

Az Pb(II) kölcsönhatásának vizsgálata maltollal és piridinonnal



TDK-dolgozat

Készítette: **Nagy Imre**

kémia BSc, III. évfolyam

Témavezető: **Dr. Buglyó Péter**

egyetemi docens

Debreceni Egyetem Természettudományi és Technológiai Kar
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék
Debrecen, 2014

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Buglyó Péter témavezetőmnek, akinek támogatása és segítsége elengedhetetlen volt a TDK-dolgozatom elkészítése során.

Köszönet illeti Godó Attilát a kísérleteim kivitelezése során nyújtott tanácsaiért, segítségéért.

Köszönettel tartozom Nagy Gábor vegyész MSc szakos hallgatónak a szintézisben nyújtott segítségéért.

A dolgozat a TÁMOP-4.2.2/B-10/-1-2010-0024 pályázat anyagi támogatásával készült.

Tartalomjegyzék

1. Irodalmi előzmények	3
1.1. Az Pb(II) tulajdonságai	3
1.2. Az Pb(II) koordinációs kémiája	4
1.3. Maltol és piridinon (DHP) jellemzése	4
2. Célkitűzés	8
3. Vizsgálati módszerek, alkalmazott kísérleti körülmények	9
3.1. Felhasznált vegyszerek	9
3.1.1. A 3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-on (DHP) (1) előállítása	9
3.2. Alkalmazott eszközök és módszerek	10
3.2.1. pH-potenciometria	10
3.2.1.1. A módszer elméleti háttere	10
3.2.1.2. Kísérleti körülmények	12
3.2.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia	13
3.2.2.1. A módszer elméleti háttere	13
3.2.2.2. Kísérleti körülmények	14
3.2.3. Tömegspektrometria	14
3.2.3.1. A módszer elméleti háttere	14
3.2.3.2. Kísérleti körülmények	15
4. Eredmények és értelmezésük	16
4.1. A DHP szintézise	16
4.2. pH-potenciometriás eredmények	17
4.2.1. A ligandumok protonálódási állandóinak meghatározása	17
4.2.2. Az Pb(II)-maltol, -DHP rendszerek vizsgálata	18
4.3. A ¹ H-NMR vizsgálatok során kapott eredmények	23
4.4. ESI-MS vizsgálatok eredménye	24
5. Összefoglalás	27
6. Summary	28
7. Irodalomjegyzék	29

1. Irodalmi előzmények

1.1. Az Pb(II) tulajdonságai

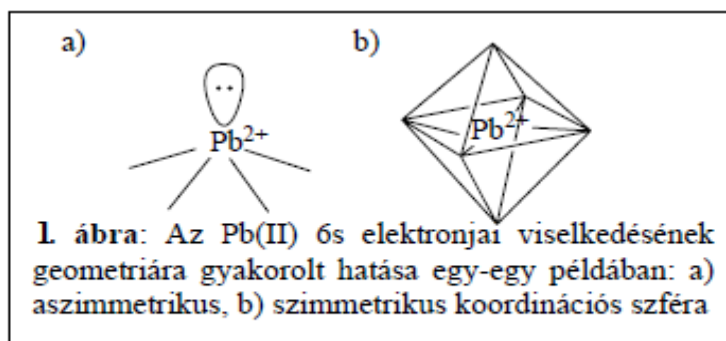
Az ólom felhasználása több, mint 3000 éve kezdődött. Érceihez könnyű volt hozzáférni, jó megmunkálhatósága és korrózióállósága miatt használták, azonban már az ókorban felfigyeltek mérgező tulajdonságára. Nagyobb mennyiségben az ipari forradalom után alkalmazták. A geológiai mérések szerint a mai ólomterhelés 100-1000-szerese a korábbinak. Ennek okozói az ólom alapú festékek és az üzemanyagadalékként használt ólom-tetraetil, melyet a benzin jobb kompressziótűrése miatt alkalmaztak. Az ólom a motorból a kipufogógázokkal együtt a környezetbe jutott, ahol nagymértékben szennyezte azt. Miután ezt a hatást észrevették, az ólom-tetraetilt *t*-butil-metilketonnal helyettesítették. Az ólomterhelés azonban azóta is csak kismértékben csökkent, mivel az ólom a talajban kötött formában van jelen. A szállópor apró szemcséivel könnyen bejut a tüdőbe, ahol az érrendszer segítségével az egész testben szétterjed.¹

A szervezetbe került fém 10%-a felszívódik, a többi kiürül. A véráramba került ólom a vörösvérsejtekkel jut el a csontokig, ahol tartósan raktározódik. Az Pb(II)-ion a sejtekbe passzív transzporttal, vagy ioncsatornákon keresztül jut el, jellemző dúsulási helyei a máj és a vese. Képes helyettesíteni a Ca(II)-iont, amelyhez köthető enzimek így nem megfelelően működnek és ez negatívan befolyásolja a hormonháztartást, az ingerületátvitelt és az izomműködést. Igazolták, hogy az Pb(II)-ion leginkább a proteinekben, nukleinsavakban és sejtmembránokban található tiolát- és foszfát-csoportokhoz kötődik.¹

Az ólommérgezés miatt kialakuló egészségügyi problémák széles skálán mozognak. Felléphet izomgörcs, veseelégtelenség, de akár bénulás és kóma is. Az immunrendszert gyengítő hatását is kimutatták, ami különösen a fiatalokra veszélyes. Az ólommérgezés tünetei a hajhullás, súlyvesztés, piros pontok megjelenése a szem körül, gyengeség és ingerlékenység. Nyilvánvaló, hogy milyen hasznos lenne, ha képesek lennénk a szervezetben felhalmozódott Pb(II)-iont, szelektíven eltávolítani. Az új kutatások ezt tűzik ki célként.¹

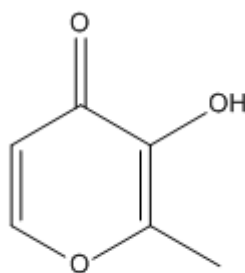
1.2. Az Pb(II) koordinációs kémiája

Az ólom vegyértékelektron szerkezete: $6s^2 6p^2$. A Pb $2+$ oxidációs állapotában stabilis. Az ion mérete aránylag nagy, 133pm. Pauling-féle elektronegativitása viszonylag kicsi: 1,6. Az Pb(II)-ion koordinációs kémiája nagyon változatos. Az ólom(II)ion soft, de hidroxid ionokkal erős kölcsönhatásba lép, ami hard tulajdonságra utal. A képződő komplexek geometriáját nagyban befolyásolja, hogy milyen és hány darab donoratommal alakít ki kötést. Továbbá befolyásolja, hogy a 6s elektronjai alakítanak-e ki kötést. Amennyiben ezek nem vesznek részt koordinatív kötés kialakításában (1./a ábra), akkor aszimmetrikus lesz a komplex és a fémion főképp hard karakterű donoratomokkal reagál. A másik esetben gömbszimmetrikus komplexek (1./b ábra) alakulnak ki és a szoftabb karakterű donoratomokkal alakul ki kölcsönhatás.¹



1.3. Maltol és piridinon (DHP) jellemzése

A maltol (2. ábra) egyértékű gyenge sav, tehát a molekula képes egy H^+ -iont leadni a OH csoportjáról, pK-ja 8,45, a maltolát anionban jelentős a delokalizáció. Előállítás történhet szacharóz hevítésével. A maltol nem mérgező, ezt nagyszámú vizsgálat bizonyítja. Élelmiszeripari felhasználását az amerikai egyesült államokbeli székhelyű, adalékanyagok vizsgálatával foglalkozó szerv, a Food And Drug Administration (FDA) is engedélyezte. Illata a törökméz illatára hasonlít. A sütőiparban szagjavítóként használják.

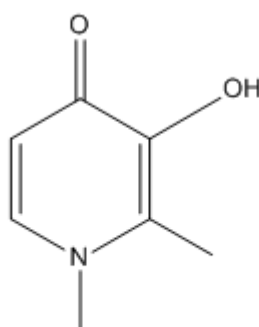


3-hidroxi-2-metil-4H-pirán-4-on

2. ábra: A maltol szerkezeti képlete

Amennyiben a maltol gyűrű O-jét egy N-metil csoportra cseréljük akkor a piridinonhoz jutunk, amit a továbbiakban DHP-nek nevezek (3. ábra), a vegyület ezen elnevezése széles körben használt. A DHP hard fémionokkal nagy stabilitású kelátot képez. A humán gyógyászatban már használt vas(III)ion kelátor, melyet a talasszémiás azaz vasfelhalmozódásos betegeknél alkalmaznak.¹⁸

Vizsgálatokat végeztek DHP és deferasirox felhasználásával. A deferasirox a DHP-vel megegyezően, fémionokkal 5-tagú O,O-donoratomot tartalmazó kelátot képez. Az Pb(II)-ionok patkányokból történő eltávolítását kutatták. A két ligandum együttes alkalmazása eredményeként csökkentek az ólommérgezés tünetei. A terápia során kiderült, hogy a két komplexképző egyszerre történő használata nagyobb hatásfokkal és kisebb toxicitás mellett képes eltávolítani az ólmot az élő szervezetből.² Ugyanezt tapasztalták a Hg(II)-ionnal végzett vizsgálatok során is.³



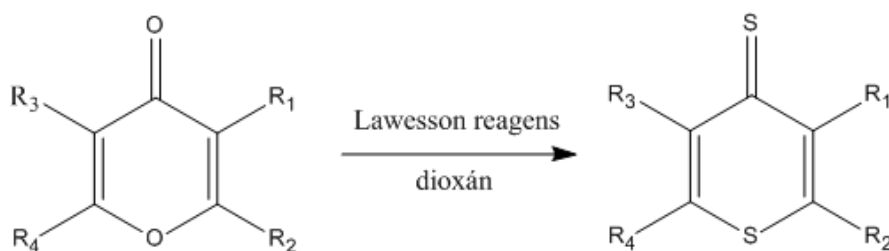
3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-on

3. ábra: A DHP szerkezeti képlete

A mielodiszpláziás szindrómában (MDS), azaz elégtelen vörösvértest-, fehérvérsejt- és vérlemezke-képződésben szenvedő betegekkal végzett vizsgálatok felfedték, hogy a DHP és a deferasirox egyszerre történő alkalmazása megfelelő, a MDS mellett közepes vagy gyenge vasfelhalmozódással küzdő betegek számára.⁴

Röntgendiffrakciós vizsgálatoknak vetették alá az $\text{Pb}(\text{DHP})_2$ rendszert és azt találták, hogy az ólom(II)ionokhoz öt oxigén atom kapcsolódik, kettő közülük hidat alkot, emellett víz is koordinálódik a komplexhez.⁵

A bioorganikus kémiában nagy erőfeszítések történnek annak érdekében, hogy kifejlesszenek egy maltolból kiinduló vegyületcsaládot, mely magában hordozza a maltol kedvező tulajdonságait, úgymint a jó vízzoldhatóságot és azt, hogy nem mérgező. Lehetséges egy lépésben maltolból ditiomaltolt és tiopirán-4-ont előállítani Lawesson-reagenssel (4. ábra).⁶

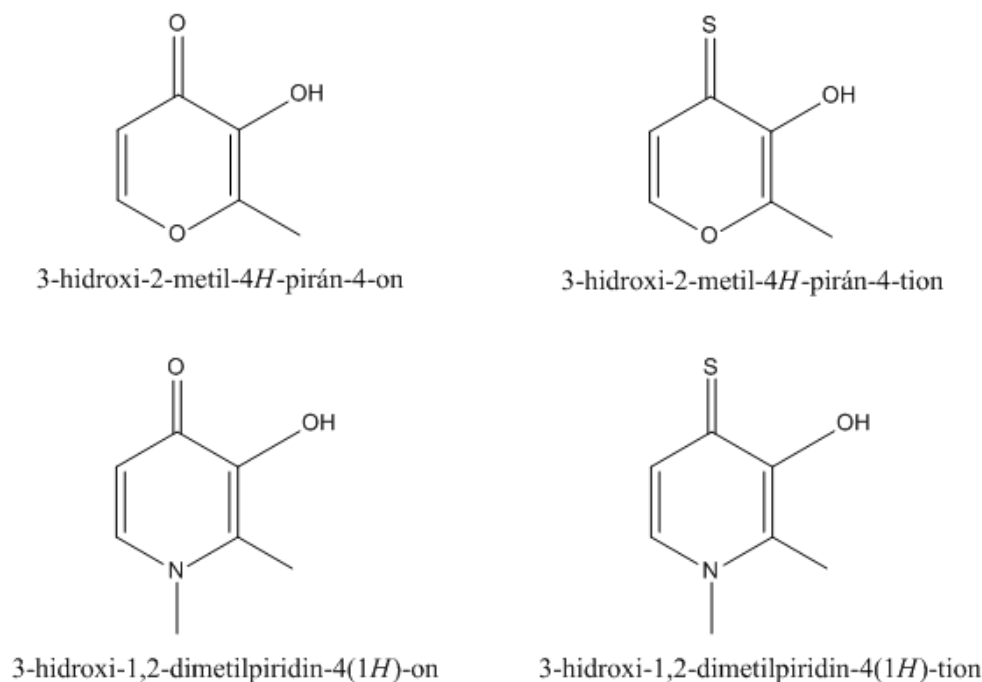


4. ábra: Tio-maltol származékok előállításának folyamata

A tio-szubsztituált maltol származékokat számos fémiont tartalmazó gyógyszerben alkalmazzák.⁷ Sok O,S-donoratomot tartalmazó ligandum koordinációs kémiája ismert. A tiopiron és hidroxipiridintion kelátképzők kölcsönhatását elsősorban átmenetifém ionokkal vizsgálták. A vizsgálatok során arra jutottak, hogy a legtöbb komplex transz koordinációs geometriát mutat.¹⁷ Az 5. ábrán az 1. oszlopban a maltol, alatta a DHP, a 2. oszlopban pedig ezen ligandumok tio megfelelői láthatóak.

Továbbá vizsgálták a tiomaltol Ni(II)- és Fe(II)-ionnal képzett komplexeit. Szilárd fázisban azt találták, hogy a ligandum transz térállást vesz fel a komplexben.⁸

Az ólom egy jelentősen környezetszennyező fém. Ezért fontos lenne egy szelektív ligandum kifejlesztése. Vizsgálták a Pb(II)-ion koordinációs kémiáját O,S-heteroatomot tartalmazó ligandummal, ami a tiomaltol volt. A röntgendiffrakciós vizsgálatok eredménye a várt aszimmetrikus koordinációs geometriát mutatta. Az előzetes oldategyensúlyi vizsgálatok kimutatták, hogy a tiomaltol a Pb(II)-, Mg(II)- és Ca(II)-ionok közül a Pb(II)-iont kötötte meg a legjobban, azonban a $\text{Pb}(\text{tiomaltol})_2$ egy ekvivalens EDTA-oldat jelenlétében nem volt stabilis.⁹



5. ábra: Maltol származékok szerkezeti képlete

Kvantummechanikai számításokat végeztek bizonyos hidroxipironok különböző rezonanciaformái energiájának a meghatározására. A protonált és a deprotonált formák tautomeriáját is figyelembe vették. Mindegyik vegyület esetében az enol forma bizonyult a stabilabbnak. A kationos formák a keto csoport oxigénjének protonálódásával keletkeztek. Az anionos formák pedig a hidroxil-csoport deprotonálódása során jöttek létre.¹⁰

Összehasonlították az O,S- és O,O-donoratomot tartalmazó komplexképzők tulajdonságait. A vizsgálatokat oldatfázisban, Fe(III)-ionnal végezték. Az eredmények megmutatták, hogy mindkét vegyületcsoport stabil komplexet képez a Fe(III)-ionnal, de az O,S- donoratomot tartalmazó ligandumok gyengébben kötik meg a fémiont, mint a megfelelő O,O-kelátképzők.¹¹

Vizsgálatokat végeztek a vanádiummal oldatfázisban. Az O,S-heteroatomot tartalmazó ligandumokat maltolból állították elő, majd vanádium komplexet képeztek bisz(maltolát)oxovanádium(IV)-et. A komplex szerkezetét elemanalízissel, tömegspektrometriával és IR spektroszkópiával igazolták. A komplexek inzulinnövelő képességét vizsgálták diabéteszes patkányokban. Az eredmények szerint a komplex nem csökkentette jelentősen a vér glükóz-tartalmát, melynek oka valószínűleg a gyors lebomlásban és kiválasztásban keresendő.¹²

2. Célkitűzés

Ezen előzmények alapján látható, hogy az ólom(II)ion és ezen nem mérgező és kiváló komplexképző, (O,O) koordinációra képes ligandumok között kialakuló oldatbeli kölcsönhatásokról kevés adat áll rendelkezésünkre. Ezért TDK-dolgozatom keretében az Pb(II)-maltol valamint Pb(II)-DHP közötti komplexképződési folyamatokat vizsgáltuk azért, hogy információt nyerjünk az oldatban kialakuló asszociátumok összetételével és stabilitásával kapcsolatban. A munka eredményei hozzájárulhatnak ahhoz, hogy a fémionra szelektív, annak eltávolítására alkalmas ligandumokat találjunk. A rendszereket pH-potenciometriásan, ^1H -NMR-rel és ESI-MS-sel vizsgáltuk.

3. Vizsgálati módszerek, alkalmazott kísérleti körülmények

3.1. Felhasznált vegyszerek

A vizsgálatokhoz használt maltolt az Aldrich-től vásároltuk. A DHP-t pedig a kutatócsoportban szintetizáltuk maltol és metil-amin reakciójával.

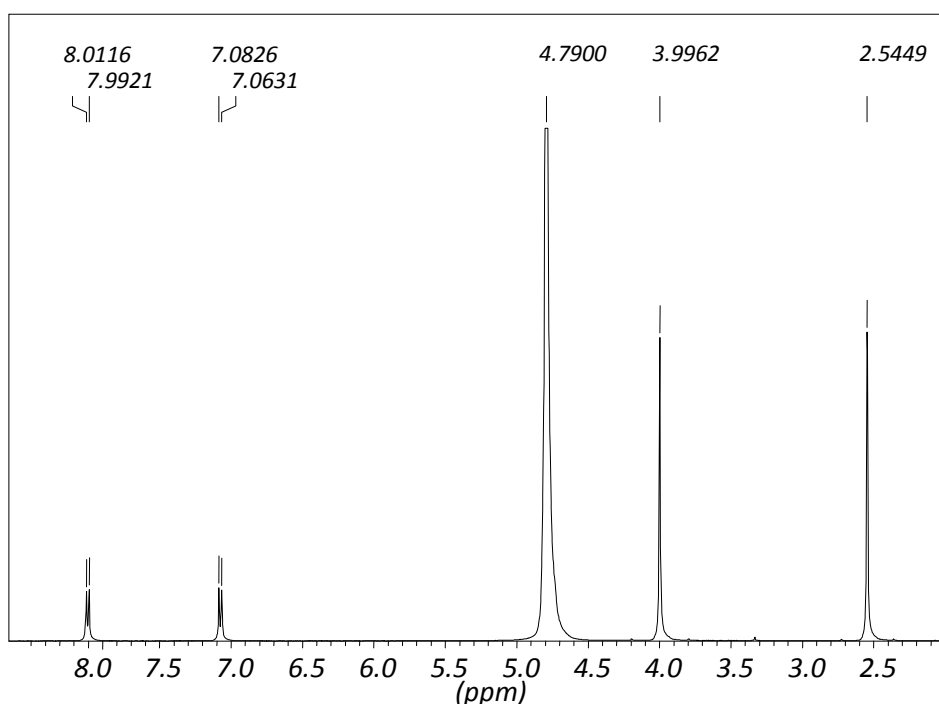
A pH-potenciometriás vizsgálatokhoz használt ~0,05 M-os kálium-hidrogén-ftalát, ~0,2 M-os KOH és ~1 M-os KNO₃ oldatokat VWR által szállított szilárd kálium-hidrogén-ftalát, KOH és KNO₃ vegyszerek felhasználásával készítettem közvetlen beméréssel.

A ¹H-NMR mérések során használt D₂O-t az Aldrich-től szereztük be, az oldatok pH-jának beállításához szükséges DNO₃-t és NaOD-t a Cambridge Isotope Ltd.-ből szereztük be.

3.1.1. A 3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-on (DHP) (1) előállítása

15,11 g, (223 mmol) metil-ammónium-kloridot 17 cm³ H₂O-ban oldottunk és a hőmérsékletet 0 °C-on tartottuk, ehhez adtunk hozzá, 12,7 g, (226 mmol) KOH és 60 cm³ H₂O elegyét, melynek hőmérséklete szintén 0 °C volt. 5,9 g, (47 mmol) maltolt 70 cm³ H₂O-ban oldottunk és egy csepegtetőtölcsérrel 4 órán át adagoltuk hozzá a metil-amin oldatát N₂ atmoszféra alatt. A reakcióelegyet 6 órán keresztül 50 °C-on tartottuk és kevertettük, azután bepároltuk és szűrtük. A nyersterméket metanolból aktív szenes derítéssel átkristályosítottuk, majd szűrtük. Az anyalúg bepárlásával további frakciót tudtunk nyerni. Ennek és az első frakciónak a tisztaságát is ellenőriztük NMR méréssel (6. ábra), melynek eredménye nagy tisztaságról árulkodik. Hozam: 2,134g (33%)

¹H-NMR: (360 MHz, D₂O): δ = 2,545 (s, 3H, -CH₃), δ = 3,996 (s, 3H, N-CH₃), δ = 7,073 (d, 1H, Ar-H, J = 7,30), δ = 8,002 (d, 1H, Ar-H, J = 7,30)



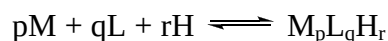
6. ábra: A DHP ^1H -NMR spektruma, D_2O -ban

3.2. Alkalmazott eszközök és módszerek

3.2.1. pH-potenciometria

3.2.1.1. A módszer elméleti háttere

Az oldatfázisban történő komplexképződési folyamatok egyensúlyi vizsgálatának egyik legáltalánosabban használt módszere. A pH-potenciometriát csak akkor alkalmazhatjuk, ha a komplexképződési reakciót pH effektus kíséri, vagyis ha a ligandum protonálódási folyamataira a fémion hatással van. Ezen módszerrel a képződő komplexek összetételét, és stabilitási állandóit határozhatjuk meg. A lejátszódó komplexképződési folyamat az alábbi egyenlettel írható le:



ahol M = fémion, L = ligandum, H = proton, p,q és r pedig sztöchiometriai számok. A képződő komplexek stabilitási állandóinak értékét az alábbi összefüggéssel definiálhatjuk:

$$\beta_{pqr} = \frac{[M_p L_q H_r]}{[M]^p [L]^q [H]^r} \quad (2)$$

ahol β_{pqr} a stabilitási állandó.

Amennyiben a vizsgált rendszer csak fémiont, ligandumot és protont tartalmaz, akkor ezt a rendszert háromkomponensűnek tekinthetjük, s a komponensekre felírható anyagmérlegek a következők:

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

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

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

Amennyiben a ligandum protonált formája és a fémionnal alkotott komplexe között mérhető versengés, akkor a komplexek stabilitási állandóit megkaphatjuk a kapott titrálási görbék elemzésével.

A stabilitási állandók meghatározását a PSEQUAD¹³ nevű programmal végeztük. A diffúziós potenciál kiküszöbölésére és a mért pH-értékből a H^+ -koncentráció számolására az Irving¹⁴ és munkatársai által alkalmazott módszert használtuk. A PSEQUAD program használatához elengedhetetlen a teljesen deprotonált ligandum, a fémion és a proton koncentrációja, térfogat-pH kísérleti adatpárok, a $M_p A_q H_r$ fémkomplexek valamint a hidroxokomplexek száma, az asszociátumok összetétele, az ismert és az ismeretlen (közelítő) stabilitási szorzatok és a különböző állandók, pl. a vízionszorzat, az Irving-féle korrekciós tényező, és a mérőoldat koncentrációja.

A PSEQUAD a kiindulási adatokat figyelembe véve, Newton–Raphson iterációval végzi a közelítést. Az összes megadott pH-értéknél kiszámolja az összes képződő részecske egyensúlyi koncentrációját és az adott pontokhoz tartozó standard deviáció értékét. Az iterációsorozat végén megkapjuk a finomított stabilitási állandókat.

Előfordulhat, hogy egy rendszer több, kémiaiag lehetséges modellel is egyformán jól megadható, vagy két részecske képződése azonos pH-effektussal jár és ezzel a módszerrel egymástól nem tudjuk megkülönböztetni őket. Ezenkívül a meghatározott stabilitási állandók nem adják meg a komplex geometriáját, sem azt, hogy a képződő komplexekben milyen kötésmód valósul meg. Ilyenkor egyéb, szerkezetfelderítéshez használt vizsgálatok szükségesek a pH-potenciometriás mérések eredményeinek kiegészítésére.

3.2.1.2. Kísérleti körülmények

A pH-potenciometriás mérésekhez szükséges ligandum törzsoldatokat szilárd maltolból, valamint DHP-ből készítettem. A szilárd mintákat 100%-os tisztaságúnak tekintettem. Közvetlen beméréssel salétromsavas törzsoldatot készítettem belőlük úgy, hogy bemértem a szükséges mennyiségű ligandumot, ezt egy 50,00 cm³-es mérőlombikba helyeztem és adtam hozzá 2,5 cm³ 0,1873 M-os HNO₃-at a ligandum protonáltságának biztosítására, majd az oldódás után a lombikot háromszor ioncserélt vízzel jelre állítottam. A maltol törzsoldat koncentrációja $c_{\text{maltol}} = 0,01306 \text{ M}$ a DHP törzsoldat koncentrációja $c_{\text{DHP}} = 0,01306 \text{ M}$ -nak adódott.

A vizsgálatokhoz használt Pb(NO₃)₂ törzsoldatot magam készítettem egy a laborban lévő, ellenőrzött koncentrációjú 0,1032 M-es Pb(NO₃)₂ oldat hígításával. Egy 100 cm³-es lombikba kimértem 10 cm³-t majd háromszor ioncserélt vízzel jelre töltöttem, így a törzsoldat koncentrációja $c_{\text{Pb(NO}_3)_2} = 0,01032 \text{ M}$ lett.

A méréseket Mettler Toledo T50 típusú automata titrátorral és Metrohm 6.0255.100 típusú double-junction elektróddal hajtottuk végre. A mérések előtt friss karbonátmentes KOH-oldatot készítettünk, melynek elvégeztük a pontos koncentrációmeghatározását ismert koncentrációjú HCl oldat titrlásával. A KOH oldat pontos koncentrációja $c_{\text{KOH}} = 0,1955 \text{ M}$ -os, az $\text{IRV} = 9,84 \cdot 10^{-2}$ a $K_w = 13,732$ lett.

A műszert minden esetben pH = 4,005-re kalibráltuk 0,0500 M-es KH-ftalát puffer segítségével. A minta hőmérsékletét ultratermosztáttal 25,0°C-on tartottuk. A minták titrlását argon atmoszféra alatt végeztük az erre a célra kialakított csiszolatos titrlóedényben. Az argon gáz az oldatban lévő komponensek megfelelő mértékű keveredéséért is felelt. A titrlások során a kiindulási térfogat minden esetben 15,00 cm³ volt. Minden mintában volt (1 M-os) KNO₃ a 0,20 M-os ionerősség biztosítására.

Először a ligandumok pK értékeinek meghatározása történt meg. Majd az Pb(II)-maltol 1:1, 1:2 és az Pb(II)-DHP 1:1, 1:2 rendszert vizsgáltuk. Az arányszámok a vizsgált mintában lévő koncentrációarányokat jelentik. A pK értékek meghatározása a SUPERQUAD nevű programmal történt, mely kiszámolta a stabilitási állandókat, - a δ , - a χ^2 , - valamint az anyagmennyiség értékeket, melyből a törzsoldatok pontos koncentrációját tudtuk kiszámolni.

A fémion-tartalmú rendszerek vizsgálatának kiértékelését a PSEQUAD nevű programmal végeztük, melyet a tanszéken fejlesztettek ki. A programmal meg tudjuk határozni a képződő komplexek stabilitási állandóit és ezen értékek standard deviációját. A

számolást a program a komponensekre felírt anyagmérlegek megoldásával, iterációs módszerrel végzi.

3.2.2. Mágneses magrezonancia spektroszkópia

3.2.2.1. A módszer elméleti háttere

Az NMR, azaz a mágneses magrezonancia spektroszkópia egy olyan szerkezetvizsgálati módszer, amely az anyag kémiai szerkezetéről ad információt annak fizikai roncsolása nélkül. A módszerrel csak azok az atommagok vizsgálhatóak, melyeknek protonszáma, neutronszáma, vagy mindkettő száma páratlan. Ezek zérustól eltérő eredő magspinnel rendelkeznek és NMR aktív magoknak nevezzük őket. Az NMR módszer elméleti alapja a Zeemann-felhasadás. Az NMR-aktív magok energiaállapota, homogén mágneses térben $2I+1$ energianívóra hasad fel, ahol I a spinquantumszám. Adott frekvenciájú elektromágneses sugárzással gerjeszthetők a létrejött energiaszintek közötti átmenetek. A létrejött energiaszintek közötti energiakülönbség a külső mágneses tér erősségének növelésével nő. Az atommagot elektronok veszik körül, melyek mozgásuk során saját mágneses teret hoznak létre, ez megváltoztatja, gyengíti vagy erősíti a külső mágneses teret a mag környezetében. Ez a kémiai árnyékolás. Ennek következtében eltolódik az atommag abszorpciós frekvenciája az árnyékolatlan magéhoz képest. Ezt kémiai eltolódásnak nevezzük (δ).¹⁵ A kémiai eltolódás és emiatt a kémiai árnyékolás nagysága függ az adott atommag körüli elektroneeloszlástól, tehát az adott mag kémiai környezetétől. Elkülönülten jelennek meg az eltérő árnyékolással rendelkező magok NMR-jelei, ennek oka abban rejlik, hogy különböző az energiaabszorpciójuk. A jelek megadása a spektrumban, egy alkalmasan megválasztott referenciaanyag NMR-jelére történő kalibrálással történik, így kapjuk a kémiai eltolódást. A kapott jel multiplicitása függ a csatoló partnerek számától és minőségétől, és egyértelműen megadja az adott mag molekulán belül elfoglalt helyét. A multiplett jelek közti távolságot csatolási állandónak (J) nevezzük és Hz-ben adjuk meg.¹⁵

3.2.2.2. Kísérleti körülmények

A Pb(II)-DHP 1:2 arányú rendszert vizsgáltuk ^1H -NMR-rel. Az oldategyensúlyi vizsgálatok alapján a mintákat adott pH-kra állítottuk be. A pH-ról pD-re történő átszámítás egyenlete a következő: $\text{pH}=0,936 \cdot \text{pD}+0,41$. A mintákhoz szükséges oldatot szilárd anyagból készítettem úgy, hogy a megfelelő tömegeket mértem ki KNO_3 -ból $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ -ből és a ligandumból, aztán 3600 μl D_2O -ban feloldottam. Ezt mágneses keverővel homogenizáltam, majd 6 Eppendorf csőbe kimértem egyesével 600 μl -t. A kimért oldatok pH-jának beállítását NaOD és DNO_3 oldatokkal végeztem. A ^1H -NMR méréseket Bruker DRX 360 típusú műszerrel végeztük, a kapott spektrumok kiértékelése pedig az 1D-WinNMR programmal történt. A kémiai eltolódásokat ppm-ben adtuk meg, a D_2O jeléhez kalibráltunk, ami 4,79 ppm.

3.2.3. Tömegspektrometria

3.2.3.1. A módszer elméleti háttere

A tömegspektrometria a vizsgált molekulák, atomok ionizációján, majd ezen ionok relatív tömegének meghatározásán alapuló, nagy hatékonyságú szerkezetvizsgáló és analitikai módszer. Szerves és szervetlen vegyületek vizsgálatára is használható. A vizsgálati módszer hátránya, hogy csak olyan minták esetében használható, melyek gázállapotúak, vagy a mérőműszerben azzá alakíthatóak. A mérés első lépése a minta gázállapotba hozása, mely hevítéssel történik. Második lépésként a vizsgált anyagot különböző részecskékké (atom, elektron vagy ion) bombázva ionizálják, ezután következik a fragmentáció. Ebben a részfolyamatban a keletkezett ionokat tömeg/töltés szerint szétválasztják elektromos és/vagy mágneses térben és meghatározzák a különböző tömegű fragmentumok mennyiségét. A méréshez elengedhetetlen a nagyvákuum, mert az ionoknak kellő hosszúságú, ütközés nélküli szabad utat kell megtenniük. Amennyiben a kísérleti körülmények azonosak, a molekulák fragmentációja azonos módon zajlik. A tömegspektrometriás analízis előnye, hogy alkalmas kis anyagmennyiségek és összetett biológiai minták komponenseinek minőségi meghatározására. Az ESI biomolekulák analízise szempontjából jelentős előrelépést jelentő ionizációs mód. Ez a lágy ionizációs technika egyaránt alkalmas kis és nagy molekulatömegű biomakromolekulák (szénhidrátok, peptidek, proteinek, DNS fragmensek) és lipidek vizsgálatára is. Mérhető az egyes tömeg/töltés (m/z) értékekhez tartozó ionok relatív

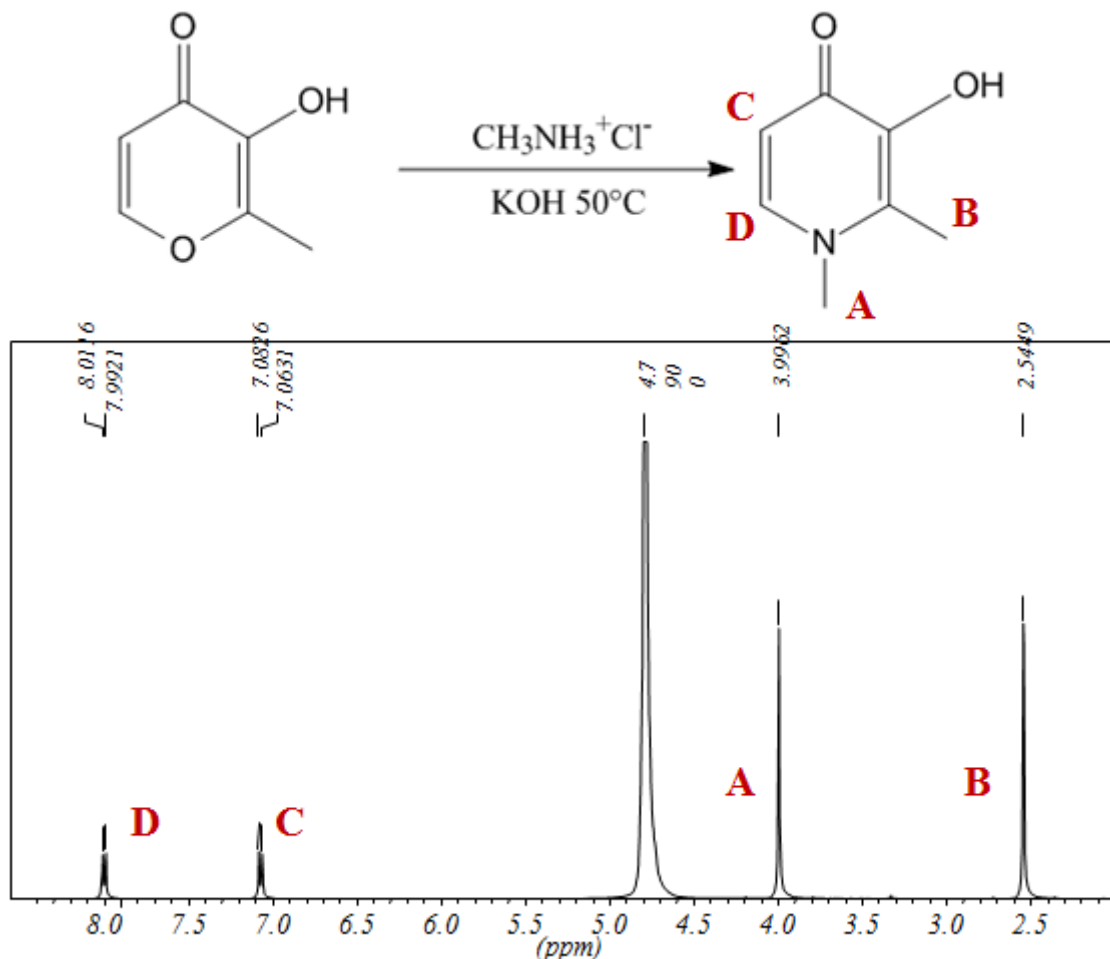
intenzitása, ezáltal fel tudunk venni egy tömegspektrumot, ami a relatív intenzitást ábrázolja az (m/z) függvényében. A mérési módszer rendkívül pontos, így a természetes izotóp eloszlást felhasználva pontosan meg tudjuk határozni, hogy az egyes intenzitásokhoz mely összegképlet rendelhető.¹⁶

3.2.3.2. Kísérleti körülmények

Az ESI-MS vizsgálatokhoz a pH-potenciometriás mérésekhez készített törzsoldatokat használtuk. A méréseket Bruker MICROTOF-Q ESI-TOF tömegspektrométerrel végeztük pozitív módban. A mintákat úgy készítettem, hogy a fémion, illetve ligandum aránya 1:3 legyen koncentrációjukra nézve, $c_{\text{Pb(II)}} = 0,5 \text{ mM}$ a $c_{\text{ligandum}} = 1,5 \text{ mM}$ volt.

4. Eredmények és értelmezésük

4.1. A DHP szintézise



7. ábra: A DHP szintézise

A DHP szintézise a 7. ábra felső részén látható módon történt. A reakcióelegy eleinte sárga színű volt, majd sötétbarnává változott. A 6 óra lejárta után rotációs vákuumbepárló készüléken 60°C -on 50 cm^3 -re pároltuk az oldatot. Közben pelyhes fehér csapadék vált ki. Az anyalúg illata a maltoléhoz hasonló volt. Hűtés hatására az anyalúgból fehér kristályos anyag vált ki, amit vákuumszűréssel szűrtünk. A metanolból, aktív szenes derítéssel történt átkristályosítás után, redős szűrőn átszűrtük és hűtöttük, a kivált fehér kristályos anyagot pedig üvegszűrőn szűrtük. A fehér, pelyhes terméket vákuum alatt szárítottuk 1,5 órán keresztül. A DHP spektruma a 7. ábrán látható. A szerkezeti képletnél látható piros színű betűk a spektrumban jelölik a hozzá tartozó csoport jelét. Az (A) betű az N-metil metilcsoporton lévő hidrogéneket jelöli, melyek egy szingletet adnak. A (B) betű pedig a gyűrűhöz

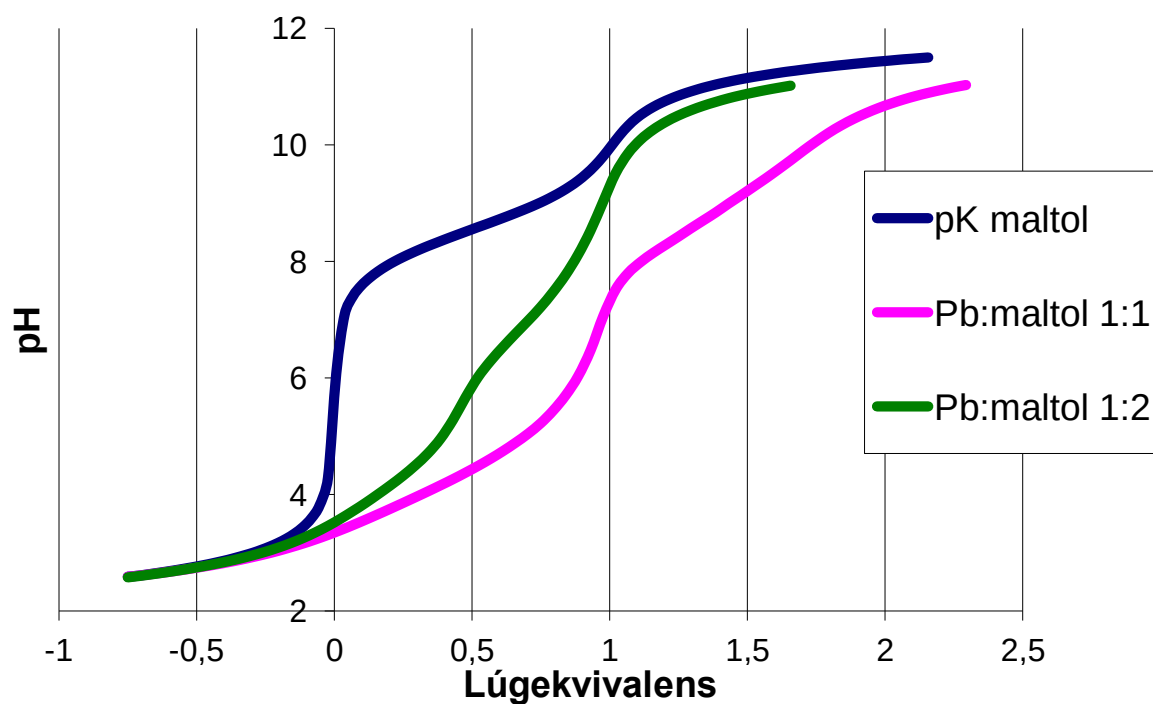
kapcsolódó metil-csoporton elhelyezkedő hidrogének szinglett jelét mutatja. A (C) és a (D) a gyűrűs hidrogének dublett jelei.

4.2. pH-potenciometriás eredmények

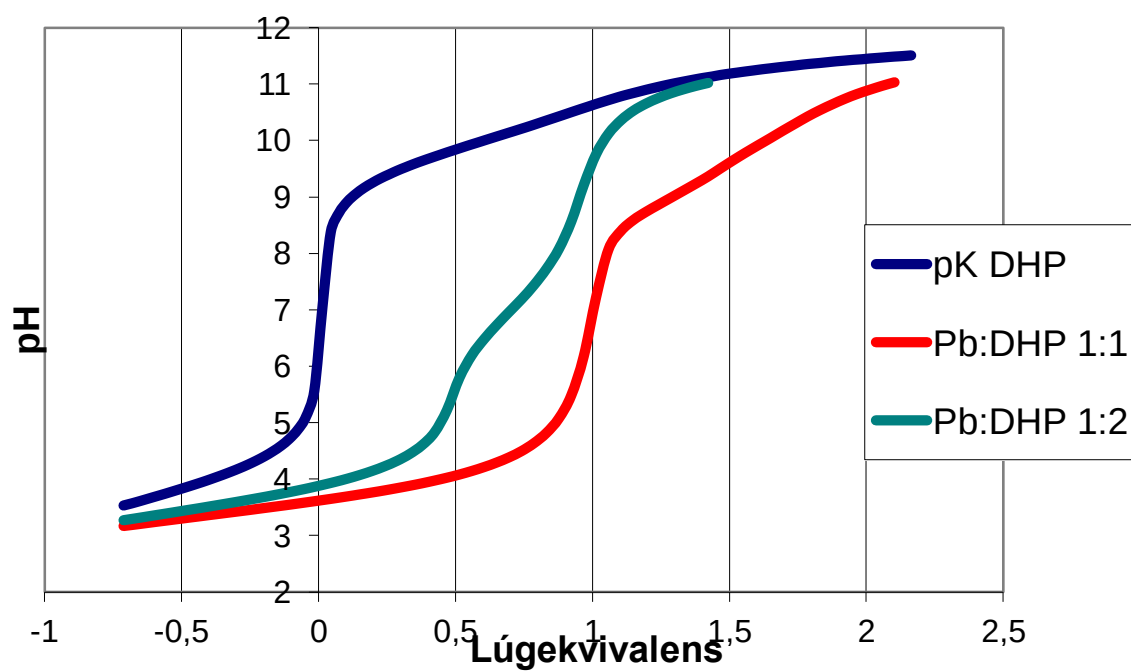
4.2.1. A ligandumok protonálódási állandóinak meghatározása

A méréseket a ligandumok protonálódási állandójának meghatározásával kezdtük. Habár ezek az adatok irodalomból ismertek, a ligandumok tisztaságának illetve hatóanyag tartalmának meghatározása érdekében elvégeztük a titrálásukat. Az eredményeket a SUPERQUAD nevű programmal értékeltük ki. A titrálási görbéik a 8. és 9. ábrán láthatóak. A maltol titrálási görbéjének (8. ábra) első szakaszában a hozzáadott erős sav közömbösítése történik, majd az ugrás után egy jól definiált lúgfogyasztó folyamat zajlik, ami a maltol OH-csoportjának a deprotonálódásához rendelhető. A DHP titrálási görbéjének (9. ábra) első szakasza azt mutatja, hogy itt az erős sav feleslegének mérésén túl egyéb lúgfogyasztó folyamat is lezajlik, a második szakaszban pedig az OH-hoz tartozó folyamat a nagyobb pH-tartományban játszódik le. Az 1. táblázatban láthatóak a számolt protonálódási állandók. A maltol esetén az érték az OH csoporthoz rendelhető, míg a DHP esetén a másik állandó a gyűrű-N protonálódásához köthető. Utóbbi esetén a különböző protonáltságú formák rezonancia szerkezeteit a 10. ábra tünteti fel.

4.2.2. Az Pb(II)-maltol, -DHP rendszerek vizsgálata



8. ábra: Az Pb(II)-maltol rendszer titrálási görbéi



9. ábra: Az Pb(II)-DHP rendszer titrálási görbéi

A 8. ábrát megfigyelve a maltol esetében 1:1 aránynál 3-as pH-nál kezdődik a komplexképződés, 7-es pH-ig stabil $[MA]^+$ komplex képződik, 7-es pH fölött további lúgfogyasztó folyamatok játszódnak le. 1:2 aránynál 0,5 ekvivalensnél látható ugrás az ugyancsak 1:1 összetételű komplex képződésére utal, 1 ekvivalensnél pedig $[MA_2]$ komplex képződése történik, míg a titrálási görbe legfelső szakaszán hidrolitikus folyamatok játszódnak le.

A DHP esetén (9. ábra) 1:1 aránynál a komplexképződés ugyancsak pH = 3-nál kezdődik és 8-as pH-ig stabil $[MA]^+$ komplex képződik. 9-es pH felett kezdetét veszi az ólom ionok hidrolízise. Az 1:2 arány a maltoléhoz hasonló, azonban a DHP esetén nem történik hidrolízis.

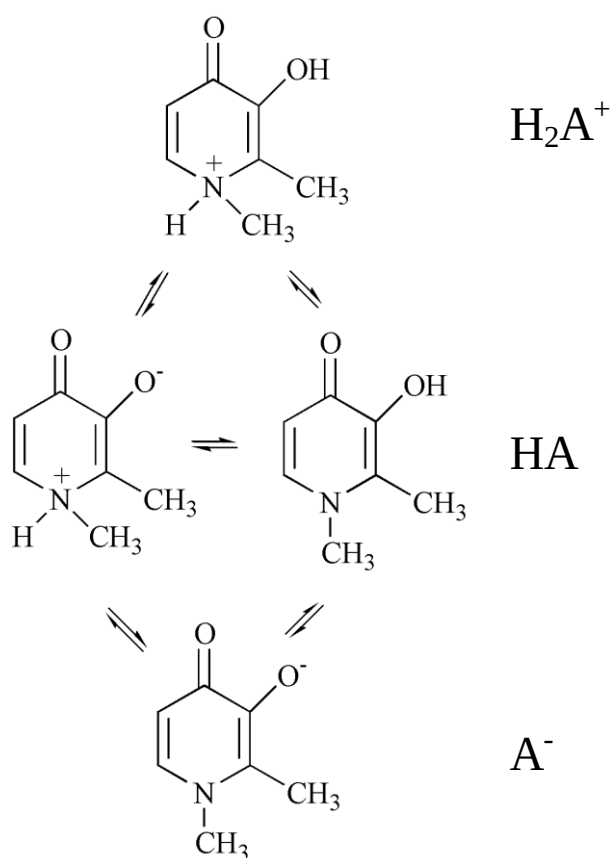
1. táblázat: A maltol és a DHP protonálódási állandói, az Pb(II) komplexek stabilitási szorzat értékei és származtatott állandók, I = 0,20 M (KNO₃), t = 25,0 °C.*

	Maltol	DHP
HA	8,45(1)	9,78(1)
H₂A	-	13,44(1)
PbA	6,83(1)	9,11(5)
PbAH₁	-2,48(2)	-0,58(2)
PbA₂	11,18(2)	15,02(2)
Pontok száma	122	111
Fitting	$5,01 \cdot 10^{-3}$	$5,12 \cdot 10^{-3}$
$Pb^{2+} + HA \rightleftharpoons PbA^+ + H^+$	-1,62	-0,67
$Pb^{2+} + 2HA \rightleftharpoons PbA_2 + 2H^+$	-5,72	-4,60
$PbA^+ + A^- \rightleftharpoons PbA_2$	4,35	5,85
pK_{PbA⁺}	9,31	9,69

*Zárójelben az állandók hibái (3σ) vannak feltüntetve.

Mindkét rendszer esetén a titrálási görbéket az 1. táblázatban bemutatott modellel tudjuk a legjobban leírni. A meghatározott stabilitási állandókat és a származtatott állandókat szintén az 1. táblázatban tüntettem fel. A rendszert $[MA]^+$, $[MAH_{-1}]$ és $[MA_2]$ részecskékként

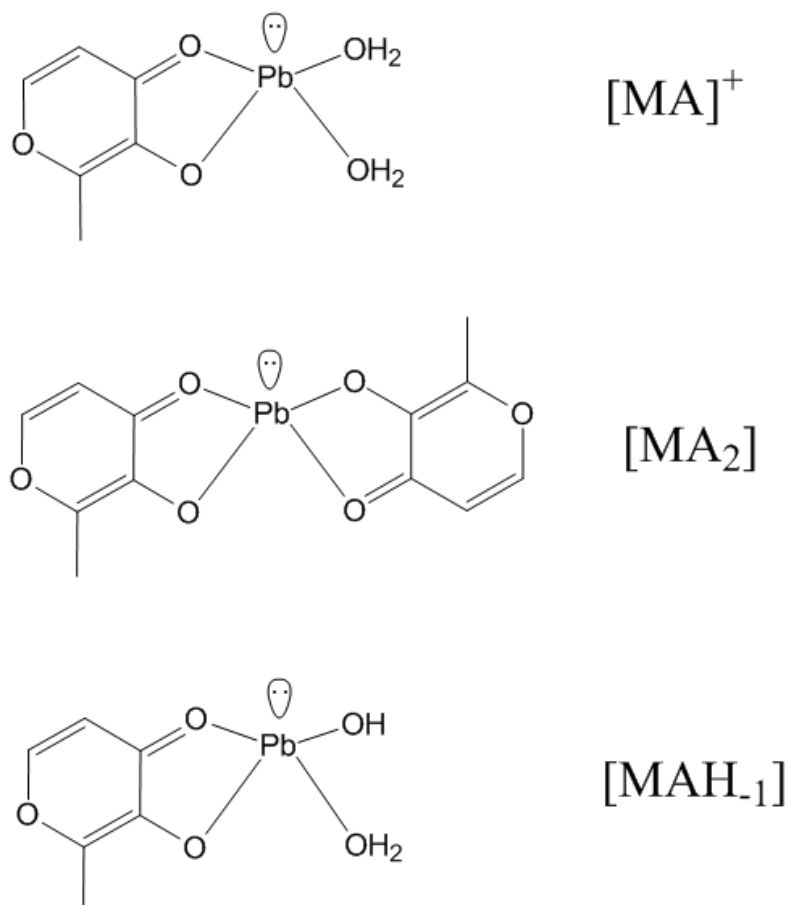
tudtuk leírni (11. ábra). Savas közegben $[MA]^+$ képződésével indul a folyamat, melyben egy ligandum (O,O) kelát képződésével köti meg a fémiont és további két víz molekula koordinálódik az ólom(II)höz. A pH további emelésével és ligandumfelesleget alkalmazva kedvezményezetté válik a második ligandum belépése, így $[MA_2]$ keletkezik. A lúgos tartományban tapasztalt hidrolitikus folyamatok leírására az $[MAH_{-1}]$ feltételezésével volt lehetőség, mely egy ligandum mellett egy OH-iont és egy víz molekulát is tartalmaz (11. ábra).



10. ábra: A DHP rezonanciaformái

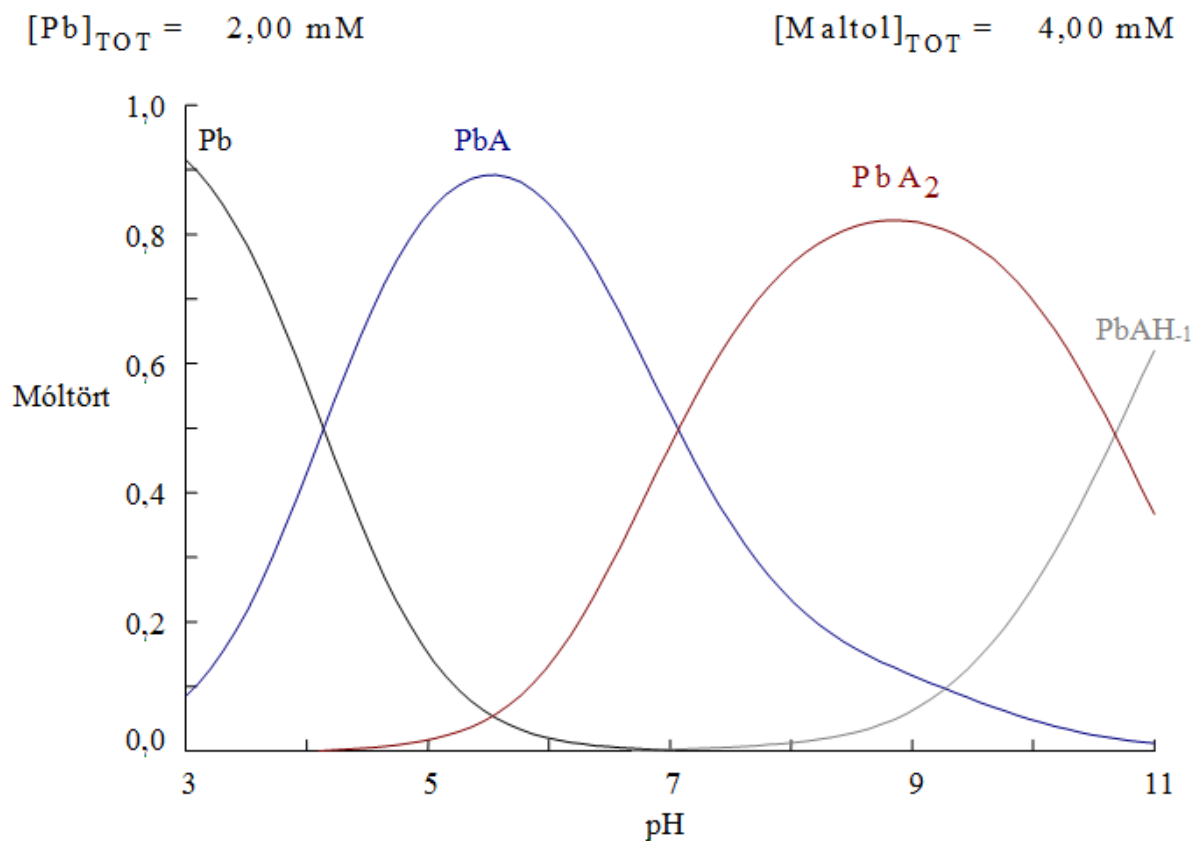
Ahogy az 1. táblázatban látható, a ligandumok OH-csoportjának protonálódási állandói jelentősen eltérnek egymástól, ezért a komplexek stabilitási állandói helyett célszerű a megfelelő protonkiszorítási folyamatok egyensúlyi állandóit kiszámolni és összevetni. Ezek láthatóak az 1. táblázat alsó részében. Ezeket a maltol és DHP komplexekre kapott állandókat összevetve észrevehető, hogy a DHP-hez tartozó állandók nagyobbak. Ezt úgy lehet

értelmezni, hogy a DHP-ből keletkező anion esetén a delokalizáció valószínűleg jelentősebb, mint a maltol esetén és ez extra stabilitást ad a keletkező megfelelő komplexnek. Ezt a stabilitás növekedést mutatja a pK_{PbA^+} érték is, ami az Pb(II)-DHP asszociátumok nagyobb stabilitását támasztja alá.

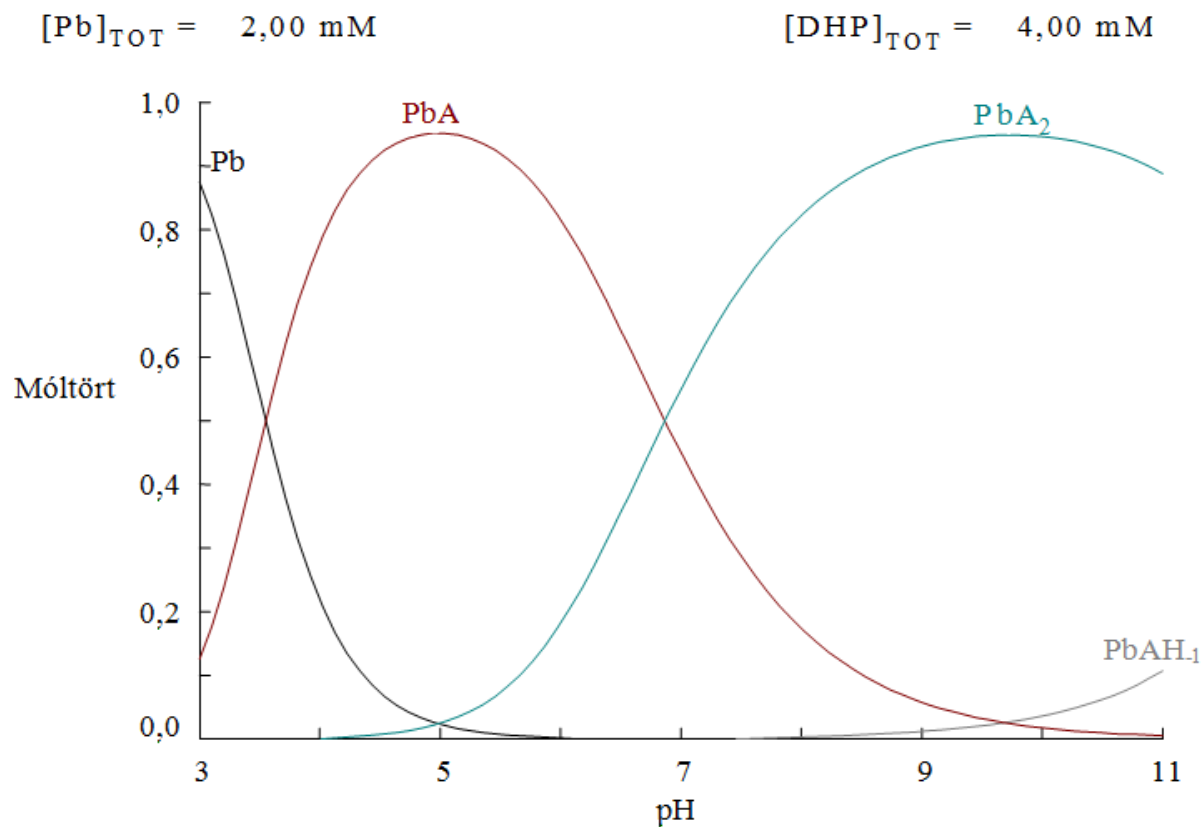


11. ábra: A képződő komplexek javasolt szerkezete

Az 12. és 13. ábrán a két rendszerben képződő komplexek koncentráció eloszlásai görbéi láthatóak, melyeket az 1. táblázatban lévő stabilitási állandók felhasználásával kaptunk. Az ábrákat összehasonlítva megfigyelhető, hogy amint azt a DHP-hez tartozó nagyobb stabilitási állandók jelezték, a DHP esetén a komplexképződési reakciók már kisebb pH tartományban elkezdődnek. Ez a képződő komplex nagyobb stabilitási állandójával magyarázható. Az Pb(II)-DHP rendszerben az $[MA]^+$ komplex 5-ös pH-nál mutat maximumot és az $[MA_2]$ komplex is nagyobb stabilitású, mint a maltol esetén. A hidrolitikus folyamatok a maltolt tartalmazó rendszerben jelentősebbek, ezzel szemben 1:2 fémion-ligandum aránynál a DHP esetén alig jelenik meg $[MAH_{.1}]$ komplex, tehát az Pb(II) nem hidrolizál.



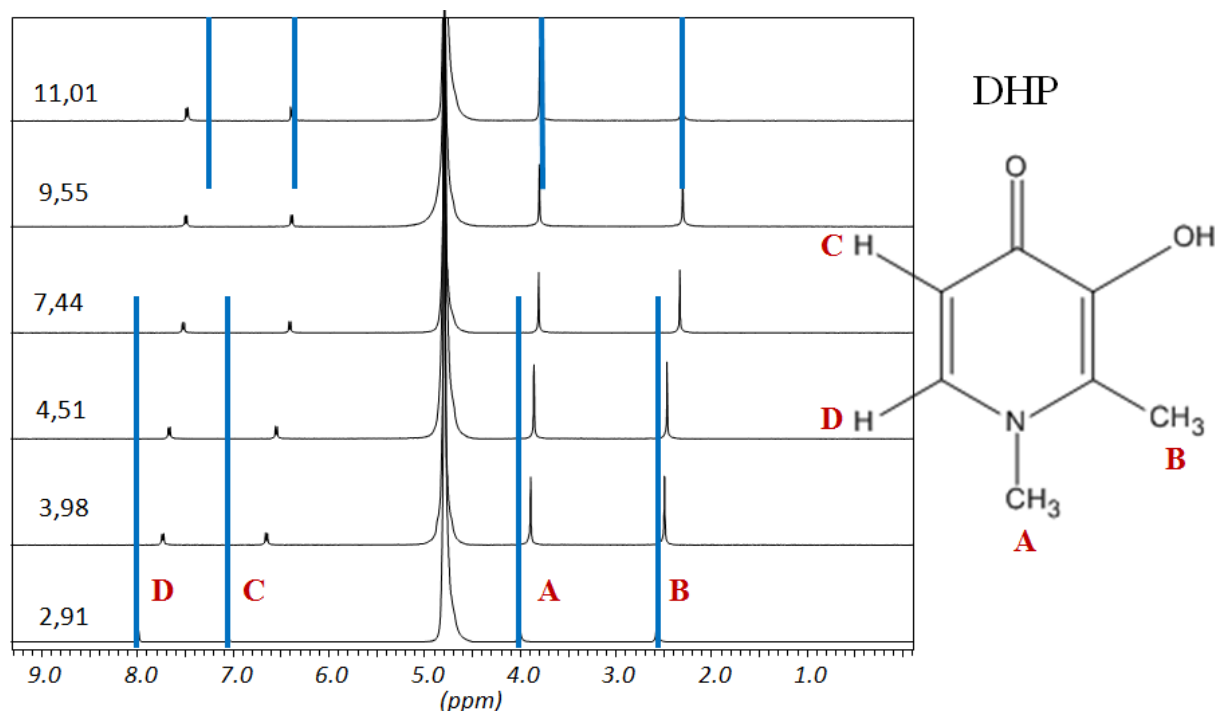
12. ábra: A Pb(II)-maltol 1:2 rendszer koncentráció eloszlási görbéi



13. ábra: A Pb(II)-DHP 1:2 rendszer koncentráció eloszlási görbéi

4.3. A ^1H -NMR vizsgálatok során kapott eredmények

A pH-potenciometriás vizsgálatok mellett ^1H -NMR méréseket is végeztünk. A DHP és a maltol esetén az NMR spektrumainak pH függése ugyanolyan volt, ezért szemléltetésül a 14. ábrán csak az Pb(II)-DHP 1:2 rendszert mutatom be.



14. ábra: Az Pb(II)-DHP 1:2 rendszer különböző pH értékeken felvett NMR spektrumai

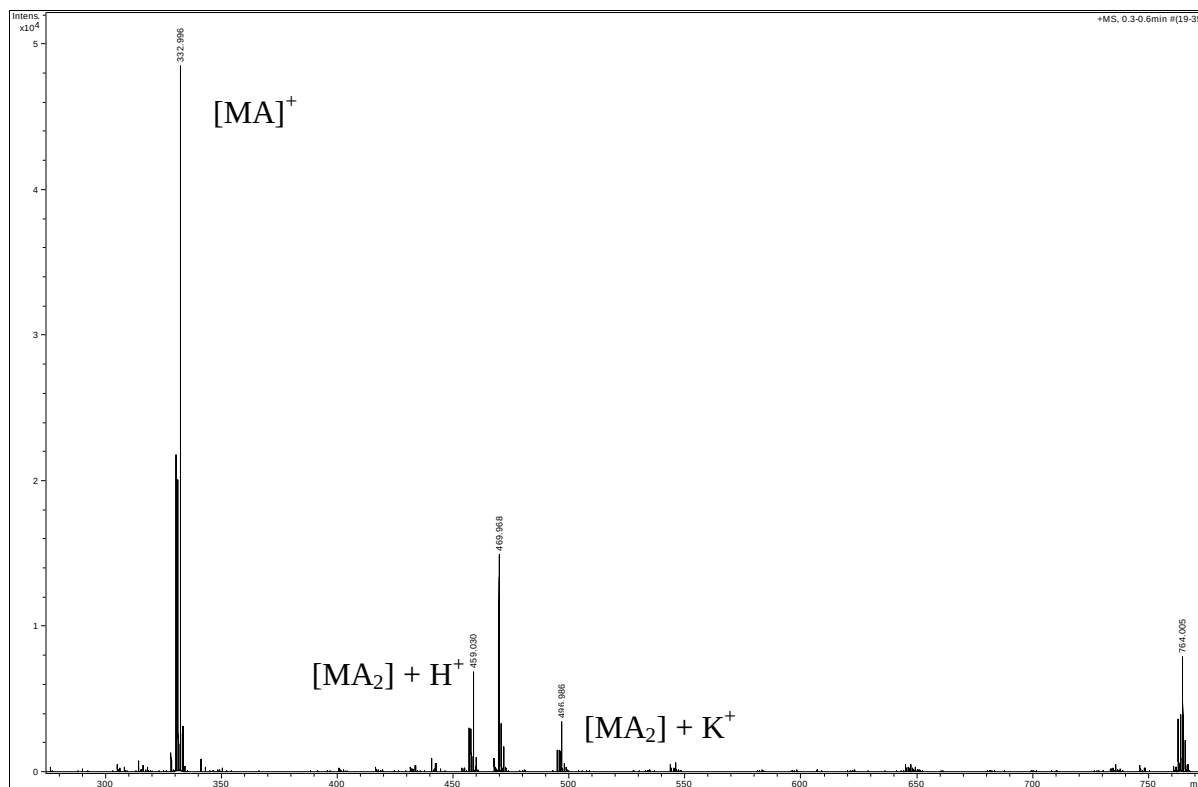
A 14. ábra jobb oldalán a DHP szerkezeti képlete látható. A szerkezeti képletnél látható piros színű betűk a spektrumban jelölik a hozzájuk tartozó csoport jelét. Az (A) betű az N-metil csoporton lévő hidrogéneket jelöli, melyek egy szinglettet adnak. A (B) betű pedig a gyűrűhöz kapcsolódó metil-csoporton elhelyezkedő hidrogének szinglett jelét mutatja. A (C) és a (D) a gyűrű hidrogének dublett jeleihez tartozik. Megfigyelhető, hogy a gyűrűhöz kapcsolódó csoport kémiai eltolódása kisebb, mint az N-metil hidrogéneké. A spektrumban feltüntetett kék színű vonalak a szabad ligandum adott csoportjaihoz tartozó kémiai eltolódásokat ábrázolja. Az alulról induló kék vonalak a savas tartományban, a felülről indulóak a lúgos tartományban felvett szabad ligandum protonált, illetve deprotonált formáinak a jelei.

A különböző pH értékekhez tartozó spektrumokat egymással, illetve a szabad liganduméval összevetve látható, hogy a fémion-tartalmú mintákban a pH emelésével a

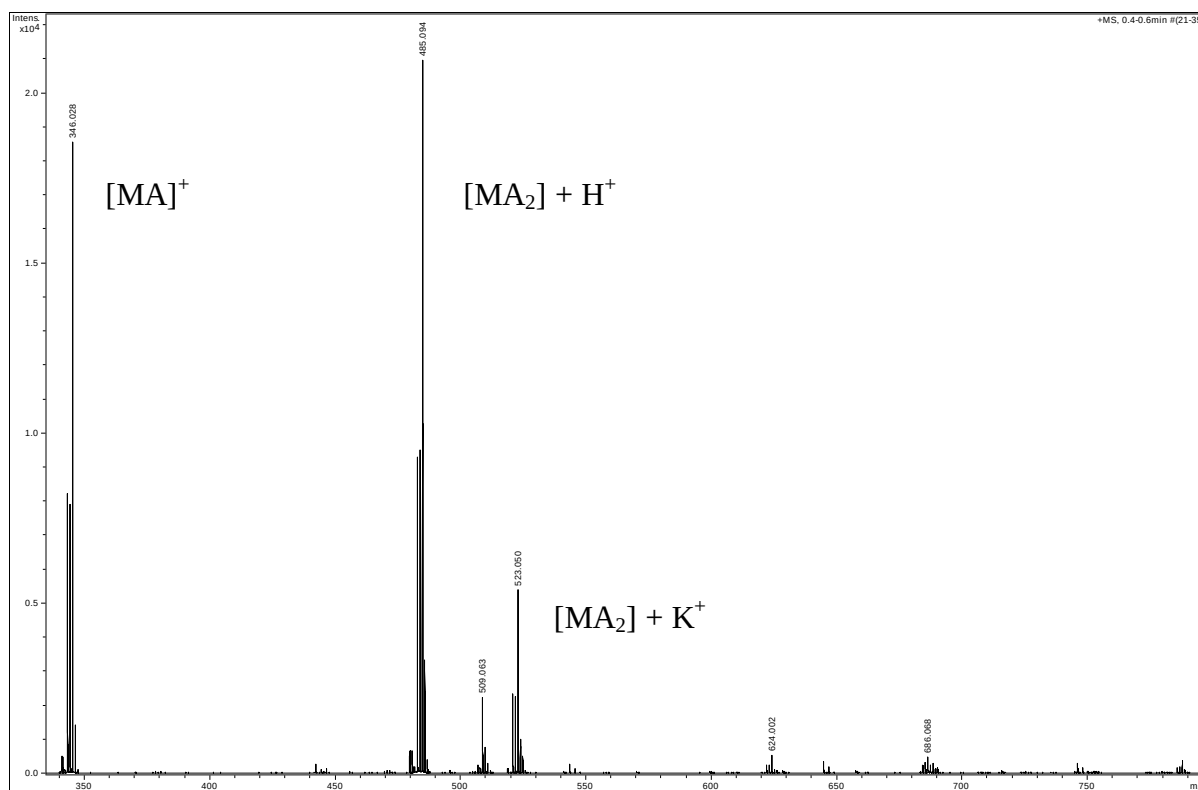
ligandumok jelei a nagyobb térerősség irányába tolódnak el. Ez a komplexképződést igazolja. A spektrumot megfigyelve észrevehető, hogy a deprotonálódás helyéhez közelebb elhelyezkedő (C)-jelű hidrogén eltolódás változása nagyobb, mint a mellette lévő (D)-jelű hidrogéné. Noha a koncentrációeloszlások alapján két részecske látható (13. ábra) az NMR spektrumban, 6 és 8 ppm között csak egy-egy jel látható, melynek folyamatos eltolódása történik. Ez azzal magyarázható, hogy az ólom(II) komplexekben a ligandumok gyorsan cserélődnek, így azok kiátlagolt jele figyelhető meg a spektrumban. Ha nem így lenne, akkor közel egymáshoz külön látnánk a komplexek dublettjeit.

4.4. ESI-MS vizsgálatok eredménye

Az ESI-MS vizsgálatok az Pb(II)-maltol 1:3 és az Pb(II)-DHP 1:3 arányú oldataival történtek. A kísérleti részben megadott koncentrációjú vizes oldatok felhasználásával történtek a mérések. Az ez irányú kutatást a pH-potenciometriás és ^1H -NMR mérések kiegészítéseként végeztük el. Az eredmények megerősítik a korábbiakban megállapított $[\text{MA}]^+$ és $[\text{MA}_2]$ asszociátumok létezését.



15. ábra Az Pb(II)-maltol 1:3 rendszer ESI-MS spektruma pH=4,99



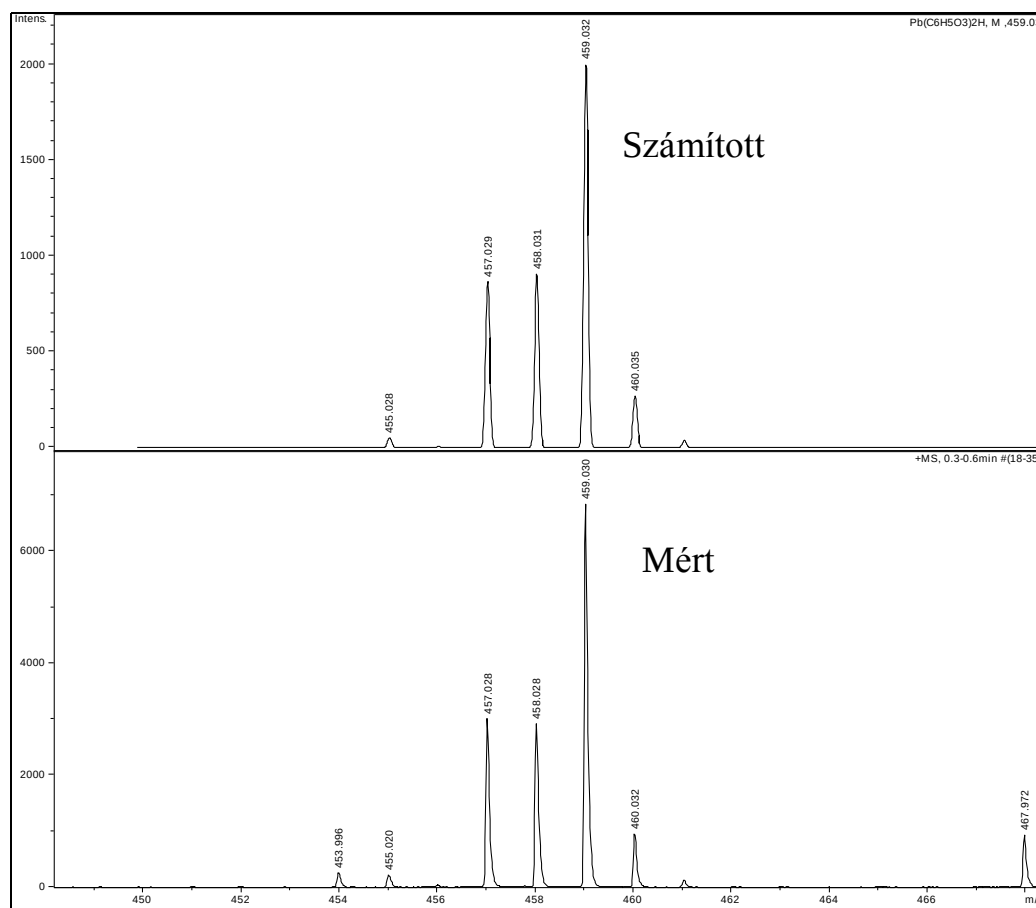
16. ábra Az Pb(II)-DHP 1:3 rendszer ESI-MS spektruma pH=5,00

Szemléltetésül a 15. ábrán az Pb(II)-maltol 1:3 rendszer pH = 4,99-nél regisztrált tömegspektruma látható. A spektrumban nagy arányban $[MA]^+$ és $[MA_2]$ komplexek láthatóak a hozzájuk tartozó intenzitások mellett. A 16. ábrán az Pb(II)-DHP 1:3 rendszer spektruma van feltüntetve. Itt is az előbb látott $[MA]^+$ és $[MA_2]$ komplexeket látjuk. A komplexek javasolt szerkezete a 11. ábrán látható. A spektrumban az is megfigyelhető, hogy nem fragmentálódnak a ligandumok. Azonban a tömegspektrumban történő átfedések miatt a jelek egy része nem határozható meg pontosan.

2. táblázat: Az Pb(II)-maltol 1:3 és az Pb(II)-DHP 1:3 arányú rendszerek komplexeinek mért és számított intenzitás eloszlása

Részecskék	m/z értékek			
	Maltol		Piridinon	
	mért	számított	mért	számított
$[MA]^+$	332,996	333,000	346,028	346,032
$[MA_2] + H^+$	459,030	459,032	485,094	485,095
$[MA_2] + K^+$	496,986	496,988	523,050	523,051

A 2. táblázatban a két rendszerben azonosított komplexek mért és számított m/z értékei láthatóak, melyek jó egyezést mutatnak egymással.



17. ábra: Az Pb(II)-maltol $[MA_2]$ komplexének mért és számított izotóp eloszlása

Valamennyi azonosított komplexre elvégeztük azok izotópeloszlásának számítását is és a jó egyezések alátámasztották a komplexek összetételét. Szemléltetésül az Pb(II)-maltol $[MA_2]$ komplexének mért és számított izotópeloszlását mutatja be a 17. ábra.

5. Összefoglalás

Az ólom élő szervezetekre gyakorolt káros hatása ismert, ez olyan ligandumok kifejlesztését teszi szükségessé, melyek kis toxicitás mellett szelektíven és stabilan kötik meg a fémiont. Számos kísérletet végeztek, ezek közül több, O,O-donoratomot tartalmazó vegyületet is bevontak a kutatásokba. Az eredmények megmutatták, hogy ezek a ligandumok akár megfelelő ólom-kelátorok is lehetnek.

Munkám során (O,O) koordinációra képes ligandumok Pb(II)-vel történő kölcsönhatását vizsgáltam. A felhasznált maltol nem mérgező, élelmiszeradalékként is használt vegyület. A piridinon-származék, DHP pedig a humán gyógyászatban is alkalmazott vas(III)ion megkötő. Az ólom(II)ionnal kialakuló kölcsönhatásokat három módszerrel pH-potenciometriásan, ^1H -NMR spektroszkópiásan és ESI-MS spektrometriásan végeztem.

Az eredményekből megállapítható, hogy mindkét rendszerben nagy stabilitású komplexek jönnek létre és az ólom(II) hidrolízise erősen visszaszorítható. A titrálási görbék legjobb leírását $[\text{MA}]^+$, $[\text{MA}_2]$ és $[\text{MAH}_{-1}]$ összetételű komplexek feltételezésével kaptuk, ahol egy, illetve két (O,O) kelátot tartalmaznak a képződő részecskék. Mind az NMR mind az ESI-MS mérések alátámasztották a potenciometriás modellt. Az NMR mérések során nyert kiátlagolt jelek alapján azonban az ólom-komplexekben gyors cserefolyamatok valószínűsíthetőek. Ez azt jelenti, hogy labilis komplexek keletkeznek, és ebből az következik, hogy ezek a ligandumok noha nagy termodinamikai stabilitással rendelkező komplexeket képeznek, kinetikai okok miatt nem feltétlenül lehetnek megfelelőek az ólom(II) szervezetből történő eltávolítására.

6. Summary

The lead(II) ion is known as toxic in its soluble compounds. Therefore a considerable effort exists to develop selective ligands having low toxicity and capable of binding the metal ion tightly and selectively. Intensive research has been carried out in this field and several (O,O) donor ligands are also considered as lead(II) chelators. These previous results show that some of these ligands might be successful candidates as lead(II) binders.

The aim of my work was to study the interaction between some model (O,O) donors and Pb(II) ion. The applied maltol is a non-toxic compound and used as food additive. The DHP is a pyridinone derivative and used in human therapy as iron(III) chelator. The interaction with Pb(II) was studied using three methods, pH-potentiometric, NMR and ESI-MS techniques.

Our results show that both of these ligands form high stability complexes with the metal ion and hydrolysis of lead(II) under physiological pH is negligible. Evaluation of the titration curves yielded a model with $[MA]^+$, $[MA_2]$ and $[MAH_{-1}]$ species which contain one and two (O,O) chelated ligands. The potentiometric model has been supported by NMR and ESI-MS results. The fast exchange of the ligands in the complexes has been indicated by the averaged signals of the complexes in the NMR spectra. This means that the lead(II) species are labile and, although they are characterized by high thermodynamic stability, due to the kinetic lability these applied chelators are likely not completely suitable for the removal of lead(II) from the body.

7. Irodalomjegyzék

1. Bátka D., Doktori értekezés, Debreceni Egyetem, Debrecen (2007)
2. F. Dahooee Balooch, S. J. Fatemi, M. Iranmanesh, *Biometals* 27, 89–95 (2014)
3. M. Iranmanesh, S. J. A. Fatemi, M. Reza Golbafan, F. Dahooee Balooch, *Biometals*, 26, 783–788 (2013)
4. J. Cermak, A. Jonasova, J. Vondrakova, L. Cervinek, P. Belohlavkova, R. Neuwirtova, *Leukemia Research*, 37, 1612–1615 (2013)
5. S. I. Ahmed, J. Burgess, J. Fawcett, S. A. Parsons, D. R. Russell, S. H. Laurie, *Polyhedron*, 2, 129–135 (2000)
6. D. Brayton, F. E. Jacobsen, S. M. Cohen, P. J. Farmer, *Chem. Commun.*, 2, 206–208 (2006)
7. M. Backlund, J. Ziller, P. J. Farmer, *Inorg. Chem.*, 47 (7), 2864–2870 (2008)
8. J. A. Lewis, D. T. Puerta, S. M. Cohen, *Inorg. Chem.*, 42 (23), 7455–7459 (2003)
9. J. A. Lewis, S. M. Cohen, *Inorg. Chem.*, 43 (21), 6534–6536 (2004)
10. K. Zborowski, R. Grybos, L. M. Proniewicz, *J. of M. Struct. (Theochem)*, 639, 87–100 (2003)
11. S. Chaves, S. Canário, M. P. Carrasco, L. Mira, M. A. Santos, *J. Inorg. Biochem.*, 114, 38–46 (2012)
12. V. Monga, K. H. Thompson, V. G. Yuen, V. Sharma, B. O. Patrick, J. H. McNeill, C. Orvig, *Inorg. Chem.*, 44 (8), pp 2678–2688 (2005)
13. P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, J. Chem. Soc., *Dalton Trans.*, 1195 (1985)
14. H. M. Irving, M. G. Miles, L. D. Pettit, *Anal. Chim. Acta*, 38, 475 (1967)
15. G. Szalontai, Mágneses magrezonancia spektroszkópia, (2003)
16. K. Újszászy–D. Frigyes, Tömegspektrometria, ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék Budapest, (2003)
17. J. A. Lewis, B. L. Tran, D. T. Puerta, E. M. Rumberger, D. N. Hendrickson, S. M. Cohen, *Dalton Trans.*, 2588–2596 (2005)
18. N. F. Olivieri, M.D., G. M. Brittenham, M.D., D. Matsui, M.D., M. Berkovitch, M.D., L. M. Blendis, M.D., R. G. Cameron, M.D., R. A. McClelland, Ph.D., P. P. Liu, M.D., D. M. Templeton, Ph.D., M.D., G. Koren, M.D., *N. Eng. J. Med.*, 332, 918–922 (1995)