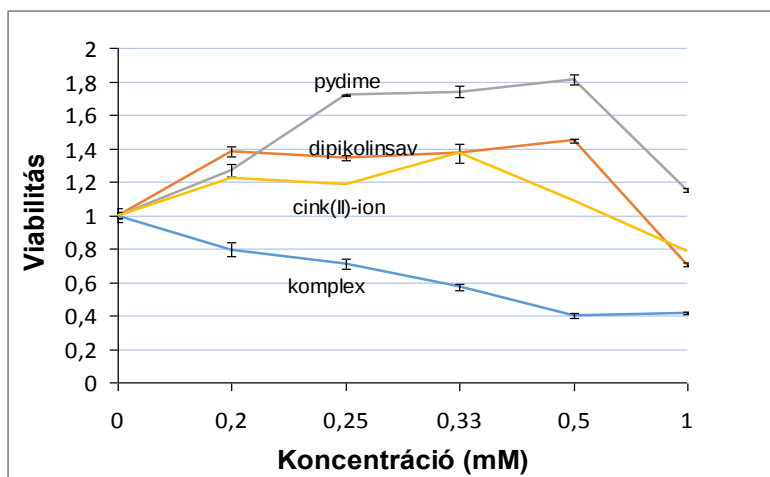
4.5. MTT redukciós vizsgálat

A vizes oldatbéli viselkedés leírása után, fontosnak tartottuk, hogy szintetizált komplexeink biológiai aktivitását is bizonyítsuk. Ennek érdekében MTT redukciós vizsgálatokat végeztünk rákos sejtvonalakon, a 3.5. fejezetben ismertetett módon.

A 24 órás kezelési idő letelte után mindkét, korábban már ismertetett szerkezetű, komplex esetén jelentős mértékű sejtpusztulást tapasztaltunk, mely nem volt megfigyelhető a szabad ligandumok, sem pedig a fémion hatására (20-21. ábra). Ugyanez megfigyelhető a többi sejtvonalon is.



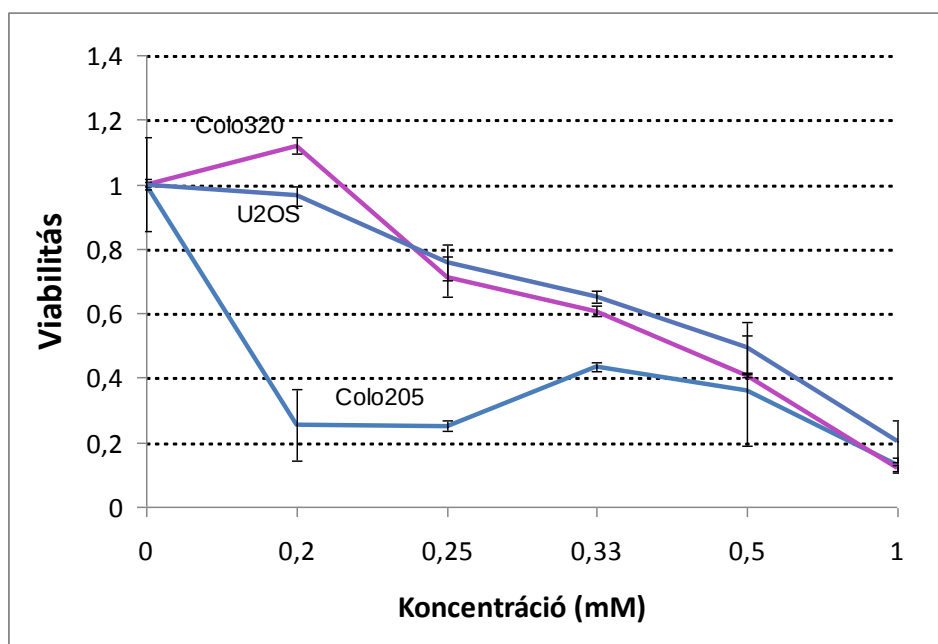
20. ábra: A nikkel(II)komplex, és alkotói hatása a Colo205 sejtek viabilitására



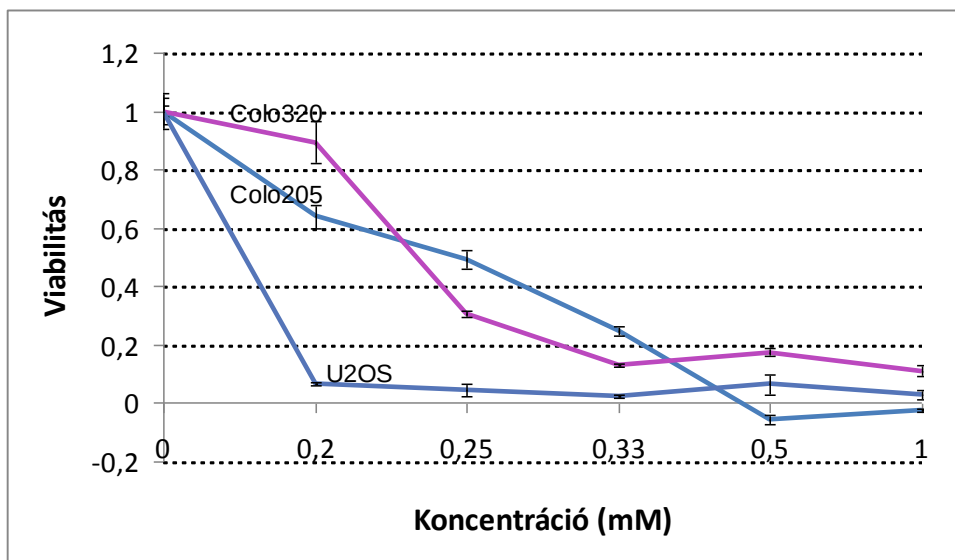
21. ábra: A cink(II)komplex, és alkotói hatása a Colo205 sejtek viabilitására

A drogokra érzékeny, valamint arra rezisztens sejtek érzékenysége között a cink(II)komplexre nézve nem volt jelentős különbség, a nikkel(II)komplexre azonban a rezisztens sejtek kisebb érzékenységet mutattak (22-23. ábra). Mindez magában rejti a komplex potenciális alkalmazási lehetőségét pl. a ciszplatin-rezisztens daganatok

terápiájában. Ezen felül, amint az a diagramokon jól látható, a cink(II)komplex szelektivitást mutat az oszteoszarkómára, ami a célzott terápiában való felhasználását alapozhatja meg.



22. ábra: Különböző sejtvonalak viabilitásának összehasonlítása a Ni^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex hatására



23. ábra: Különböző sejtvonalak viabilitásának összehasonlítása a Zn^{2+} -pydime-dipikolinsav vegyes ligandumú komplex hatására

5. Összefoglalás

Tudományos diákköri munkám során sikeresen előállítottam a cink(II) és nikkel(II) pydimevel és dipikolinsavval alkotott vegyes ligandumú komplexét. Ezek pontos szerkezetét csillapított teljes reflexiós infravörös spektroszkópiával, és röntgenkrisztallográfia segítségével határoztam meg, mely mérések egymással jó egyezést mutattak. Az előállított komplexek oldatbéli viselkedését pH-potenciometriás módszerrel vizsgáltam. Ennek eredményeképp sikerült meghatározni a kialakuló turner komplexek stabilitási állandóit, és ezek alapján eloszlási diagramokat készíteni.

Annak érdekében, hogy kiderítsem, hogy ezen rendszerek valóban bírnak-e biológiai aktivitással, és esetleges terápiás felhasználással, sejtelettartam-vizsgálatokat végeztem mind drogrezisztens, mind drogszenzitív rákos sejtvonalakon. Ezen mérések során fény derült arra, hogy a cink(II) komplexe alkalmas lehet drogrezisztens tumorok elpusztítására, valamint a csontrákra mutatott fokozott hatása miatt, akár a szelektív rákterápiában is hatékony lehet.

6. Irodalomjegyzék

- [1] S. Udo, *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* 12, 386–394 (1936)
- [2] K.E. Edgcombe, D.F. Weaver, V.H. Smith Jr., *Can. J. Chem.* 72, 1388–1403 (1994)
- [3] H.F. Hameka, J.O. Jensen, J.L. Jensen, C.N. Merrow, C.P. Vlahacos, *J. Mol. Struct. (Theochem.)* 365, 131–141 (1996)
- [4] R.P. Singh, *Curr. Sci.* 56 (1987)
- [5] C. Ma, C. Chen, Q. Liu, D. Liao, L. Li, *Eur. J. Inorg. Chem.* 122, 7–1231 (2003)
- [6] M. Ranjbar, H. Aghabozorg, A. Moghimi, *Acta Crystallogr. E* 58 m304–m306 (2002)
- [7] M. Devereux, M. McCann, V. Leon, V. McKee, R.J. Ball, *Polyhedron* 21, 1063–1071 (2002)
- [8] C. Ma, C. Fan, C. Chen, Q. Liu, *Acta Crystallogr. C* 58 (2002) m553–m555.
- [9] M. Koman, M. Melnik, J. Moncol, *Inorg. Chem. Commun.* 3 (2000) 262–266.
- [10] L. Mao, Y. Wang, Y. Qi, M. Cao, C. Hu, *J. Mol. Struct.* 688 (2004) 197–201.
- [11] S. Winter, W. Seichter, E. Weber, *Z. Anorg. Allg. Chem.* 630, 434 (2004)
- [12] A. Klein, S. Elmas, K. Butsch, *Eur. J. Inorg. Chem.* 2271–2281 (2009)
- [13] O. Tamer, B. Sariboga, I. Ucar, O. Buyukgungor, *Spectrochim. Acta Part A* 84, 168 (2011)
- [14] M. Melni'k, K. Kabes'ova', L. Macas'kova', C.E. Holloway, *J. Coord. Chem.* 45, 31 (1998)
- [15] G.C. Vlahopoulou, D.I. Alexandropoulos, C.P. Raptopoulou, S.P. Perlepes, A. Escuer, T.C. Stamatatos, *Polyhedron* 28, 3235 (2009)
- [16] O. Andac, S. Guney, Y. Topcu, V.T. Yilmaz, W.T.A. Harrison, *Acta Crystallogr. C* 58, m17 (2002)
- [17] S. Winter, W. Seichter, E. Weber, *J. Coord. Chem.*, 57, 997 (2004)
- [18] V.T. Yilmaz, S. Guney, O. Andac, W.T.A. Harrison, *J. Coord. Chem.*, 56, 21 (2003)
- [19] B. Das, J.B. Baruah, *Inorg. Chim. Acta*, 36, 1479 (2010)
- [20] H. Gaw, W.R. Robinson, R.A. Walton, *Inorg. Nucl. Chem. Lett.*, 7, 695 (1971)
- [21] E.E. Sileo, M.A. Blesa, G. Rigotti, B.E. Rivero, E.E. Castellano, *Polyhedron*, 15, 4531 (1996)
- [22] Luqin Yang, D.C. Crans, S.M. Miller, A. la Cour, O.P. Anderson, P.M. Kaszynski, M.E. Godzala III, L.D. Austin, G.R. Willsky, *Inorg. Chem.*, 41, 4859 (2002)
- [23] Shouwen Jin, Daqi Wang, Xiangang Qian, Guochun Zhang, Xudong Chu, Lin Ye, Guan-min Luo *Anal. Sci.: X-Ray Struct. Anal. Online*, 24, 257 (2008)
- [24] L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coordination Chemistry Reviews*, 184, 311–318 (1999)
- [25] N.I. Jakab, Z. Vasková, J. Moncol, B. Gyurcsik, J. Šima, M. Koman, D. Valigura, *Polyhedron* 29, 2262–2268 (2010)
- [26] T. Szabó-Plánka, N.V. Nagy, A. Rockenbauer, E. Tóth, B. Gyurcsik, Z. Vasková, J. Moncol, D. Valigura, *Polyhedron*, 30, 2421–2429 (2011)
- [27] M. J. Kendrick, M. T. May, M. J. Plishka, K. D. Robnson, in ed.: J. Burgess, *Metal in Biological Systems*, Ellis Horwood, London, pp. 83–86, 142–149 (1992)
- [28] T. Biver, F. Secco, M. R. Tine, M. Venturini, A. Bencini, A. Bianchi, C. Giorni, *J. Inorg. Biochem.*, 98, 1531 (2004)
- [29] M. E. Anderson, A. G. M Barret, B. M. Hoffman, *J. Inorg. Biochem.*, 80, 257 (2000)

- [30] A. J. Blake, *Crystal Structure Analysis Principle and Practice*, 2009
- [31] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. A* 64 (2008) 112-122.
- [32] Bruker, APEX2, SAINT and SADABS, Bruker AXS Inc, Madison, Wisconsin, USA, 2012.
- [33] C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek and P. A. Wood, *J. Appl. Cryst.*, 41, 466-470, (2008)
- [34] F.J.C. Rosotti, H. Rosotti, *The determination of stability constants*, McGraw-Hill Book Co., New York, 1962, p. 149.
- [35] E. Högfeltdt, *Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part A. Inorganic Ligands*, Pergamon, New York, 1982, p. 32
- [36] L. Zékány, I. Nagypál, G. Peintler, *PSEQUAD for Chemical Equilibria* (1991); L. Zékány, I. Nagypál, *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, szerk. D.J. Leggett, Plenum Press, New York, (1991).
- [37] P.J. Linstrom and W.G. Mallard , , "Evaluated Infrared Reference Spectra" in **NIST Chemistry WebBook**, **NIST Standard Reference Database Number 69**, Coblentz Society, Inc. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg , <http://webbook.nist.gov>, (retrieved April 22, 2014)

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Gyurcsik Bélának a munkám elkészítésében nyújtott segítségért.

Köszönet illeti dr. Kiricsi Mónikát, hogy lehetővé tette MTT-redukciós vizsgálataink elvégzését, valamint Igaz Nórárt és Keskeny Csillát és a mérések során nyújtott segítségért.

Köszönettel tartozunk továbbá dr. Dušan Valigurának és dr. Jan Moncolnak a Röntgen-diffrakciós mérésekért és az egykristályok szerkezetének értékelésében nyújtott segítségért.