

Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy

PRACA DOKTORSKA

wykonana w

**Instytucie Fizyki
Politechniki Częstochowskiej**

Iwona Maria Rutkowska

**Charakterystyka spektroskopowa i struktura
elektronowa sześciokoordynacyjnych kompleksów
Fe-porfiryn zawierających ligandy imidazolu,
histrydyny i β -pikoliny**

Promotor:

dr hab. inż. Kazimierz Dziliński, Prof. PCz

Promotor pomocniczy:

Dr inż. Marcin Jarosik

Częstochowa 2016

Szczególne podziękowanie składam Promotorowi dr hab. Kazimierzowi Dzilińskiemu, prof. PCz za opiekę naukową, poświęcony czas, zaangażowanie, wiedzę, którą mi przekazał, liczne i wyczerpujące dyskusje, okazaną życzliwość, wyrozumiałość oraz troskę, a także za cenne uwagi podczas prowadzenia eksperymentów, analizy wyników i redagowania pracy.

Dziękuję Promotorowi pomocniczemu dr inż. Marcinowi Jarosikowi za cenne wskazówki dotyczące pakietu ADF.

Wyrazy wdzięczności składam Pani dr Agnieszce Mikus za okazaną życzliwość, a także pomoc w toku syntezy kompleksu z histydyną, udzielanie cennych wskazówek oraz owocną współpracę.

Dziękuję mojej rodzinie za otuchę i wsparcie w czasie studiów i w całym okresie realizacji pracy doktorskiej.

Autorka

Spis treści

Wykaz wzorów sumarycznych występujących w pracy	5
Streszczenie	7
Summary	8
Wstęp	9
1. Struktura molekularna i elektronowa oraz znaczenie Fe-porfiryn w przyrodzie i technologiach przemysłowych	11
1.1. Zasadnicze elementy struktury molekularnej porfiryn i metaloporfiryn	11
1.2. Różnorodność modyfikacji struktury molekularnej	14
1.3. Deformacja porfiryńowego pierścienia	16
1.4. Struktura elektronowa Fe-porfiryn	17
1.5. Fe-porfiryny w przyrodzie	22
1.5.1. Żelazo w białkach hemowych	22
1.5.1.1. Hemoglobina i mioglobina	23
1.5.1.2. Cytochromy	26
1.5.1.3. Katalaza i peroksydaza	33
1.5.2. Żelazo w układach biologicznych nie zawierających hemu	35
1.5.2.1. Ferrytyna	35
1.5.2.2. Hemosyderyna i transferyna	36
1.6. Fe-porfiryny w technologiach przemysłowych	38
1.6.1. Optoelektronika	39
1.6.2. Magnetyzm molekularny	40
1.6.3. Medycyna	41
1.7. Stan badań sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-porfiryn	43
1.7.1. Badania spektroskopowe	43
1.7.1.1. NMR	44
1.7.1.2. EPR	59
1.7.1.3. Spektroskopia Mössbauera	65
1.7.1.4. Elektronowe widma absorpcyjne	73
1.7.2. Obliczenia kwantowo-mechaniczne	78
1.7.2.1. Metody półempiryczne i ab initio	79
1.7.2.2. Teoria funkcjonału gęstości	82
Podsumowanie przeglądu literaturowego	88

Cel pracy	90
2. Struktura molekularna, synteza badanych kompleksów, procedury badań doświadczalnych i parametry obliczeń teoretycznych	92
2.1. Struktura molekularna i nomenklatura	92
2.2. Synteza badanych kompleksów	95
2.2.1. Szczegółowy opis procedury syntezy kompleksu [Fe(III)(OEP)(His) ₂] ⁺	98
2.2.2. Weryfikacja struktury kompleksu [Fe(III)(OEP)(His) ₂] ⁺	99
2.3. Energia wiązania ligandów osiowych	100
2.4. Dynamika obrotu ligandów osiowych	104
2.5. Deformacja płaszczyzny porfiryнового pierścienia powodowana obrotem ligandów osiowych	107
2.6. Rozkład gęstości elektronowej na orbitalach HOMO i LUMO	112
2.7. Przygotowanie próbek i metodyka badań spektroskopowych	118
2.8. Parametry obliczeń teoretycznych	119
3. Struktura molekularna a struktura elektronowa Fe-oktaetyloporfiryny z ligandami imidazolu, histydyny i β-pikoliny	124
3.1. Analiza widm ¹ H NMR	125
3.2. Widma EPR	129
3.3. Interpretacja widm mössbauerowskich	137
3.4. Elektronowe widma absorpcyjne	148
4. Paramagnetyzm Fe-porfiryn.....	153
4.1. Podstawowe pojęcia i jednostki	153
4.2. Aparatura i pomiary wielkości magnetycznych.....	156
4.3. Właściwości magnetyczne Fe-porfiryn	160
4.4. Zależność magnetycznych momentów jonów żelaza w sześciokoordynacyjnych kompleksach Fe-oktaetyloporfiryny od natężenia zewnętrznego pola	162
4.5. Analiza temperaturowych zmian podatności i momentów magnetycznych.....	164
5. Wnioski końcowe	169
6. Literatura	171

Wykaz wzorów sumarycznych występujących w pracy

ClO_4	Nadchloran
EtOH	Etanol
$[\text{Fe}(\text{OEP})(2\text{-MeIm})_2]^+$	Fe-oktaetyloporfiryna z dwoma ligandami 2-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{OEP})(3\text{-Cl-Py})_2]^+$	Fe-oktaetyloporfiryna z dwoma ligandami 3-chloropirydyną
$[\text{Fe}(\text{TPP})]^-$	Anionowy nadżelazian Fe-tetrafenyloporfiryny
$\text{Fe}(\text{TPP})(2\text{-MeIm})(\text{EtOH})$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami 2-metyloimidazolu i etanolu
$\text{Fe}(\text{TPP})(\text{THF})_2$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami tetrahydrofuranu
$\text{Fe}(\text{TPP})(\text{PiP})_2$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami piperidyny
$\text{Fe}(\text{TPP})(\text{Cl})$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandem chloru
$[\text{Fe}(\text{TPP})]_2\text{O}$	$[\mu]$ -oxo dimer Fe-tetrafenyloporfiryny
$\text{Fe}(\text{OEP})\text{ClO}_4 \cdot 2\text{EtOH}$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandem nadchloranowym i swobodnymi cząstkami etanolu
$\text{Fe}(\text{TPP})(\text{ClO}_4)$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandem nadchloranowym
$[\{\text{Fe}(\text{TPP})\}_2\text{O}]\text{ClO}_4$	$[\mu]$ -oxo dimer Fe-tetrafenyloporfiryny ze swobodną cząsteczką nadchloranu
$[\text{Fe}(\text{TPP})_2\text{N}]$	dimer Fe-tetrafenyloporfiryny z mostkiem azotowym
$\text{Ni}(\text{II})(\text{OEP})$	Ni-oktaetyloporfiryna
$\text{Zn}(\text{II})(\text{OEP})$	Zn-oktaetyloporfiryna
$\text{Mg}(\text{II})(\text{OEP})(\text{chinolina})_2$	Mg-oktaetyloporfiryna z ligandami chinoliny
$\text{Co}(\text{III})(\text{OEP})(\text{CH}_3)$	Co-oktaetyloporfiryna z ligandem metylowym
$[\text{Fe}(\text{II})(\text{OEOP})(\text{Py})_2]\text{Cl}$	Fe-oktaetylo-5-oxaporfiryna z ligandami pirydyny i swobodnym jonem chloru z ligandami pirydyny
$\text{Fe}(\text{II})(\text{OEP})(2\text{-MeIm})$	Fe-oktaetyloporfiryna z jednym ligandem 2-metyloimidazolem
$\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{Cl})$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandem chloru
$\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{ClO}_4)$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandem nadchloranowym
$[\text{Fe}(\text{III})(\text{PPIX})(\text{Py})_2]^+$	Fe-protoporfiryna IX z ligandami pirydyny
$[\text{Fe}(\text{III})(\text{TPP})(\text{Im})_2]^+$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami imidazolu
$[\text{Fe}(\text{III})(\text{ETIOP})(\text{Im})_2]^+$	Fe-etioporfiryna z ligandami imidazolu
$[\text{Fe}(\text{OEP})(\text{R-Py})_2]^+$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandami pirydyny
$[\text{Fe}(\text{OEP})(3\text{-ClPy})_2]^+$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandami 3-chloropirydyny
$[\text{Fe}(\text{III})(\text{TPP})(\text{Py})_2]^+$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami pirydyny
$[\text{Fe}(\text{OETPP})(2\text{-MeImH})_2]^+$	Fe-oktaetylotetrafenyloporfiryna z ligandami 2-metyloimidazolu

$[\text{Fe}(\text{OETPP})(\text{N-MeIm})_2]^+$	Fe-oktaetylotetrafenyloporfiryna z ligandami N-metyloimidazolu
$\text{Fe}(\text{OEP})(\text{PMe}_3)_2$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandami trimetylofosfiny
$\text{perp-}[\text{Fe}(\text{OMTPP})(1\text{-MeIm})_2]^+$	Fe-oktametylotetrafenyloporfiryna z prostopadłymi ligandami 1-metylimidazolu
$\text{perp-}[\text{Fe}(\text{OETPP})(1\text{-MeIm})_2]^+$	Fe-oktaetylotetrafenyloporfiryna z prostopadłymi ligandami 1-metylimidazolu
$\text{parel-}[\text{Fe}(\text{TMP})(5\text{-MeHIm})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami 5-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{OEP})(4\text{-NMe}_2\text{Py})_2]^+$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandami 4-(dimetyloamino)pirydyny
$[\text{Fe}(\text{OEP})(\text{N-MeIm})_2]^+$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandami N-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{TPP})(4\text{-MeIm})_2]^+$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami 4-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{TPC})(\text{ImH})_2]$	Fe-tetrafenylochlorek z ligandami imidazolu
$[\text{Fe}(\text{TMP})(4\text{-NMe}_2\text{Py})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami 4-(dimetyloamino)pirydyny
$[\text{Fe}(\text{TMP})(\text{N-MeIm})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami N-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{TMP})(4\text{-CNPy})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami 4-cyjanopirydyny
$[\text{Fe}(\text{TPP})(\text{t-BuNC})_2]^-$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami tert-butyloisocyanidu
$[\text{Fe}(\text{OEP})(\text{t-BuNC})_2]^-$	Fe-oktaetyloporfiryna z ligandami tert-butyloisocyanidu
$[\text{Fe}(\text{TMP})(4\text{-NMe}_2\text{Py})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami 4-(dimetyloamino)pirydyny
$[\text{Fe}(\text{TMP})(\text{N-MeIm})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami N-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{TMP})(4\text{-CNPy})_2]^+$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami 4-cyjanopirydyny
$\text{Fe}(\text{II})(\text{TMP})(2\text{-MeHIm})_2$	Fe-tetramesityloporfiryna z ligandami 2-metyloimidazolu
$[\text{Fe}(\text{III})(\text{TPP})(2\text{-MeHIm})_2]^+$	Fe-tetrafenyloporfiryna z ligandami 2-metyloimidazolu
$\text{Fe}(\text{OMT})\text{Cl}$	Fe-oktametylotetrafenyloporfiryna z ligandem chloru
$\text{Fe}(\text{OETPP})\text{Cl}$	Fe-oktaetylotetrafenyloporfiryna z ligandem chloru
$\text{Fe}(\text{OETAP})\text{Cl}$	Fe-oktaetylotetraazaporfiryna z ligandem chloru

Streszczenie

Wyniki badań doświadczalnych i teoretycznych prezentowane w niniejszej pracy dotyczą struktury molekularnej i elektronowej sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-oktaetyloporfiryny z imidazolem ($[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$), histydyną ($[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$) i β -pikoliną ($[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$), jako ligandami osiowymi w piątej i szóstej pozycji koordynacyjnej jonu Fe^{3+} . Kompleksy $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ syntezowano wg procedur opisanych w literaturze, natomiast kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ otrzymano wg zmodyfikowanej procedury syntezy z wykorzystaniem cienkowarstwowej chromatografii cieczowej. Badania doświadczalne przeprowadzono metodami spektroskopowymi takimi jak ^1H NMR, EPR, spektroskopia Mössbauera oraz elektronowa spektroskopia absorpcyjna, a także wykonano pomiary momentu magnetycznego w zakresie pól 0–5 T oraz temperaturowe pomiary podatności magnetycznej w zakresie temperatur 2–300 K. Badania teoretyczne przeprowadzono w oparciu o metodę DFT, z wykorzystaniem pakietu programów ADF.

Na podstawie analizy porównawczej wyników badań doświadczalnych i teoretycznych kompleksów $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ stwierdzono, że kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ może być traktowany jako model elementów układów biologicznych zawierających pierścienie hemowe z histydyną w odniesieniu do właściwości magnetycznych, natomiast charakterystyki spektroskopowe mogą się różnić ze względu na różną wzajemną orientację ligandów osiowych i deformację porfirynowego pierścienia. Wykazano, że kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ jest szczególnym przypadkiem Fe-porfiryn, w którym stan spinowy jonu Fe^{3+} może ulegać zmianom pod wpływem temperatury i poprzez obrót ligandów osiowych. W zakresie temperatur 6–300 K występuje stan spinowy $S=1/2$ o różnych charakterystykach spektroskopowych, wynikających ze zmieniającej się energetycznej konfiguracji d -orbitali jonu Fe^{3+} oraz stan kwantowo-mechanicznie mieszany $S=3/2, 5/2$. W temperaturze pokojowej dominującym stanem jest stan niskospinowy $S=1/2$, a wraz z obniżaniem temperatury konfiguracja elektronowa jonu Fe^{3+} zmienia się na stan kwantowo-mechanicznie mieszany. Zmiany struktury molekularnej oraz relaksacja pomiędzy stanami spinowymi prowadzą do znacznych poszerzeń linii spektralnych w widmach EPR i Mössbauera oraz nietypowej charakterystyki temperaturowej podatności i momentu magnetycznego. Na podstawie obliczeń kwantowo-mechanicznych wykazano, że energia wiązania ligandów osiowych jest niższa od energii jonizacji we wszystkich trzech badanych kompleksach, co uzasadnia odrywanie się ligandów osiowych od jonu Fe^{3+} w trakcie badań z wykorzystaniem spektrometrii mas.

Wyniki badań spektroskopowych, magnetycznych i teoretycznych obliczeń wzajemnie się uzupełniają dając możliwie jednolity obraz struktury elektronowej badanych kompleksów.

Summary

The results of experimental and theoretical investigations presented in this doctoral thesis concern the molecular and electronic structures of 6-coordinated Fe-octaethylporphyrin complexes attached to imidazole ($[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$), histidine ($[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$) and β -picoline ($[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$), as axial ligands at fifth and sixth coordination positions of a Fe^{3+} ion. $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ and $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ complexes were synthesized according to the described earlier procedures while the $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ complex was synthesized by a modified procedure applying Thin Layer Chromatography. Experimental investigations were done by spectroscopic methods such as ^1H NMR, EPR, Mössbauer and electronic absorption spectroscopy, as well as magnetic measurements of magnetic moment in the range of 0–5 T and temperature dependence of magnetic susceptibility within temperatures 2–300 K. The theoretical investigations were done in the frame of DFT approach using the ADF package.

On the basis of comparative analysis of the experimental and theoretical results of the $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ and $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ complexes it was found that the $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ complex can be considered as a model of biological systems containing bis-histidine coordinated to magnetic heme, with respect to magnetic properties, but spectroscopic characteristics can be different because of different mutual orientations of axial-ligand planes and deformation of porphyrin rings. It was shown that the $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ complex is a special case of Fe-porphyrins when spin state of a Fe^{3+} ion can be changed by temperature and by rotation of axial ligands. Low-spin state ($S=1/2$) and quantum-mechanically mixed spin states ($S=3,2,5/2$) were observed in the temperature range of 6–300 K. Different spectroscopic characteristics, resulting from different configurations on energy scale of Fe^{3+} d -orbitals, induced by changes of mutual orientations of β -picoline axial ligands, were observed in the low-spin state. Predominant low-spin state was observed at room temperature but as you decrease temperature the low-spin state was changed into the quantum-mechanically mixed state. The changes of molecular structure and relaxation processes involving the spin state lead to line broadening in EPR and Mössbauer spectra as well as to untypical characteristics of temperature dependent susceptibility and magnetic moments. It was shown on the basis of quantum-mechanical calculations that axial-ligand bond energy is lower than ionization energy for all the complexes studied. This can explain detachment of axial ligands from Fe^{3+} ions during mass spectrometry measurements.

The spectroscopic, magnetic and theoretical results complement each other giving possible uniform picture of the electronic structure in the complexes studied.

Wstęp

Białka hemowe pełnią ważne funkcje w procesach biologicznych, które uwarunkowane są wieloma czynnikami [1–4]. Niektóre z tych czynników związane są ze strukturą ligandów skoordynowanych z jonem żelaza umiejscowionym w centrum hemowego makropierścienia. Kompleksy porfiryn z żelazem są obiecującymi modelami białek hemowych o stosunkowo prostej strukturze, w oparciu o które można badać mechanizmy przebiegu bardziej złożonych procesów biologicznych. Sprzyjają temu szerokie możliwości modyfikacji struktury porfiryнового pierścienia, z których dwa można uznać za najbardziej istotne: modyfikacje zmieniające układ wiązań aromatycznych samego makropierścienia oraz ilość i rodzaj przyłączonych ligandów osiowych. W białkach hemowych ligandy osiowe są zazwyczaj częścią łańcucha białkowego zawierającego np. histydynę, cysteinę czy inne aminokwasy. Wzajemna orientacja ligandów osiowych oraz ich orientacja względem pierścieni pirolowych, tworzących porfiryновый makropierścień, wpływa w istotny sposób na wypełnianie funkcji biologicznych białek hemowych [5, 6]. W procesach biologicznych, zachodzących z udziałem białek hemowych, porfiryновый makropierścień, odgrywający kluczową rolę w tych procesach, może zmieniać zarówno strukturę molekularną, jak i elektronową. Badania z użyciem szerokiej gamy metod i technik, prowadzone w różnych temperaturach, nie zawsze mogą być wykonane na białkach biologicznych. Dlatego badania Fe-porfiryn, jako układów modelowych o różnorodnej strukturze molekularnej, a w szczególności zależność pomiędzy strukturą molekularną i elektronową, mogą mieć istotne znaczenie dla poznania mechanizmów przebiegu złożonych procesów biologicznych. Daleka jest jeszcze droga do pełnego wyjaśnienia zależności pomiędzy strukturą elektronową a biologiczną aktywnością białek hemowych, m.in. tego, jak poszczególne konfiguracje elektronowe jonu żelaza kontrolują lub aktywują biologiczne funkcje tych białek.

Metaloporfiryny wywołują zainteresowanie również jako materiały do zastosowań w coraz szerszej gamie technologii przemysłowych [7], chociaż ich rola w tym zakresie daleka jest jeszcze od tej, jaką wyznaczyła im przyroda. Badania Fe-porfiryn na poziomie molekularnym są istotne nie tylko ze względu na ich udział w procesach biologicznych, ale również z uwagi na ogromne możliwości modyfikacji struktury molekularnej i elektronowej pozwalające na modelowanie właściwości fizyko-chemicznych dla potrzeb technologii przemysłowych.

Przedmiotem badań prowadzonych w ramach niniejszej pracy są sześciokoordynacyjne kompleksy Fe-oktaetyloporfiryny zawierające imidazol, histydynę i β -pikolinę jako ligandy osiowe w piątej i szóstej pozycji koordynacyjnej jonu Fe^{3+} .

W rozdziale pierwszym dokonano przeglądu stanu badań doświadczalnych i teoretycznych sześciokoordynacyjnych Fe-porfiryn, w szczególności w odniesieniu do metod badawczych stosowanych w ramach realizacji danej pracy. Ponadto przedstawiono strukturę i znaczenie w procesach oddychania głównych przedstawicieli białek, zawierających hemową grupę prostetyczną, ze szczególnym uwzględnieniem cytochromów oraz omówiono możliwości wykorzystania Fe-porfiryn w medycynie i technologiach przemysłowych.

W rozdziale drugim przedstawiono schematy struktury badanych cząsteczek oraz opisano szczegółowo procedurę syntezy kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ wraz z omówieniem próby wykorzystania spektrometrii mas do identyfikacji produktów syntezy. Przedstawiono również wyniki teoretycznych obliczeń metodą DFT energii wiązań ligandów osiowych i potencjałów jonizacji, w kontekście widm otrzymanych ze spektrometru mas. W związku z obliczeniami energii wiązań ligandów osiowych przeanalizowano również zmiany energii całkowitej badanych kompleksów w zależności od wzajemnej orientacji tych ligandów, określając bariery energii ograniczające swobodny obrót ligandów. Poddano także analizie deformację płaszczyzny porfiryнового pierścienia, konfigurację *d*-orbitali na skali energii oraz rozkład gęstości elektronowej dla orbitali HOMO i LUMO w zależności od wzajemnej orientacji ligandów osiowych. Rozdział kończy omówienie metodyki badań spektroskopowych oraz parametryzacji w metodzie DFT.

W rozdziale trzecim omówiono wyniki badań spektroskopowych uzyskane z metod ^1H NMR, EPR, spektroskopii Mössbauera i elektronowej spektroskopii absorpcyjnej. Parametry widm spektroskopowych skorelowano ze strukturą elektronową badanych kompleksów.

Rozdział czwarty dotyczy badań właściwości magnetycznych. Przedstawiono w nim krótkie wprowadzenie odnoszące się do właściwości paramagnetycznych materiałów, omówiono magnetometr SQUID wykorzystywany do pomiarów prowadzonych w ramach danej pracy i stan badań magnetycznych Fe-porfiryn. Analizę wyników badań przedstawiono pod kątem zależności magnetycznych momentów jonów żelaza od natężenia zewnętrznego pola oraz temperaturowych zmian podatności i momentów magnetycznych.

W końcowej części pracy przedstawiono wnioski wypływające z wyników badań oraz cytowaną w pracy literaturę.

1. *Struktura molekularna i elektronowa oraz znaczenie Fe-porfiryn w przyrodzie i technologiach przemysłowych*

Szerokie zainteresowanie badaniami kompleksów metaloporfiryn wynika głównie z ich znaczącej roli, jaką odgrywają w procesach biologicznych, a także z możliwości zastosowań przemysłowych i w farmakologii. Jedną z ważnych cech tych kompleksów jest szeroka możliwość modyfikacji ich struktury molekularnej, a przez to również elektronowej i właściwości fizykochemicznych. Strukturę molekularną metaloporfiryn można modyfikować na wiele sposobów, uzyskując przez to związki o różnych właściwościach.

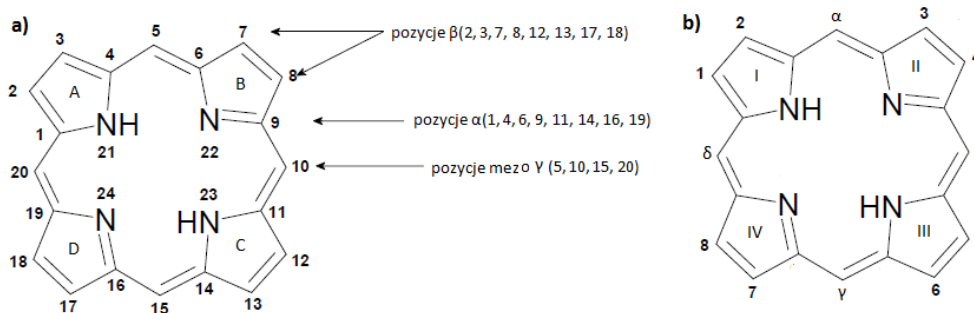
1.1. *Zasadnicze elementy struktury molekularnej porfiryn i metaloporfiryn*

Metaloporfiryny są związkami, które są wszechobecne w przyrodzie. Ich pochodne chloryny występują w dobrze znanym kompleksie chlorofilu dającym zabarwienie liściom roślin na kolor zielony, a kompleksy z żelazem, stanowiące strukturę hemu, w białkach hemowych, w szczególności we krwi. Fe-porfiryny odgrywają bardzo ważną rolę w metabolizmie organizmów żywych należących do klasy makropierścieni tetrapirolowych. Wykorzystywane są jako układy modelowe w badaniach procesów biologicznych zachodzących z ich udziałem. Szczególnie interesująca jest grupa strukturalnych analogów naturalnych porfiryn, do których należą syntetyzowane metaloporfiryny, ftalocyjaniny i ich różnorodne pochodne. Synteza i postęp w badaniach metaloporfiryn o różnej strukturze jest niezwykle ważna w badaniach biologicznych, w określeniu właściwości fizycznych i chemicznych, naturalnie występujących białek hemowych.

Już w roku 1912 Wiliam Küster zaproponował strukturę porfiryn, ale propozycja ta nie została przyjęta, ponieważ tak dużą płaską strukturę uważano wówczas za naturalnie niestabilną. Przeprowadzona w 1929 roku udana synteza Hansa Fischera Fe³⁺-protoporfiryny IX z chlorem (hemina) sprawiła, że struktura ta została w pełni zaakceptowana. W 1965 roku Webb i Fleischer pierwsi opublikowali swoje badania rentgenograficzne potwierdzające makrocycliczną budowę porfiryn [8].

Nazwa „porfiryra” pochodzi z greckiego słowa *porphura* (szkarłatne, fioletowe). Grecy określenie *porphura* przejęli z wcześniejszego języka semickiego, którym posługiwali się Fenicjanie do opisu mięczaków (małż z rodziny purpura), z których to pozyskiwali fioletowy pigment. Obecnie substancja ta występuje pod nazwą 6,6'-dibromoindigotin i charakteryzuje się intensywnym fioletowym kolorem. W starożytności purpura wykorzystywana była jako barwnik do barwienia szat wysoko postawionych duchownych oraz członków rodziny królewskiej. Utożsamiano ją z bogactwem, potęgą i prestiżem [8].

Najprostszą strukturę molekularną spośród porfiryn i metaloporfiryn posiada cząsteczka porfiry. Główny jej makropierścień zbudowany jest z dwudziestu atomów węgla i czterech atomów azotu (rys. 1.1).

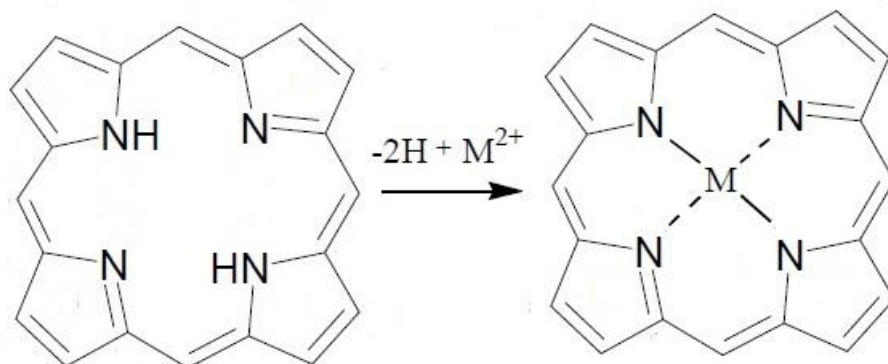


Rys. 1.1. Struktura wraz z nomenklaturą porfiryn według: a) IUPAC – A, B, C, D – pozycje pierścieni porfiryńowych, 1–20 położenie atomów węgla (5, 10, 15, 20 – pozycje mezo), 21–24 położenie atomów azotu; b) Fischera – I, II, III, IV – pozycje pierścieni pirolowych, 1–8 położenie atomów węgla (pozycje β), α , β , γ , δ – położenie atomów węgla (pozycje mezo)

Zasadniczą jego częścią jest układ czterech symetrycznie rozmieszczonych pierścieni pirolowych (C_4H_4N) połączony ze sobą mostkami metinowymi (CH). Układ ten posiada 22 elektrony π , z czego 18 stanowią elektrony zdelokalizowane stanowiące układ dziewięciu sprzężonych ze sobą wiązań typu π [9, 10].

Struktura porfiryńowego pierścienia sprzyja tworzeniu się silnych kompleksów z jonami metali, które umiejscowione są w centrum (lub jego pobliżu), tworząc metaloporfiry (rys. 1.2). Podczas tworzenia tych kompleksów porfiryra traci dwa kationy wodorowe z wiązań N-H, kation metalu koordynuje za pomocą czterech równoważnych wiązań z atomami azotu i w ten sposób znajduje się w symetrycznym polu elektrostatycznym [11]. W przypadku, kiedy atom metalu posiada liczbę koordynacji większą niż 4, ma on możliwość dodatkowo łączyć ligandy L z kierunków prostopadłych do płaszczyzny pierścienia, zwanych ligandami osiowymi. Porfiryra jest

ligandem czterokleszczowym, w którym przestrzeń dla skoordynowanego metalu ma średnicę około 3,7 Å [12].



Rys. 1.2. Proces formowania metaloporfiryn

W przyrodzie kilkadziesiąt związków zawiera szkielet porfirykowy o różnym stopniu nasycenia, który połączony jest z różnorodnymi grupami funkcyjnymi.

Poniżej, w skrótovej formie, przedstawimy kilka przykładów występowania metaloporfiryn w przyrodzie.

(1) Stymulatorem procesów fotosyntezy, przebiegających w roślinach zielonych, jest chlorofil (rys. 1.3a), natomiast w przypadku fotosyntetyzujących bakterii, jako analog, bakteriochlorofil (rys. 1.3b). Zasadniczym elementem struktury tych kompleksów jest porfirykowy pierścień w koordynacji z atomem magnezu. Odgrywa on decydującą rolę w pochłanianiu i transporcie energii kwantu światła oraz przenoszeniu elektronów od reduktorów do utleniaczy w łańcuchu fotosyntezy, który najogólniej polega na cyklu oksydacyjno-redukcyjnym transformacji H_2O i CO_2 w aminokwasy, lipidy i inne organiczne związki. Metaloporfiryny, ze względu na swoją strukturę, doskonale spełniają rolę jako układy modelowe w badaniu oddziaływań międzycząsteczkowych oraz mechanizmów rządzących procesami oksydacyjno-redukcyjnymi zachodzącymi podczas fotosyntezy [13].

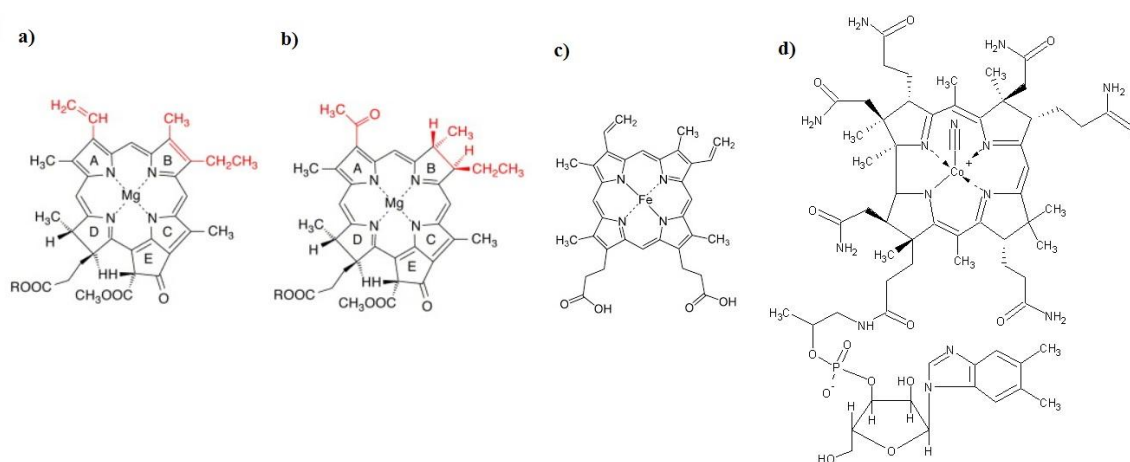
(2) Kolejnym, bardzo ważnym z punktu widzenia roli pełnionej w organizmach żywych, jest kompleks protoporfiryny IX z jonem żelaza w centrum pierścienia (rys. 1.3c). W przypadku hemoglobiny i mioglobiny jest to kompleks z jonem Fe^{2+} (hem). Proteiny te odpowiedzialne są za wiązanie i rozprowadzanie tlenu z płuc po całym organizmie, jak również akumulowanie go w mięśniach.

(3) Zbliżoną pod względem podobieństwa do struktury metaloporfiryn jest witamina B_{12} , która stanowi ligand koryny (*corrid*) skoordynowany z jonem kobaltu.

Witamina B₁₂ odpowiedzialna jest za katalizę reakcji izomeryzacji oraz przeniesienia grupy metylowej [14]. Co(III) stanowi kofaktor niezbędny do syntezy ssaczych czerwonych krwinek (rys. 1.3d).

(4) Metaloporfiryny wchodzą także w skład wielu enzymów, takich jak np. cytochromy, katalaza, peroksydaza i inne. Pełnią one funkcje regulatorów przebiegu procesów ważnych dla funkcjonowania organizmów żywych.

Ponieważ tematyka pracy dotyczy żelazoporfiryn, dlatego też bardziej szczegółowe omówienie struktury molekularnej i elektronowej ograniczymy do tych właśnie kompleksów.



Rys. 1.3. Struktury chemiczne: a – chlorofilu *a*, b – bakteriochlorofilu, c – protoporfiryny IX, d – witaminy B12 [15]

1.2. *Różnorodność modyfikacji struktury molekularnej*

Struktura metaloporfiryn może być modyfikowana na wiele sposobów. Różnorodność modyfikacji jest tak duża, że omówienie wszystkich syntezowanych dotychczas struktur mogłoby być zbyt obszernym opracowaniem, dlatego w tym paragrafie ograniczymy się do przypadków najczęściej występujących i związanych z tematem niniejszej pracy. Możliwa jest modyfikacja peryferii jak i rdzenia koordynacyjnego porfiryny. Jak już wspomniano, jedną z możliwości jest zastąpienie dwóch wodorów iminowych (przyłączonych do dwóch wewnętrznych atomów azotu) jonami metali. Jest to możliwe wskutek istnienia wolnego obszaru w centrum makropierścienia. Praktycznie ze wszystkimi metalami układu okresowego porfiryny tworzą syntetyczne kompleksy [16]. W przyrodzie występują one z kompleksami metali takimi jak, np.: Mg, Fe, Co, V, Ni, i tylko w tej formie spełniają swoje funkcje biochemiczne. W zależności od konfiguracji elektronowej atomu metalu,

umieszczonego w centrum molekuly, może on tworzyć układ zamkniętopowłokowy, np. Zn(II)(P), czy też otwartopowłokowy, Fe(III)(P), Fe(II)(P) (z wyjątkiem S=0).

Inną możliwością, wskutek której struktura pierścienia może zostać zmodyfikowana, jest przyłączenie ligandów stanowiących atomy lub grupy atomów. Istotne są ligandy przyłączone bezpośrednio do jonu metalu, w płaszczyźnie prostopadłej do płaszczyzny porfiryнового pierścienia (osiowe) [17]. Związki z dołączonymi ligandami osiowymi mogą tworzyć kompleksy pięciokoordynacyjne, gdy dołączony jest jeden ligand osiowy lub sześciokoordynacyjne, kiedy do jonu metalu dołączone są dwa ligandy osiowe. W molekule Fe(III)(P)(Cl) ligandem osiowym jest anion chlorkowy Cl⁻, który wysyca jon żelaza do trzeciej wartościowości. Do głównego pierścienia porfiryны mogą być przyłączone podstawniki, przy czym podstawienie może następować w pozycjach β (2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 – w nomenklaturze IUPAC) lub meso [11]. W sytuacji, kiedy ligandy w β-pozycjach stanowią więcej niż jeden rodzaj podstawników, możliwe są różne ich wzajemne rozmieszczenia [17], (np. etioporfiryны).

Ze względu na swoją budowę porfiryновый pierścień może brać udział w olbrzymiej liczbie reakcji chemicznych. Poszczególne układy porfiryновые, choć zbudowane podobnie, mogą się różnić, m. in.:

- rodzajem podstawników (przyłączanych w miejsce atomów wodoru przy węglach pierścieni pirolowych i mostkach metinowych), mogą to być grupy: -H, -CH₃, -C₂H₅, -CH=CH₂, -CH(OH)CH₃, -CHO, -COOH, -CH₂COOH, -(CH₂)₂COOH;
- naturą grup mostkujących występujących pomiędzy pirolami, czy też ich wzajemne kombinacje (-CH=, =C(R)-, -N=);
- możliwością uwodornienia (protonowania) jednego lub kilku wiązań podwójnych w pierścieniach pirolowych oraz zamykania podstawników sąsiadujących w nowy pierścień [18].

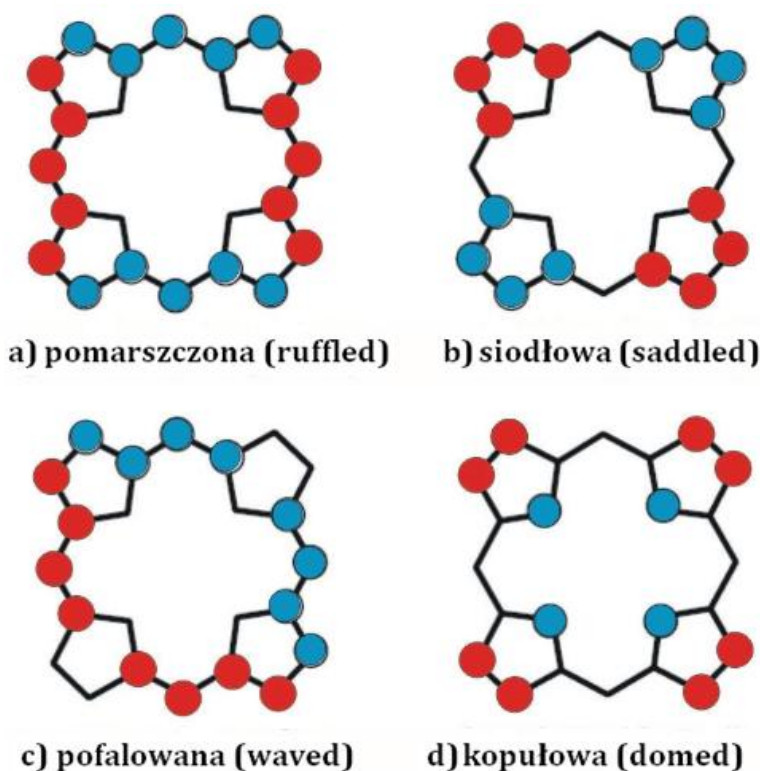
Szerokie możliwości modyfikacyjne zwiększają się jeszcze zważywszy na fakt, że układy te mogą tworzyć kompleksy di- i trimerowe, kompleksy „palisadowe”, czy też „koszykowe” [17, 19].

Każda z modyfikacji pierścienia porfiryнового wpływa zasadniczo na strukturę molekularną kompleksu, a tym samym na jego właściwości fizyko-chemiczne. Modyfikowane struktury metaloporfiryны prowadzą do szerokiego zakresu specyficznych własności występujących w związkach naturalnych. Pochodne

metaloportiryn odgrywają istotną rolę w życiu bakterii, grzybów, roślin, zwierząt i ludzi.

1.3. *Deformacja portirynowego pierścienia*

Pofałdowanie pierścienia portirynowego posiada swoją klasyfikację i najczęściej występujące deformacje szkieletu portiryny posiadają swoje nazwy zwyczajowe (rys. 1.4). Kwalifikacja pofałdowania, jak również giętkość konformacyjna względnie sztywnej struktury portiryny, są warte podkreślenia z uwagi na przebieg mechanizmów niektórych procesów biochemicznych i katalitycznych [20].



Rys. 1.4. Typy pofałdowania szkieletu portiryn. Czerwonymi kółkami oznaczono atomy poniżej średniej płaszczyzny szkieletu, niebieskim – atomy powyżej tej płaszczyzny [21]

Konformacja pomarszczona (*ruffled*) (rys. 1.4a): Pierścienie pirolowe są na przemian nachylone (w górę i w dół) w stosunku do płaszczyzny portiryny. Atomy węgla w położeniach mostkowych są rozmieszczone naprzemiennie nad i pod portiryną względem płaszczyzny, podczas gdy atomy azotu w portirynowym rdzeniu znajdują się w płaszczyźnie.

Konformacja siodłowa (*saddled*) (rys. 1.4b): Wszystkie atomy wzdłuż danej krawędzi związku makrocyklicznego porfiryny ($C_{\beta} - C_{\alpha} - C_{\text{meso}} - C_{\alpha} - C_{\beta}$) będą na tej samej stronie płaszczyzny porfirynowej.

Konformacja pofalowana (*waved*) (rys. 1.4c): Dwie pary przeciwstawnych pirolowych pierścieni są różnie zorientowane w stosunku do makropłaszczyzny porfirynowego pierścienia. W jednej parze atomy węgla α każdego z tych dwóch pirolowych pierścieni są po różnych stronach głównej porfirynowej płaszczyzny, natomiast w drugiej parze dwa atomy węgla α każdego z pierścieni są po tej samej stronie płaszczyzny, przy czym w jednym pirolowym pierścieniu tej pary są nad płaszczyzną, a w drugim pod płaszczyzną.

Konformacja kopułowa (*domed*) (rys. 1.4d): Należy ona do najrzadszych typów deformacji omawianych w literaturze. W niej wszystkie β atomy węgla znajdują się na jednej stronie płaszczyzny, *meso* atomy węgla znajdują się w płaszczyźnie, natomiast α atomy węgla wraz z atomami azotu usytuowane są poniżej płaszczyzny [12].

1.4. Struktura elektronowa Fe-porfiryn

Ponieważ przedmiotem badań niniejszej pracy są kompleksy z żelazem Fe^{3+} , poświęćmy im zatem nieco więcej uwagi w niniejszym paragrafie.

Kompleksy porfiryn z żelazem na trzecim stopniu utlenienia

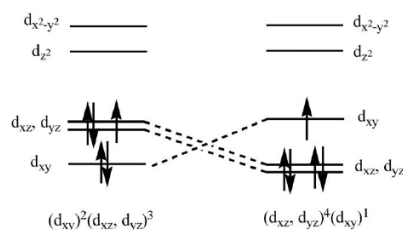
Stan spinowy jonu żelaza, w szczególności trójwartościowego Fe^{3+} w kompleksach porfirynowych, w istotny sposób wpływa na właściwości fizykochemiczne całego kompleksu.

Układ ligandów osiowych określa poziom energii na *d*-orbitalach żelaza oraz stymuluje rozmieszczenie elektronów na tych orbitalach. Konfiguracja elektronowa, w której różnica energii pomiędzy orbitalami jest wystarczająco duża (powodując brak możliwości przechodzenia elektronów na wyższe poziomy energetyczne), prowadzi zwykle do stanu niskospinowego. Istnieją tylko cztery aminokwasy z łańcuchami bocznymi, w których natężenie pola ligandów jest wystarczające, aby przypisać te kompleksy do niskospinowego stanu. Do tych czterech aminokwasów zaliczamy histydynę, metioninę, cysteinę i lizynę. Spośród dziesięciu różnych kombinacji tych ligandów cztery stanowią białka przenoszące elektrony [22].

W kompleksach pięciokoordynacyjnych obserwuje się pewne wysunięcie żelaza z płaszczyzny porfirynej w kierunku ligandu osiowego, czego przykładem może być hemina [23].

Hemoproteiny odnajdywane są w określonych warunkach *in vitro* lub reakcjach pośrednich. Niski stan spinowy ($S=1/2$) występuje najczęściej w sześciokoordynacyjnych kompleksach żelaza. Jako przykład posłużyć może niskospinowy hem *a* w oksydazie cytochromowej, czy też cytochrom *P-450*, cytochrom *b* i *c* oraz chloroperoksydazy [24]. Inne białka hemowe, które nie występują naturalnie w niskim stanie spinowym żelaza, są łatwo konwertowane do tej formy. Znane są wyjątki kompleksów sześciokoordynacyjnych, w których to kompleks Fe^{3+} jest kompatybilny ze stanem wysokospinowym $S=5/2$ [25, 26]. W cytochromie *b* występują dwa ligandy osiowe, w postaci histydyny. W sześciokoordynacyjnych strukturach ligandy osiowe mogą być różnie zorientowane względem siebie, jak również w stosunku do porfiryнового pierścienia. Na przykład sześciokoordynacyjne porfiryновые kompleksy z ligandami osiowymi o równoległej orientacji, są często obserwowane w cytochromach *b₅* oraz cytochromach *c₃*, podczas gdy układy, w których ligandy osiowe o prostopadłej orientacji względem siebie, obserwuje się między innymi w flawocytochromie *b₂*. W świetle ostatnich badań [27], ze względu na wzajemną orientację ligandów osiowych, wyróżnia się trzy typy tych kompleksów, które zasadniczo różnią się konfiguracją elektronową: Typ I – prostopadle zorientowane względem siebie ligandy z pomarszczonym (*ruffled*) lub siodłowym (*saddled*) porfiryновym pierścieniem [27], co zaobserwować możemy w cytochromach *b₅₆₂* i *b₅₆₆* [28]. Orbitale d_{xz} i d_{yz} są w tym typie niemalże zdegenerowane. Typ II – równoległe ligandy z płaskim pierścieniem porfiryновym. Tutaj następuje zniesienie degeneracji orbitali d_{xz} i d_{yz} , co potwierdza się w cytochromach *c₅₅₁* oraz *c₂* [27, 29]. Typ III – prostopadle ligandy i płaski porfiryновy pierścień obserwuje się m. in. w przypadku cytochromów *d* i *d₁* [30, 31].

Istnieją dwa typy elektronowego stanu podstawowego, odpowiadającego spinowi $S=1/2$, w niskospinowych kompleksach Fe^{3+} . Pierwszym z nich jest powszechnie obserwowany stan podstawowy o konfiguracji elektronowej $(d_{xy})^2(d_{xz}, d_{yz})^3$, drugim zaś jest mniej popularny $(d_{xz}, d_{yz})^4(d_{xy})^1$ [27], co pokazuje rys. 1.5.



Rys. 1.5. Konfiguracja elektronowa w niskospinowych kompleksach Fe^{3+} [21]

Ostatnie badania wykazały, że stan podstawowy niskospinowych kompleksów kontrolowany jest przez elektronową naturę ligandów osiowych [21]. Jeśli orbitale d_{xy} zlokalizowane są powyżej orbitali d_{π} , wtedy kompleks ma czysty stan podstawowy $(d_{xz}, d_{yz})^4(d_{xy})^1$. Właściwości spektroskopowe kompleksów niskospinowych zmieniają się w zależności od różnicy energii pomiędzy orbitalami d_{π} [21]. Niskospinowe kompleksy Fe^{3+} -porfiryn charakteryzuje długość wiązania Fe-N_p mieszcząca się w zakresie 1,970–2,000 Å, długość wiązania Fe-N_L pomiędzy 1,957–2,013 Å [32]. Jednakże zauważono niedawno, że dla niektórych sześciokoordynacyjnych żelazoporfiryn stan spinowy zależy również od stanu skupienia, w którym się znajduje, na przykład stan spinowy jonu żelaza w kompleksie $[\text{Fe(III)(OEP)(2-MeHIm)}_2]^+$, w fazie krystalicznej, jest w stanie wysokospinowym, natomiast w stanie ciekłym istnieje w równowadze termicznej pomiędzy stanem nisko- a wysokospinowym [33]. Jon Fe^{3+} w stanie pośrednispinowym $S=3/2$ przyjmuje konfigurację elektronową $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^2 (d_{z^2})^1$, w stanie wysokospinowym $S=5/2$ konfiguracja elektronowa przyjmuje postać $(d_{xy})^1 (d_{xz}, d_{yz})^2 (d_{z^2})^1 (d_{x^2-y^2})^1$. Możliwy jest również stan kwantowo-mechanicznie mieszany, oznaczany jako $S=3/2,5/2$, czy też $S=5/2,3/2$, zależnie od tego, który z wkładów czysto spinowych jest wkładem dominującym [34].

Możliwe stany spinowe i konfiguracje elektronowe żelazoporfiryn

Kompleksy porfiryn mogą być skoordynowane z jonem żelaza na różnych stopniach utlenienia. Możliwe stany koordynacyjne naturalnych żelazoporfiryn obejmują związki czterokoordynacyjne (bez ligandów osiowych), pięciokoordynacyjne (z jednym ligandem osiowym) oraz kompleksy sześciokoordynacyjne (z dwoma ligandami osiowymi). Liczba ligandów osiowych i ich natura ma znaczący wpływ na takie elementy struktury jak: długość wiązania Fe-N_p w płaszczyźnie pierścienia, Fe -ligand osiowy, przemieszczenie atomu żelaza z płaszczyzny porfirynowego

pierścienia. Każdemu z możliwych stopni utlenienia i stanów spinowych jonu żelaza odpowiadają nieco inne wartości wspomnianych wyżej elementów struktury.

Dobrym przykładem zależności pomiędzy długością wiązania Fe-N i stanem spinowym jonu Fe^{3+} może być sześciokoordynacyjny kompleks $[Fe(OEP)(3-Cl-Py)_2]^+$ (tabela 1.1):









































Tabela 1.1. Odległości Fe-N w porównaniu z stanem spinowym na przykładzie sześciokoordynacyjnego kompleksu $[Fe(OEP)(3-Cl-Py)_2]^+$, w temperaturze pokojowej

Stan spinowy	Fe-N _P [Å]	Fe-N _L [Å]	Lit.
Niskospinowy S=1/2	1,994(6)	2,031(2)	[35]
	1,990	2,043 ^[24]	[35]
Pośredniospinowy S=3/2	2,005(6)	2,310(17)	[36]
	2,006(8)	2,304 ^[24]	[37]
Wysokospinowy S=5/2	2,045	2,316	[35]
Kwantowo-mechanicznie mieszany S=3/2,5/2	2,014(4)	2,194(2)	[35]

Żelazo w porfiryńowych kompleksach może występować na stopniach utlenienia w zakresie od Fe^0 (d^8) do Fe^{4+} (d^4), a nawet Fe^{5+} (d^3) [38]. Dla każdego z tych stopni utlenienia możliwe są konfiguracje elektronowe obejmujące stany wysoko-, pośrednio-, niskospinowe oraz stany kwantowo-mechanicznie mieszane. Możliwe stany spinowe i ich konfiguracje elektronowe przedstawiono w tabeli 1.2:

Tabela 1.2. Możliwe stany spinowe i konfiguracje elektronowe żelazoporfiryn [38]

	Wysokospinowe	Pośredniospinowe	Niskospinowe
Fe^0 (d^8)	$d_{x^2-y^2}$ \uparrow d_{z^2} \uparrow d_{xz}, d_{yz} $\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow$ d_{xy} $\uparrow\uparrow$ S = 1		$d_{x^2-y^2}$ $\uparrow\uparrow$ d_{z^2} $\uparrow\uparrow$ d_{xz} $\uparrow\uparrow$ $\uparrow\uparrow$ d_{yz} $\uparrow\uparrow$ S = 0

$\text{Fe}^{1+} (d^7)$			$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 1/2$
$\text{Fe}^{2+} (d^6)$	$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 2$	$d_{x^2-y^2}$  d_{xz}, d_{yz}  d_{z^2}  d_{xy}  $S = 1$	$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 0$
$\text{Fe}^{3+} (d^5)$	$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 5/2$	$d_{x^2-y^2}$  d_{xz}, d_{yz}  d_{z^2}  d_{xy}  $S = 3/2$	$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 1/2$
$\text{Fe}^{4+} (d^4)$	$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 3/2$		$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 1$
$\text{Fe}^{5+} (d^3)$	$d_{x^2-y^2}$  d_{z^2}  d_{xz}, d_{yz}  d_{xy}  $S = 3/2$		

Należy zauważyć, że diamagnetycznymi elementami tej serii ($S=0$) są jedynie niskospinowe stany Fe^0 i Fe^{2+} . Wszystkie inne kompleksy porfiryn z żelazem są paramagnetyczne. Fe^0 porfiryny są opisane jako skuteczne i trwałe katalizatory molekularne i reduktory H^+ i CO_2 [38, 39]. Wysoko zredukowane porfiryny Fe^{1+} budzą duże zainteresowanie ze względu na przekonanie, że mogą być one zaangażowane w proces katalityczny niektórych białek [40]. Szereg technik spektroskopowych i fizyczne pomiary wykorzystano do jednoznacznego opisu struktury elektronowej kompleksu Fe^{1+} [41, 42].

Żelazo na drugim stopniu utlenienia odgrywa ważną rolę w modelowych układach hemowych i chemii białek hemowych. Jon Fe^{2+} z sześcioma d -elektronami może występować w kompleksach z porfirynami w trzech stanach spinowych:

pośredniospinowym (S=1) – dla czterokoordynacyjnych kompleksów [Fe(II)P],
wysokospinowym (S=2) – dla pięcio- i sześciokoordynacyjnych kompleksów
i niskospinowym (S=0) – dla pięcio- i sześciokoordynacyjnych kompleksów.

Tabela 1.3. Przykładowe kompleksy porfiryn z żelazem o różnej konfiguracji elektronowej

Stopień utlenienia	Stan spinowy	Kompleks	Lit.
I	S=1/2, S=3/2	[Fe(TPP)] ⁻	[43]
II	S=2	Fe(TPP)(2-MeIm)(EtOH)	[44]
	S=2	Fe(TPP)(THF) ₂	[45]
	S=1	Fe(TPP)	[45]
	S=0	Fe(TPP)(PiP) ₂	[45]
	S=5/2	Fe(TPP)(Cl)	[25]
III	S=5/2	[Fe(TPP)] ₂ O	[26]
	S=3/2	Fe(OEP)ClO ₄ ·2EtOH	[46]
	S=3/2,5/2	Fe(TPP)(ClO ₄)	[47]
	S=3/2,5/2	Fe(OEP)(ClO ₄)	[48]
	S=1/2	[Fe(TPP)(Im) ₂] ⁺ ·Cl	[49]
IV	S=1	[{Fe(TPP)} ₂ O]·ClO ₄	[50]
	S=1	[Fe(TPP) ₂ N]	[50]

1.5. Fe-porfiryny w przyrodzie

Fe-porfiryny należą do grupy kompleksów, bez których przebieg wielu życiowo ważnych procesów byłby niemożliwy. W szczególności procesy oddychania przebiegają z udziałem białek hemowych, których podstawowym elementem jest hem (protoporfiryna IX).

1.5.1. Żelazo w białkach hemowych

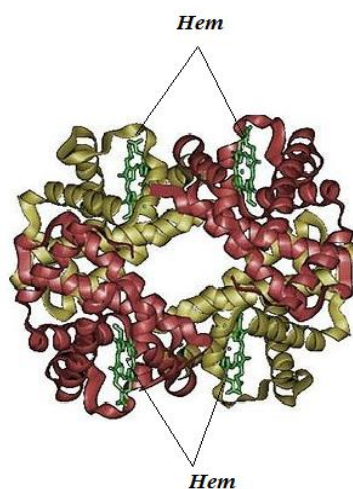
Żelazo we krwi obecne jest w związkach hemoproteinowych, gdzie wbudowane jest w porfirynewy pierścień. Kompleks z jonem Fe²⁺ (hem) wchodzi w skład białek przenoszących tlen: hemoglobiny i mioglobiny oraz szeregu enzymów biorących udział w procesach utleniania i redukcji tj.: cytochromy, katalaza, peroksydaza [51]. Białka

hemowe odpowiedzialne są za wiązanie i rozprowadzanie tlenu z płuc po całym organizmie, akumulowanie go w mięśniach, a także biorą udział w wielu innych, życiowo ważnych bioprocessach.

1.5.1.1. *Hemoglobina i mioglobina*

Występowanie hemoglobiny w krwi człowieka zwiększa około 75-krotnie wydajność transportu tlenu. Ponad 97% tlenu transportuje hemoglobina, natomiast niecałe 3% rozpuszczone jest w osoczu [31]. Niezwykłą zdolnością hemoglobiny (rys. 1.6) jest tworzenie odwracalnych połączeń z tlenem, co jest podstawą procesu oddychania. W każdym z czterech pierścieni porfiryńowych cząsteczka tlenu łączy się z atomem żelaza i wiąże tlen w płucach poprzez tworzenie addycyjnego połączenia jonów żelazowych hemu z cząsteczkami O_2 . Ma to miejsce w naczyniach włosowatych pęcherzyków płucnych. W postaci oksyhemoglobiny tlen rozprowadzany jest po całym organizmie [51]. Możliwość realizacji tego zadania stwarza jon Fe^{2+} zlokalizowany w centrum cząsteczki hemu. Naruszenie struktury białek otaczających hem może wpływać na oddziaływanie między sąsiednimi cząsteczkami hemu, co może prowadzić do utleniania się Fe^{2+} do Fe^{3+} , a przez to do utraty możliwości odwracalnego przyłączenia tlenu [52].

Badania żelazo-porfiryńowych kompleksów, jako modeli hemoprotein, skoncentrowane są w głównej mierze na określeniu wpływu bliższego i dalszego otoczenia na ich donorowo-akceptorowe własności. Dotychczasowy stan wiedzy w tej dziedzinie niesie nadzieję na pomyślne rozwiązanie problemu uzyskania efektywnych zamienników krwi [53].



Rys. 1.6. Cząsteczka hemoglobiny z widocznymi czterema pierścieniami hemowymi [54]

Budowa tetrametryczna umożliwia większą wydajność dostarczania tlenu, niżeli w przypadku pojedynczego, niezależnego łańcucha. Konformację oksyhemoglobiny (hemu połączonego z tlenem) definiuje się jako stan R (*relaxed* – rozluźniony), natomiast konformację deoksyhemoglobiny (hemu bez tlenu) jako stan T (*taut* – naprężony). W stanie R hemoglobina ma większe powinowactwo do tlenu niż w stanie T [55]. Hem, jako substancja barwnikowa, stanowi 4% jej masy, natomiast 96% masy obejmuje białko w postaci globiny [56].

Każdego dnia w organizmie człowieka 0,5–3% hemoglobiny ulega autooksydacji do methemoglobiny. W wyniku procesu utleniania atom żelaza zostaje wsunięty w pierścień porfiryny, co powoduje wiązanie z tlenem, a struktura pierścienia hemu staje się bardziej płaska. W warunkach fizjologicznych w organizmie człowieka około 85% tlenku węgla ma swoje źródło z rozpadu hemu [57].

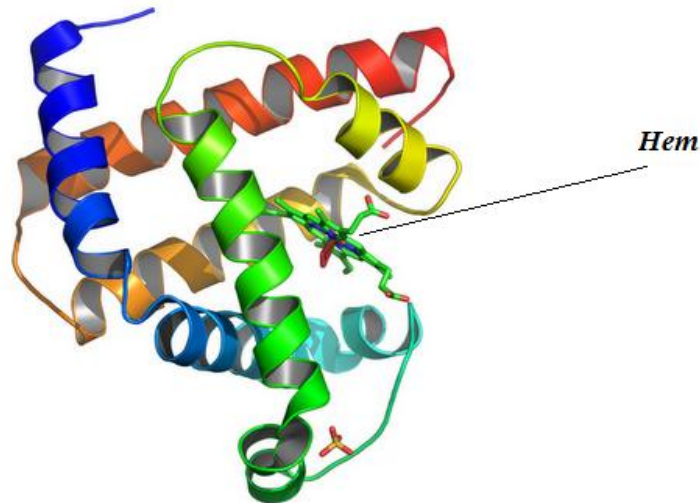
Na skutek tego, że hemoglobina posiada formę tetrameru, ma właściwości allosteryczne, czyli oddziaływania pomiędzy przestrzennie oddalonymi pierścieniami hemu za pośrednictwem łańcuchów białkowych [58].

Cząsteczka tlenu jest w hemoglobinie bezpośrednio przyłączona do jonu żelazowego w hemie jako szósty ligand. W przypadku oksyhemoglobiny i hemoglobiny bez tlenu, żelazo pozostaje na tym samym drugim stopniu utlenienia. Przyłączenie tlenu powoduje zmianę stanu spinowego z niskiego ($S=0$) na wysoki ($S=2$). Cząsteczka O_2 na szóstym miejscu koordynacyjnym w hemie wytwarza na tyle silne pole, że jest ono w stanie odwrócić połowę spinów, dając spin $S=2$ [59].

Wśród rozlicznych funkcji hemoglobina spełnia w organizmie także rolę układu buforowego [60]. Posiada zdolność wiązania protonów, co warunkuje łatwość utrzymania stałego pH w tkankach aktywnych metabolicznie, czyli mięśniach. Poza tym hemoglobina odgrywa kluczową rolę w transporcie tlenku azotu (NO). Zasadniczą funkcją NO w układzie krwionośnym jest rozszerzanie naczyń krwionośnych.

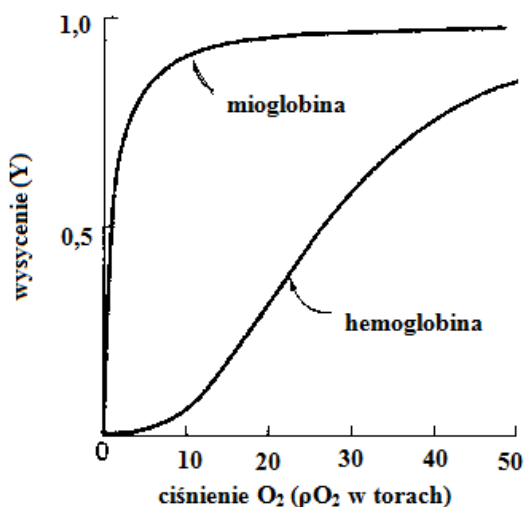
Drugim bardzo istotnym białkiem hemowym jest mioglobina (rys. 1.7). Jej główną rolą jest wiązanie i przechowywanie w mięśniach szkieletowych tlenu, który dostarczany jest przez hemoglobinę. W dużej ilości występuje w cytoplazmie mięśni szkieletowych oraz mięśnia sercowego [61]. Mioglobina bierze udział w metabolizmie tlenowym komórek mięśni szkieletowych (miocytów) i mięśnia sercowego (kardiomiocytów), a jej podniesiony poziom w krążeniu świadczy o uszkodzeniu tkanki mięśniowej. Dlatego też jest ona wykorzystywana m. in. w diagnostyce chorób

sercowo-naczyniowych. Dopuszczalny poziom u zdrowej osoby powinien zawierać się w przedziale 70–110 $\mu\text{g/l}$. Nadmierne przekraczanie tej wartości w surowicy krwi może wywołać poważne zmiany, przede wszystkim zawał mięśnia sercowego [62]. Mioglobina zawiera tylko jeden hem i jeden łańcuch polipeptydowy (rys. 7) i ma silniejsze, aniżeli w przypadku hemoglobiny, powinowactwo do tlenu [59, 63].



Rys. 1.7. Cząsteczka mioglobiny z widocznymi helisami α i grupą prostetyczną hemu [64]

Istotną cechą mioglobiny jest jej stosunkowo niewielki ciężar i rozmiary, i dlatego najszybciej ze wszystkich markerów niedokrwienia i nekrozy tkanki potrafi rozprzestrzeniać się w systemie naczyniowym organizmu, stanowiąc tym samym najwcześniejszy sygnał zawału serca. Oznaczenie mioglobiny wykorzystywane jest także w stwierdzeniu ryzyka niewydolności nerek [62]. Rejestrowanie poziomu mioglobiny u osób zawodowo uprawiających sport umożliwia optymalizację obciążenia podczas treningów. Krzywa wiązania tlenu (rys. 1.8) obrazuje zależność pomiędzy stężeniem lub ciśnieniem cząsteczkowym tlenu ($p\text{O}_2$), jak również ilością związanego tlenu.



Rys. 1. 8. Krzywa wiązania tlenu przez hemoglobinę i mioglobinę [55]

Poza omawianymi dwoma rodzajami białek hemowych Fe-porfiryny występują również w innych układach biologicznych, takich jak: cytochromy, katalaza i peroksydaza.

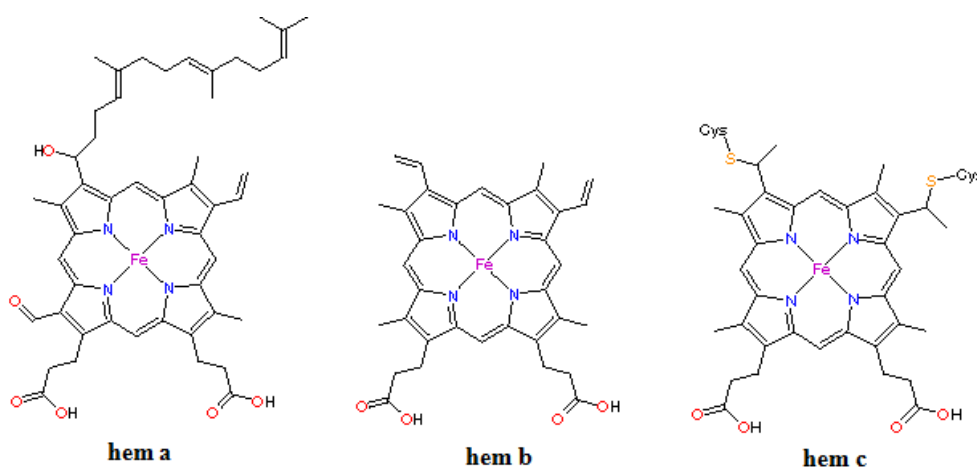
1.5.1.2. *Cytochromy*

Cytochromy zalicza się do szeroko rozpowszechnionych hemoprotein. Ich wspólnym elementem jest cząsteczka hemu znajdująca się w centrum aktywnym białka [65]. Występują one w przyrodzie w wielu odmianach zarówno u prokariotów, jak i eukariotów, we wszystkich organizmach o tlenowym metabolizmie. Tworzą głównie układy sześciokoordynacyjne i niskospinowe zawierające Fe^{3+} lub Fe^{2+} [66].

Zaskakujące są dzieje badań nad cytochromami. Należy wspomnieć, że zostały one odkryte dwukrotnie. Pierwszym odkrywcą tych barwników oddechowych był MacMunn (1852–1911), przyrodnik i lekarz brytyjski. Dokonał on ich analizy, wykorzystując spektroskop własnej konstrukcji. Obserwował różne tkanki, po czym zauważał w nich charakterystyczne prążki absorpcyjne różniące się od tych, jakie dawały znane już wówczas hemoglobina i mioglobina [65].

W 1925 roku cytochromy zostały ponownie odkryte przez Davida Keilina [67], który nie znał prac MacMunn'a. Podobnie jak MacMunn badał on tkanki przy pomocy spektroskopu sprzężonego z mikroskopem. Zauważył te same prążki absorpcyjne, jakie 40 lat wcześniej dostrzegł MacMunn. Dowiódł, że cytochrom nie jest pojedynczą jednostką, ale że jest to wiele różnych białek o różnych grupach prostetycznych [68].

Cytochromy zawierają odpowiednio trzy najczęściej spotykane grupy hemowe, które zostały nazwane po zlokalizowaniu ich α pasm absorpcji (rys. 1.9).



Rys. 1.9. Struktura chemiczna grup hemowych zawartych w cytochromach *a*, *b*, i *c* [22]

Klein stwierdził, że cytochromy są nie tylko szeroko rozpowszechnione w przyrodzie i całkowicie niezależne od hemoglobiny, lecz są także wewnątrzkomórkowymi barwnikami oddechowymi [65].

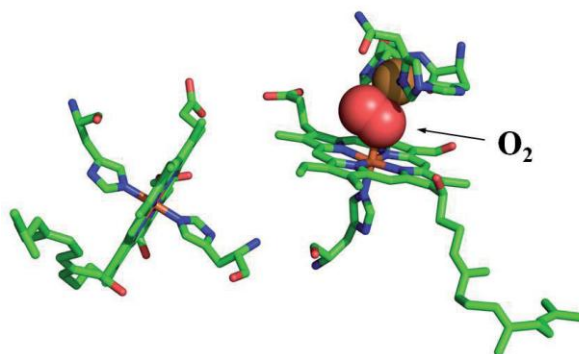
Cytochromy (dosłownie: barwniki komórkowe) stanowią rodzinę kolorowych białek (greckie *chroma* oznacza „kolor” – stąd ich nazwa) [69]. Można odróżnić je od siebie na podstawie widm absorpcji oraz ich potencjałów redoks [70]. We wszystkich cytochromach atom żelaza zmienia na przemian swój stan pomiędzy utlenionym, Fe^{3+} , w którym żelazo ma pojedynczy niesparowany elektron, a hem ma ładunek +1, a stanem zredukowanym, Fe^{2+} , bez niesparowanych elektronów i ładunku formalnego. Cytochromy wykazują w stanie zredukowanym charakterystyczne widmo absorpcyjne z trzema pasmami: pasmem α w zakresie 550–604 nm (żółte), pasmem β w zakresie 520–546 nm (zielone) i pasmem γ (lub Soreta) w zakresie 400–450 nm (w dalekim fioletcie). Niezaabsorbowane długości fal nadają hemowi jego charakterystyczną czerwoną barwę [59]. Katalizują reakcje, z tej racji są niezbędne w procesach oddychania komórkowego w mitochondriach.

Podział cytochromów według typu pierścienia hemowego

Istnieje kilka różnych grup hemowych znalezionych w proteinach. Hem *a*, hem *b*, hem *c* (rys. 1.9) i hem *d* są grupami hemowymi najczęściej spotykanymi w przyrodzie. Grupy hemowe różnią się między sobą ilością łańcuchów bocznych na

szkielecie porfiryny. Ma to wpływ na właściwości spektroskopowe i sposób, w jaki grupa hemowa jest przyłączona do białka. Hem *b* jest zdecydowanie najbardziej rozpowszechnioną grupą hemową występującą u zwierząt. Zawiera dwa boczne łańcuchy winylowe, które wpływają na właściwości spektroskopowe. Większość hemowych cząsteczek jest w pełni aromatyczna. Wyjątkiem są hem *d*, hem *d₁* oraz sirohem, które mają jeden lub dwa niearomatyczne pierścienie pirolowe [71].

Cytochromy typu *a* są nieliczną grupą, w której najbardziej popularnym jest cytochrom *a₁* (rys. 1.10). Cytochrom ten występuje w niektórych bakteriach, np. *Escherichia coli* czy *Azotobacter vinelandii*. Jego pasmo absorpcyjne wykazuje maksima przy 440 nm i 589–595 nm. Grupą prostetyczną cytochromu *a₁* jest hem *a*, który jest czynny jako oksydaza końcowa i bierze udział w transporcie elektronów [59, 72]. W największym stężeniu znajduje się on w komórkach, których wymagania energetyczne są wysokie, np.: mięśnia sercowego, mięśni skrzydeł ptaków i owadów, szarych komórkach mózgu, wątroby itd. Oceniono, że 90% energii dla skurczów mięśnia sercowego i 96% energii dla skurczów mięśni skrzydeł jest zapewnione przez metabolizm aerobowy właśnie za pośrednictwem oksydazy cytochromowej. Zużycie tlenu przez układy biologiczne jest kierowane przez ten enzym w 90%.

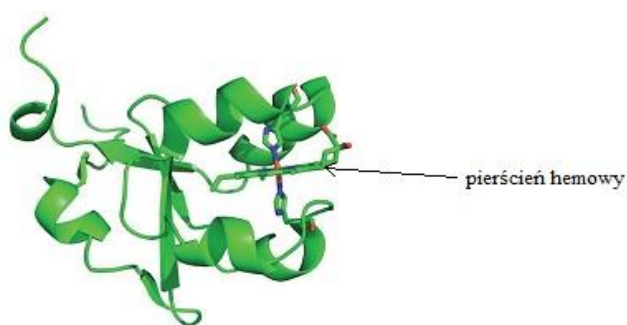


Rys. 1.10. Miejsce wiązania tlenu w oksydazie cytochromu *a*. Tlen cząsteczkowy jest związany pomiędzy żelazem w hemie *a* i miedzią, skoordynowaną z histydyną [22]

Innym cytochromem z grupy *a* jest cytochrom *aa₃*, rozpowszechniony pod nazwą oksydazy cytochromowej. Jest on umiejscowiony w błonie wewnętrznej mitochondriów komórek eukariotycznych i w błonie plazmatycznej komórek prokariotycznych [59]. Jest bardzo złożonym białkiem składającym się z wielu podjednostek. Zawiera dwa jony żelaza i dwa miedzi jako swoje aktywne składniki. Żelazo hemu cytochromu

a_1 jest niskospinowe ($S=1/2$ przy Fe^{3+} i $S=0$ przy Fe^{2+}), z kolei cytochromu aa_3 jest wysokospinowe ($S=5/2$ przy Fe^{3+} i $S=2$ przy Fe^{2+}) [59].

Cytochromy typu b należą do enzymów mających protohem jako grupę prostetyczną [22, 59]. Ponieważ badane w danej pracy kompleksy służą jako układy modelowe cytochromów z grupy b , omówimy je nieco dokładniej. Cytochromy b występują w mitochondriach eukariontów, chloroplastach i bakteriach tlenowych [73]. Różnorodne ich postacie wyróżniają się położeniem pasma α formy zredukowanej, np. b_{562} , b_{566} . W łańcuchu oddechowym pełnią funkcję przenośnika elektronów. Cytochrom b_1 odnaleziony został w niektórych bakteriach, np. *Escherichia coli*. Jego *ferro* – forma odznacza się charakterystycznym pasmem α przy 559 nm [59, 74]. Cytochrom b_2 występuje w drożdżach. Odróżnia się od innych cytochromów typu b tym, iż w charakterze grupy prostetycznej, oprócz protohemu, posiada jeszcze mononukleotyd flawinowy. Jest to kompleks niskospinowy jonu Fe^{3+} . W mikrosomach pochodzących z nefotosyntetyzujących tkanek roślin, występuje cytochrom b_3 . Jego typowe pasmo pochłaniania α znajduje się przy 559 nm. W błonach mikrosomów komórek zwierzęcych i erytrocytach obecny jest cytochrom b_5 (rys. 1.11). Jego pasmo α występuje przy 556 nm. Cytochrom b_5 erytrocytów bierze udział w redukcji methemoglobiny, przemieszczając elektrony z reduktazy cytochromowej b_5 na methemoglobinę. Ciekawy jest fakt, że cytochrom b_5 , podobnie jak inne cytochromy typu b , nie ulega inhibicji przez tlenek węgla i cyjanki [59].

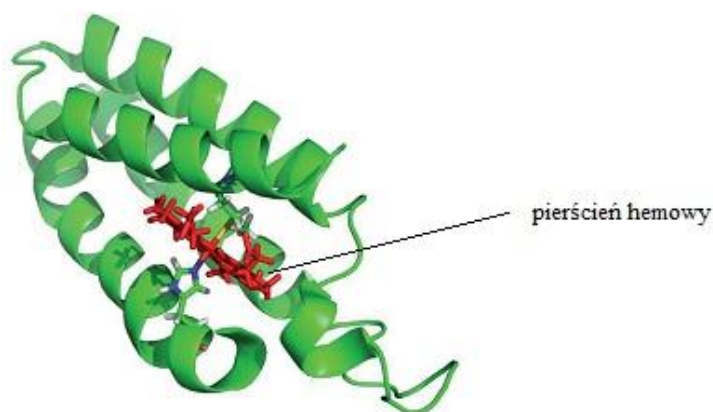


Rys. 1.11. Rozpuszczalny fragment zewnętrznej błony mitochondrialnej cytochromu b_5 od szczura [75]

Cytochrom b_6 , zwany również cytochromem b_{563} , odkryto w łańcuchu przenośników elektronów fotofosforylacji cyklicznej [59]. Jest on zbudowany z czterech wewnątrz-błonowych helis i wyposażony w dodatkowy kofaktor, hem c przyłączony

kowalencyjnie przez jedną, konserwatywną resztę cysteiny. Zadanie dodatkowego kofaktora nie jest jeszcze znane. Prawdopodobnie bierze on udział w procesie cyklicznej fazy jasnej fotosyntezy [51].

Cytochrom b_{562} (rys. 1.12) jest enzymem zawierającym hem b . Jest on monomerycznym białkiem wiązki czterech helis, które znaleźć można w peryplazmie *Escherichia coli*. Chociaż funkcja tego białka nie jest znana, jest ono szeroko stosowane jako układ modelowy do badania hemu. W przeciwieństwie do większości innych cytochromów z grupy b , w cytochromie b_{562} żelazo skoordynowane jest dwoma różnymi ligandami osiowymi. W cytochromie tym hem b_{562} wiąże się z jednej strony poprzez ligand histydyny, natomiast drugim ligandem skoordynowanym z jonem żelaza jest metionina [22].

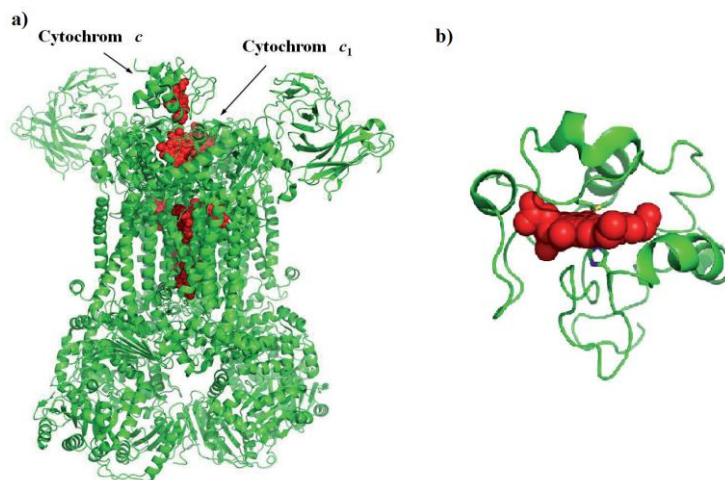


Rys. 1.12. Cytochrom b_{562} z pałeczki okrężnicy (łac. *Escherichia coli*). Grupa hemowa jest skoordynowana z histydyną i metioniną [22]

Kompleks b_6f obecny jest w roślinach zielonych i stanowi część układu fotosyntetycznego – głównego producenta tlenu i materii organicznej na Ziemi [66]. Cząsteczki tego cytochromu tworzą kluczowe ogniwo w procesie przetwarzania energii w chloroplastach oraz mitochondriach. Cytochrom b_6f jest dimerem, w którym to każdy z monomerów jest zbudowany z ośmiu łańcuchów peptydowych. W tym kompleksie mają miejsce zasadnicze etapy reakcji przenoszenia elektronów i protonów.

Cytochromy z grupy c (rys. 1.13) występują jako białka w błonie komórkowej. Ze względu na stosunkowo niedużą masę cząsteczkową, rozpuszczalność w wodzie i tendencję do krystalizacji dają się łatwo oczyszczać [76]. Cytochrom c zawiera 0,45% żelaza. Białko to, o długości 104 aminokwasów w łańcuchu peptydowym, złączone jest

z cząsteczką hemu. Żelazo powiązane jest bezpośrednio z białkiem przez dwie cząsteczki histydyny [63, 77].



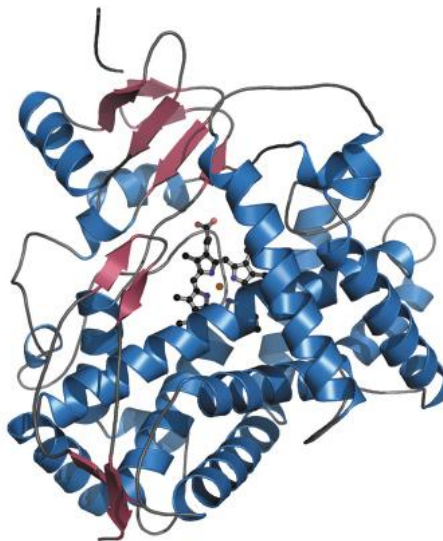
Rys. 1.13. a) Kompleks III typu w połączeniu z mitochondrialnym cytochromem *c*, b) cytochrom *c*₂ z bakterii purpurowych [22]

Cytochrom *c* bierze udział w procesie oddechowym poprzez przenoszenie elektronów z reduktazy do oksydazy cytochromowej. Jest obecny w mikroorganizmach eukariotycznych, w roślinach i u zwierząt, we wszystkich organizmach, w których układ oddechowy oparty jest na systemie mitochondrialnym. Jego konformacja we wszystkich tych organizmach jest podobna do tego stopnia, że roślinny cytochrom *c* wchodzi w reakcję z oksydazą cytochromową zwierząt [76, 78]. Pełni funkcję transportera elektronów w łańcuchu oddechowym między kompleksem cytochromów *bc*₁, a oksydazą cytochromową w mitochondriach. Bierze on udział w procesie apoptozy, czyli naturalnym procesie zaprogramowanej śmierci komórki w organizmie wielokomórkowym [79].

Cytochrom *d*, czasami określanymi jako cytochrom *a*₂, znajduje się w bakteriach. Dla formy zredukowanej ma typowe pasma α pochłaniania ok. 625–630 nm, natomiast dla fazy utlenionej 645–650 nm. Jest końcową oksydazą wiążącą CO w łańcuchu oddechowym u *Escherichia coli*. Syntetyzowany jest w warunkach z ograniczoną dostępnością tlenu [59].

Cytochrom *P-450* (rys. 1.14) jest niezwykle rozpowszechnionym enzymem wykazującym aktywność monooksygenazy. Aktualnie znanych jest ponad 1000 enzymów należących do grupy cytochromów *P-450*. Występuje praktycznie we wszystkich tkankach. Swoją największą aktywność wykazuje w błonach mikrosomów

komórek wątroby, jelicie cienkim a także w mitochondriach komórek: nerek, kory nadnerczy i wątroby, i innych [55, 80].



Rys. 1.14. Modelowa struktura ludzkiej izoformy cytochromu *P-450* CYP3A4 z oznaczoną grupą prostetyczną [81]

Obecność cytochromu *P-450* stwierdzono także w owadach, bakteriach i drożdżach [82]. W mikroorganizmach pełni ważną rolę usuwania pewnych związków organicznych wnikających ze środowiska [59]. Nie stwierdzono występowania tego cytochromu w mięśniach szkieletowych ani w dojrzałych erytrocytach [55]. W mikrosomach wątrobowych enzymy *P-450* stanowią aż 20% ogólnej ilości białka. Znanych jest około 150 różnych genów w genomie człowieka, które kodują różne cytochromy *P-450*. Wszystkie cytochromy *P-450* posiadają wspólną cechę, którą jest maksimum absorpcji światła widzialnego, osiągame przy długości fali wynoszącej około 450 nm. Z tego względu wszystkie tego typu enzymy objęto wspólną nazwą. Grupą prostetyczną w tych enzymach jest hem, który wiąże się wiązaniami koordynacyjnymi utworzonymi między resztami cysteiny a żelazem. Główną ich funkcją jest utlenianie związków toksycznych, metabolitów w celu detoksykacji tkanek.

Cytochromy w badaniach in vitro

Początkowe badania nad hodowlą organów i tkanek roślinnych *in vitro* (tzw. uprawy w szkle) zapoczątkował w 1902 roku Gottlieb Haberlandt. Jego eksperymenty nie odniosły sukcesu, gdyż do hodowli użył różnorodnych komórek, które pochodziły z tkanek roślin jednoliściennych mających słabe możliwości regeneracyjne. 20 lat później udało się pozyskać aseptyczne, prowadzone *in vitro*, kultury korzeni, jednak po

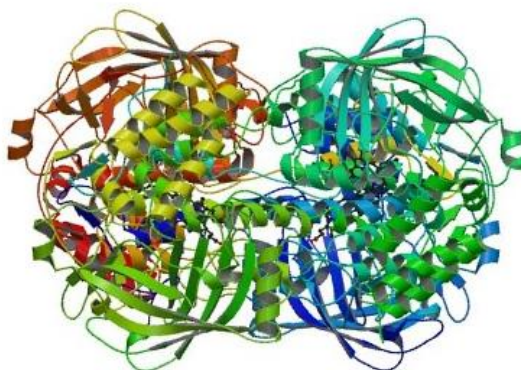
pewnym czasie zamierały z powodu braku niedostatecznej ilości składników pokarmowych w pożywce. W roku 1939 badania nad kulturami kalusa marchwi przyniosły sukces przejawiający się intensywnym wzrostem kultur tej rośliny. Aktualnie biotechnologia roślin badana jest w dwóch zasadniczych obszarach. Pierwszy z nich to hodowla roślin, drugim natomiast jest stosowanie kultur komórek roślinnych do pozyskiwania metabolitów wtórnych. W Polsce metodę badania *in vitro* roślinnych kultur tkankowych rozpoczął prof. Jerzy Czosnowski [83, 84]. Wprowadził on roślinne kultury *in vitro* do badań fizjologicznych odmiennych tkanek roślinnych. Roślinne kultury *in vitro* uzyskuje się na pożywkach, które mają za zadanie dostarczać niezbędne do życia substancje. Jedną z nich jest żelazo, które pełni ważną rolę jako składnik enzymów oksydoredukcyjnych. Obecne w cytochromach, pełni kluczową rolę w transporcie elektronów w procesie fotosyntezy i oddychania. Zanikanie chlorofilu w liściach jest głównym objawem niedoboru żelaza [85].

Występuje kilka systemów *in vitro* wykorzystywanych do badania metabolizmu leków. Do badań stosuje się mikrosomy wyizolowane z ludzkiej wątroby. Cytochrom *P-450* jest istotny dla analizy metabolizmu leków, ze względu na informacje o identyfikacji potencjalnych oddziaływań pomiędzy lekami [86, 87].

Na podstawie badań *in vitro* udowodniono, że cytochrom *c*, prócz swojej funkcji w łańcuchu oddechowym, dodatkowo wykonuje rolę aktywatora kompleksu białkowego. Białka te spełniają kluczową rolę w zachowywaniu równowagi pomiędzy licznymi procesami w komórce. Doświadczenia z udziałem cytochromu *c* wykorzystuje się do walki z chorobą niedokrwienia mózgu. Cytochrom *c* w badaniach *in vitro* znajduje się w czołówce eksperymentów związanych z programowaną śmiercią komórki [88, 89].

1.5.1.3. Katalaza i peroksydaza

Katalaza (rys. 1.15), występująca głównie w komórkach ssaków, jest enzymem z grupy oksydoreduktaz [90]. Znajduje się ona m. in. w: komórkach występujących w wątrobie, nerkach, leukocytach, erytrocytach, szpiku kostnym, błonach śluzowych, a także fibrocytach budujących ścięgna. Wykazano jej niewielką ilość w mitochondriach, a także w retikulum endoplazmatycznym. Występuje również w bakteriach tlenowych oraz peroksysomach komórek roślinnych fotosyntezujących [55].



Rys. 1.15. Cząsteczka katalazy [91]

Prostetyczną grupę katalazy stanowi hemina z położonym centralnie atomem Fe^{3+} . Grupa hemowa lokalizuje się głęboko w każdej podjednostce katalazy. Hem zlokalizowany jest wewnątrz hydrofobowego kanału o długości 30 Å. Kanały te są wąskie, przez co blokują dostęp do hemu cząsteczkom większym niż H_2O_2 .

Katalaza umożliwia ochronę przed toksycznym działaniem nadtlenu wodoru i pochodnych, gdyż przekształca ona H_2O_2 do wody i tlenu, nie wyzwalając przy tym szkodliwych, wolnych rodników. Tlen wytworzony w tej reakcji zagospodarowany jest także w innych przemianach w organizmie. W przypadku chorób, tj.: cukrzyca, miażdżyca, żółtaczkę, zapalenie płuc czy też gruźlica, zachodzi obniżenie aktywności katalazy. Wiąże się to z długotrwałym stresem oksydacyjnym. To zjawisko obserwuje się również w przypadku chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona i Alzheimer. Obniżoną aktywność omawianego enzymu dostrzega się w przypadku wielu typów nowotworów, np.: piersi, płuc, nerek, głowy, przewodu pokarmowego, a także w czasie białaczki. W osoczu krwi aktywność katalazy wzrasta, kiedy dana jednostka chorobowa zaczyna się od pojawienia stanu zapalnego w organizmie. Jest to spowodowane wyciekaniem katalazy z uszkodzonych komórek, w największym stopniu z erytrocytów. W przypadku zapalenia wzrost aktywności katalazy ma charakter obronny organizmu.

Peroksydaza, podobnie jak katalaza, należy do oksyreduktaz, a ściślej ujmując do klasy enzymów nazywanych hydroperoksydazami. Protohem jest grupą prostetyczną, która luźno połączona jest z apoproteina [63]. Obecna jest ona zarówno w tkankach zwierzęcych, roślinnych, jak i bakteriach. Wyraźnie większa ich ilość

występuje w świecie roślin niż zwierząt [55]. W organizmie ludzkim peroksydazy znajdują się w ślinie, soku trzustkowym, wątrobie, nerkach oraz w składnikach krwi takich jak: leukocyty, płytki krwi, erytrocyty [59]. Chronią one organizm przed szkodliwym działaniem nadtlenu. Nadmierna ich ilość przyczynia się bowiem do powstawania wolnych rodników, które mogą uszkadzać błony komórkowe i prowadzić do rozwoju miażdżycy czy też nowotworów [55]. Zasadniczą funkcją peroksydazy jest utlenianie cząsteczek kosztem nadtlenu wodoru [59].

Istotne znaczenie w procesach przetwarzania owoców i warzyw ma kontrola aktywności peroksydazy. Metody tj.: kalorymetryczna, elektrochemiczna oraz chemiluminescencyjna umożliwiają wykrywanie aktywności peroksydazy. Enzymy te katalizują utlenianie różnorodnych substratów nadtlenu wodoru [61]. Grupą prostetyczną w większości peroksydaz jest Fe(III)(PPIX). Jednak nie wszystkie tego typu enzymy mają ustalone dokładnie struktury chemiczne swoich grup prostetycznych. Tyczy się to zwłaszcza peroksydaz zwierzęcych, których grupy hemowe są znacznie silniej związane z częścią białkową aniżeli hemy peroksydaz roślinnych [59]. Ludzka peroksydaza tarczycowa (TPO) nazywana jest także peroksydazą jodkową. Jest to enzym transbłonowy, umieszczony w postaci dimeru na szczytach komórek w pęcherzykach tarczycy. Uczestniczy w syntezie hormonów tarczycy poprzez katalizowanie utleniania jodu [55].

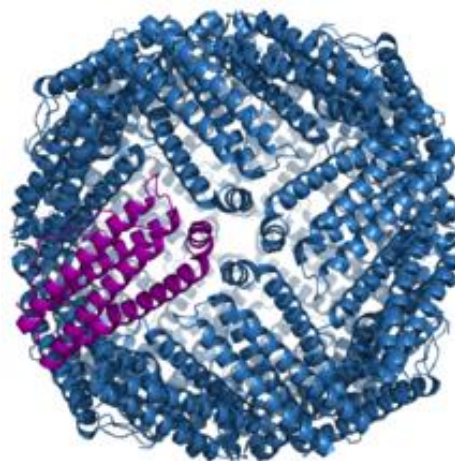
1.5.2. Żelazo w układach biologicznych nie zawierających hemu

Do grupy metaloproteidów wliczane są liczne białka wiążące metale. Zasadniczym elementem ich budowy jest część białkowa i grupa prostetyczna, którą stanowi atom lub atomy metali. Jest ona związana ze ściśle określoną funkcją biologiczną. Białka tego typu pełnią funkcje transportowe dla odpowiednich jonów, tj. transferryna dla żelaza, lub mogą służyć do ich magazynowania, jak w przypadku ferrytyny i hemosyderyny [63].

1.5.2.1. Ferrytyna

Ferrytyna jest zasadniczym białkiem dla aktywności niemalże wszystkich żywych organizmów, co potwierdza częstość występowania tego białka w żywych organizmach, zaczynając od bakterii do komórek eukariotycznych. Posiada strukturę przestrzenną w postaci płaszcza białkowego, określanego często muszlą (jest to rodzaj

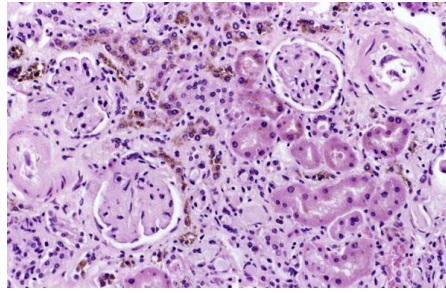
kulistej powłoki), który wypełniony jest atomem żelaza Fe^{3+} (rys. 1.16) [92]. W części białkowej obecnych jest około 3000–4000 atomów Fe w postaci micelarnej. W około 23% cząsteczka ferrytyny wysycona jest żelazem. Rolą ferrytyny jest regulacja i utrzymywanie prawidłowego stężenia żelaza. Magazynuje ona żelazo (jony żelaza Fe^{3+}) w organizmie. Jest rozpuszczalna w środowisku wodnym. Utrzymuje żelazo w dostępnej i nieszkodliwej formie. Poprzez badanie poziomu ferrytyny określa się, czy występuje w organizmie nadmiar lub niedobór żelaza [55]. Ferrytyna zatrzymuje u kobiet 70%, natomiast w organizmie mężczyzn 80% ilości dostarczanego żelaza. Prawidłowy poziom ferrytyny mieści się u kobiet w przedziale: 12–150 ng/ml, a u mężczyzn: 15–200 ng/ml [93].



Rys. 1.16. Struktura ferrytyny [94]

1.5.2.2. Hemosyderyna i transferryna

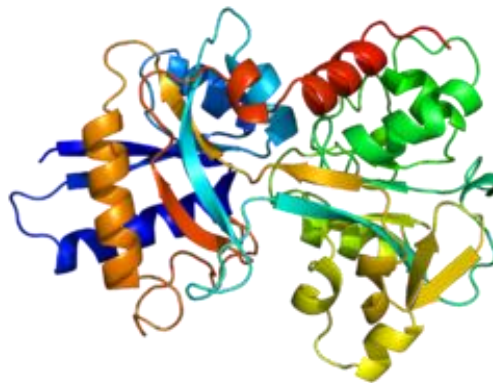
Hemosyderyna (rys. 1.17) stanowi kompleks białkowy, odpowiadający za magazynowanie żelaza w komórkach. Zawarte są w niej mikrokryształy, $\text{Fe}(\text{O})\text{OH}$, które związane są z białkiem, a także fosforany i jony innych metali [95]. Jest główną formą przechowywania nadmiaru żelaza w wątrobie, zawiera go 37% [51]. Hemosyderyna występuje także w śledzionie i szpiku kostnym. Jej poziom w makrofagach i komórkach mięsnych (wątroba, serce) ulega zwielokrotnieniu w przypadku nadmiernej podaży żelaza [95].



Rys. 1.17. Hemosyderyna w preparacie tkankowym z nerki. Obszary wybarwione na brązowo wykazują obecność hemosyderyny [96]

Wykształca się z rozpadłych erytrocytów w wyniku degradacji ferrytyny. Najprawdopodobniej powstaje na skutek uszkodzenia przez wolne rodniki struktury białkowej ferrytyny.

Żelazo transportowe, transferyna (Tf), nazywana także syderofiliną, jest kompleksem białka apotransferyny z żelazem. Cząsteczka transferyny posiada dwa jony Fe^{3+} , które zlokalizowane są w otoczeniu oktaedrycznym i są w stanie wysokospinowym $S=5/2$ [97]. Transferyna (rys. 1.18) znajduje się we krwi, limfie, płynie mózgowo-rdzeniowym, żółci, płynie owodniowym i mleku [98]. Całkowita zdolność surowicy krwi do wiązania żelaza, czyli wysycenia transferyny żelazem wynosi 30% [95]. Jest to połączenie odwracalne. Białko to reguluje całkowite stężenie jonów Fe^{3+} w osoczu krwi.



Rys. 1.18. Struktura białka transferyny [99]

Główną funkcją transferyny jest transport żelaza z dwunastnicy do wszystkich tkanek, a zwłaszcza do szpiku kostnego oraz do komórek ulegających szybkim podziałom. Odpowiada ona za transport żelaza w osoczu krwi do wątroby, śledziony, mięśni i szpiku kostnego. W większości magazynowana jest w wątrobie i siateczce retikuloendoplazmatycznej [51]. Jedna cząsteczka transferyny ma możliwość

jednoczesnego przeniesienia dwóch atomów żelaza w obecności HCO_3^- . Odbywa się to, kiedy transferyna wysyciona żelazem łączy się z receptorem transferyny i na drodze endocytozy kompleks ten pozostaje wchłonięty do wnętrza komórki, dochodzi wówczas do uwolnienia żelaza, następnie kompleks wraca na błonę komórkową i transferyna, niewysyciona żelazem, wraca do krwiobiegu. Na reakcję przyłączania i uwalniania jonów żelaza szczególny wpływ ma pH. W pH fizjologicznym wiązanie jonów jest trwałe. Przy $\text{pH} < 6,5$ następuje odłączenie Fe^{3+} od białka. Na etapy uwalniania żelaza wpływ ma wiele czynników, m. in.: temperatura, obecność chelatorów i innych jonów. Żelazo związane z transferyną przechodzi początkowo przez system wrotny wątroby. Przede wszystkim w wątrobie gromadzone jest żelazo, skąd kierowane jest do pozostałych narządów organizmu [55]. Badanie stężenia transferyny w surowicy krwi jest wyjątkowo pomocne w diagnostyce niedokrwistości z niedoboru żelaza, anemii, nośności żelaza we krwi. Prawidłowy poziom transferyny wynosi 220–400 mg/dl. Transferyna wykazuje stosunkowo silne właściwości magnetyczne. Istnieje przypuszczenie, że wytwarzane pole magnetostaticzne powoduje zwiększenie aktywności biologicznej kompleksów transferyny [97].

1.6. *Fe-porfiryny w technologiach przemysłowych*

Postęp współczesnej cywilizacji, rozwijający się w bardzo szybkim tempie, bazuje w głównej mierze na wprowadzaniu nowych, efektywniejszych, bardziej unikatowych i skomplikowanych technologii. Nowatorskie technologie wymagają postępowych i bardziej użytecznych rozwiązań, do których niewątpliwie zalicza się zastosowanie materiałów organicznych, lekkich wykazujących zdolności przewodzące oraz cechujących się możliwością chemicznej modyfikacji. Do tego celu doskonale nadają się porfiryny stanowiące unikalne połączenie właściwości fotoaktywnych oraz wykazujące zdolność do przenoszenia elektronów. W tym podrozdziale przybliżone zostaną jedynie niektóre zastosowania kompleksów porfiryńowych, ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień mikroelektroniki, optoelektroniki, magnetyzmu molekularnego oraz medycyny. Należy jednak pamiętać, że to tylko część możliwych zastosowań tych interesujących związków.

1.6.1. Optoelektronika

Metaloporfiryny stosowane są niejednokrotnie jako fotokatody w elektrochemicznych fotokomórkach, które z kolei stosowane są w badaniach fotochemicznych procesów utleniania i redukcji dążących do opracowania wydajnych urządzeń przetwarzających energię słoneczną na elektryczną [100]. Ponadto metaloftalocyjaniny (kompleksy z Co, Me, Fe, Mn i Zn) wykorzystywane są przy konstrukcji wyświetlaczy, w wybranych przypadkach zastępując ciekłe kryształy. W zależności od znaku i wartości napięcia polaryzującego, kompleksy ftalocyjaniny mogą wielokrotnie zmieniać barwę [101].

Połączenia porfiryn (np. za pomocą mostków siarkowych) z elektroaktywną powierzchnią umożliwiają otrzymywanie na poziomie molekularnym niezwykle pojemnych nośników informacji w komputerach [102].

Związki Fe-porfiryn stanowią domieszkę do wykonania membran polimerowych stosowanych do konstrukcji światłowodowych czujników tlenu [11].

W ostatnich latach prowadzone są badania poświęcone tematyce zamykania białek w zol-żelowych szklach krzemianowych. Polegają one na wprowadzeniu do wyjściowego zolu substancji organicznej (porfiryny), która nie ulega degradacji podczas procesu żelowania i późniejszego suszenia. Równoległe cząsteczki porfiryny są zamykane w porach powstającego żelu, który jest materiałem przezroczystym, a więc dogodnym do badań optycznych i niemającym pasm absorpcji w zakresie absorpcji porfiryn. Zol-żelowe nośniki zachowują spektroskopowe właściwości białek i aktywność biologiczną enzymów. Oprócz tego, unieruchomienie przez fizyczne zamykanie porfiryn w porach matrycy, stabilizuje i izoluje cząsteczki białka bez chemicznej modyfikacji. Szklą krzemianowe, składające się z białek hemowych, np. cytochromów, hemoglobiny czy mioglobiny, mogą być używane do oznaczania spektrofotometrycznego O₂, CO i NO, zaś kompleks mioglobiny z manganem wykorzystywany jest do detekcji NO [103].

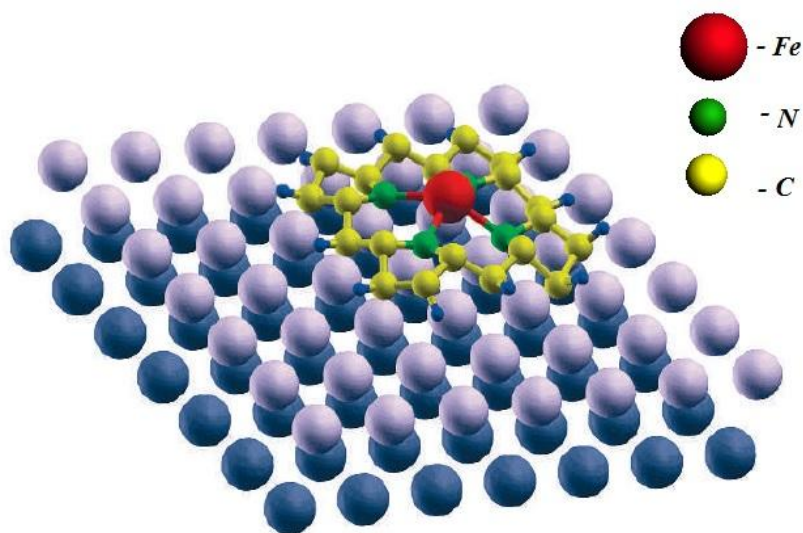
Efektywność metaloporfiryn do wiązania gazów została wykorzystana do konstruowania sensorów optycznych lub elektrod jednoselektywnych składających się z filmu porfiryny na powierzchni metalu lub półprzewodnika [11].

Porfiryny wykorzystywane są również do budowy biosensorów jako związki naśladujące [104].

Idealnymi cząsteczkami do potencjalnych zastosowań w optyce nieliniowej i dyskach optycznych są ftalocyjaniny z uwagi na elastyczność cząsteczki, rozszerzoną strukturę zdelokalizowanych elektronów π , podatność na przechodzenie we wzbudzony stan trypletowy, stosunkowo krótki czas nieliniowej odpowiedzi optycznej oraz łatwą syntezę [105].

1.6.2. *Magnetyzm molekularny*

Możliwości wynikające z namagnesowania metaloporfiryn opisuje D. Gatteschi, [106] sugerując, iż mogą być one wykorzystywane w urządzeniach spintroniki molekularnej. Ponadto H. Wende i jego współpracownicy opublikowali artykuł [107], w którym opisują, iż udało się zorganizować cząsteczki żelaza w oktaetyloporfirynie Fe(OEP) w monowarstwą na cienkich warstwach niklu lub kobaltu (rys. 1.19) i okazało się, iż zachowują się one jako nowy typ magnesu molekularnego [106, 107].



Rys. 1.19. Cząsteczka Fe(OEP) na podłożu z krystalicznego Co lub Ni. W zależności od wybranego podłoża można sterować momentem magnetycznym jonu Fe [106, 107]

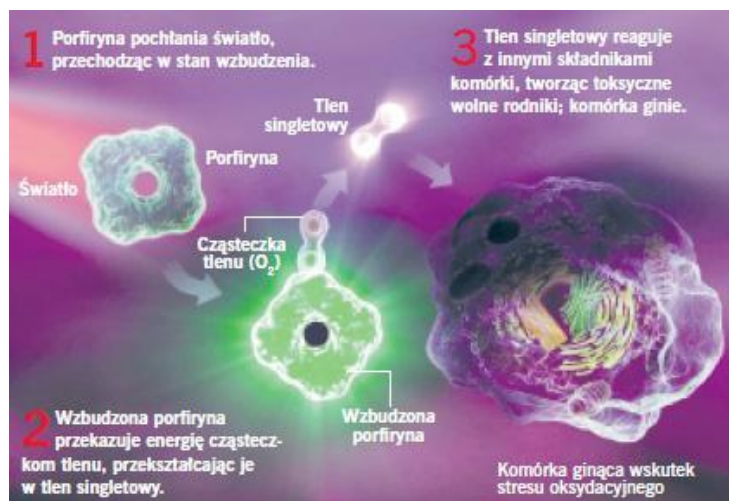
Molekularny magnetyzm jest stosunkowo młodą dyscypliną, która ma na celu zaprojektowanie, zsyntetyzowanie i scharakteryzowanie właściwości magnetycznych na podstawie cząsteczek organicznych zamiast materiałów nieorganicznych, takich jak metale lub związki jonowe [108, 109]. Atrakcyjnymi układami molekularnymi dla spintroniki są te, których transport elektronów w całej konstrukcji jest sterowany przez spin magnetyczny cząsteczki. Badania Wende i współpracowników były jednocześnie skoncentrowane na dwóch celach, tj. zbadaniu uporządkowania magnetycznego

cząsteczek na powierzchni, jak również ich interakcji z ferromagnetycznym podłożem [107]. Do tego celu najbardziej atrakcyjnymi cząsteczkami są metaloporfiryny, gdyż są to molekuly stabilne. Zawierają one zarówno jony magnetyczne, jak i niemagnetyczne, i mogą być dość łatwo zorganizowane na odpowiednich powierzchniach [107, 110].

Spintronika molekularna zmierza w kierunku nowatorskich rozwiązań, proponując szeroki interfejs molekularnych urządzeń do zastosowań w czujnikach, pamięci i informacji kwantowej [111]. Pole zorganizowanych systemów na powierzchniach metalowych szybko się rozwija i jest obiecujące dla systemów magnetycznych.

1.6.3. Medycyna

Unikatowe znaczenie metaloporfiryn dla istnienia organizmów żywych sugeruje poszukiwanie wśród tych związków skutecznych środków terapeutycznych i diagnostycznych w zwalczaniu różnorodnych chorób. Znaczne naruszenie porfirynewej równowagi w organizmie może prowadzić do zaburzeń w procesie oddychania, do porfirii, anemii i wielu innych chorób. Prowadzone dotychczas badania wykazały, że porfiryny wykazują tendencję do akumulowania się w miejscach nadmiernego wzrostu tkanek, prócz tego po napromieniowaniu światłem ultrafioletowym wykazują fluorescencję w obszarze widzialnym [54]. Dotychczasowe prace w większości koncentrują się na badaniu struktury gromadzonych w komórkach rakowych porfiryń i mechanizmach ich transportu w organizmie. Pochodne porfiryń znajdują zastosowanie, m. in. w leczeniu nowotworów, za sprawą zyskującej na znaczeniu w ostatnim czasie terapii fotodynamicznej (PDT, ang. *Photodynamic Therapy*) (rys. 1.20). W tej metodzie do organizmu pacjenta wprowadzana jest dawka odpowiedniej porfiryń, która akumuluje się w komórkach nowotworowych. W następnej kolejności wzbudza się zakumulowane cząsteczki za pomocą promieniowania z zakresu UV-VIS, w następstwie czego znajdujące się w osoczu cząsteczki tlenu przechodzą ze stanu trypletowego w stan singletowy. Ten rodzaj krótko żyjącego tlenu skutecznie niszczy komórki nowotworowe ($O_2 \rightarrow {}^1O_2$), powodując ich uszkodzenie i neutralizację.



Rys. 1.20. Mechanizm terapii fotodynamicznej [112]

Tlen w stanie singletowym jest bardzo silnym utleniaczem. Może rozerwać nawet wiązanie podwójne. Selektywne wiązanie się porfiryn z tkankami nowotworowymi zmniejsza ilość uszkodzonych przez tlen singletowy tkanek zdrowych [101].

Porfiryry stosuje się także w diagnostyce medycznej, m. in. jako kontrast w rezonansie magnetycznym. Radioterapia jest inną metodą leczenia nowotworów. W metodzie tej zaobserwowano, że promieniowanie jonizujące głębiej penetruje tkanki, porfiryry mogą pełnić rolę radiocuczulacza [113].

Zważywszy na znaczną biologiczną aktywność metaloporfiryn należy przypuszczać, iż w niedalekiej przyszłości zostaną szeroko wykorzystane w skutecznym pokonywaniu chorób ciężko leczących się lub nieuleczalnych w obecnej dobie [54].

Rosnące możliwości modyfikacji metaloporfiryn naturalnych oraz nieustannie zwiększająca się liczba metaloporfiryn syntetycznych potęgują zwiększenie udziału tych kompleksów w procesach przemysłowych. Źródłem pozyskiwania metaloporfiryn na skalę przemysłową może być w niedalekiej przyszłości ropa naftowa. W zależności od miejsca wydobycia metaloporfiryry tam występujące to w większości kompleksy wanadowe i nikielowe. Zawartość tych molekuł w ropie naftowej może dochodzić nawet do 1 kg na tonę ropy. Opracowanie efektywnych metod wydzielenia ich z ropy może być pożyteczne zarówno dla procesu rafinacji, jak i przebiegu innych procesów technicznych, w których tanie i łatwo dostępne metaloporfiryry mogłyby odegrać pozytywną rolę i stać się źródłem kompleksów otrzymywanych na skalę przemysłową [101].

1.7. Stan badań sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-porfiryn

Niskospinowe kompleksy Fe^{3+} były obiektem zainteresowania chemików nieorganików i bionieorganików przez bardzo długi czas. Niektóre z tych interesujących kompleksów, w szczególności cytochromy, poddawane były badaniom spektroskopowym i magnetycznym z uwagi na istotną rolę jaką odgrywają w systemach biologicznych, ponieważ odpowiedzialne są m. in. za transport elektronów. Pierwsze badania spektroskopowe wielu żelazo-hemowych białek miały jedynie na celu określenie struktury molekularnej i stanu spinowego żelaza. W chwili obecnej jesteśmy w sytuacji, w której cytochromy *a*, *b*, *c*, *d* i *f* zostały w znacznym stopniu scharakteryzowane nie tylko spektroskopowo, ale i strukturalnie. Jednak odnośnie struktury elektronowej jest spora liczba cytochromów i ich porfirynewych modeli, które są słabo lub wcale niezbadane. Dane spektroskopowe mają ogromne znaczenie, gdyż umożliwiają nam zrozumienie i przeprowadzenie wiarygodnych prognoz dotyczących właściwości tych kompleksów.

Sześciokoordynacyjne kompleksy Fe-porfiryn są bardzo dobrymi modelami do badań biologicznie aktywnych cytochromów, gdyż są prostsze strukturalnie, a jednocześnie odzwierciedlają ich podstawowe właściwości, które w głównej mierze zależą od porfirynewego pierścienia.

1.7.1. Badania spektroskopowe

Wyniki badań spektroskopowych dostarczają informację o strukturze molekularnej i elektronowej badanych obiektów. Jednak, aby otrzymać możliwie pełny obraz korelacji pomiędzy strukturą molekularną i elektronową, konieczne jest użycie szeregu metod spektroskopowych, w połączeniu z obliczeniami kwantowo-mechanicznymi. Fe-porfiryny są dosyć rozbudowanymi strukturalnie obiektami badań, co przejawia się w różnorodności spektroskopowych charakterystyk i złożonej strukturze widm, często trudnych do jednoznacznej interpretacji. Dlatego też w ramach tego rozdziału omówione zostaną wyniki badań uzyskane przy użyciu kilku metod spektroskopowych, takich jak: 1H NMR, EPR, spektroskopia Mössbauera i elektronowa spektroskopia absorpcyjna.

1.7.1.1. NMR

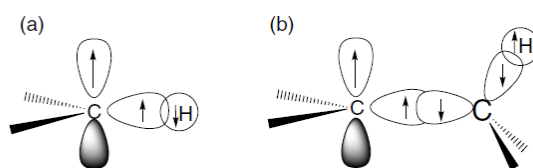
Spektroskopia jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR, ang. *nuclear magnetic resonance*) jest jedną z ważniejszych technik badawczych w fizyce, biofizyce, chemii i biochemii. Od czasu pierwszych doświadczeń metoda NMR rozwijała się niezwykle dynamicznie, co potwierdza druga, przyznana z tej tematyki w 1991 roku, Nagroda Nobla za rozwój NMR wysokiej zdolności rozdzielczej [114]. Fizyczną podstawą spektroskopii NMR jest zjawisko magnetyzmu jądrowego, gdzie zachodzi rezonans pomiędzy stanami własnymi jądrowych spinowych poziomów energetycznych, a zewnętrznym polem magnetycznym, na skutek czego możliwa jest absorpcja energii fali elektromagnetycznej przejawiająca się w widmie jako układ linii spektralnych. W metodzie tej używane jest promieniowanie elektromagnetyczne o częstotliwościach z zakresu radiowego 60–900 MHz. Przy pomocy spektroskopii NMR można wzbudzać przejścia pomiędzy poziomami o niskiej barierze energetycznej, co jest typowe dla stanów kwantowych związanych z magnetycznymi własnościami jąder atomów. W roku 1957 wydana została pierwsza publikacja, w której pokazano protonowe widmo NMR cząsteczki białka (rybonukleaza trzustki bydłowej). Warto podkreślić, że najważniejszą cechą tej metody jest jej nieinwazyjność, co pozwala na wykonanie wielu pomiarów bez jakichkolwiek uszkodzeń w poddanej badaniu niejednokrotnie delikatnej próbce biologicznej. Ma to ogromne znaczenie w tomografii rezonansu magnetycznego, gdzie próbką jest żywy organizm [115].

Uwzględniając tematykę niniejszej pracy i wykorzystywane w niej metody badań oraz różnorodność struktur Fe-porfiryn i stosowanych technik NMR prezentowanych w literaturze [21, 116–128], ograniczymy się tutaj do protonowego rezonansu kompleksów z ligandami osiowymi zawierającymi głównie pierścienie imidazolu i pirydyny. Zanim jednak przejdziemy do omawiania widm ^1H NMR poszczególnych kompleksów Fe-porfiryn, przedstawimy pokrótce teorię izotropowych przesunięć chemicznych w odniesieniu do widm paramagnetycznych kompleksów Fe-porfiryn.

Analiza przesunięć chemicznych w widmach ^1H NMR paramagnetycznych Fe-porfiryn

Metoda NMR (^1H i ^{13}C) jest szczególnie efektywna w badaniach zależności pomiędzy strukturą molekularną i elektronową paramagnetycznych Fe-porfiryn, ponieważ zawierające niesparowane elektrony *d*-orbitale jonu Fe oddziałują

z pewnymi σ - i π -orbitalami molekularnymi porfiryнового ligandu, prowadząc do udziału niesparowanych elektronów w gęstości elektronowej, a w szczególności spinowej, na atomach węgla i azotu kompleksu. Powoduje to istotne przesunięcia sygnałów w widmach NMR w kierunku wysokich lub niskich wartości pola magnetycznego w porównaniu z odpowiednimi kompleksami diamagnetycznymi. W przypadku ^{13}C NMR są to sygnały od atomów węgla, natomiast w przypadku ^1H NMR sygnały od protonów bezpośrednio związanych z atomami węgla lub azotu albo, w mniejszym stopniu, od atomów zlokalizowanych w dalszym sąsiedztwie (rys. 1.21).



Rys. 1.21. Spinowa polaryzacja π -elektronów na atomach węgla: a) bezpośrednio związanych z atomami wodoru, b) za pośrednictwem σ -wiązań [117]

Istnieje więc możliwość określenia wpływu konfiguracji elektronowej centralnie położonego jonu Fe na strukturę elektronową otaczających go ligandów. Położenie sygnałów obserwowanych w widmach ^1H NMR (δ_{obs}) paramagnetycznych Fe-porfiryn zależne jest od kombinacji dwóch wkładów: diamagnetycznego (δ_{dia}) i paramagnetycznego (δ_{para}) [117]:

$$\delta_{\text{obs}} = \delta_{\text{dia}} + \delta_{\text{para}} \quad (1.1).$$

Wkład diamagnetyczny δ_{dia} odpowiada δ_{obs} w przypadku cząsteczek (diamagnetycznych) nie zawierających niesparowanych elektronów i zależy od wypadkowego pola magnetycznego B_{eff} w miejscu położenia jądra atomu (w przypadku ^1H NMR-protonu), od którego dany sygnał pochodzi. Pole B_{eff} określa się poprzez dwie składowe: pole zewnętrzne B_z i pole lokalne B_{lok} . Składowa pola lokalnego B_{lok} jest wypadkową oddziaływań magnetycznych indukowanych polem zewnętrznym B_z i zależy od struktury molekularnej i elektronowej danego kompleksu, która w ogólności charakteryzowana jest poprzez stałą ekranowania σ i może być określona jako:

$$B_{\text{lok}} = -\sigma B_z, \quad (1.2)$$

gdzie znak „-” wynika z reguły Lenza. Efektywne pole B_{eff} może być wyrażone jako [129]:

$$B_{eff} = (1 - \sigma)B_z \quad (1.3)$$

Przesunięcie chemiczne δ_{obs} zależy od różnicy w stałych ekranowania protonów w badanym kompleksie i we wzorcu tetrametylosilanu (TMS), dlatego też oczywistym wydaje się uwzględnienie wpływu struktury molekularnej i elektronowej, a w szczególności rozkładu gęstości elektronowej na atomach cząsteczki na stałą ekranowania, a przez to na rozmieszczenie sygnałów od protonów w widmach NMR.

Stała ekranowania w ogólnym przypadku zależy od dwóch składowych: σ_d – składowa pochodząca od pola magnetycznego generowanego przez elektrony tworzące gęstość elektronową na atomie bezpośrednio związanym z atomem wodoru oraz σ_s – składowa pochodząca od pola magnetycznego generowanego przez bardziej oddalone atomy lub grupy atomów oraz od prądów pierścieniowych. Wartość σ_s może być dodatnia lub ujemna, może więc zwiększać lub zmniejszać ekranowanie protonów w zależności od położenia danego protonu w strukturze porfiryнового pierścienia. Wzorem można to zapisać jako:

$$\sigma = \sigma_d + \sigma_s \quad (1.4).$$

W przypadku kompleksów pierścieniowych, posiadających wiązanie aromatyczne ze zdelokalizowanymi π -elektronami, jak w przypadku Fe-porfiryn, prądy pierścieniowe mają istotny wpływ na przesunięcia chemiczne. Wpływ zdelokalizowanych π -elektronów na przesunięcia chemiczne ^1H NMR może wynikać z dwóch czynników [129]: a) wkładu gęstości π -elektronów w ekranowanie protonów, b) indukowaniu dodatkowego pola magnetycznego od prądów kołowych w zewnętrznym polu magnetycznym. Wpływ gęstości π -elektronów na p_z -orbitalach atomów węgla, bezpośrednio związanych z atomami wodoru na zmianę gęstości elektronowej w miejscu lokalizacji danego protonu, związany jest z oddziaływaniem π -elektronów z elektronami wiązania C-H, przesuując centrum gęstości elektronowej bliżej lub dalej od jądra atomu wodoru, zmieniając przez to jego stałą ekranowania σ . Pole magnetyczne indukowane przez prąd kołowy zmienia pole efektywne B_{eff} na jądrze wodoru, przesuując sygnały od protonów wewnątrz pierścienia w kierunku wyższych wartości pola magnetycznego, a od protonów będących na zewnątrz pierścienia w kierunku niższych wartości pola [130].

Wpływ prądów pierścieniowych na przesunięcia chemiczne protonów $\Delta\delta$, modelowany poprzez dipol magnetyczny μ zlokalizowany w centrum pierścienia i zorientowany prostopadłe do jego płaszczyzny, może być oszacowany na podstawie wzoru [131]:

$$\Delta\sigma = \frac{\mu(1 - 3\cos^2\theta)}{r^3}, \quad (1.5)$$

gdzie θ jest kątem pomiędzy wektorem \vec{r} łączącym proton z dipolem (w przypadku protonu leżącego w płaszczyźnie pierścienia $\theta=90^\circ$), r – długością wektora \vec{r} (odległością pomiędzy protonem i jonem Fe). Niedostatkim modelu jest to, że, jak wynika ze wzoru (1.5), w przypadku protonów zlokalizowanych wewnątrz pierścienia odległość od jego centrum, w którym zlokalizowany jest dipol magnetyczny, jest mała i wartość $\Delta\delta$ staje się bardzo duża, co nie jest zgodne z wartościami doświadczalnymi przesunięć chemicznych. Innym sposobem określania wkładów było uwzględnienie prądów pierścieniowych poprzez obliczenie rozkładu gęstości zdelokalizowanych π -elektronów i traktowanie ich jako prądów płynących w pętli, która indukuje pole magnetyczne. To podejście również dawało zawyżone wartości $\Delta\delta$. Obecnie stosuje się półempiryczny model, będący kombinacją omawianych powyżej wcześniejszych modeli, który daje dobre wyniki w przypadku protonów połączonych z atomami węgla, natomiast gorsze w przypadku protonów połączonych z innymi atomami, np. azotu [131].

Należy dodać, że oprócz omawianych wyżej czynników wpływających na wartość δ_{dia} są jeszcze inne, mniej istotne, np. wiązania wodorowe, wpływ atomów lub grup atomów w dalszej odległości od danego protonu [118], których nie będziemy tu omawiać.

Przejdźmy teraz do wkładu paramagnetycznego δ_{para} w przesunięcia chemiczne ^1H NMR, który jest nazywany również przesunięciem izotropowym lub przesunięciem nadsubtelnym [125].

Wkład paramagnetyczny δ_{para} najlepiej jest określić poprzez porównanie widm ^1H NMR kompleksu paramagnetycznego z kompleksem diamagnetycznym o odpowiedniej strukturze pierścienia. Uwzględnia się przy tym obydwie wkłady w ekranowanie wyrażone wzorem (1.4), a różnica w przesunięciach sygnałów protonów wynika z wpływu niesparowanych elektronów na ich wartości.

Przesunięcie δ_{para} składa się z dwóch czynników: dipolowego δ_{dip} i kontaktowego δ_c .

$$\delta_{para} = \delta_{dip} + \delta_c \quad (1.6)$$

Przesunięcie δ_{para} związane jest z delokalizacją elektronu z d -orbitali jonu Fe na otaczające ligandy lub odwrotnie i wpływa na przesunięcie chemiczne protonu za pośrednictwem wiązań chemicznych lub oddziaływań przestrzennych albo kombinacji tych dwóch czynników, jak w przypadku niskospinowych kompleksów Fe^{3+} [125].

Wkład dipolowy δ_{dip} , nazywany również przesunięciem pseudokontaktowym lub nadsubtelnym, wynika z dipolowego sprzężenia momentu magnetycznego jądrowego oraz elektronowego i związany jest z anizotropią magnetyczną albo z rozszczepieniem poziomów w zerowym polu magnetycznym (dla $S > 1/2$). Dipolowy wkład δ_{dip} w przesunięcie chemiczne protonów, pochodzący od Fe^{3+} , $S=1/2$, może być opisany ogólnym wyrażeniem [125]:

$$\delta_{dip} = \frac{[\chi_{zz} - \frac{1}{2}(\chi_{xx} + \chi_{yy})](3\cos^2\theta - 1)/r^3 + [\chi_{xx} - \chi_{yy}]\sin^2\theta\cos 2\Omega/r^3}{2N}, \quad (1.7)$$

gdzie N jest liczbą Avogadro, χ_{ii} są głównymi składowymi tensora podatności magnetycznej, θ – kątem pomiędzy wektorem \vec{r} protonu-Fe a osią z -prostopadłą do płaszczyzny porfiryнового pierścienia, r – odległością protonu od jonu Fe (długość wektora \vec{r}), Ω – kątem pomiędzy osią x , a rzutem wektora \vec{r} na płaszczyznę xy . Jednak zastosowanie wzoru (1.7) nie wyczerpuje problemu, gdyż odnosi się do przypadku, gdy niesparowany elektron zlokalizowany jest tylko na jonie Fe^{3+} . Możliwy jest również bardziej złożony przypadek, gdy orbitale molekularne porfiryнового ligandu lub ligandów osiowych będą zawierać wkłady od niesparowanego elektronu, czyli pojawi się gęstość spinowa na atomach otaczających ligandów i w takim przypadku trzeba by sumować wkłady od wszystkich atomów, na których gęstość spinowa wynosi $\rho_s \neq 0$. O ile oddziaływanie dipolowe związane jest z rozkładem gęstości poza miejscem położenia „rezonującego” protonu, to oddziaływanie kontaktowe związane jest z gęstością spinową w miejscu lokalizacji protonu.

Wkład kontaktowy może być opisany poprzez stałą nadsubtelnego oddziaływania Fermiego A charakteryzującą sprzężenie pomiędzy spinem jądrowym protonu i elektronu w miejscu jego lokalizacji oraz przez główne składowe tensorów podatności magnetycznej χ_{ii} i rozszczepienia spektroskopowego g_{ii} [125]:

$$\delta_c = \frac{A}{3\gamma_N \hbar} \left(\frac{\chi_{xx}}{g_{xx}} + \frac{\chi_{yy}}{g_{yy}} + \frac{\chi_{zz}}{g_{zz}} \right), \quad (1.8)$$

gdzie γ_N jest jądrowym stosunkiem giromagnetycznym określającym stosunek mechanicznego momentu pędu do momentu magnetycznego protonu. Wkład kontaktowy wynika z dodatkowego pola magnetycznego generowanego przez niesparowany elektron o niezerowej gęstości spinowej w miejscu lokalizacji protonu. Gęstość spinowa w miejscu lokalizacji protonu jest proporcjonalna do współczynnika odnoszącego się do atomowego orbitalu s w orbitalu molekularnym zawierającym wkład od niesparowanego elektronu. Problem rozdzielenia wkładów dipolowego δ_{dip} i kontaktowego δ_c wymaga znajomości właściwości magnetycznych danego kompleksu oraz jego struktury molekularnej i elektronowej.

Analiza widm ^1H NMR sprowadza się często do rozdzielenia wkładów do δ_{para} na kontaktowy δ_c i dipolowy δ_{dip} . Na ich podstawie można sądzić o oddziaływaniu orbitali molekularnych zawierających wkłady od orbitali atomowych (zwykle d -orbitali w przypadku Fe-porfiryn), na którym zlokalizowane są niesparowane elektrony. Rozdzielenie wkładów δ_{dip} i δ_c może być zrealizowane na 3 sposoby: 1) na podstawie temperaturowych zależności przesunięć chemicznych w możliwie szerokim zakresie temperatur, 2) na podstawie anizotropowych parametrów EPR lub pomiarów anizotropii magnetycznej w próbkach krystalicznych przy użyciu SQUID-u albo techniki Mössbauera, 3) stosując struktury pierścienia, w których można założyć, że wkład kontaktowy może być pominięty, a cała wartość δ_{para} będzie pochodzić od δ_{dia} , np. protony na pierścieniach fenyłowych w kompleksie Fe(TPP).

Badania temperaturowe bazują na różnej zależności każdego z wkładów δ_{dia} i δ_c od temperatury. Wzorem można to wyrazić następująco [127]:

$$\frac{\delta_{para}}{T} = \frac{C_c}{T} + \frac{C_{dip}}{T^2} \quad (1.9).$$

Dopasowanie metodą najmniejszych kwadratów do doświadczalnej zależności $\delta_{para} = f(1/T)$ składowych według wzoru (1.9) pozwala na określenie C_c i C_{dip} odpowiadających wkładom: kontaktowemu i dipolowemu. Ponieważ wkład dipolowy zależy od kwadratu temperatury, (dla $S > 1/2$) a więc zależność $\delta_{para} = f(1/T)$ nie powinna być liniowa. Problem jednak polega na tym, że odstępstwo od liniowości tej funkcji może być spowodowane nie tylko oddziaływaniem dipolowym, ale również innymi

czynnikami, np. agregacją kompleksu, której sprzyja obniżenie temperatury lub stanami mieszanymi termicznie albo kwantowo-mechanicznie [127].

Jeśli chodzi o właściwości anizotropowe parametrów EPR to w praktyce ma to zastosowanie do niskospinowych kompleksów Fe^{3+} o symetrii osiowej, gdzie można wyznaczyć wkład dipolowy w oparciu o składowe widma odpowiadające głównym składowym tensora \mathbf{g} (g_{xx} , g_{yy} , g_{zz}) na podstawie wzoru [127]:

$$\delta_{dip} = \left\{ \frac{10^6 \mu_0 (\mu_B)^2 S(S+1)}{72\pi kT} \right\} \times \left\{ [2g_{zz}^2 - (g_{xx}^2 + g_{yy}^2)] \left[\frac{(3\cos^2\theta - 1)}{r^3} \right] + 3(g_{xx}^2 - g_{yy}^2) \frac{(\sin^2\theta \cos 2\Omega)}{r^3} \right\}, \quad (1.10)$$

gdzie przenikalność magnetyczna próżni $\mu_0 = 12,56637 \cdot 10^{-7}$ H/m, magneton Bohra $\mu_B = 927,40094$ J/T, spin $S=1/2$, stała Boltzmanna $k=1,38065 \cdot 10^{-23}$ J/K.

Zastosowanie innych technik wyznaczania anizotropii wymaga kryształów o odpowiedniej wielkości, co nie zawsze jest osiągalne.

Co się tyczy trzeciego sposobu, nie może on być stosowany w wielu strukturach, np. Fe(OEP). Tak więc każdy ze sposobów ma ograniczenia i powinien być stosowany po uwzględnieniu wszystkich uwarunkowań.

Badania 1H NMR sześciokoordynacyjnych modeli kompleksów hemowych

Zanim przejdziemy do omówienia konkretnych widm przedstawimy krótką uwagę dotyczącą stosowanych skal w widmach NMR. Porównanie przesunięć chemicznych w widmach NMR, prezentowanych w literaturze, w szczególności w starszych pracach, utrudnia stosowanie różnych skal. Do historycznych można zaliczyć skalę wyrażoną w Hz. Aby przeliczyć skalę w Hz na skalę w ppm, należy wartość przesunięcia w Hz podzielić przez częstotliwość nośną spektrometru NMR wyrażoną w MHz, np. sygnał o częstotliwości 1000 Hz, zarejestrowany na spektrometrze 100 MHz, odpowiada 10 ppm. Dawniej stosowano również skalę τ , w której położenie wzorca TMS odpowiada wartości 10 ppm, a nie 0 ppm jak w obecnie stosowanej skali δ . Przeliczenie ze skali τ na skalę δ jest więc bardzo proste: $\delta=10-\tau$. Dostyc uciążliwe, przy analizie danych literaturowych, są różnice w znakach przy wartościach przesunięć chemicznych. Obecnie przyjmuje się najczęściej, że sygnałom, leżącym z prawej strony wzorca TMS na skali δ (w wysokich polach magnetycznych), przypisuje się znak „-”, natomiast z lewej strony (w niskich polach magnetycznych) znak „+”. Przyjęta przez nas w danej pracy skala δ odpowiada ujemnym wartościom przesunięć wyrażonych

w ppm w wysokich polach i wartościom dodatnim w niskich polach. Zaczepnięte z literatury wartości przesunięć chemicznych zostały transformowane do przyjętej przez nas jednolitej skali.

Omawiając stan badań sześciokoordynacyjnych Fe-porfiryn metodą NMR, skoncentrujemy się na protonowym rezonansie kompleksów z ligandami osiowymi zawierającymi pierścienie imidazolowe i pirydynowe. Kompleksy te zazwyczaj zawierają jon Fe^{3+} w konfiguracji niskospinowej ($S=1/2$).

Wkład paramagnetyczny δ_{para} można określić poprzez porównanie z kompleksami diamagnetycznymi.

Badania diamagnetycznych Fe-porfiryn, których jedynymi przedstawicielami są kompleksy zawierające jon Fe^{2+} w stanie spinowym $S=0$, są dosyć istotne, ponieważ kompleksy te biorą udział w wielu reakcjach biologicznych związanych z transportem i magazynowaniem tlenu w organizmach żywych. Prowadzenie badań tych kompleksów jest stosunkowo trudne z uwagi na łatwo zachodzące procesy utleniania.

W spektroskopii NMR kompleksy diamagnetyczne są pomocne przy określaniu przesunięć chemicznych w strukturalnie podobnych kompleksach paramagnetycznych. W literaturze dotyczącej diamagnetycznych Fe-porfiryn o koordynacji 4, 5 i 6 dominują kompleksy $Fe(TPP)$ i $Fe(PP)$ [125, 131, 132], w przypadku kompleksów sześciokoordynacyjnych z jednakowymi ligandami osiowymi, typu $(THF)_2$, $(N-MeIm)_2$, $(1,2-MeIm)_2$, $(CO)_2$ lub o różnej strukturze typu $(Py-CO)$, $(NO-Cl)$ [132]. Brak jest wiarygodnych danych dla diamagnetycznych $Fe(OEP)$, stąd też przy określaniu paramagnetycznych przesunięć w widmach 1H NMR $Fe(OEP)$ wykorzystuje się często kompleksy $Ni(OEP)$ lub $Zn(OEP)$ (tabela 1.4).

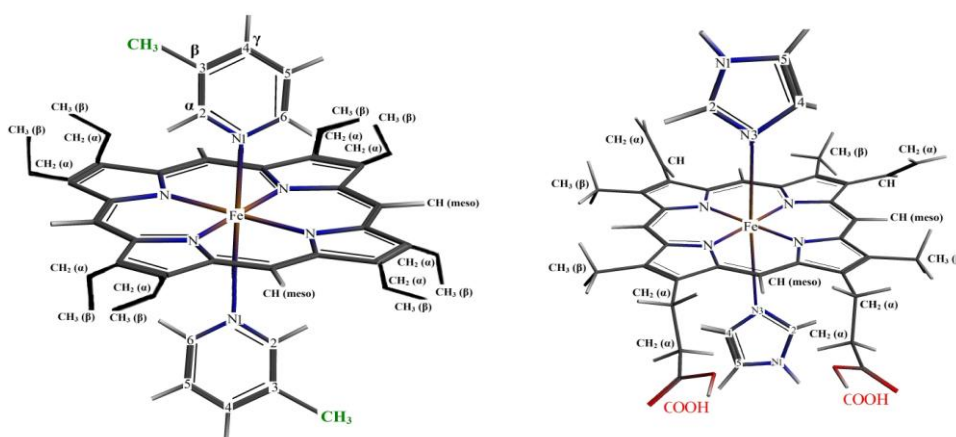
Tabela 1.4. Diamagnetyczne przesunięcia chemiczne 1H NMR w metalicznych kompleksach OEP

Metal i ligand	H- meso	α -CH ₂	β -CH ₃	Lit.
Ni(II)(OEP)	9,77	3,93	1,83	[131]
Zn(II)(OEP)	10,05	4,02	1,84	[131]
Mg(II)(OEP)(chinolina) ₂	10,06	4,08	1,91	[131]
Co(III)(OEP)(CH ₃)	10,08	4,00	1,88	[131]
Si(IV)(OCH ₃) ₂	9,85	4,14	1,99	[131]
[Fe(II)(OEOP)(Py) ₂]-Cl	9,6; 9,1	3,6; 3,5; 3,4; 3,4	1,7; 1,6; 1,6; 1,6	[133]

Z danych zawartych w powyższej tabeli wynika, że różne metale diamagnetyczne, z ligandami osiowymi lub bez nich, w stosunkowo niewielki sposób zmieniają wartości przesunięć chemicznych w pierścieniu OEP.

Należy dodać, że w pracy [134] przedstawiono dane strukturalne ^1H NMR i mössbauerowskie kilku sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe(OEP), w tym z ligandami osiowymi zawierającymi pierścień pirydynowy, przypisując im parametry mössbauerowskie i ^1H NMR odpowiadające diamagnetycznej strukturze Fe(II)(OEP). Pomimo tego, że praca ta była opublikowana w prestiżowym czasopiśmie, nie była cytowana w żadnym z obszernych przeglądów [23, 123, 131, 132], w związku z omawianiem sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-porfiryn. Przypuszczam, że mogły to być kompleksy pięciokoordynacyjne a nie sześciokoordynacyjne. Pomimo tego, że parametry ^1H NMR wskazują na kompleks diamagnetyczny, nie będą one uwzględniane w danej pracy przy obliczaniu przesunięć w kompleksach paramagnetycznych.

Z uwagi na tematykę pracy i obszerność zagadnienia dotyczącego badań ^1H NMR paramagnetycznych Fe-porfiryn niniejszy przegląd ograniczymy do kompleksów Fe^{3+} -porfiryn w trzech stanach spinowych: wysoko-, pośrednio- i niskospinowym, przy czym nieco obszerniej omówimy widma kompleksów niskospinowych. Parametry widm ^1H NMR wybranych kompleksów paramagnetycznych Fe-porfiryn przedstawiono w tabeli 1.5. Oznaczenia atomów w tej tabeli odpowiadają tym na rys. 1.22.



Rys. 1.22. Oznaczenia atomów porfiryнового pierścienia i ligandów osiowych stosowane w analizie widm ^1H NMR w niniejszej pracy

Tabela 1.5. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR kompleksów paramagnetycznych

Kompleksy Stan spinowy	Protony	Przesunięcia chemiczne [ppm]*				Lit.
		δ_{obs} [ppm]	δ_{para} [ppm]	δ_{dip} [ppm]	δ_{con} [ppm]	
[Fe(III)(OEP)(Im) $_2$] $^+$ S=1/2	<i>meso</i> -H	2,8	-7,0	-9,3	2,3	[135]
	α -CH $_2$	5,9	2,0	-3,2	5,2	
	β -CH $_3$	0,2	-1,6	-	-	
[Fe(III)(TPP)(Im) $_2$] $^+$ S=5/2	Im-H $_1$	14,8	\sim +2	11,6	-9,6	[136]
	Im-H $_2$	-6,5	-9,5	18,5	-28,0	
	Im-H $_4$	11,0	9,7	17,9	-8,2	
	Im-H $_5$	9,2	4,0	11,6	-7,6	
Fe(III)(OEP)(Cl) S=5/2	<i>meso</i> -H	-55,5	-65,3	14,7	-80,0	[132]
	α -CH $_2$	43,7; 41,6	39,8; 37,7	9,8; 3,7	30,0; 34,0	
	β -CH $_3$	-	-	-	-	
Fe(III)(OEP)(ClO) $_4$ S=3/2,5/2	<i>meso</i> -H	\sim -6	-	-	-	[137]
	α -CH $_2$	\sim 35	-	-	-	
	β -CH $_3$	\sim 6	-	-	-	
Fe(II)(OEP)(2-MeIm) S=2	<i>meso</i> -H	3,1	-6,7	-	-	[125]
	α -CH $_2$	12,4	8,5	-	-	
	β -CH $_3$	1,4	-0,4	-	-	
[Fe(III)(PPIX)(Py) $_2$] $^+$ S=1/2,5/2	<i>meso</i> -H	-5,0; -7,6	-14,5; -17,1			[138]
	pirol-(CH $_3$) $_4$	26,0; 25,7, 21,5; 20,0	22,5; 22,2, 18,2; 16,5			
	winył-(CH) $_2$	14,4; 13,5	7,9; 7,0			
	winył-(CH $_2$) $_2$	-9,3; -10,6	-15,3; -16,6			
	Py-H	\sim 18,5				

*Przesunięcia δ_{para} obliczono względem diamagnetycznego kompleksu Ni(II)(OEP) (tabela 1.5) *meso*-H=9,8; α -CH $_2$ =3,9; β -CH $_3$ =1,8

*imidazol przyłączony do diamagnetycznego kompleksu: Fe $^{2+}$: H $_2$ \rightarrow 0,70, H $_4$ \rightarrow 0,34, H $_5$ \rightarrow 4,9 [125]

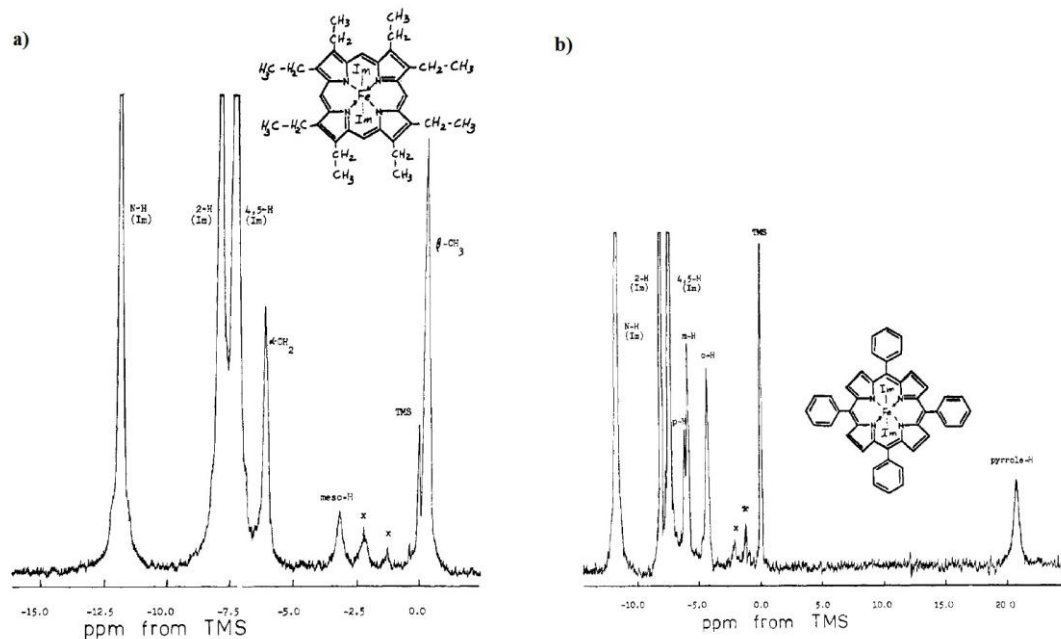
Wysokospinowe kompleksy sześciokoordynacyjne

Cechą charakterystyczną sześciokoordynacyjnych niskospinowych kompleksów Fe(OEP) mogą być przesunięcia chemiczne *meso*-H w połączeniu z przesunięciami α -CH $_2$. Wartości obydwu przesunięć ^1H NMR mieszczą się w zakresie typowym dla kompleksów diamagnetycznych, przy czym sygnały od *meso*-H są nieco przesunięte w stronę wysokich pól magnetycznych, natomiast sygnały od α -CH $_2$ w stronę niskich pól, w stosunku do swoich odpowiedników w kompleksach diamagnetycznych.

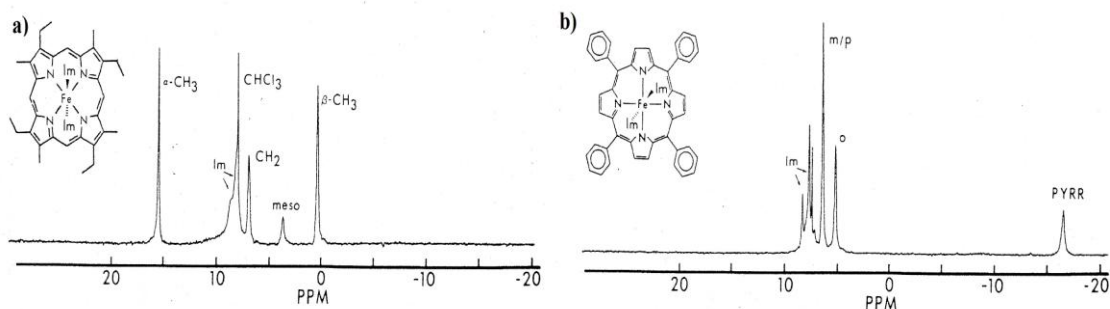
Cechą charakterystyczną pięciokoordynacyjnych kompleksów wysokospinowych są sygnały od *meso*-H i α -CH $_2$ znacznie poza zakresem dla odpowiedników diamagnetycznych, przy czym *meso*-H są przesunięte na około 60 ppm

w stronę wysokich pól, natomiast α -CH₂ są przesunięte na około 40 ppm w stronę niskich pól.

W przypadku kompleksów w stanach kwantowo-mechanicznie mieszanych $S=3/2, 5/2$ lub $S=1/2, 5/2$ sygnały od *meso*-H są przesunięte w kierunku wysokich pól o około 15–20 ppm, a więc znacznie mniej w przypadku kompleksów wysokospinowych. Co się tyczy sygnałów ¹H NMR od ligandów imidazolu to nie ma jednoznacznej interpretacji odnośnie sygnału od protonu połączonego z atomami azotu. W niektórych pracach, np. [136] przypisuje mu się wartość przesunięcia około 15 ppm, w innych pracach, np [127] nie obserwuje się tego sygnału w widmach, np. na rys. 1.23b i rys. 1.24b przedstawione są widma ¹H NMR tego samego kompleksu [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ w tym samym rozpuszczalniku, przy czym na jednym widmie (rys. 1.23b) widoczny jest intensywny pik (około 14 ppm), przypisany protonowi N-H, a na drugim widmie nie występuje żaden pik poza zakresem 10 ppm (rys. 1.24b).



Rys. 1.23. Widma ¹H NMR: a) [Fe(III)(OEP)(Im)₂]⁺, b) [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ [135]



Rys. 1.24. Widma ¹H NMR: a) [Fe(III)(ETIOP)(Im)₂]⁺, b) [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ [127]

Podobnie ma się sytuacja z widmem $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ (rys. 1.23a) i $[\text{Fe(III)(ETIOP)(Im)}_2]^+$ (rys. 1.24a). W widmie $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ pik w położeniu około 12 ppm przypisany jest do atomu wodoru połączonego z azotem w ligandach imidazolu (rys. 1.23a), ale pik ten nie występuje w widmie $[\text{Fe(III)(ETIOP)(Im)}_2]^+$, natomiast pik o podobnej intensywności w położeniu 15 ppm przypisany jest do metylowych grup CH_3 przyłączonych do pirolowych pierścieni porfiryнового makrocyklu (rys. 1.24a). Podobnie niejednoznacznie określony jest sygnał od protonów w pozycji 2 imidazolowego pierścienia. W pracy [139] autorzy twierdzą, że pik od tego protonu nie powinien być widoczny w widmie $^1\text{H NMR}$ ze względu na poszerzenie linii, tymczasem w widmach przedstawionych na rys.1.23 sygnał o dużej intensywności przypisany jest do tych właśnie protonów ligandów osiowych.

Fe³⁺-porfiryny sześciokoordynacyjne

Przy porównywaniu widm $^1\text{HNMR}$ wysokospinowych Fe^{3+} -porfiry (S=5/2) pięcio- i sześciokoordynacyjnych zauważalna jest bardzo duża różnica w położeniu sygnałów od protonów w położeniach mostkowych porfiryнового pierścienia (*meso*-H) [140]. Wyjaśniane jest to położeniem jonu Fe^{3+} względem płaszczyzny porfiryнового pierścienia. W przypadku kompleksów pięciokoordynacyjnych jon Fe^{3+} jest wysunięty z płaszczyzny na około 0,5 Å i to sprzyja większemu przekrywaniu się orbitalu d_{z^2} , zawierającego niesparowany elektron, z $3a_{2u}$ molekularnym orbitalem porfiryнового ligandu i przepływowi ładunku $\text{P} \rightarrow \text{Fe}$ powodującego zmiany w rozkładzie gęstości elektronowych porfiryнового pierścienia. Spośród orbitali molekularnych, które mają największy wpływ na właściwości fizyko-chemiczne kompleksów oraz na charakterystyki spektroskopowe, są tzw. orbitale graniczne – rozmieszczone w skali energii w pobliżu granicy rozdzielającej orbitale obsadzone elektronami (HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbitals*) od orbitali nieobsadzonych (LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbitals*). W przypadku widma NMR istotny jest rozkład gęstości elektronowej i spinowej, charakterystyczny dla każdego z tych orbitali, w szczególności w aspekcie wpływu transportu ładunku $\text{Fe} \leftrightarrow \text{P}$ na przesunięcia chemiczne.

W przypadku wysokospinowych kompleksów sześciokoordynacyjnych jon Fe^{3+} jest zlokalizowany w płaszczyźnie porfiryнового pierścienia i efekt związany

z przepływem ładunku $P \rightarrow Fe$ jest mniejszy, co odbija się szczególnie na protonach w położeniach mostkowych [140].

Pośredniospinowe kompleksy Fe^{3+} -porfiryn, tzn. takie których spin jonu Fe^{3+} nie jest równy ani $5/2$, ani $1/2$, należałoby przypisać do spinu $3/2$, jednak w rzeczywistości najczęściej występuje stan kwantowo-mechanicznie mieszany, $S=3/2, 5/2$, ze zróżnicowanym stopniem poszczególnych wkładów [137, 141–146]. Główną cechą charakteryzującą widma 1H NMR tych kompleksów zarówno pięcio-, jak i sześciokoordynacyjnych jest to, że zależność przesunięć chemicznych od temperatury nie spełnia prawa Curie, tzn. zmiana przesunięcia $\Delta\delta$ od odwrotności temperatury ($\Delta\delta = f(1/T)$) znacznie odbiega od linii prostej.

Sześciokoordynacyjne kompleksy Fe^{3+} -porfiryn z ligandami osiowymi imidazolu są uważane za typowe przykłady paramagnetycznych kompleksów niskospinowych o konfiguracji elektronowej $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^3$ [125] z delokalizacją gęstości spinowej poprzez transport ładunku typu $P \rightarrow Fe$ z zapełnionego $3e$ π -orbitalu porfirynowego pierścienia na d_{xz}, d_{yz} orbitale jonu Fe^{3+} , co prowadziło do zmian w paramagnetycznych przesunięciach sygnałów od protonów porfirynowego ligandu. Badania elektronowej struktury tych kompleksów prowadzone są w trzech kierunkach: 1) wpływu podstawników w porfirynowym makrocyklu na delokalizację gęstości spinowej, 2) wpływu podstawników w pierścieniach imidazolowych na rozkład gęstości elektronowej w porfirynowym makrocyklu, 3) wpływu przestrzennych orientacji pierścieni imidazolowych na charakterystyki spektroskopowe w tych 1H NMR.

W przypadku podstawników w porfirynowym makrocyklu wykorzystuje się modyfikację struktury pierścieni fenylowych w kompleksach $[Fe(III)(TPP)(Im)_2]^+$ obniżając ich symetrię [147, 148] albo strukturę podstawników peryferyjnych połączonych z pierścieniami pirolowymi [125]. Jeden z wniosków, wynikający z tych badań, może być taki, że zmiany przesunięć chemicznych w widmach 1H NMR tego typu kompleksów są spowodowane głównie zmianami gęstości elektronowej w samym makropierścieniu, a w mniejszym stopniu delokalizacją niesparowanego elektronu wynikającą z transportu ładunku $P \rightarrow Fe$, gdzie P jest porfirynowym pierścieniem.

W układach biologicznych ligandy osiowe, będące częścią łańcucha aminokwasów tworzących białka skoordynowane z jonem żelaza położonego w centrum hemowego makropierścienia, zazwyczaj posiadają określoną orientację względem otoczenia, jednak w prostych układach modelowych mogą mieć większą

swobodę ruchu, w szczególności mogą obracać się wokół osi łączącej je z żelazem. Stąd też prowadzone są badania obrotu ligandów osiowych wokół wiązania Fe-ligand osiowy pod kątem ich wpływu na parametry widm spektroskopowych [149, 150]. W przypadku pierścieni imidazolowego i pirydynowego wykorzystywane są ich pochodne, do których przyłączane są rozbudowane strukturalnie grupy ograniczające obrót tych pierścieni, co powoduje ich ustabilizowaną orientację względem porfiryнового makropierścienia. Tego typu ligandy osiowe prowadzą do obniżenia symetrii i rozszczepienia pewnych pasm w widmach $^1\text{H NMR}$.

Podstawniki w imidazolowych pierścieniach przesuwają sygnały $^1\text{H NMR}$ w stronę niższych pól magnetycznych, a zmiany te są spowodowane głównie przemieszczeniem elektronów $L \rightarrow \text{Fe}$, gdzie L jest ligandem imidazolowym, za pośrednictwem π -orbitali ligandów żelaza [151].

Co się tyczy wpływu przestrzennej orientacji imidazolowych ligandów osiowych na strukturę elektronową makropierścienia, na podstawie analizy widm $^1\text{H NMR}$ stwierdzono, że porfiryновый pierścień nie jest czuły na symetrię ligandów osiowych, chyba że podstawniki na pierścieniach ligandów osiowych powodują odchyłkę wiązania Fe-L od linii prostopadłej do płaszczyzny porfiryнового pierścienia [152].

W przypadku sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe^{3+} -porfiryन, zawierających pirydynowy pierścień w strukturze ligandów osiowych, problem z interpretacją widm spektroskopowych, w tym również $^1\text{H NMR}$, jest bardziej złożony w porównaniu z kompleksami zawierającymi ligandy imidazolowe. W pierwszej pracy dotyczącej $^1\text{H NMR}$ Fe^{3+} -protoporfiryны IX z dwoma ligandami pirydyny [138] zasugerowano delokalizację gęstości elektronowej z π -orbitalu porfiryнового ligandu ($3e$) na π -orbitale (d_{xz} , d_{yz}) jonu Fe^{3+} $\text{P} \rightarrow \text{Fe}$ jako główny czynnik wpływający na wartość przesunięć paramagnetycznych δ_{para} , w porównaniu do odpowiednich przesunięć w widmach kompleksów diamagnetycznych. Temperaturowe zmiany przesunięć chemicznych, obserwowane w pracy [138], nasunęły autorom sugestię, że stanem podstawowym jest stan dubletowy ($S=1/2$), jednak bardzo blisko w skali energii znajduje się stan kwartetowy ($S=3/2$) i w temperaturze pokojowej może występować równowaga tych stanów ($S=1/2 \leftrightarrow 3/2$). Podobne badania prowadzone dla kompleksów $[\text{Fe(III)(OEP)(R-Py)}_2]^+$ [153], gdzie R oznacza podstawniki w pirydynowych pierścieniach, sugerowały mieszaninę stanów: dubletowego ($S=1/2$) jako

podstawowego oraz dwóch nisko położonych stanów wzbudzonych $S=3/2$ i $S=5/2$. Ponadto w pracy [153] zwrócono uwagę, że stan podstawowy kompleksu $[\text{Fe}(\text{OEP})(3\text{-ClPy})_2]^+$ może zmieniać się w zależności od wzajemnej orientacji pierścieni ligandów osiowych. Jednak w nieco późniejszych pracach [154, 155] zaproponowano inną równowagę stanów w tego typu kompleksach: $S=1/2 \leftrightarrow 5/2$. Badania ^1H NMR i EPR kompleksów $[\text{Fe}(\text{III})(\text{TPP})(\text{Py})_2]^+$ [125, 156] wykazały, że niskospinowy stan Fe^{3+} w tym kompleksie może istnieć w dwóch konfiguracjach elektronowych: $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^3$ i $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$. W zależności od wzajemnej orientacji pierścieni pirydynowych wkład tych konfiguracji do stanu podstawowego może się płynnie zmieniać wraz z temperaturą i zmianą podstawników w pierścieniach pirydynowych [125].

Interpretacja widm spektroskopowych tego typu kompleksów, w szczególności NMR i EPR, powinna uwzględniać zakresy zmian temperatury w obydwu metodach. Zakres zmian temperatury w badaniach ^1H NMR w roztworach jest zazwyczaj znacznie mniejszy niż w przypadku EPR i należy ten fakt uwzględnić przy analizie korelacji wartości parametrów widm obydwu metod, gdyż może to prowadzić do niewłaściwej interpretacji wyników, np. w pracy [157] na podstawie badań EPR widma kompleksu $\text{Fe}(\text{TPP})(\text{OCH}_3)$ w temperaturze 4,2 K odpowiadały konfiguracji $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^3$, a widma NMR w temperaturze pokojowej konfiguracji $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$.

Inną możliwością, oprócz dwóch konfiguracji stanu niskospinowego, może być rozpatrywany nisko położony wzbudzony stan kwartetowy o konfiguracji elektronowej $(d_{xz}, d_{yz})^3 (d_{xy})^1 (d_{z^2})^1$ [125]. Ostatnio publikowane prace większą uwagę zwracają na udział deformacji porfiryнового makrocyklu w wyjaśnianiu nietypowych charakterystyk spektroskopowych kompleksów Fe-porfiryn z ligandami osiowymi zawierającymi pierścienie pirydynowe [117, 132].

Tak więc badania NMR wnoszą niewątpliwie wkład w poznanie struktury elektronowej i jej korelacji ze strukturą molekularną Fe-porfiryn, jednak przy tak subtelnym zależnościach i różnorodności możliwych konfiguracji, wyniki badań tylko z metody NMR nie są wystarczające. Konieczna jest korelacja z danymi uzyskanymi z innych metod, w tym w szczególności EPR.

1.7.1.2. EPR

Spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR – *Elektron Paramagnetic Resonance* lub ESR – *Elektron Spin Resonance* – Elektronowy Rezonans Spinowy) jest jedną z metod spektroskopowych wykorzystywanych w wielu dziedzinach, takich jak: chemia, biologia, fizyka, medycyna i nauki techniczne. Teoretyczne zjawisko EPR przewidziano już w latach dwudziestych XX wieku, natomiast na doświadczalne potwierdzenie teorii trzeba było poczekać jeszcze dwie dekady. W roku 1944 nastąpiło odkrycie zjawiska EPR przez rosyjskiego fizyka z Uniwersytetu Kazańskiego prof. Jewgienina Zawojkiego, który zaobserwował zjawisko absorpcji rezonansowej na solach metali przejściowych [158]. Niedługo po odkryciu EPR stał się jedną z podstawowych metod wykorzystywanych do badań elektronowej struktury molekuł i ciał stałych. Obserwowany jest on w substancjach zawierających jony paramagnetyczne metali, czy też w cząsteczkach posiadających niesparowane elektrony, np. w przypadku wolnych rodników. EPR wiąże się z absorpcją energii pola wysokiej częstości, gdzie absorpcja towarzyszy zwykle zmianie orientacji spinu elektronowego w zewnętrznym polu magnetycznym, a także zachodzi w substancjach paramagnetycznych, gdzie momenty magnetyczne elektronów oddziałują z zewnętrznym polem magnetycznym.

Spin S elektronu oraz związany z nim moment magnetyczny μ_s są przeciwnie skierowane:

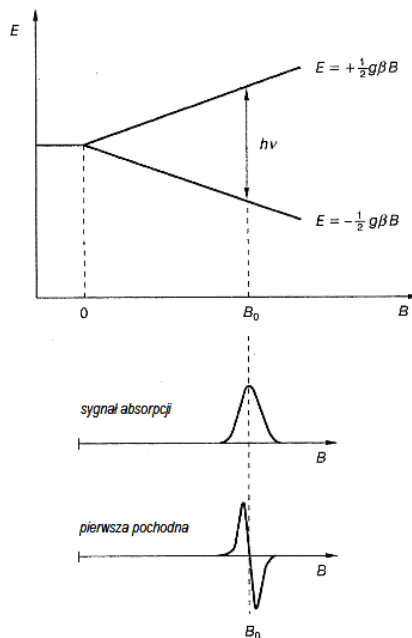
$$\mu_s = -g\beta S \quad (1.11)$$

w którym β jest magnetonem Bohra ($\beta=9,27401 \cdot 10^{-24} \text{J} \cdot \text{T}^{-1}$), g – oznacza współczynnik spektroskopowego rozszczepienia ($g=2,00232$ dla elektronu swobodnego). Odchyłka od czystospinowej wartości g dla swobodnego elektronu informuje, jaki jest udział orbitalnego momentu magnetycznego w całkowitym momencie danego centrum paramagnetycznego. Dipol magnetyczny w zewnętrznym polu magnetycznym może przyjmować ściśle określone orientacje charakteryzowane magnetyczną spinową liczbą kwantową m_s . Poszczególnym orientacjom w polu magnetycznym o indukcji B przypisane mogą być różne wartości energii [115]:

$$E = m_s g \beta B \quad (1.12)$$

Magnetyczna liczba kwantowa m_s wyraża wartości rzutu wektora μ_s na kierunek pola B i opisuje energię stanu spinowego. Spinowi $S=1/2$ będą odpowiadały w zewnętrznym

polu magnetycznym dwie wartości energii: $E = \pm \frac{1}{2} g\beta B$. Różnica energii obu spinowych poziomów $\Delta E = E_{+1/2} - E_{-1/2}$ wzrasta liniowo z polem magnetycznym B, co widać na rys. 1.25:



Rys. 1.25. Rozszczepienie zeemanowskie dla pojedynczego elektronu [115]

Kiedy paramagnetyk poddany jest działaniu promieniowania elektromagnetycznego o energii kwantu $E=h\nu$, wówczas wystąpi zmiana orientacji spinu w polu magnetycznym B, gdy energia kwantu odpowiada różnicy energii między rozszczepionymi poziomami zeemanowskimi:

$$h\nu = g\beta B, \quad (1.13)$$

gdzie h oznacza stałą Plancka ($h=6,626 \cdot 10^{-34}$ J s). Oznacza to, że nastąpiło dopasowanie energii promieniowania kwantu $h\nu$ do różnicy energii pomiędzy sąsiednimi poziomami, a tym samym został zrealizowany warunek rezonansu.

Zjawisko przechodzenia układu ze stanu wzbudzonego do stanu podstawowego określa się jako proces relaksacji. Wymagany czas do przekazania energii między układem spinów i siecią krystaliczną nosi nazwę czasu relaksacji podłużnej czy też czasu relaksacji spin-sieć i oznaczany jest symbolem T_1 . Czas ten jest zależny od temperatury. Relaksacja spinowo-spinowa, nazywana też relaksacją poprzeczną, polega na wymianie energii między spinami, a czas relaksacji spin-spin oznaczany jest zwykle symbolem T_2 .

Spektroskopia EPR niskospinowych kompleksów żelazoporfiryn

Spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego stanowi doskonałe narzędzie do badań nad kompleksami paramagnetycznymi, do których należą kompleksy metaloporfiryn, w tym również żelazoporfiryn [159]. Spektroskopia EPR jest stosowana także do charakteryzowania niskospinowych hemowych kompleksów żelaza. Badania te umożliwiają identyfikację produktów w białkach hemowych dzięki porównaniu modeli kompleksów o prostszej strukturze i znanych parametrach spektroskopowych. Pomimo tego, widma EPR, opisane dla szeregu białek hemowych, takich jak cytochromy *b* w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, są niejednokrotnie trudne do interpretacji. Koordynacja mitochondrialnego cytochromu *b* obejmuje dwa ligandy osiowe w postaci histydyny. Widma cytochromów *b* wykazują bardzo dużą anizotropię wartości współczynnika *g*. Blumberg i Peisach [160] byli pionierami metody wykreślenia spektroskopowych parametrów EPR niskospinowych hemoprotein żelaza [161].

W przypadku niskospinowych kompleksów porfiryńowych Fe³⁺ wyróżnia się w literaturze trzy typy widm EPR. Parametry widm EPR kompleksów sześciokoordynacyjnych z podziałem na 3 typy przedstawione zostały w tabeli 1.6.

Tabela 1.6. Parametry EPR przykładowych niskospinowych kompleksów typu I, II i III, Fe³⁺-porfiryń i białek żelazohemowych

Kompleks	<i>g_x</i>	<i>g_y</i>	<i>g_z</i>	V/ λ	Δ/λ	V/ Δ	Lit.
Typu I							
[Fe(TPP)(2-MeImH) ₂] ⁺	0,82	1,87	3,41	0,88	2,96	0,30	[162]
[Fe(TMP)(4-NMe ₂ Py) ₂] ⁺	0,36	1,91	3,38	0,70	1,90	0,37	[163]
[Fe(PPIX)(Py) ₂] ⁺	0,6	1,39	3,64	0,58	4,44	0,13	[29]
[Fe(OETPP)(2-MeImH) ₂] ⁺	-	-	3,27	-	-	-	[164]
[Fe(OETPP)(NMeIm) ₂] ⁺	-	-	3,18	-	-	-	[164]
[Fe(OEP)(PMe ₃) ₂] ⁺	-	-	3,54	-	-	-	[132]
Cytochrom <i>b</i> ₆	1,1	1,35	3,6	0,76	14,24	0,05	[165]
Cytochrom <i>f</i>	0,9	1,69	3,51	0,82	4,21	0,20	[165]
Cytochrom <i>b</i> ₅₆₂	-	-	3,44	-	-	-	[28]
perp-[Fe(OMTPP)(1-MeIm) ₂] ⁺	0,63	1,53	3,61	0,67	3,93	0,17	[166]
perp-[Fe(OETPP)(1-MeIm) ₂] ⁺	1,14	2,00	3,27	1,16	3,44	0,34	[166]

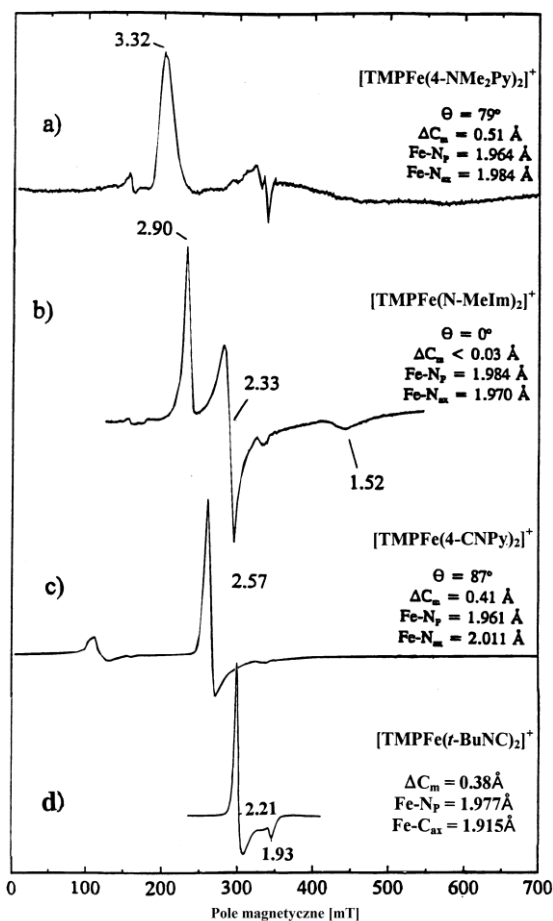
Kompleks <i>Typu II</i>	g_x	g_y	g_z	V/λ	Δ/λ	V/Δ	Lit.
Mitochondrialny Cytochrom <i>c</i>	1,25	2,25	3,06	1,48	2,56	0,58	[167]
Cytochrom <i>c</i> ₂	1,23	2,11	3,13	1,35	3,12	0,43	[168]
Cytochrom <i>c</i> ₅₅₁	1,25	2,05	3,2	1,29	3,59	0,36	[169]
Cytochrom <i>cd</i> ₁	1,71	2,43	2,50	3,38	2,08	1,63	[30]
Cytochrom <i>b</i> ₅ , mikrosomy wątroby	-	1,43	2,23	3,03	1,68	3,23	[170]
Cytochrom <i>b</i> ₅ , muchy	-	1,35	2,22	3,07	1,55	3,08	[171]
Mitochondrialny Cytochrom <i>a</i>	-	1,24	2,24	3,03	1,49	2,52	[172]
Mioglobina-ImH	-	1,53	2,26	2,91	1,93	3,31	[173]
[Fe(OEP)(4-NMe ₂ Py) ₂] ⁺	1,63	2,28	2,83	2,21	3,56	0,62	[163]
[Fe(OEP)(N-MeIm) ₂] ⁺	1,63	2,28	2,82	2,24	3,54	0,63	[174]
[Fe(TPP)(4-MeIm) ₂] ⁺	1,82	2,24	2,60	3,25	4,94	0,66	[175]
[Fe(OETPP)(N-MeIm) ₂] ⁺	-	1,64	2,37	2,73	2,50	2,81	[116]
P-450 _{cam}	1,91	2,26	2,45	4,59	5,11	0,90	[116]

Kompleks <i>Typu III</i>	g_x	g_y	g_z	V/λ	Δ/λ	V/Δ	Lit.
Hem <i>d</i> ₁ w cytochromie <i>cd</i> ₁ , <i>T. denitrificans</i>	-2,50	2,43	-1,70	-0,39	-3,57	0,11	[30]
Hem <i>d</i> ₁ w cytochromie <i>cd</i> ₁ , <i>T. pantotropha</i>	-2,52	2,19	-1,84	-3,98	-5,60	0,71	[31]
Hem <i>d</i> ₁ w cytochromie <i>cd</i> ₁ , <i>P. stutzeri</i>	-2,42	2,56	-1,58	-2,08	-3,08	0,58	[31]
Hem <i>d</i> ₁ w cytochromie <i>cd</i> ₁ , <i>P. aeruginosa</i>	-2,43	2,51	-1,71	-1,62	-3,61	0,45	[31]
[Fe(TPC)(ImH) ₂]	-2,49	2,37	-1,71	-0,73	-3,75	0,19	[116]

Kompleksy, które wykazują konfigurację elektronową $(d_{xy})^2(d_{xz}, d_{yz})^3$ z płaszczyznami pierścieni ligandów osiowych, ułożonych w orientacji względem siebie zbliżonej do prostopadłej (Typ I, (rys. 1.26a)), wykazują rombowy typ widma bądź też widmo określone jako „silne anizotropowe g_{\max} ”, czy ‘HALS’ (*highly anisotropic low-spin*), gdzie $g_{\max} \geq 3,0$, obserwowane zwykle w bardzo niskiej temperaturze: 4–20 K. Należy dodać, że stosunkowo często, w porównaniu z innymi typami widm, w widmie doświadczalnym można zaobserwować tylko składową niskopolową, odpowiadającą

g_{zz} . Parametry widm zależą od wzajemnej orientacji płaszczyzn ligandów osiowych. Na podstawie danych zawartych w pracach [162, 176, 177] można wywnioskować, że wartości g_{\max} mogą być wskaźnikiem stopnia zwyrodnienia orbitali d_{xz} oraz d_{yz} .

Kompleksy, w których płaszczyzny ligandów osiowych zorientowane są względem siebie równoległe lub prawie równoległe, wykazują widma, które mogą być obserwowane w nieco wyższej temperaturze 77 K (rys. 1.26b) o rozszczepionych składowych odpowiadających składowym g -tensora, g_z , g_y , g_x . Widma tych kompleksów zaliczane są do typu II. W przypadku stanu podstawowego $(d_{xy})^1(d_{xz}, d_{yz})^4$ widma EPR wykazują zwykle typ osiowy, gdzie pojedyncze sygnały odpowiadają wartościom g z przedziału: 3,41–3,78. Są to widma typu III (rys. 1.26c i 1.26d).



Rys. 1.26. Widma EPR charakterystyczne dla niskospinowych kompleksów hemowych [178, 179]
 a) typ I, przykład kompleksu $[\text{Fe}(\text{TMP})(4\text{-NMe}_2\text{Py})_2]^+$, b) typ II, dla kompleksu $[\text{Fe}(\text{TMP})(\text{N-MeIm})_2]^+$,
 c) typ III, z dużą różnicą pomiędzy g_\perp i g_\parallel , tak jak w przypadku kompleksu $[\text{Fe}(\text{TMP})(4\text{-CNPy})_2]^+$,
 d) osiowy typ III, z małą różnicą pomiędzy g_\perp i g_\parallel , w przypadku kompleksu $[\text{Fe}(\text{TPP})(\textit{t}\text{-BuNC})_2]^+$

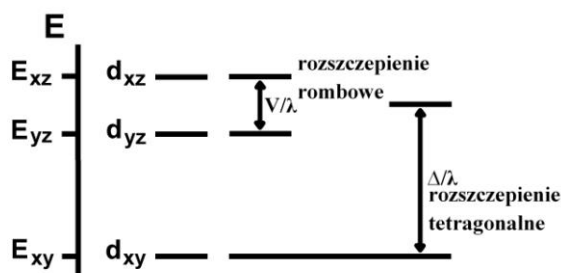
Na podstawie parametrów EPR można oszacować względną energię orbitali d jonów żelaza, które stanowią centrum aktywności biologicznej hemoprotein [116, 117, 180, 181].

W teorii Griffitha przyjęto, że dla niskospinowego jonu Fe^{3+} elektronami mogą być obsadzone tylko 3 orbitale d : d_{xy} , d_{xz} i d_{yz} . Wobec tego tylko te orbitale uwzględniane są w funkcjach falowych opisujących stany odpowiadające dubletom Kramera $m_s = \pm 1/2$. Na podstawie teorii Griffitha [182] i formalizmu Taylora [183] stosunek energii orbitali d_{yz} , d_{xz} oraz d_{xy} układów zniekształconych romboidalnie można oszacować w oparciu o wyrażenia [132]:

$$V/\lambda = E_{yz} - E_{xz} = \frac{g_x}{g_z + g_y} + \frac{g_y}{g_z - g_x}$$

$$\Delta/\lambda = E_{xz} - E_{xy} - \frac{1}{2}V/\lambda \frac{g_x}{g_z + g_y} + \frac{g_z}{g_y - g_x} - \frac{1}{2}V/\lambda \quad (1.14).$$

Równania (1.14) są poprawne o ile puste orbitale $d_{x^2-y^2}$ oraz d_{z^2} położone są wystarczająco wysoko pod względem energii i ich wpływ może być pominięty [32]. W wyrażeniach tych parametr V odnosi się do energetycznej różnicy pomiędzy orbitalami d_{xz} a d_{yz} , definiując wartości rozszczepienia rombowego. Parametr Δ wyraża energetyczną odległość pomiędzy najniżej leżącymi orbitalami d_{xy} a średnią wartością energii d_{π} -orbitali co pokazuje (rys. 1.27):



Rys. 1.27. Diagram rozszczepienia d -orbitali dla niskospinowych porfiryńowych kompleksów Fe^{3+}

Symbol λ jest jednoelektronowym parametrem sprzężenia spin-orbita. Równania (1.14) umożliwiają wyznaczenie tetragonalności (Δ/λ – definiujący siłę donoru ligandowego) oraz rombowości (V/Δ – współczynnik geometryczny). Czysta symetria rombowa występuje wówczas, gdy spełniona jest zależność $V/\Delta=0$, natomiast gdy $V/\Delta=2/3$ ($V=2E$) mamy do czynienia z czystą symetrią tetragonalną.

W analizie widm EPR niskospinowych kompleksów Fe^{3+} porfiryń czasami użyteczna jest zależność [120]:

$$g_x^2 + g_y^2 + g_z^2 = 16 \quad (1.15)$$

Z zależności 1.15 można korzystać wtedy, kiedy z widm EPR można odczytać dwie wartości składowych tensora g , a brakuje jednej składowej. Takie sytuacje się zdarzają w przypadku widm EPR typu I (HALS) [182, 184, 185].

Widma EPR dostarczają cennych informacji o strukturze elektronowej sześciokoordynacyjnych kompleksów, jednak tylko w niskich temperaturach. Dla szerszego zakresu temperatur wskazane jest zastosowanie innych metod, takich jak np. spektroskopia Mössbauera.

1.7.1.3. Spektroskopia Mössbauera

Spektroskopia efektu Mössbauera, bazująca na bezdrzutowej, rezonansowej absorpcji emisji promieniowania γ , należy do technik eksperymentalnych umożliwiających badanie właściwości strukturalnych, magnetycznych i dynamicznych różnego rodzaju materiałów, począwszy od związków organicznych przez materiały hybrydowe, a kończąc na związkach nieorganicznych. W metodzie spektroskopii mössbauerowskiej bada się przesunięcie oraz rozszczepienie poziomów jądrowych tzw. izotopów mössbauerowskich. Spowodowane jest ono zmianami w ich lokalnym otoczeniu wynikającym z różnic w rodzaju oraz rozmieszczeniu najbliższych sąsiadów. Najczęściej stosowanym izotopem promieniotwórczym w badaniach mössbauerowskich jest ^{57}Co , który w wyniku rozpadu przechodzi w ^{57}Fe , umożliwiając badania kompleksów zawierających żelazo [186].

Nadsubtelna struktura widm ^{57}Fe

Spektroskopia mössbauerowska umożliwia badanie trzech rodzajów oddziaływań nadsubtelnych, do których zaliczamy: elektryczne oddziaływanie monopolowe, magnetyczne oddziaływanie dipolowe oraz elektryczne oddziaływanie kwadrupolowe. Oddziaływania te przejawiają się w widmach mössbauerowskich i dostarczają informacji o otoczeniu jądra ^{57}Fe zarówno w odniesieniu do konfiguracji elektronowej samego jonu, jak i otaczających go ligandów.

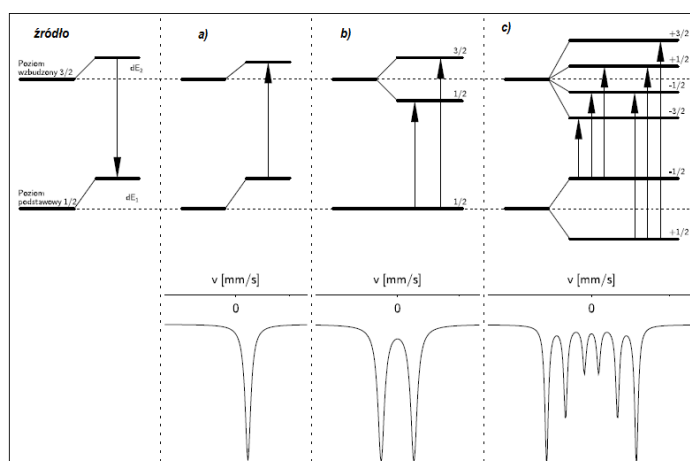
Elektryczne oddziaływanie monopolowe

Promienie ładunkowe jądra w stanie podstawowym R_0 i wzbudzonym R są z reguły różne. Gęstości elektronowe funkcji falowych w obszarze jąder źródła i badanej próbki, $|\Psi_e(0)|^2$ i $|\Psi_a(0)|^2$ także mogą być różne. Będąca następstwem różnica

energii kulombowskiego oddziaływania ładunku jądra Ze z powłoką elektronową powoduje tzw. izomeryczne przesunięcie δ linii mössbauerowskiej [23]:

$$\delta = \frac{2\pi}{5} Ze^2 (R^2 - R_0^2) * [|\Psi_a(0)|^2 - |\Psi_e(0)|^2], \quad (1.16)$$

gdzie Ψ_a i Ψ_e są funkcjami falowymi odpowiednio absorbenta i emitera. Efekt ten został schematycznie przedstawiony na (rys. 1.28a):



Rys. 1.28. Przesunięcia i rozszczepienia poziomów mössbauerowskich wywołane nadsubtelnymi oddziaływaniami jądra atomowego z otoczeniem: a) monopolowe oddziaływanie elektryczne, b) kwadrupolowe oddziaływanie elektryczne, c) oddziaływanie dipolowe magnetyczne [187]

Dla danego przejścia mössbauerowskiego czynnik związany z rozmiarami jądra oraz ładunkiem jest stały. Pomiar przesunięć izomerycznych umożliwia porównanie gęstości elektronowych funkcji falowych w obszarze jąder źródła oraz próbki.

Żelazo, które jako neutralny elektrycznie atom posiada zewnętrzną powłokę elektronową $3d^6 4s^2$, w związkach chemicznych pojawia się zazwyczaj w postaci jonów, najczęściej trójwartościowych Fe^{3+} ($3d^5$) i dwuwartościowych Fe^{2+} ($3d^6$), rzadziej jednowartościowych Fe^{1+} ($3d^7$) i czterowartościowych Fe^{4+} ($3d^4$), w wielu możliwych konfiguracjach spinowych. Znajomość przesunięcia izomerycznego daje przesłanki do określania wartościowości jonu żelaza, jego konfiguracji spinowej i powiązanego z tym stopnia kowalencyjności wiązań chemicznych [188].

Elektryczne oddziaływanie kwadrupolowe

Elektryczne oddziaływanie kwadrupolowe definiuje się jako oddziaływanie kwadrupolowego momentu elektrycznego jądra (eQ) z gradientem pola elektrycznego. Jądrowy moment kwadrupolowy jest wielkością, która wyraża deformację symetrii

sferycznej ładunku jądra. Z kolei gradient pola elektrycznego może być wytwarzany przez powłokę elektronową atomu albo przez elektrony należące do sąsiednich atomów. Gradient pola elektrycznego jest tensorem, którego składowe mogą być określone ogólnym wzorem jako [23]:

$$E_{ij} = -V_{ij} = -\frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j}, \quad (1.17)$$

gdzie V oznacza potencjał elektrostatyczny.

Za pomocą diagonalizacji uzyskujemy jego postać opisywaną trzema składowymi diagonalnymi

$$V_{ii} = \frac{\partial^2 V}{\partial x_i^2} \quad (1.18).$$

Elementy diagonalne spełniają równanie Laplace'a:

$$V_{11} + V_{22} + V_{33} = 0 \quad (1.19)$$

i to ogranicza liczbę parametrów opisujących gradient do dwóch.

Przeważnie wybiera się $V_{33} = eQ$ jako maksymalną wartość gradientu a także tzw. parametr asymetrii, η :

$$\eta = \frac{V_{11} - V_{22}}{V_{33}} \quad (1.20).$$

W wyniku oddziaływania kwadrupolowego poziom o spinie jądrowym $I=3/2$ rozszczepia się na dwa podpoziomy $\pm 3/2$ i $\pm 1/2$. Efektem tego jest rozszczepienie linii mössbauerowskiej. Efekt ten zobrazowano schematycznie na (rys. 1.28b). Nie obserwuje się rozszczepienia kwadrupolowego w przypadku symetrii regularnej [187].

Magnetyczne oddziaływanie dipolowe

Linia rezonansowa rozszczepia się wówczas, gdy pole magnetyczne działa na jądro atomowe. Dipolowe oddziaływanie magnetyczne jest to oddziaływanie pomiędzy dipolowym momentem magnetycznym jądra $\vec{\mu}$, a efektywnym polem magnetycznym \vec{H}_{ef} istniejącym w obszarze położenia jądra. Rozszczepienie magnetyczne może występować poniżej temperatury Curie w materiałach magnetycznych oraz w paramagnetykach, które charakteryzują się długim czasem relaksacji spinowej. Oddziaływanie to można opisać za pomocą hamiltonianu:

$$\hat{H}_M = -\vec{\mu} \vec{H}_{ef} = -g\mu_N \vec{I} \vec{H}_{ef}, \quad (1.21)$$

gdzie: \vec{H}_{ef} – efektywne pole magnetyczne, \vec{I} – spin jądrowy, μ_N – magneton jądrowy, g – jądrowy czynnik giromagnetyczny.

Wartość energii rozszczepienia podpoziomów wynika z wartości własnych hamiltonianu. Rozszczepienie zeemanowskie powoduje, że podstawowy poziom o spinie 1/2 ulega rozszczepieniu na dwie składowe, a poziom wzbudzony, którego spin wynosi 3/2, rozszczepia się na 4 składowe. W przypadku jonów ^{57}Fe absorpcja promieniowania γ może prowadzić do widm w postaci pojedynczej linii lub dubletu, a w polu magnetycznym do pojawienia się 6 składowych (rys. 1.28c).

Spektroskopia Mössbauera kompleksów sześciokoordynacyjnych

Kompleksy Fe-porfiryn są badane przy zastosowaniu spektroskopii Mössbauera od momentu pojawienia się odpowiedniej aparatury umożliwiającej stosowanie tej metody. Nie bez znaczenia jest fakt, że źródłem promieniowania γ , stosowanego w spektroskopii ^{57}Fe , jest izotop ^{57}Co o stosunkowo długim czasie połowicznego rozpadu (270 dni) i względnie łatwej dostępności na rynku komercyjnym. Przebadano dotychczas tą metodą bardzo dużą ilość różnorodnych strukturalnie Fe-porfiryn. W danym przeglądzie ograniczymy się do prac mających bezpośredni związek z prezentowaną w tym opracowaniu tematyką, a więc do sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe^{3+} -porfiryn.

Należy zaznaczyć, że spektroskopia Mössbauera jest czuła tylko na izotop żelaza ^{57}Fe , którego naturalna zawartość w przyrodzie stanowi około 2,2%, w odróżnieniu od podstawowego izotopu ^{56}Fe , którego jest niemal 92%, stąd też prowadzone są badania próbek głównie w postaci proszków lub kryształów (ze względu na większą koncentrację izotopu ^{57}Fe przypadającą na jednostkę objętości). Badania próbek w postaci zamrożonych roztworów prowadzone są sporadycznie niemal wyłącznie dla próbek wzbogaconych w izotop ^{57}Fe . Spektroskopia Mössbauera nie jest tak czuła jak np. EPR, a więc i masa próbek musi być odpowiednio większa, aby uzyskać widma dobrej jakości. Ponadto istotny jest również kształt próbek, aby nie wystąpiło poszerzenie linii widmowej wynikające z grubości próbki. Większość wyników prezentowanych w literaturze w odniesieniu do Fe-porfiryn dotyczy badań bez zewnętrznego pola magnetycznego. Widmo próbek w zewnętrznym polu magnetycznym dostarcza dodatkowych informacji dotyczących głównie składowych tensora oddziaływania nadsubtelnego, a przez to ściślejszą korelację z danymi EPR.

Jednakże wytworzenie stosunkowo wysokich pól magnetycznych (rzędu kilku tesli) wymaga zastosowania dodatkowej aparatury w postaci np. elektromagnesów nadprzewodzących.

Uwzględniając strukturę elektronową i molekularną sześciokoordynacyjnych Fe³⁺-porfiryn, wydaje się zasadnym podzielić badane kompleksy na 3 grupy, według tych samych kryteriów co w przypadku spektroskopii EPR. Takie zestawienie przedstawiono w tabeli 1.7. Z porównania parametrów widm mössbauerowskich poszczególnych typów można wyciągnąć wnioski dotyczące struktury elektronowej samego jonu Fe oraz najbliższego jemu otoczenia.

Tabela 1.7. Parametry mössbauerowskie dla sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe³⁺-porfiryn

Kompleks	ΔE_Q [mm/s]	δ [mm/s]	Lit.
Typu I			
[Fe(TPP)(2-MeImH) ₂] ⁺	1,71	0,21	[162]
[Fe(TMP)(4-NMe ₂ Py) ₂] ⁺	1,75	-	[163]
[Fe(PPIX)(Py) ₂] ⁺	1,95	0,25	[29]
Cytochrom <i>b</i> ₆	1,77	0,3	[165]
Cytochrom <i>f</i>	1,93	0,36	[165]
perp-[Fe(OMTPP)(1-MeIm) ₂] ⁺	1,76	-	[166]
perp-[Fe(OETPP)(1-MeIm) ₂] ⁺	1,94	-	[166]
Typu II			
Cytochrom <i>c</i> ₂	2,26	-	[168]
Cytochrom <i>c</i> ₅₅₁	2,03	0,25	[169]
Cytochrom <i>cd</i> ₁	1,7	-	[30]
Cytochrom <i>b</i> ₅ , mikrosomy wątroby	-	0,52	[170]
Cytochrom <i>b</i> ₅ , muchy	-	0,52	[171]
Mitochondrialny Cytochrom <i>a</i>	-	0,59	[172]
Mioglobina-ImH	-	0,58	[173]
[Fe(OEP)(4-NMe ₂ Py) ₂] ⁺	2,15	-	[163]
[Fe(OEP)(N-MeIm) ₂] ⁺	2,28	0,26	[174]
[Fe(OETPP)(N-MeIm) ₂] ⁺	-	0,89	[116]
paral-[Fe(TMP)(5-MeHIm) ₂] ⁺	2,56	-	[189]
paral-[Fe(OMTPP)(1-MeIm) ₂] ⁺	2,80	-	[166]

Kompleks Typu III	ΔE_Q [mm/s]	δ [mm/s]	Lit.
[Fe(OEP)(<i>t</i> -BuNC) ₂]	-1,80	-	[178]
[Fe(TPP)(<i>t</i> -BuNC) ₂]	-1,89	-	[178]

Kompleksy typu I, o konfiguracji elektronowej jonu Fe^{3+} (d_{xy})²(d_{xz} , d_{yz})³, do których zaliczane są te, które posiadają w strukturze dwa płaskopierścieniowe ligandy osiowe zorientowane wzajemnie prostopadłe, mają w większości przypadków nieco mniejsze wartości rozszczepienia kwadrupolowego i przesunięcia izomerycznego w porównaniu z kompleksami o tej samej konfiguracji elektronowej jonu Fe^{3+} , lecz o równoległej orientacji wzajemnej płaszczyzn pierścieni ligandów osiowych zaliczanych do typu II. Należy zaznaczyć, że orientacja prostopadła czy równoległa płaszczyzn pierścieni ligandów osiowych jest tu rozumiana umownie, gdyż w rzeczywistości nie odpowiada to dokładnie kątom 0° lub 90°, a wartościom zbliżonym do tych kątów. Orientacja prostopadła nie zmienia praktycznie stosunku długości 4 wiązań Fe-N_p w porfirynowym pierścieniu – może je uznać za równoważne, co ma wpływ na rozszczepienie d_x , d_y orbitali (wartości ich energii są bardzo bliskie) oraz na składowe gradientu pola elektrycznego w miejscu lokalizacji jądra ⁵⁷Fe³⁺ – przekłada się to na wyższą symetrię rozkładu natężenia pola elektrycznego wokół jąder Fe^{3+} i mniejsze wartości rozszczepienia kwadrupolowego ΔE_Q . Mniejsza średnia wartość przesunięcia izomerycznego dla kompleksów typu I wskazuje na gęstości elektronowe na *s*-orbitalach jonu Fe^{3+} w próbce w większym stopniu zbliżone do gęstości elektronowych na *s*-orbitalach atomów żelaza w źródle w porównaniu z kompleksami typu II. Równoległa orientacja płaszczyzn ligandów osiowych nieco inaczej deformuje porfirynowy makropierścień. Jest on bardziej płaski, a wiązania Fe-N_p nie są już dokładnie równoważne [116], co prowadzi do obniżenia symetrii kompleksu i to do większego rozszczepienia poziomów energetycznych orbitali d_{xz} i d_{yz} , a przez to do wzrostu wartości rozszczepienia kwadrupolowego ΔE_Q .

Stan podstawowy kompleksów, zaliczanych do typu III, odpowiada konfiguracji elektronowej jonu Fe^{3+} , w którym orbitale d_{xz} i d_{yz} mają niższą energię w porównaniu z orbitalem d_{xy} . Niesparowany elektron jest w tym przypadku zlokalizowany na orbitalu d_{xy} , który w przypadku deformacji porfirynowego makroligandu może mieszać się z orbitalem a_{2u} tego pierścienia, prowadząc do istotnych zmian w parametrach spektroskopowych tego typu kompleksów [116]. Ujemne wartości rozszczepienia

kwadrupolowego ΔE_Q nie mają jakiegoś głębszego fizycznego uzasadnienia, a wynikają z ujemnej wartości składowej V_{zz} tensora gradientu pola elektrycznego. W przypadku kompleksów Fe-porfiryn przyjmuje się, że ujemna wartość składowej V_{zz} odpowiada przypadkowi, gdy gęstość elektronowa wzdłuż osi prostopadłej do pierścienia jest większa niż w płaszczyźnie porfiryнового pierścienia [116]. Typ III kompleksów występuje rzadko i jest najmniej zbadany. Z dotychczasowych badań wynika, że taka konfiguracja elektronów jonu Fe^{3+} jest mniej czuła na wzajemną orientację płaszczyzn ligandów osiowych w porównaniu z konfiguracją $(d_{xy})^2(d_{xz}, d_{yz})^3$ [116].

Oprócz podstawowych parametrów: rozszczepienia kwadrupolowego ΔE_Q i przesunięcia izomerycznego δ w przypadku niektórych widm mössbauerowskich istotna jest jeszcze asymetria i związana z nią szerokość linii zwykle kształtu lorentzowskiego. Na przykładzie kilku przypadków zaobserwowano pewną zależność dotyczącą asymetrii widm zarówno dubletów rejestrowanych bez pola magnetycznego, jak i sekstetów w polu magnetycznym. Mianowicie niskoenergetyczna część widma (odpowiadająca mniejszej prędkości ruchu źródła mössbauerowskiego) charakteryzuje się większą szerokością linii (mniejszą amplitudą) w przypadku konfiguracji elektronowej $(d_{xz}, d_{yz})^4(d_{xy})^1$, natomiast w przypadku konfiguracji $(d_{xy})^2(d_{xz}, d_{yz})^3$ bywa obserwowana odwrotna asymetria [116]. Nie ma do tej pory w literaturze przekonującego wytłumaczenia tego efektu. Analizę możliwości obliczeń parametrów widm mössbauerowskich porfiryновых kompleksów, zawierających jony Fe^{2+} i Fe^{3+} we wszystkich możliwych stanach spinowych, przedstawiono w pracach [190, 191]. W pracy [190] przeanalizowano 20 kompleksów pod kątem zależności przesunięcia izomerycznego δ od różnicy gęstości elektronowych absorbenta (próbki) i źródła mössbauerowskiego na s -orbitalach jonu żelaza w oparciu o uproszczoną zależność:

$$\delta = \alpha[\rho_w - C], \quad (1.22)$$

gdzie α jest tzw. stałą kalibracji, obliczoną w oparciu o ładunek elektryczny jądra ^{57}Fe oraz różnicę kwadratów promieni jądrowych w stanie wzbudzonym i podstawowym, ρ_w – wypadkową gęstością na s -orbitalach jonów ^{57}Fe absorbenta, C – stałą wartością odpowiadającą gęstości elektronowej na s -orbitalach atomów ^{57}Fe źródła. Obliczenia gęstości elektronowych w analizowanych kompleksach dokonano dwiema metodami: metodą Hartree–Focka, która bazuje na funkcjach falowych oraz metodą DFT bazującą na dwóch funkcjonalach korelacyjno-wymiennych: standardowym BPW91

(Becke–Pedrew–Wang) i hybrydowym B3LYP (Beck–Lee–Yang–Parra). W wyniku analizy otrzymano następujące półempiryczne zależności dla metody DFT:

$$\delta = -0,471[\rho_w - 11617,30] \quad (1.23)$$

dla funkcjonału BPW91 oraz

$$\delta = -0,404[\rho_w - 11614,16] \quad (1.24)$$

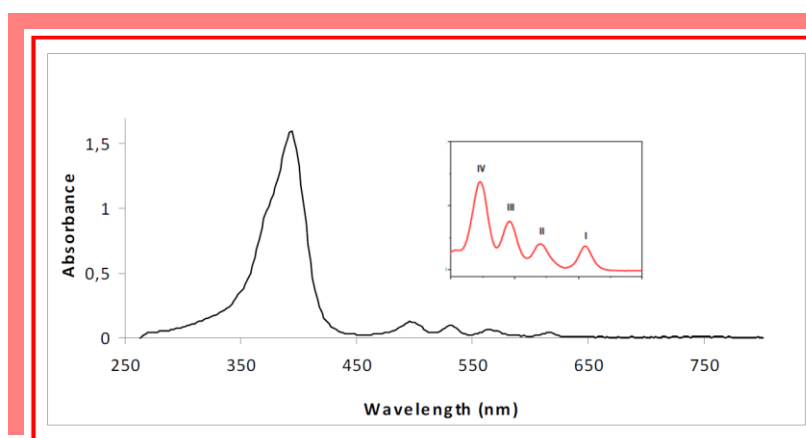
dla hybrydowego funkcjonału B3LYP.

Metodę Hartree–Focka wykorzystano do obliczeń porównawczych z danymi otrzymanymi z metody DFT oraz z wcześniej przeprowadzonymi obliczeniami podobnego typu [192]. W konkluzji stwierdzono, że metoda DFT daje znacznie lepszą zgodność pomiędzy doświadczalnymi i obliczonymi wartościami przesunięcia izomerycznego w widmach mössbauerowskich, przy czym tylko nieznacznie (średnia niepewność kwadratowa wynosi 0,067 mm/s) lepszą zgodność uzyskano z obliczeń dla funkcjonału B3LYP (wzór (1.24)) w porównaniu z funkcjonałem BPW91 (wzór (1.23)), gdzie średnia niepewność kwadratowa wynosi 0,080 mm/s, a więc zastosowanie funkcjonału hybrydowego nie polepszyło istotnie wyników obliczeń. Podobną analizę, na podobnym zbiorze Fe-kompleksów, przeprowadzono w pracy [191] w odniesieniu do rozszczepienia kwadrupolowego, wyodrębniając przy tym parametr asymetrii η oraz główne składowe V_{xx} , V_{yy} i V_{zz} tensora gradientu pola elektrycznego. W przypadku sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe^{3+} o spinie $S=1/2$ uwzględniono dwie konfiguracje $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^3$ oraz $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$. Obliczenia wykazały mniejszą wartość parametru asymetrii η w stanie $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$ w porównaniu ze stanem $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^3$, co jest zgodne z danymi doświadczalnymi. Orientacja składowej V_{zz} tensora EFG w przypadku nietypowej konfiguracji $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$ pokrywa się z osią z prostopadłą do porfiryнового pierścienia, pomimo jego stosunkowo silnej deformacji typu *ruffling*, co potwierdzono eksperymentalnie na przykładzie kompleksu $[\text{Fe}(\text{OEP})(\text{t-BuNC})_2]^+$ [178]. Odnośnie obliczeń rozszczepienia kwadrupolowego ΔE_Q stwierdzono, że zastosowanie obydwu funkcjonałów gęstości BPW91 i hybrydowego B3LYP prowadzi do podobnych wyników. Średnia niepewność kwadratowa pomiędzy obliczonymi i doświadczalnymi wartościami ΔE_Q została określona na około 0,30 mm/s, co przy tak różnorodnym i szerokim zestawie badanych kompleksów należy uznać za dobrą zgodność. Porównując wartości parametrów mössbauerowskich

sześciokoordynacyjnych Fe^{3+} i Fe^{2+} -kompleksów o podobnej molekularnej strukturze ligandów osiowych, należy zauważyć, że ilość d -elektronów jonów żelaza w większym stopniu wpływa na przesunięcie izomeryczne niż na rozszczepienie kwadrupolowe, np. $[\text{Fe(II)(TMP)(2-MeHIm)}_2]$: $\delta=0,43$ mm/s, $\Delta E_Q=1,71$ mm/s [193], $[\text{Fe(III)(TPP)(2-MeHIm)}_2]^+$: $\delta=0,21$ mm/s, $\Delta E_Q=1,71$ mm/s [162]. Takie same wartości ΔE_Q dla obydwu kompleksów występują tylko przy tej parze związków i należy to uznać za przypadek a nie za regułę, chociaż w szerokiej klasie związków ogólny trend jest taki, jak wspomniano powyżej.

1.7.1.4. Elektronowe widma absorpcyjne

Najbardziej zauważalną cechą elektronowych widm absorpcyjnych metaloporfiryn jest występowanie dwóch głównych pasm o silnie zróżnicowanej intensywności. Pasma B, zwane również pasmem Soret'a, występuje w krótkofalowej części widma i jest znacznie bardziej intensywne od pasma Q występującego w części długofalowej (rys. 1.29).



Rys. 1.29. Widmo UV-vis porfiryiny z rozszerzeniem obszaru Q między 480–720 nm [194]

Ilość pików absorpcyjnych, na które rozszczepia się zwykle pasmo Q (450–750 nm), a w przypadku niektórych metaloporfiryn również pasmo B (300–450 nm), zależy głównie od symetrii cząsteczek absorbujących energię promieniowania elektromagnetycznego oraz od rodzaju metalu skoordynowanego z porfirynewym ligandem [195]. Stosunek intensywności pasma B do pasma Q oraz ich położenie na skali długości fal zależy od absorpcyjnych przejść pomiędzy poziomami energetycznymi orbitali molekularnych, zawierających głównie elektrony typu π , tworzące układ wiązań sprzężonych w porfirynewym makrocyklu. Świadczyć mogą

o tym zmiany w widmach absorpcyjnych spowodowane modyfikacją porfirynowego pierścienia, w której udział biorą atomy wpływające bezpośrednio na układ wiązań sprzężonych, np. zamiana grup metinowych CH w położeniach mostkowych na atomy azotu powoduje znaczne zmniejszenie się stosunku intensywności pasm B/Q [17]. Wprowadzenie do centrum porfirynowego pierścienia metali przejściowych z częściowo zapełnionymi *d*-orbitalami prowadzi do pojawienia się dodatkowych przejść typu $d \rightarrow \pi^*$, gdzie π^* oznacza dolny niezapełniony molekularny orbital porfirynowego ligandu z dominującym wkładem zdelokalizowanych π -elektronów [196]. Tego typu widma są znacznie trudniejsze do interpretacji w porównaniu z widmami np. kompleksów z cynkiem, gdzie wszystkie *d*-orbitale są do końca zapełnione [13].

Częściowo zapełnione *d*-orbitale żelaza w porfirynowych kompleksach mogą przyczyniać się do przesunięcia pasm odpowiadających przejściu $\pi \rightarrow \pi^*$, jak również mogą być powodem pojawienia się pasm odpowiadających przejściom zachodzącym z udziałem przemieszczenia ładunku. Możemy wyróżnić trzy typy widm elektronowych metaloporfiryn [194]:

- „normalny”, gdzie nie obserwuje się przejść z udziałem *d*-orbitali,
- hypso-typ, gdzie pasmo Q i B są przesunięte w kierunku fal krótkich o ok. 30–40 nm,
- hiper-typ, w którym widoczne jest pojawienie się dodatkowych pików, pochodzących od przejść z udziałem *d*-orbitali.

Grupy prostetyczne w białkach hemowych często mają intensywne elektronowe widma absorpcyjne, które zależą od stopnia utlenienia jonu Fe, ligacji oraz konformacji stanów. Są one wrażliwe na zmiany konformacyjne łańcucha polipeptydowego. Spektroskopia absorpcyjna pozwala również na identyfikację krótkotrwałych stanów pośrednich, co może być pomocne w poznawaniu mechanizmów przebiegu złożonych procesów biologicznych [197]. Jak już wspomniano wcześniej, sześciokoordynacyjne kompleksy Fe-porfiryn są odpowiednimi modelami do badania struktury i funkcji biologicznych cytochromów *b* i *c*. Cytochromy te najczęściej zawierają jon żelaza Fe^{3+} w stanie niskospinowym $S=1/2$, chociaż znane są formy zawierające również jon Fe^{3+} w stanie wysokospinowym $S=5/2$ [132]. Oba rodzaje białek mają podobne widma absorpcyjne w zakresie widzialnym i ultrafiolecie, ale różnią się w zakresie fal dłuższych na pograniczu pasma widzialnego i bliskiej podczerwieni [198].

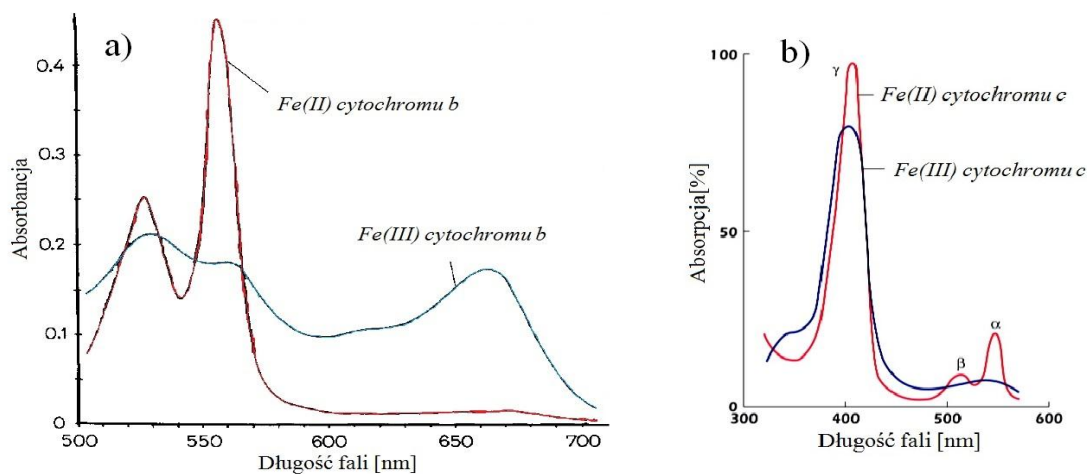
W przypadku elektronowych widm absorpcyjnych prace z początkowego okresu badań Fe-porfiryn mogą być również cennym źródłem informacji dotyczących jakościowych korelacji pomiędzy strukturą molekularną i charakterystycznymi pikami w widmach. Kiedy technika komputerowa nie była na tyle rozwinięta, aby mogły być prowadzone obliczenia kwantowo-mechaniczne stosunkowo złożonych struktur, jakimi są Fe-porfiryny, próbowano porównywać i klasyfikować doświadczalne, elektronowe widma absorpcyjne w powiązaniu z właściwościami magnetycznymi w zależności od struktury porfirynowego pierścienia i ligandów osiowych [199, 200]. Odnośnie kompleksów z Fe^{3+} w pracy [199] wyróżniono dwie główne klasy widm absorpcyjnych: 1) widma, które charakteryzują kompleksy o magnetycznym momencie $5,92 \mu_B$ ($S=5/2$) i 2) widma kompleksów o magnetycznym momencie $1,73 \mu_B$ ($S=1/2$). Widma charakteryzowano poprzez 3 główne piki, z czego dwa (α i β) należały do pasma Q, natomiast pasmo Soret'a oznaczono jako pik γ (rys. 1.30). Zauważono, że piki z pasma Q mają większą intensywność w przypadku kompleksów niskospinowych ($S=1/2$) niż wysokospinowych ($S=5/2$) w odniesieniu do intensywności pasma Soret'a (pik γ) [199]. Ponadto zaobserwowano, że intensywność piku α w paśmie Q w przypadku kompleksów niskospinowych jest znacznie bardziej czuła na strukturę ligandów osiowych niż intensywność piku β . Stosunek intensywności α/β wzrasta wraz ze zwiększaniem się donorowych właściwości ligandów osiowych. Pasma Soret'a (γ) jest przesunięte bardziej w kierunku fal dłużych w widmach kompleksów niskospinowych w porównaniu z widmami kompleksów wysokospinowych.

Porównując elektronowe widma absorpcyjne sześciokoordynacyjnych cytochromów *b*, skoordynowanych z jonami Fe^{3+} i Fe^{2+} , w obydwu przypadkach w stanach niskospinowych (odpowiednio $S=1/2$ i $S=0$) można zauważyć, że wszystkie pasma widma kompleksów Fe^{3+} są przesunięte w stronę fal krótkich w porównaniu z odpowiednimi pasmami w widmach kompleksów Fe^{2+} (tabela 1.8) [200].

Tabela. 1.8. Widma absorpcyjne niskospinowych cytochromów [200]

		λ_{max} [nm]		
		α	β	Soret
Cytochrom <i>c</i>	Fe^{2+}	550	520	415
	Fe^{3+}	-	530	408
Cytochrom <i>b</i>	Fe^{2+}	564	530	431
	Fe^{3+}	556	525	416

Cytochromy *c* mają dodatkowo pasmo absorpcji przy 695 nm.



Rys. 1.30. Widma absorpcyjne: a) cytochromu b_5 [3], b) cytochromu *c* [201]

Różnice w położeniu poszczególnych pasm dla cytochromu *b* wynoszą: dla pasma α – 8 nm, dla β – 5 nm i dla γ – 15 nm [200], a więc położenie pasm w elektronowych widmach absorpcyjnych kompleksów sześciokoordynacyjnych z osiowymi ligandami histydyny może być wskaźnikiem stopnia utlenienia jonu żelaza.

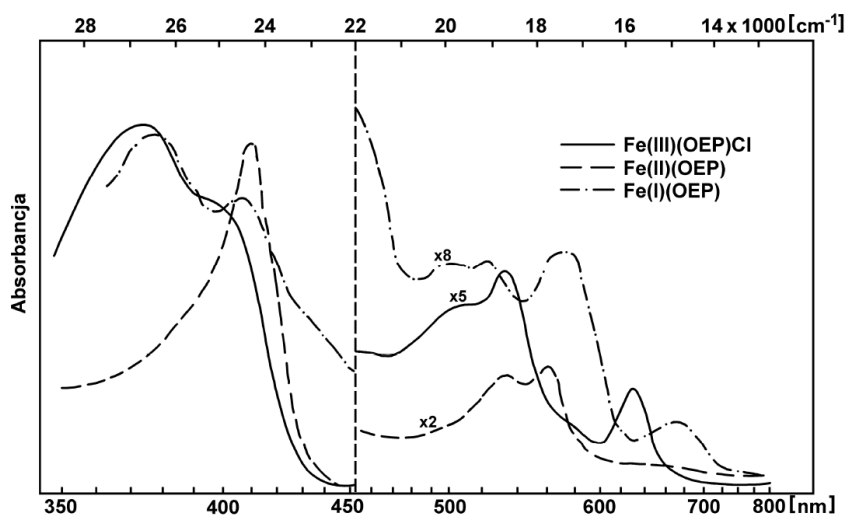
Rozwój techniki komputerowej i metod numerycznych obliczeń kwantowo-mechanicznych wprowadził nową jakość w zakresie interpretacji elektronowych widm absorpcyjnych. Już początkowe, stosunkowo proste obliczenia, wykazały, że największy wkład do głównych pasm w elektronowych widmach absorpcyjnych wnoszą przejścia pomiędzy orbitalami molekularnymi, powiązаныmi ze zdelokalizowanymi π -elektronami porfiryнового pierścienia [202]. Potwierdziły to późniejsze obliczenia Goutermana w ramach tzw. modelu czteroorbitalnego [203]. W obliczeniach tych wykorzystano przejścia elektronowe pomiędzy dwoma najwyższymi, zajęтыми przez elektrony, molekularnymi orbitalami ($1a_{1u}$ i $3a_{2u}$) i dwoma najniższymi niezapełnionymi elektronami orbitalami $4e_g$ o tej samej energii. Na podstawie tych obliczeń wyjaśniono różnicę pomiędzy widmami diamagnetycznych metaloporfiryn o symetrii D_{4h} i bezmetalicznych porfiryn o symetrii D_{2h} . Model ten nie wyjaśniał jednak widm Fe-porfiryn, gdyż nie uwzględniał struktury elektronowej jonu metalu. Pierwsze obliczenia kompleksów, zawierających paramagnetyczne jony żelaza, wykonano metodami bardziej zaawansowanymi, które uwzględniały również zlokalizowane

σ -elektrony, takimi jak INDO oraz rozszerzoną metodą Hückel'a [195, 204]. Jednak w przypadku Fe-porfiryn metody te nie okazały się na tyle skuteczne, aby w miarę prawidłowo przewidzieć wszystkie osobliwości elektronowych widm absorpcyjnych [196]. Metody *ab initio*, stosowane do obliczeń kwantowo-mechanicznych Fe-porfiryn, koncentrowały się głównie na określaniu stanu podstawowego, wyższych stanów wzbudzonych i geometrii porfiryнового pierścienia [205–207].

W przypadku metod DFT do obliczeń widm absorpcyjnych stosuje się czasowo-zależną implementację TDDFT. Technika ta stosowana była w odniesieniu do widm absorpcyjnych kompleksów porfiryновых z magnezem, cynkiem i niklem [208]. Odnośnie kompleksów z Fe^{3+} wyniki obliczeń elektronowych przejść w widmach absorpcyjnych przeanalizowano w pracy [17]. W porównaniu ze stosowanymi wcześniej metodami osiągnięto zadawalające rezultaty. Ze skrótego przeglądu badań Fe-porfiryn metodą elektronowych widm absorpcyjnych, w połączeniu z metodami kwantowo-mechanicznymi, wynika, że pomimo rozwoju technik obliczeniowych, szczegółowa analiza widm absorpcyjnych, a w szczególności paramagnetycznych Fe-porfiryn, wymaga dalszych badań. Różnorodność możliwych przejść elektronowych, wpływający na kształt widm absorpcyjnych, jest tak duża w złożonych strukturach, układach takich jak paramagnetyczne Fe-kompleksy, że osiągnięcie bardzo dobrej zgodności pomiędzy widmami doświadczalnymi i teoretycznymi jest bardziej przypadkiem niż regułą. Przepuszczalnie dlatego ta technika badawcza traci na znaczeniu w porównaniu z innymi metodami spektroskopowymi.

Wynik oddziaływania orbitali $4e_g$ i $d_\pi(d_{xz}, d_{yz})$ skutkuje ich częściowym nakładaniem się, w związku z tym zwiększa się przerwa energetyczna pomiędzy a_{1u} i a_{2u} a orbitalem $4e_g$, co powoduje przesunięcie pasm Q i B w stronę fal krótkich. Pojawienie się dodatkowych pasm w hyper-typie wiąże się z realizacją dodatkowych, dozwolonych przejść zachodzących z $d \rightarrow \pi^*$ orbitali, natomiast ich lokalizacja w widmie zależna jest od wzajemnego rozmieszczenia d -orbitali metalu i orbitali ligandu na skali energii. Orbitale (d_{xz}, d_{yz}) , z uwagi na oddziaływanie z π -orbitalem porfiryнового ligandu, lokalizują się między orbitalem d_{z^2} i orbitalem d_{xy} , który w porfiryновym kompleksie w najmniejszym stopniu uczestniczy w tworzeniu wiązań metal-ligand. Warto nadmienić, iż nie istnieje ostra granica pomiędzy hypso-, a hiper-typami, gdyż obydwie typy wywołuje ta sama przyczyna, czyli udział d -orbitalu w przejściach elektronowych. W widmach systematyzowanych jako hypso-typ mogą

pojawiać się mało intensywne pasma elektronowe widm absorpcyjnych dla stanów spinowych przedstawionych na poniższym rysunku (rys. 1.31):



Rys. 1.31. Widma elektronowe kompleksów Fe-oktaetyloporfiryny na różnych stopniach utlenienia jonu Fe [17]

1.7.2. *Obliczenia kwantowo-mechaniczne*

W ostatnich latach można zauważyć wzrost liczby publikacji, które dotyczą badań doświadczalnych na kompleksach porfiryn [21, 209, 210]. Także rozwój technologii, zwłaszcza techniki komputerowej, stanowi przyczynek do kolejnych badań teoretycznych kompleksów Fe-porfiryn. Dość istotnym problemem z zakresu tych badań jest określenie korelacji pomiędzy wynikami badań doświadczalnych i wynikami obliczeń teoretycznych. Badania doświadczalne i teoretyczne wzajemnie się uzupełniają i pozwalają na dogłębne zbadanie zależności pomiędzy strukturą molekularną i elektronową, w konsekwencji zaś właściwościami fizyko-chemicznymi badanych kompleksów, a w przypadku Fe-porfiryn również wnoszą wkład do zrozumienia przebiegu złożonych procesów biologicznych.

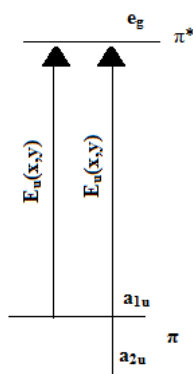
W przypadku stosunkowo rozbudowanych molekularnie struktur, jakimi są Fe-porfiryny, badania teoretyczne rozpoczyna się zwykle od najprostszych strukturalnie układów, takich jak Fe^{2+} -porfina, stąd też w omawianych poniżej metodach badań teoretycznych ten najprostszy z Fe-porfiryn występuje częściej niż inne.

Można zauważyć dwie zasadnicze grupy kwantowo-mechanicznych metod badań teoretycznych. Pierwsze bazują na elektronowych funkcjach falowych. Zalicza się tu metody półempiryczne i metody *ab initio* [211]. Drugie zaś opierają się na gęstościach elektronowych, a stanowią je metody *Density Functional Theory* (DFT)

[212, 213]. Poniżej przedstawimy krótki przegląd metod półempirycznych i *ab initio*, stosowanych w badaniach Fe-porfiryn oraz nieco obszerniej badania Fe-porfiryn metodą DFT, która stosowana była w niniejszej pracy.

1.7.2.1. *Metody półempiryczne i ab initio*

Korzystając z pierwszych obliczeń metodą LCAO MO (*Linear Combination of Atomic Orbitals as Molecular Orbitals*) [214], określono, że dwa najwyżej leżące obsadzone orbitale molekularne metalicznego kompleksu porfiryny stanowią π -orbitale o symetrii a_{2u} i a_{1u} (rys. 1.32). Orbital LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) stanowi natomiast π -orbital o symetrii e_g [215].



Rys. 1.32. Czteroorbitalny model Goutermana dla pasm leżących w zakresie światła widzialnego dla cząsteczki porfiryny o symetrii D [215]

Prostego modelu czteroorbitalnego, który bazuje na wynikach wspomnianych powyżej obliczeń, użyto w celu wyjaśnienia pasm obserwowanych w elektronowych widmach absorpcyjnych kompleksów porfiryn. Należy jednak zauważyć, że zgodnie z tym modelem – dla kompleksów porfiryn, znajdujących się w symetrii D_{4h} – określone przejścia absorpcyjne $a_{2u} \rightarrow e_g$ (pasmo Q) oraz $a_{1u} \rightarrow e_g$ (pasmo B), nie dają pełnego wyjaśnienia obserwowanych elektronowych widm absorpcyjnych, zwłaszcza gdy chodzi o różnice w intensywnościach poszczególnych pasm [216]. Na lepszy ich teoretyczny opis pozwoliło zastosowanie modelu oddziaływania konfiguracyjnego CI (*Configuration Interaction*) [217]. Ustalono, że w przypadku niskoenergetycznych przejść elektronowych pasma Q (597 nm), momenty przejść dipolowych podstawowych przejść międzyorbitalnych prawie się zerują, podczas gdy dla wysokoenergetycznych przejść pasma B (417 nm) momenty przejść dipolowych dodają się [217].

Pierwsze określenie stanu podstawowego kompleksu porfiryny, skoordynowanego z jonom Fe^{2+} w odniesieniu do kompleksów żelazo-porfiryn, bazowało na opracowanej i przedstawionej przez R. Hoffmanna w 1963 roku rozszerzonej metodzie Hückla EHT (*Extended Hückel Theory*) [218, 219]. Funkcja falowa w tej metodzie to funkcja empiryczna własna jednoelektronowego hamiltonianu, która została zdefiniowana na podstawie wartości elektronów macierzowych orbitali walencyjnych atomów tworzących molekułę w danej bazie [220]. Metoda ta przyjmuje przybliżenia powłok walencyjnych, a różni się w stosunku do metody Hückla postacią hamiltonianu jednoelektronowego efektywnego uwzględniającego ortogonalność orbitali atomowych [221].

Dotychczasowe obliczenia elektronowych widm absorpcyjnych obejmowały w zasadzie jedynie orbitale π -elektronowe. Dopiero obliczenia metodą EHT uwzględniły również przejścia elektronowe z przeniesieniem ładunku pomiędzy pierścieniem porfiryny, a jonom żelaza ($\pi \rightarrow d$), jak również przejścia pomiędzy d -orbitalami jonu żelaza ($d \rightarrow d$) [222].

Systematyczne obliczenia kompleksów Fe-porfiryn metodą *ab initio* SCF (*Self Consistent Field*) przeprowadzono jako pierwsze dla kompleksu Fe^{2+} -porfiryny. Pokazały one, że podstawowym stanem tego kompleksu powinien być wysokospinowy stan ${}^5\text{A}_{1g}$ o konfiguracji elektronowej $(d_{xy})^1 (d_{\pi})^2 (d_{z^2})^2 (d_{x^2-y^2})^1$ [223]. Obliczenia zostały wykonane dla rdzenia pierścienia porfiryny o geometrii określonej na podstawie badań rentgenostrukturalnych dla kompleksu Fe(II)(TPP) w przybliżeniu do symetrii D_{4h} . Wśród branych pod uwagę stanów pośredniospinowych, stanem o najwyższej energii – zgodnie z tymi obliczeniami – jest stan ${}^3\text{A}_{2g}$ o konfiguracji elektronowej $(d_{xy})^2 (d_{\pi})^2 (d_{z^2})^2 (d_{x^2-y^2})^0$.

Kolejne – bazujące na wspomnianej powyżej metodzie – badania określiły, że stanem podstawowym kompleksu Fe^{2+} -porfiryny jest wysokospinowy stan ${}^5\text{B}_{2g}$ o konfiguracji elektronowej $(d_{xy})^2 (d_{\pi})^2 (d_{z^2})^1 (d_{x^2-y^2})^1$ [224]. Na podstawie obliczeń metodą ΔSCF , która określa różnicę energii kompleksów porfiryn znajdujących się w stanie podstawowym i w stanie wzbudzonym, wykazano że dwa pierwsze potencjały jonizacyjne dla kompleksu Fe^{2+} -porfiryny w stanie podstawowym ${}^3\text{E}_g$, pochodzą z dwóch najwyżej obsadzonych π -orbitali, a ich wartości wynoszą odpowiednio 5,98 eV i 6,43 eV. Dla kompleksu Fe^{2+} -porfiryny, znajdującego się w podstawowym stanie

pośredniospinowym $^3A_{2g}$, uzyskano podobne wartości potencjałów jonizacyjnych (odpowiednio 5,9 eV i 6,3 eV) [224]. Porównując uzyskane wyniki obliczeń z danymi eksperymentalnymi, można dojść do wniosku, że metody *ab initio* przewartościwiają energie stanów wysokospinowych.

Dla kompleksu Fe(III)(P)(Cl), znajdującego się w stanie podstawowym $^6A_{1g}$, określono elektronowe przejścia absorpcyjne na podstawie metody INDO CI (*Intermediate Neglect of Differentia Overlap Configuration Interaction*). Zgodnie z tymi obliczeniami w paśmie Q kompleks Fe(III)(P)(Cl) ma najbardziej intensywny pik. Rozszczepienie pasma Soret, którego zakres oparty jest na czterech elektronowych przejściach absorpcyjnych, znajduje się pomiędzy 351 nm a 467 nm. Jednakże ze względu na wysokospinowy stan kompleksu Fe³⁺-porfiryny brak jest dozwolonych przejść typu $d \rightarrow d$ [225]. Przejścia takie dozwolone są w przypadku elektronowych przejść absorpcyjnych kompleksu Fe(II)(P) znajdującego się w podstawowym stanie $^3A_{2g}$. Obliczone wartości przejść elektronowych wskazują, że pasmo Q zlokalizowane jest przy długości fali 629 nm, natomiast centrum pasma Soret odpowiada długości fali 343 nm [226]. W obszarze UV-VIS obliczenia wskazują na dwa możliwe przejścia typu $d \rightarrow d$, a mianowicie $d_{xy} \rightarrow d_{\pi}$ (909 nm) i $d_{xy} \rightarrow d_{x^2-y^2}$ (521 nm).

Metodę INDO SCF wykorzystano do określenia stanów podstawowych i struktury elektronowej kompleksów Fe³⁺-porfiryn, o których wiadomo, że stan podstawowy jest kwantowo-mechanicznie mieszanym stanem $S=5/2, 3/2$ [227], co przykładowo obrazuje poniższa tabela 1.9:

Tabela 1.9. Wyniki obliczeń kompleksów Fe³⁺-porfiryn [227]

	Fe(TPP)Cl	Fe(OEP)Cl	Fe(OMTPP)Cl	Fe(OETPP)Cl	Fe(TPP)ClO ₄	Fe(OEP)ClO ₄	Fe(OETAP)Cl
S ₁ =5/2	100%	100%	65%	60%	35%	18%	0%
S ₂ =3/2	0%	0%	35%	40%	65%	82%	100%
ΔE(S ₁ -S ₂)	0,546 eV	0,512 eV	0,152 eV	0,082 eV	-0,165 eV	-0,195 eV	-0,412 eV
Δ ₀ (INDO)	3,98 eV	4,01 eV	5,09 eV	5,28 eV	5,04 eV	5,10 eV	5,10 eV
Δ ₀ (ETH)	2,49 eV	2,50 eV	2,65 eV	2,60 eV	3,20 eV	3,23 eV	3,36 eV
Δ _T (INDO)	0,85 eV	0,82 eV	2,67 eV	2,94 eV	2,92 eV	2,91 eV	2,54 eV
Δ _T (EHT)	1,26 eV	1,28 eV	1,41 eV	1,36 eV	2,13 eV	2,24 eV	2,46 eV
Symetria	C _{4v}	C _{4v}	C _{2v}	C _{2v}	C ₁ (C _{4v})	C ₁ (C _{4v})	C _{4v}

W przypadku kompleksów Fe³⁺-porfiryn, w stanie kwantowo-mechanicznie mieszanym, wzrost procentowego udziału części pośredniospinowej przejawia się

zmniejszaniem energetycznej przerwy pomiędzy stanem wysoko- i pośrednio-spinowym. Zwiększenie do ponad 50% udziału stanu pośrednio-spinowego ($S=3/2$), w kwantowo-mechanicznie mieszanym stanie spinowym kompleksów Fe^{3+} -porfiryn, skutkuje zwiększeniem przerwy energetycznej pomiędzy stanem wysokospinowym, a stanem pośrednio-spinowym stanowiącym teraz stan podstawowy [227]. Obliczenia wskazują dodatkowo, że wzrost udziału części pośrednio-spinowej w kwantowo-mieszanym stanie spinowym skutkuje wzrostem energetycznej przerwy pomiędzy orbitalami d_{xy} , a $d_{x^2-y^2}$ (Δ_0), co dobrze uwidacznia się w obliczeniach metodą EHT. W energetycznej przerwie pomiędzy orbitalami d_{z^2} , a $d_{x^2-y^2}$ (Δ_T) obserwuje się podobną korelację. Zgodnie z obliczeniami podnosi to stabilność stanu pośrednio-spinowego [227].

Bazując na różnych metodach, badania teoretyczne kompleksów Fe-porfiryn wykazały, że stan podstawowy kompleksu, jak również konfiguracja elektronowa oraz wynikające z nich właściwości fizyko-chemiczne są bardzo czułe na geometrię badanego kompleksu. Pełną jej optymalizację – dla każdego ze stanów spinowych, w jakich może znaleźć się badany kompleks – umożliwia zwiększająca się moc obliczeniowa komputerów.

Metoda DFT zyskuje obecnie coraz większą popularność i praktycznie zastąpiła kwantowo-chemiczne metody półempiryczne.

1.7.2.2. Teoria funkcjonału gęstości (DFT)

Powszechnie znana metoda Hartree–Focka (przybliżenie pola średniego) [228–230] nie uwzględnia korelacji ruchu elektronów. Dlatego też nie można przy jej pomocy wystarczająco dobrze opisać struktury elektronowej metali. Do opisu układów wieloelektronowych istnieje też konkurencyjne podejście, w którym podstawowe znaczenie odgrywa gęstość elektronowa [231]. Metoda DFT (*Density Functional Theory*) [212, 213, 232–234] to koncepcja, której twórcami są Kohn, Hohenberg, Sham i Mermin [235]. U jej podstaw leżą dwa twierdzenia sformułowane przez Hohenberga i Kohna [236]. Pierwsze z nich uzasadnia zastosowanie gęstości elektronowej jako podstawowego narzędzia chemii kwantowej. Drugie natomiast pozwala na sformułowanie zasady wariacyjnej dla gęstości elektronowych [237]. Podstawą jej przybliżania jest fakt, iż energia układu elektronów w stanie podstawowym może zostać wyrażona przez ich gęstość w tym stanie. Poznanie jej wartości, jak również zmian,

jakie mogą nastąpić pod wpływem różnego rodzaju czynników fizycznych, ukazuje rodzaje i naturę wiązań układów oraz wyjaśnia i uzasadnia zjawiska, jakie powstają. Praktyczną realizacją jest tu metoda Kohn–Shama [238], w myśl której oddziaływanie pomiędzy elektronami może być zastąpione nie tyle oddziałującymi wzajemnie elektronami, co ich oddziaływaniem z jądrami atomowymi oraz polem od pozostałych elektronów, które poruszają się w pewnym efektywnym potencjale (v_{eff}) [239].

Jednoelektronowe równanie Kohn–Shama: (szczegółowe wyprowadzenie znajduje się we wspomnianej pracy [231])

$$[-1/2\nabla^2 + v_{\text{eff}}(r)]\varphi_i(r) = \varepsilon_i\varphi_i(r) \quad (1.25)$$

pozwala na wyznaczanie orbitali, zwanych orbitalami Kohna–Shama, jak również odpowiadającej im energii własnej [240]. Najważniejszym jest tu wybór efektywnego potencjału (v_{eff}) w taki sposób, aby gęstość nieoddziałujących elektronów była zbliżona do gęstości elektronowej w układach rzeczywistych. Można to wyrazić równaniem:

$$v_{\text{eff}}(r) = v_{\text{ext}}(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' + v_{\text{xc}}(r) \quad (1.26).$$

Należy zauważyć, że potencjał v_{eff} uwzględnia oddziaływanie pomiędzy jądrami atomowymi a elektronem (v_{ext} np.), oddziaływanie kolumbowskie (co wyraża drugi człon powyższego równania) i potencjał koleracyjno-wymienny (v_{xc} np.). Potencjał ten jest podstawową wielkością metody DFT, która jest określona przez korelacyjno-wymienny funkcjonal gęstości (E_{xc}) następującym równaniem [241]:

$$V_{\text{xc}}(r) = \delta E_{\text{xc}} / \delta \rho, \quad (1.27)$$

przy czym istotnym jest fakt, że dla jednorodnego gazu elektronowego V_{xc} zależy od gęstości elektronowej, zaś dla gazu niejednorodnego zależy od gradientu gęstości [242].

Pierwsze obliczenia metodą funkcjonału gęstości, z pełną optymalizacją geometrii dla każdego stanu spinowego kompleksu Fe^{2+} -porfiry, używając przybliżenia lokalnej gęstości (LDA – *Local Density Approximation*) [243], wskazały, że stanem podstawowym jest stan tripletowy o symetrii 3E_g , leżący 0,06 eV poniżej pierwszego stanu wzbudzonego ${}^3A_{2g}$. Użycie przybliżenia nielokalnej gęstości (NLDA – *Nonlocal Density Approximation*), z poprawkami gradientowymi dla potencjałów korelacyjnego i wymiennego, które po raz pierwszy wprowadzili Sham, Herman, Van

Dyke i Ortenburger [244], wskazało na stan tripletowy $^3A_{2g}$ jako stan podstawowy kompleksu Fe^{2+} -porfiryny leżący 0,08 eV poniżej pierwszego stanu wzbudzonego $^2A_{2g}$ [243]. Uwzględnienie nielokalnych poprawek gradientowych do potencjału korelacyjnego – Lee–Yang–Parra (LYP) [245] i wymiennego – Becka (B) [244] nie zmieniło kolejności stanu podstawowego i kolejnych stanów wzbudzonych. Stan podstawowy 3E_g znajduje się o 0,19 eV poniżej pierwszego stanu wzbudzonego $^3A_{2g}$ i 1,52 eV poniżej pierwszego stanu wysokospinowego $^5A_{1g}$ [246]. Stosując te poprawki do potencjału korelacyjno-wymiennego (B3LYP) [245, 247] i używając funkcji bazowej w postaci funkcji Gaussa (GTO), określono długość wiązania Fe-N_p dla stanu podstawowego $^3A_{2g}$ wynoszącego 2,002 Å. Stwierdzono ponadto, że pojedyncze obsadzenie antywiążącego orbitalu $d_{x^2-y^2}$ nie wpływa w sposób znaczący na wzrost wyjścia jonu Fe^{2+} poza płaszczyznę porfiryнового pierścienia [243, 248]. Zastosowanie nielokalnych poprawek gradientowych dla potencjału korelacyjnego – Perdew [249] i wymiennego [250], przy optymalizacji pierścienia Fe^{2+} -porfiryny, skutkowało zwiększeniem długości wiązania Fe-N_p do 1,98 Å dla stanu tripletowego $^3A_{2g}$ [248]. Obliczenia DFT metodą Car–Parrinello [251, 252] wykazały ponadto, że w przypadku stanów nisko- i pośrednospinowych kompleksu Fe^{2+} -porfiryny, usytuowanych 0,64 eV powyżej stanu podstawowego, jon żelaza znajduje się w płaszczyźnie pierścienia porfiryny. W stanie wysokospinowym $^5A_{1g}$ z pojedynczo obsadzonym orbitalem antywiążącym $d_{x^2-y^2}$ jon żelaza znajduje się 0,08 Å powyżej płaszczyzny pierścienia porfiryny. Natomiast różnica energetyczna pomiędzy wysokospinowym stanem cząsteczki Fe^{2+} -porfiryny w symetriach C_{4v} i D_{4h} wynosiła jedynie 0,009 eV [248].

W przypadku kompleksów porfiryn skoordynowanych z jonem Fe^{3+} metoda DFT wydaje się dawać bardzo dobre parametry strukturalne. Należy jednak zauważyć, że przewartościowuje ona energię stanu pośrednospinowego. Ponadto zauważa wpływ orbitalu antywiążącego $d_{x^2-y^2}$ na wyjście jonu żelaza z płaszczyzny pierścienia porfiryny [253].

Metodą analogiczną, jak w pracach [254], uwzględniając różne poprawki relatywistyczne, zbadano teoretycznie kompleks $Fe(II)(P)$ w celu uzyskania lepszej zgodności wyników obliczeń z danymi eksperymentalnymi. Na bazie metody QR, jak również ZORA (*Zero-Order Regular Approximation*), porównano wyniki obliczeń

z uwzględnieniem efektów relatywistycznych i bez ich uwzględnienia [255]. Obliczono pierwszy potencjał jonizacyjny, wartość powinowactwa elektronowego, różnice energetyczne pomiędzy stanem podstawowym a pierwszym stanem wzbudzonym, jak również stanem podstawowym a pierwszym wzbudzonym stanem wysokospinowym oraz wartości długości wiązań Fe-N_p. Dokonując porównania obliczonych wartości z wartościami uzyskanymi na drodze eksperymentalnej, stwierdzono, że najlepsze wyniki daje użycie poprawek relatywistycznych dla elektronów walencyjnych przybliżeniem ZORA [256].

W ostatnich latach nastąpiło zwiększenie się zainteresowania zastosowaniem czasowo zależnej implementacji metody DFT–TDDFT do analizy widm absorpcyjnych. Metodą tą określono pochodzenie elektronowych przejść absorpcyjnych kompleksów porfiryn skoordynowanych między innymi z jonami cynku, niklu i magnezu [208] w bezmetalicznych związkach porfiryn [257], czy też w cynkowych kompleksach ftalocyjaniny, tetraazaporfiryny i tetrabenzoporfiryny [258].

Literatura dotycząca badań teoretycznych Fe-porfiryn z wykorzystaniem metody DFT jest dosyć obszerna, jednak tematyka większości prac koncentruje się na Fe²⁺- i Fe³⁺-porfirynach pięciokoordynacyjnych np. [259–261]. Ze względu na tematykę naszej pracy ograniczymy się do prac dotyczących teoretycznych badań DFT kompleksów sześciokoordynacyjnych.

Analizując zastosowanie metody DFT do badań Fe-porfiryn, należy zwrócić uwagę na opublikowany ostatnio przegląd [262], gdzie dokonano szczegółowej oceny jakości wyników obliczeń metodą DFT w porównaniu z metodami *ab initio*. Analizę przeprowadzono dla kompleksów Fe²⁺ i Fe³⁺ z różnymi ligandami osiowymi, w tym również w koordynacji sześciokrotnej, gdzie jednym z dwóch ligandów był imidazol, a drugim CO, NO lub O₂, a także dla modelu cytochromu *P-450*. Ogólny wniosek, wynikający z porównania tych dwóch technik obliczeniowych, jest taki, że chociaż metody *ab initio* dają nieco lepszą zgodność wyników, w niektórych przypadkach z danymi doświadczalnymi, to metody DFT, przy odpowiednim doborze funkcji bazowych i funkcjonałów, dają również zadawalającą zgodność z danymi doświadczalnymi przy prostszej i nie wymagającej zbyt zaawansowanej technice komputerowej oraz pozostają główną metodą badań teoretycznych, nie tylko metaloporfiryn. Kolejną pozycją godną uwagi, w której w szerokim zakresie badanych kompleksów Fe-porfiryn (cztero-, pięcio- i sześciokoordynacyjnych) zaprezentowano

możliwości metody DFT, jest praca [263]. Z kompleksów sześciokoordynacyjnych badano modelowy układ Fe^{2+} -porfiry z ligandem osiowym imidazolu z jednej strony porfiryнового pierścienia i O_2 z drugiej strony. Mechanizm przyłączenia i odłączenia tlenu molekularnego O_2 do pierścienia hemowego jest dosyć złożony przy rozpatrywaniu go w oparciu o strukturę elektronową. Zaproponowano już kilka modeli, lecz żaden z nich nie opisuje poprawnie wszystkich charakterystyk spektroskopowych i właściwości magnetycznych obserwowanych doświadczalnie. W szczególności metoda DFT zawyża energie wiązania O_2 -Fe w porfiryновym kompleksie. Autorzy pracy [263] zwracają uwagę na wpływ otoczenia, w szczególności histydyny dystalnej, w układach rzeczywistych, które nie są uwzględniane w badaniach teoretycznych. Podobna tematyka poruszana jest w pracy [264], gdzie badanych jest szereg kompleksów pięciokoordynacyjnych, gdzie ligandem osiowym jest imidazol i jego pochodne, w tym również histydyna oraz kompleksów sześciokoordynacyjnych, gdzie jednym ligandem były pochodne imidazolu, a drugim ligandem osiowym był O_2 . We wnioskach pracy podkreślono, że cząsteczka histydyny w badaniach teoretycznych może być zastąpiona prostszą strukturalnie cząsteczką imidazolu lub pochodną imidazolu (4-EtIm) zawierającą grupę etylową $-\text{C}_2\text{H}_5$ zamiast jednego z atomów wodoru. Odnośnie kompleksów sześciokoordynacyjnych zawierających O_2 wykazano, że energia wiązania Fe- O_2 w badanych kompleksach zależy od miejsca przyłączenia grupy CH_3 do pierścienia imidazolowego jako ligandu osiowego położonego z przeciwnej strony porfiryнового pierścienia. W pracy [265] teoretycznie badano kompleks Fe-porfiryны, gdzie do dwóch sąsiednich pirolowych pierścieni dołączone były grupy propionowe $\text{C}_2\text{H}_5\text{COO}^-$, a ligandami osiowymi były cząsteczki imidazolu. Przedmiotem badań było oddziaływanie pomiędzy grupami propionowymi i osiowymi ligandami imidazolu. W konkluzji pracy stwierdzono, że głównym czynnikiem wpływającym na orientację płaszczyzn pierścieni imidazolowych w kompleksie było elektrostatyczne oddziaływanie pomiędzy posiadającymi dodatni ładunek jonami wodoru w grupach NH imidazolowego pierścienia i ujemnie naładowanymi grupami propionowymi $\text{C}_2\text{H}_5\text{COO}^-$. Wpływ wzajemnej orientacji pierścieni imidazolowych w kompleksach Fe(II)(P)(Im)_2 i $[\text{Fe(III)(P)(Im)}_2]^+$ na strukturę elektronową całego kompleksu badano w pracy [266] metodą DFT. Stwierdzono, że zarówno w kompleksie Fe(II)(P)(Im)_2 , jak i $[\text{Fe(III)(P)(Im)}_2]^+$ bariera energetyczna powstająca przy obrocie pierścieni imidazolowych jest bardzo niewielka i nie ma jednego ustawienia

wynikającego z oddziaływania imidazolowych ligandów z porfirynewym pierścieniem, do którego przyłączone są tylko atomy wodoru. Ograniczenie w obrocie ligandów imidazolowych wynika więc tylko z oddziaływania tych ligandów z otoczeniem lub rozbudowanymi strukturalnie podstawnikami peryferyjnymi porfirynewego pierścienia. Podobna tematyka badań dotyczy pracy [267]. Autorzy koncentrują się na określeniu względnych wartości energii stanów nisko-spinowego ($S=0$) i wysokospinowego ($S=2$) kompleksu Fe(II)(P)(Im)_2 oraz stanów odpowiadających spinom $S=1/2$ i $S=5/2$ w kompleksie $[\text{Fe(III)(P)(Im)}_2]^+$, optymalizując dla każdego ze stanów geometrię metodą DFT z wykorzystaniem funkcjonału B3LYP. Ponadto w pracy [267] przeanalizowano obsadzenie elektronami d -orbitali jonów Fe w każdym z czterech rozpatrywanych stanów oraz obliczono parametry widm mössbauerowskich odpowiadające każdemu z tych stanów. Porównanie wyników obliczeń z dostępnymi w literaturze danymi doświadczalnymi, odnoszącymi się do badań rentgenostrukturalnych i mössbauerowskich kompleksów możliwie bliskich strukturalnie, wskazuje na dosyć dobrą zgodność pomiędzy teorią i eksperymentem.

Istotnym zagadnieniem związanym z badaniem elektronowej struktury kompleksów sześciokoordynacyjnych jest deformacja porfirynewego pierścienia wywołana wzajemną orientacją ligandów osiowych. W pracy [268] analizowana jest elektronowa struktura kompleksów sześciokoordynacyjnych, zawierających ligandy pirydyny i jej pochodnych $[\text{Fe(III)(P)(Py)}_2]^+$ w dwóch stanach odpowiadających konfiguracjom elektronowym $(d_{xz}, d_{yz})^3 (d_{xy})^2$ i $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$, z uwzględnieniem deformacji porfirynewego pierścienia. Autorzy formułują pytanie dlaczego wyniki badań doświadczalnych kompleksów sześciokoordynacyjnych wskazują na znaczną deformację porfirynewego pierścienia w przypadku Fe^{3+} -porfirynewego i niewielką deformację w przypadku Fe^{2+} -porfirynewego, jednak w pracy [268] ograniczają się tylko do badań $[\text{Fe(III)(P)(Py)}_2]^+$. W konkluzji badań jest zawarta sugestia, że w przypadku konfiguracji $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$, której odpowiada większa deformacja niż w przypadku konfiguracji $(d_{xz}, d_{yz})^3 (d_{xy})^2$, może następować przekrywanie orbitalu d_{xy} jonu Fe^{3+} z orbitalem a_{2u} porfirynewego ligandu oraz stosunkowo mały promień jonowy jonu Fe^{3+} w stanie $S=1/2$. Pierwszy z wymienionych powyżej powodów wydaje się być raczej skutkiem a nie przyczyną deformacji, zaś drugi powód wymagałby szerszego uzasadnienia. W pracy [269] autorzy analizują związek deformacji porfirynewego pierścienia z parametrami widm NMR ^1H i ^{13}C oraz g -tensorem w widmach EPR.

Badania przeprowadzono na bazie modelu struktury cytochromu *c*, zmierzając do ustalenia zależności pomiędzy deformacją makrocyklu porfiryнового a transportem elektronów zachodzących z udziałem cytochromów. Ligandami osiowymi były z jednej strony histydyna a z drugiej strony, zawierająca siarkę, grupa metioninowa. W pracy wskazano na dobrą zgodność pomiędzy parametrami NMR i EPR, a obliczeniami DFT uwzględniającymi deformację porfiryнового pierścienia typu „ruffling”.

Wykorzystanie metody DFT do obliczeń parametrów widm spektroskopowych rozpatrywane jest jeszcze w wielu innych pracach, np. [132, 188, 270, 271], gdzie autorzy wskazują na stosunkowo dobrą zgodność obliczoną metodą DFT i doświadczalnych parametrów w takich metodach jak EPR (tylko spin $S=1/2$), spektroskopia Mössbauera, NMR – głównie w odniesieniu do diamagnetycznego kompleksu Fe^{2+} , $S=0$.

Badania teoretyczne są niezbędnym uzupełnieniem badań doświadczalnych, w szczególności przy wyjaśnianiu subtelnych aspektów struktury elektronowej. W zależności od zastosowanej metody i parametryzacji badania te dają różniące się wyniki, co związane jest przede wszystkim z przybliżonym charakterem obliczeń kwantowo-mechanicznych oraz strukturalną różnorodnością badanych układów, w szczególności w odniesieniu do ligandów osiowych.

Podsumowanie przeglądu literaturowego

Omówione w przeglądzie literatury wyniki badań doświadczalnych i teoretycznych sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-porfiryn są dosyć rozproszone i niejednoznaczne, a dane uzyskiwane w poszczególnych pracach są korelowane w najlepszym przypadku w zakresie dwóch metod doświadczalnych (NMR i EPR, EPR i Mössbauer), czasami w połączeniu z danymi uzyskanymi teoretycznymi metodami. Brak jest dotychczas kompleksowego opracowania uwzględniającego szerszy krąg metod doświadczalnych skorelowanych z badaniami teoretycznymi.

Duża różnorodność możliwych konfiguracji elektronowych w kompleksach Fe-porfiryn sprawia, że ich widma spektroskopowe są stosunkowo trudne do jednoznacznej interpretacji, dlatego też należy stosować szerszy krąg metod badawczych oraz szukać korelacji pomiędzy danymi otrzymanymi z różnych metod.

Na podstawie przedstawionego przeglądu literatury można stwierdzić, że dane dotyczące charakterystyk spektroskopowych są dosyć rozproszone w takim sensie, iż

odnoszą się do różnych ligandów porfiryńowych, różnych ligandów osiowych, różnych temperatur, różnych rozpuszczalników i dlatego są trudne do porównania, do wyciągnięcia jednoznacznych wniosków. Nasze badania odnoszą się do jednego ligandu porfiryńowego Fe(OEP), dla fazy stałej i ciekłej, przy czym porównywanie wyników między metodami odbywało się w miarę możliwości dla samego rozpuszczalnika lub rozpuszczalników o zbliżonej strukturze molekularnej. W analizie danych uwzględniane były również możliwości zmiany konfiguracji elektronowej w badanych kompleksach wraz ze zmianą temperatury.

Cel pracy

W przypadku kompleksów o złożonej strukturze molekularnej i elektronowej, takich jak sześciokoordynacyjne kompleksy Fe-porfiryn, uzyskanie jednoznacznych wyników dodatkowo utrudnione jest ze względu na stany wzbudzone o energiach bardzo bliskich energii stanu podstawowego, co może prowadzić do mieszania się tych stanów zarówno termicznego jak i kwantowo-mechanicznego, na skutek subtelnych zmian struktury molekularnej. Z tego powodu wskazane jest prowadzenie badań próbek, otrzymanych z jednej syntezy danego kompleksu, stosując możliwie szeroki wachlarz metod doświadczalnych, w połączeniu z badaniami teoretycznymi.

Głównym celem niniejszej pracy było zbadanie zależności pomiędzy strukturą molekularną a elektronową trzech sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-oktaetyloporfiryny, jako modeli cytochromów z grupy *b*, ze szczególnym uwzględnieniem wpływu ligandów osiowych, takich jak imidazol, histydyna i β -pikolina, na konfigurację elektronową jonów żelaza Fe^{3+} , a przez to również na właściwości magnetyczne tych kompleksów.

Kompleksy Fe-porfiryn z ligandami imidazolu były wcześniej wielokrotnie badane, chociaż w układach o różnej strukturze porfiryнового pierścienia, natomiast dane literaturowe dla Fe-porfiryn z histydyną i β -pikoliną są praktycznie szczątkowe. W modelowaniu biologicznych białek hemowych zawierających histydynę, zarówno w przypadku badań doświadczalnych jak i teoretycznych, stosuje się najczęściej Fe-porfiryny z ligandami imidazolu i jego pochodnymi o strukturze prostszej niż histydyna, chociaż wydawałoby się bardziej uzasadnionym wykorzystywać Fe-kompleksy z ligandami histydyny. W przypadku metod doświadczalnych model Fe-porfiryn z histydyną nie był stosowany głównie ze względu na trudności w syntezie oraz z uwagi na niestabilną strukturę molekularną tego typu kompleksów. W przypadku badań teoretycznych model imidazolowy stosuje się ze względu na stosunkowo rozbudowaną strukturę cząsteczki histydyny w porównaniu z imidazolem i związane z tym zwiększone trudności obliczeniowe. Rozbudowane strukturalnie podstawniki peryferyjne, przyłączone w histydynie do pierścienia imidazolu, ograniczają jego obrót wokół wiązania Fe-N_L i wzajemną orientację ligandów histydyny, co wpływa na deformację porfiryнового ligandu i konfigurację elektronową jonu Fe^{3+} . Odnośnie β -pikoliny, posiadającej pierścień pirydynowy, brak jest kompleksowych danych dotyczących struktury elektronowej. Dostępnym ograniczone dane literaturowe dla

sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-porfiryn z ligandami pirydyny wskazują na nietypowe, interesujące charakterystyki spektroskopowe tego typu kompleksów.

Aby wyodrębnić wpływ ligandów osiowych na strukturę elektronową jonu Fe^{3+} , badania doświadczalne i część badań teoretycznych wykonano dla tego samego porfiryнового ligandu, tworzącego w połączeniu z żelazem kompleks Fe-oktaetyloporfiryny. Kompleks zawierający imidazol, jako ten o stosunkowo dobrze ustalonej strukturze molekularnej i elektronowej, został wybrany jako układ referencyjny dla badań pozostałych dwóch kompleksów. Kompleks z ligandami histydyny został wybrany pod kątem wykorzystania go jako strukturalnie bliższego modelu w badaniach biologicznych procesów zachodzących z udziałem cytochromów z grupy *b*, natomiast kompleks z β -pikoliną – jako przedstawiciel Fe-porfirynowych kompleksów sześciokoordynacyjnych z perspektywą na potencjalne możliwości zastosowań w technologiach przemysłowych.

2. *Struktura molekularna, synteza badanych kompleksów, procedury badań doświadczalnych i parametry obliczeń teoretycznych*

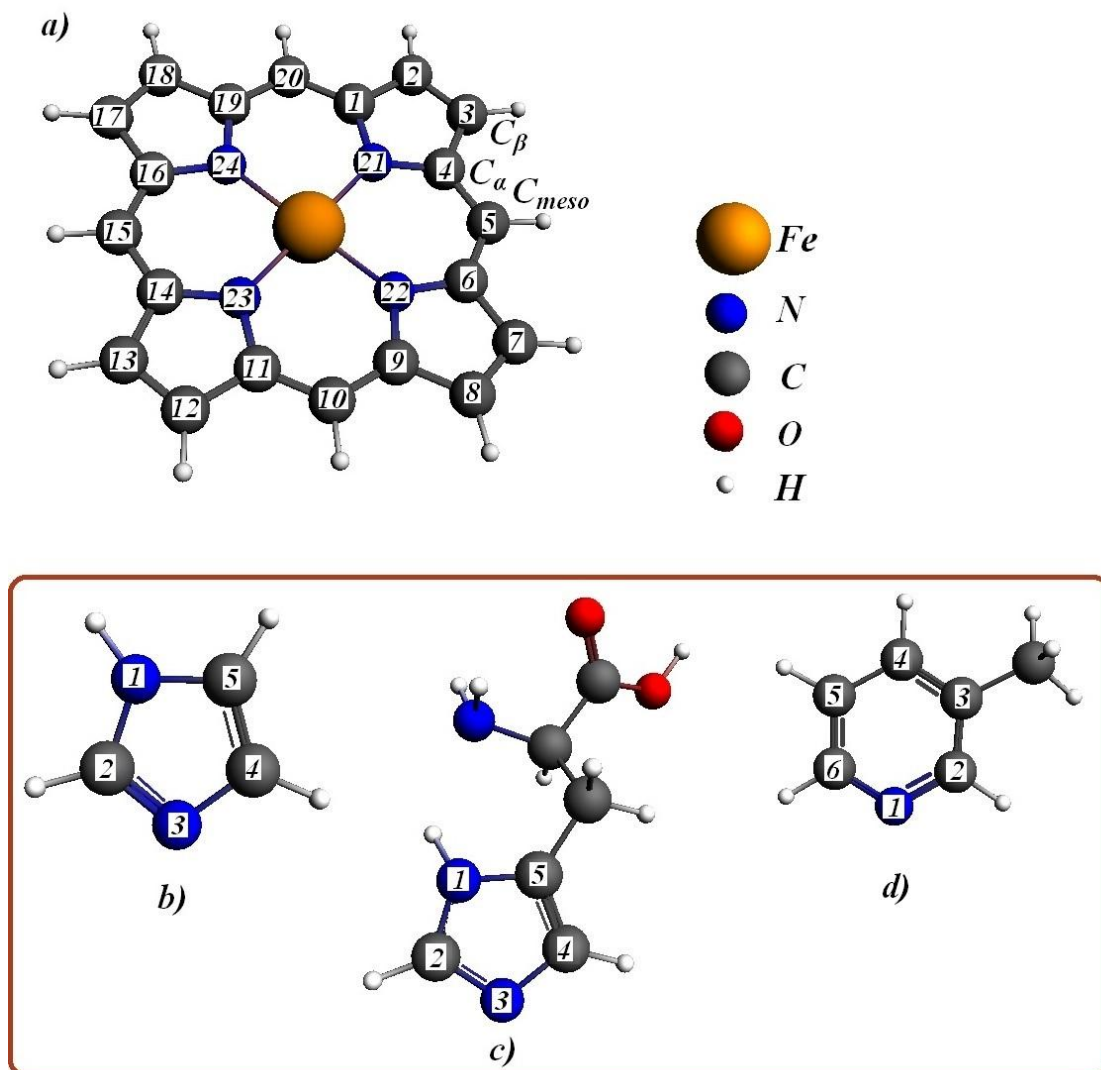
Badane przez nas kompleksy Fe(OEP) z ligandami osiowymi imidazolu, histydyny i β -pikoliny cechują się specyficznymi właściwościami fizyko-chemicznymi, a przez to wymagającymi zastosowania szerszego kręgu metod doświadczalnych oraz korelacji z kwantowo-mechanicznymi obliczeniami. Odnosi się to w szczególności do kompleksów zawierających histydynę i β -pikolinę. Kompleksy zawierające histydynę są bardzo trudne do otrzymania i badania z uwagi na słabą rozpuszczalność histydyny w rozpuszczalnikach organicznych oraz niestabilną strukturę molekularną. Kompleksy z β -pikoliną cechują się nietypowymi charakterystykami spektroskopowymi i właściwościami magnetycznymi. Korelacja wyników badań doświadczalnych z wynikami obliczeń teoretycznych pozwala uzyskać w miarę kompletny obraz struktury molekularnej i elektronowej tego typu sześciokoordynacyjnych Fe-porfiryn.

W niniejszym rozdziale opisana jest struktura molekularna i procedury syntezy, metodyka badań doświadczalnych z użyciem takich metod jak spektrometria mas, NMR, EPR, spektroskopia Mössbauera, elektronowa spektroskopia absorpcyjna, a także parametry i wyniki obliczeń DFT w odniesieniu do struktury elektronowej, które zostały przeprowadzone z wykorzystaniem programu ADF (*Amsterdam Density Functional*).

2.1. *Struktura molekularna i nomenklatura*

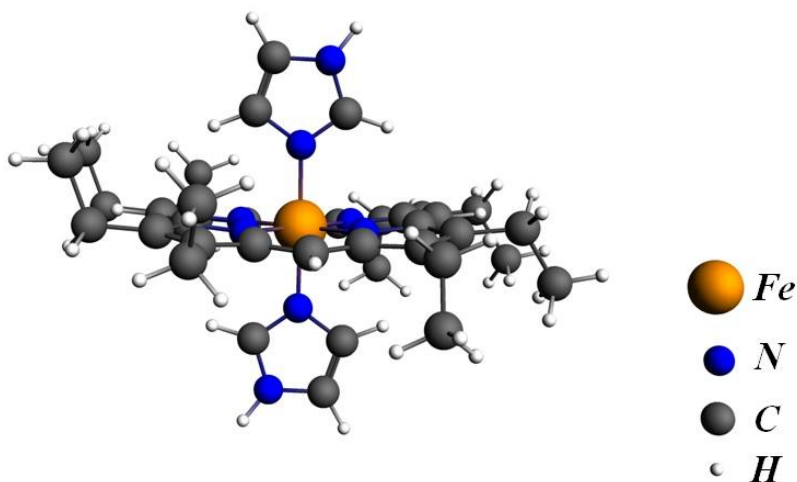
Struktura molekularna Fe-porfiryn może być modyfikowana na wiele sposobów. Jednym z nich jest przyłączenie dwóch ligandów osiowych do jonu żelaza. Kompleksy Fe-porfiryn zaliczane są najczęściej do grupy związków bionieorganicznych.

Kompleks z imidazolem $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ pełni rolę wzorca, do którego porównywane są wyniki badań kompleksów z histydyną i β -pikoliną. Strukturę molekularną, oddzielnie Fe(OEP) i ligandów osiowych, wraz z numeracją atomów przedstawiono na rys. 2.1. Strukturę badanych kompleksów Fe(OEP), w połączeniu z ligandami osiowymi, przedstawiono na rys. 2.2, 2.3 i 2.4. Kompleks Fe(OEP) (w polskiej nomenklaturze IUPAC to 2,3,7,8,12,13,17,18-(oktaetyloporfiryno)-żelazo(III)) stanowi rdzeń, do którego przyłączone są ligandy osiowe.



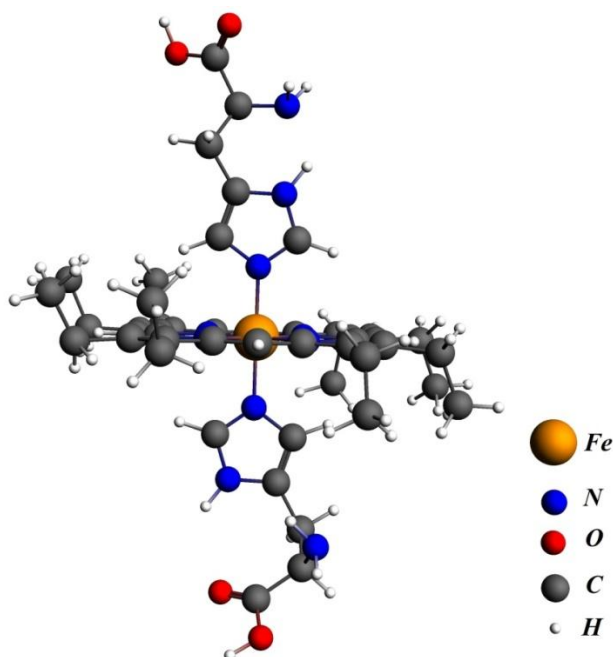
Rys. 2.1. Struktura i przyjęte w pracy oznaczenia atomów: pierścienia Fe^{3+} -porfiryny (a), ligandów osiowych: imidazolu (b), histydyny (c), β -pikoliny (d)

Cząsteczka imidazolu to pięcioczłonowy układ heterocykliczny (1,3-diazol). Kompleksy Fe-porfiryn z dwoma pierścieniami imidazolu stanowią prostsze układy modelowe – głównie cytochromów *b*, które w organizmie ludzkim i zwierzęcym odpowiedzialne są za transport ładunków elektrycznych, towarzyszący przebiegowi skomplikowanych procesów biologicznych. Pierścień porfirynewy z jonem żelaza w centralnym położeniu naśladuje strukturę hemu, natomiast pierścienie imidazolu są zasadniczym elementem struktury histydyny. Ponieważ w procesach tych główną rolę odgrywa jon żelaza, znajomość jego struktury elektronowej, która zależy od rodzaju i ilości połączonych z nim ligandów, ma istotne znaczenie dla zrozumienia ważnych dla życia procesów na poziomie molekularnym.



Rys. 2.2. Struktura molekularna $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ dla równoległej wzajemnej orientacji pierścieni imidazolowych

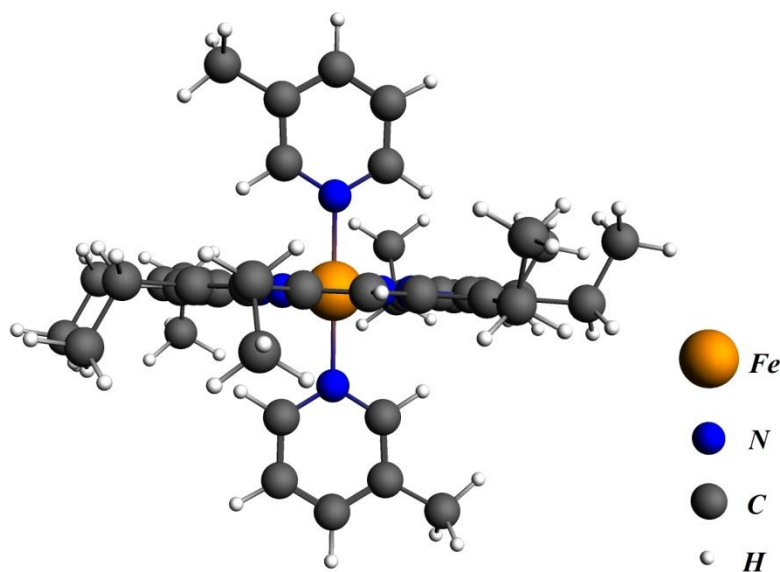
Głównym centrum wielu reakcji biochemicznych, zachodzących w procesie oddychania z udziałem białek hemowych, jest jon żelaza w hemie połączony z histydyną. W białkach hemowych jeden albo obydwaj ligandy osiowe mają strukturę histydyny. Orientacja ligandów osiowych histydyny w stosunku do pierścienia hemowego określana jest przez połączone lub sąsiadujące z hemem łańcuchy białkowe.



Rys. 2.3. Struktura molekularna sześciokoordynacyjnego kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ z ligandami osiowymi w postaci histydyny

Cząsteczka β -pikoliny (*meta*-pikoliny) stanowi podstawiony sześcioczłonowy pierścień heteroaromatyczny. Jest to pochodna pirydyny (3-metylopirydyna). Kompleks

β -pikoliny z żelazem (rys. 2.4) jest bardzo interesujący z uwagi na nietypowe charakterystyki spektroskopowe i magnetyczne.



Rys. 2.4. Struktura molekularna sześciokoordynacyjnego kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ z ligandami osiowymi w postaci β -pikoliny

2.2. *Synteza badanych kompleksów*

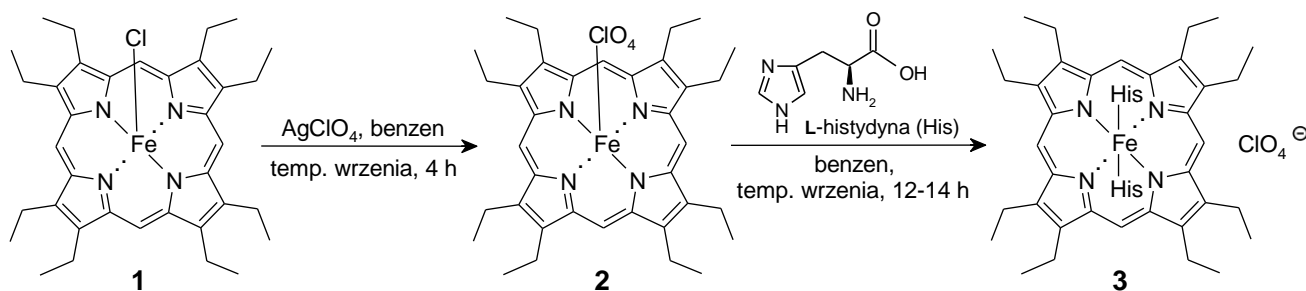
Związki potrzebne do badań doświadczalnych można często albo kupić, albo uzyskać w laboratoriach, albo – jeśli są opisane w literaturze – otrzymać według znanych procedur [272], jak w przypadku danej pracy.

Kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ został otrzymany z $\text{Fe(III)(OEP)(ClO}_4)$ zgodnie z procedurą opisaną w pracy [180]. Wyjściowy kompleks $\text{Fe(III)(OEP)(ClO}_4)$ i imidazol zostały zakupione w firmie Aldrich Chemical Co. Syntezę kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ wykonano w podobny sposób, tylko z użyciem β -pikoliny zamiast imidazolu. Synteza kompleksów $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ została zrealizowana na zamówienie w Instytucie Fizyki Białoruskiej Akademii Nauk w Mińsku. Produkty syntezy weryfikowano za pomocą analizy elementarnej. Otrzymano następujące wyniki: $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ – C, 61,84; H, 6,64; N, 13,35%, obliczone: C, 61,20; H, 6,36; N, 13,59%; $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ – C, 65,48; H, 6,73; N, 9,39%, obliczone: C, 65,94; H, 6,69; N, 9,61%).

Syntezę kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ przeprowadzono w Zakładzie Syntezy Organicznej Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, przy współpracy z dr Agnieszką Mikus. Synteza kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ nie mogła być przeprowadzona w sposób podobny jak w przypadku dwóch pierwszych

kompleksów z uwagi na to, że histydyna bardzo słabo rozpuszcza się w niepolarnych rozpuszczalnikach organicznych.

Pochodna z naturalnym aminokwasem L-histydyną, mającą dwie dodatkowe grupy funkcyjne, w porównaniu z imidazolem ani nie została opisana, ani nie dawała się otrzymać na podstawie przepisów opracowanych dla związków podobnych. Niewątpliwie wiąże się to z możliwością koordynowania przez jon żelaza Fe^{3+} , oprócz atomu azotu z pierścienia imidazolowego, także atomu azotu z reszty NH_2 , czy też atomu tlenu z grupy karboksylowej COOH części aminokwasowej. Gdyby te wszystkie drogi reagowania miały się realizować, lista produktów byłaby długa, przy czym większość z nich stanowiłaby nieprzydatne produkty mieszane. Nakreślony schemat przekształceń zmierzających do pożądanego produktu przedstawiony jest niżej.



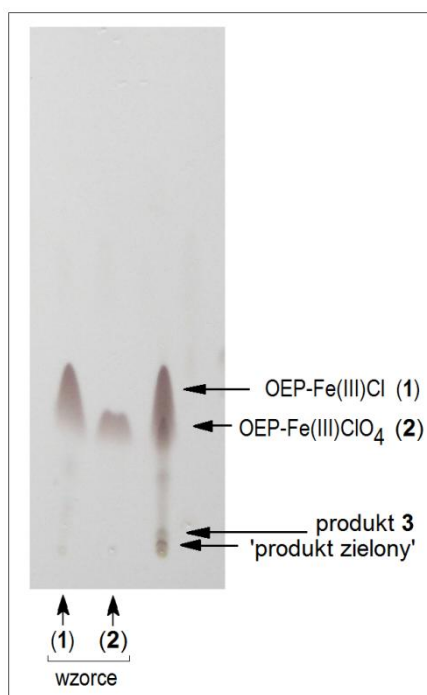
Rys. 2.5. Schemat syntezy kompleksu $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{His})_2]^+$

Nawiązanie współpracy z Zakładem Syntezy Organicznej Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach pozwoliło mi aktywnie uczestniczyć w procesie syntezy tego kompleksu. Wyniki reakcji były kontrolowane za pomocą chromatografii TLC (cienkowarstwowa chromatografia cieczowa; ang. *Thin Layer Chromatography*). Początkowo zachodził głównie rozkład reagentów i tworzących się produktów. Na płytkach TLC nie obserwowano plamek pochodzących od jakiegokolwiek nowego zdefiniowanego produktu.

W trakcie opracowywania właściwej procedury syntezy wykonanych było wiele eksperymentów obejmujących zmianę rozpuszczalnika: chlorek metylenu, chloroform, benzen, sulfolan; zmianę temperatury: od temperatury pokojowej do $200\text{ }^\circ\text{C}$; różny czas reakcji: od 10 godzin do 5 dni. Z czasem udało się uzyskać pewną powtarzalność reakcji i zaobserwowano tworzenie się niewielkich ilości dwóch barwnych związków: zielonego i czerwono-brunatnego. Z racji bardzo zbliżonych wartości współczynników opóźnienia R_f (w różnych układach rozwijających) okazało się, że rozdzielanie tych

związków było niemożliwe na kolumnie chromatograficznej. Udało się jednak rozseparować je za pomocą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej. W tym przypadku ograniczeniem była bardzo mała skala reakcji, której produkty można potem wyodrębnić w ten sposób (kilka miligramów). Jednakże perspektywa zidentyfikowania tych produktów zdecydowanie przesłaniała trudności. Płytką ilustrującą przebieg syntezy jest przedstawiona na rys. 2.6.

Pierwsza naniesiona plamka (1) stanowi substrat Fe(III)(OEP)(Cl) . Drugie naniesienie to nadchloran $\text{Fe(III)(OEP)(ClO}_4\text{)}$ (produkt pośredni po wymianie ligandów). I wreszcie naniesienie nr 3 to obraz reakcji. Jak widać stopień konwersji jest niewielki, ale jest to sytuacja końcowa, najbardziej optymalna. W tym momencie należało reakcję przerwać, ponieważ dalsze ogrzewanie prowadziło do rozkładu reagentów.



Rys. 2.6. Płytką TLC obrazująca przebieg syntezy

Po wyodrębnieniu produktów (układ rozpuszczalników: chloroform/metanol, 10:1; trzykrotne rozwinięcie) otrzymane niewielkie ilości nowych kompleksów poddano badaniom metodami spektroskopowymi (^1H NMR, EPR, spektroskopia UV-Vis, spektrometria mas) oraz badaniom magnetycznym. Szczegółowa dyskusja tych wyników jest przedstawiona w rozdziale III i IV.

Okazało się, że produkty, mimo że są na płycie TLC jednopłamkowe, nie są całkowicie jednorodne. Produktowi o barwie zielonej nie udało się przypisać struktury. Natomiast badanie produktu czerwono-brunatnego dało pożądane rezultaty, chociaż okazał się on bardzo nietrwały w fazie ciekłej. Ponadto ustalono, że jest to frakcja więcej niż jednego związku. Widmo ^1H NMR, oprócz sygnałów od $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$, zawiera sygnały wskazujące na obecność niewielkich ilości wolnej histydyny. Niniejszy fakt da się wytłumaczyć w ten sposób, że ligandy histydynowe są labilne i mogą stosunkowo łatwo odłączać się od kompleksu **3**.

Wprawdzie z małą wydajnością (poniżej 5%), ale najważniejsze, że kompleks **3** w ogóle udało się otrzymać. Należy to uznać za cenne osiągnięcie i jednocześnie zadowalające rozwiązanie problemu syntezy kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$.

2.2.1. Szczegółowy opis procedury syntezy kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$

Wszystkie eksperymenty prowadzono w kolbie zabezpieczonej przed światłem folią aluminiową. Postęp reakcji kontrolowano na płytkach do chromatografii cienkowarstwowej TLC. Powstałe produkty i mieszaniny poreakcyjne rozdzielano i oczyszczano, stosując cienkowarstwową chromatografię TLC na płytkach preparatywnych (silica gel 60 F₂₅₄, 2 mm). Do syntezy chemicznej użyto następujących odczynników: Fe(III)(OEP)(Cl) firmy PorphyChem SAS; bezwodny nadchloran srebra AgClO₄ firmy ALFA; L-histydyna firmy Sigma Aldrich. Stosowane rozpuszczalniki handlowe cz.d.a., tj. chloroform (CHCl₃), metanol (CH₃OH) i benzen (C₆H₆) nie wymagały dalszego oczyszczania.

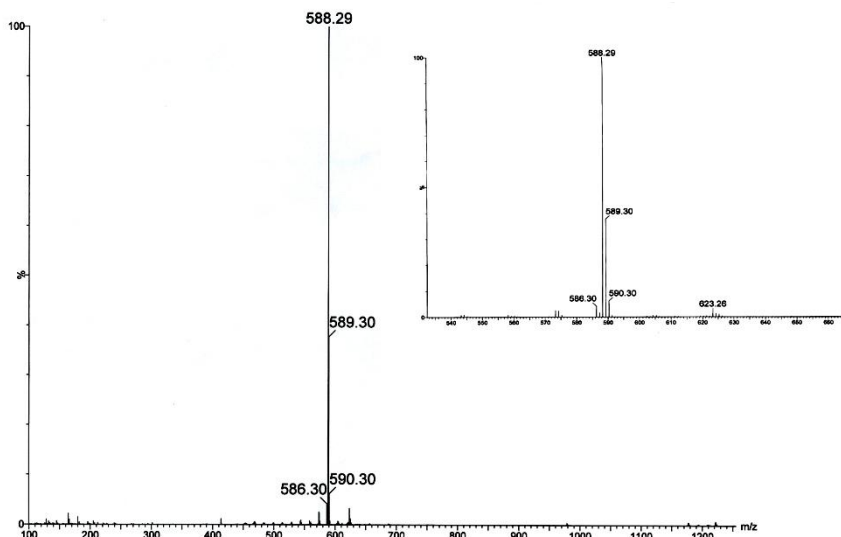
Synteza $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$

W kolbie okrągłodennej o pojemności 10 ml przygotowano roztwór Fe(III)(OEP)(Cl) (23,2 mg, 0,037 mmol) w 5 ml benzenu, do którego dodano nadchloran srebra AgClO₄ (40,6 mg, 0,20 mmol). Mieszaninę reakcyjną ogrzewano pod chłodnicą zwrotną do wrzenia benzenu (w atmosferze argonu) przez 4 h. Następnie dodano L-histydynę (103 mg, 0,66 mmol) i w dalszym ciągu ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 12–14 godzin. Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej na płycie TLC (eluent: chloroform/metanol, 10:1). Po tym czasie mieszaninę poreakcyjną ochłodzono do temperatury pokojowej i odsączono stałą pozostałość, przemywając ją chloroformem (5 ml). Otrzymany roztwór zatężono na

wyparce rotacyjnej i poddano rozdzielowi za pomocą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej, stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników chloroform/metanol (10:1). Płytkę preparatywną rozwijano w tym układzie trzykrotnie. Otrzymano z jednej płytki 1,4 mg właściwego produktu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ o zabarwieniu czerwono-brunatnym (wydajność, ok. 4%) oraz 0,7 mg frakcji o zabarwieniu zielonym (związek o niezidentyfikowanej strukturze). Odzyskano również 15,2 mg nieprzereagowanego $\text{Fe(III)(OEP)(ClO}_4\text{)}$.

2.2.2. Weryfikacja struktury kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$

W przypadku kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ nie było możliwe wykonanie analizy elementarnej z uwagi na domieszkę w próbce produktów rozpadu tego kompleksu. Dlatego przy określaniu struktury bazowano głównie na widmach $^1\text{H NMR}$, dzięki którym potwierdzono również strukturę pozostałych dwóch kompleksów (rozd. III). Podjęto także próby potwierdzenia struktury za pomocą spektrometrii mas (MS). Widma MS zarejestrowano w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie na spektrometrze MaldSYNAPT G2-S HDMS (Waters). Jest to hybrydowy spektrometr najnowszej generacji o trzyczęściowej komorze zderzeń. Widma były rejestrowane w trybie jonów dodatnich techniką elektrospreju. Parametry źródła były optymalizowane tak, aby otrzymać maksymalną intensywność sygnału analizowanego związku. Rozpuszczalnikiem był CH_2Cl_2 . Jednak w przypadku każdego z trzech badanych kompleksów ligandy osiowe odrywały się w trakcie jonizacji i uzyskano takie same widma dla badanych kompleksów, odpowiadające strukturze jonu $[\text{Fe(III)(OEP)}]^+$ ($m/z=588,29$, rys. 2.7). Na wstawce rys. 2.7 widoczny jest pik małej intensywności $m/z=623,26$ odpowiadający domieszce Fe(OEP)(Cl) – substratu użytego w syntezie.



Rys. 2.7. Widmo MS kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ przy jonizacji metodą „elektrosprej”. Wstawka w prawym górnym rogu odpowiada rozciągniętej skali z zakresu 540–660 m/z

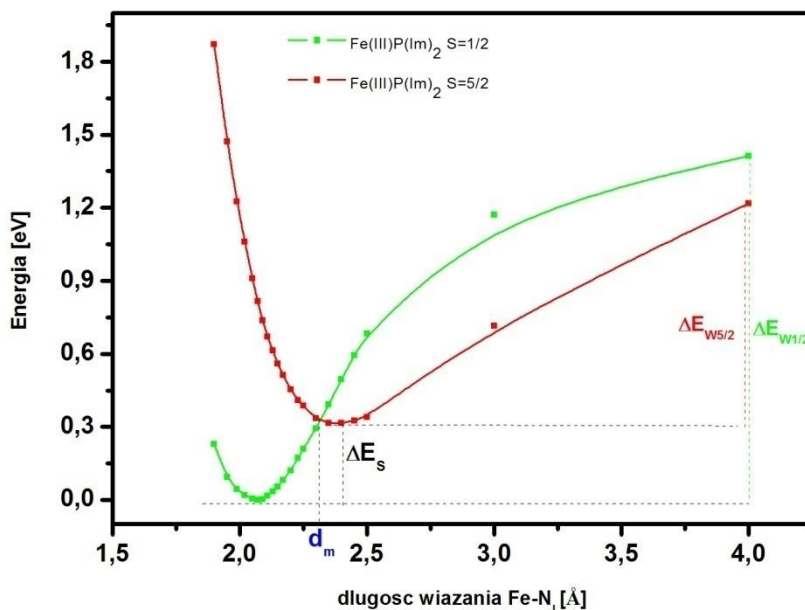
Odrywanie ligandów osiowych w trakcie badań z użyciem spektrometrii mas było dla mnie zachętą do podjęcia badań zmierzających do oszacowania energii wiązania Fe-N_L (gdzie N_L jest atomem azotu ligandu osiowego) na podstawie obliczeń DFT w programie ADF.

2.3. *Energia wiązania ligandów osiowych*

Obliczenia energii wiązania wykonano na dwa sposoby: 1) obliczono energię całkowitą kompleksu z dwoma ligandami osiowymi ($E_{\text{KL}2}$), następnie energię kompleksu z jednym ligandem ($E_{\text{KL}1}$) i oddzielnie energię samego oderwanego ligandu osiowego $E_{\text{L}1}$ i z zależności:

$$E_{\text{W}} = E_{\text{KL}2} - (E_{\text{KL}1} + E_{\text{L}1}) \quad (2.1)$$

obliczono energię E_{W} wiązania Fe-N_L . 2) obliczano energię całkowitą kompleksu $E_{\text{KL}2}$ dla zmieniającej się długości wiązań Fe-N_L z zakresu 1,95–5,0 Å i na podstawie graficznie przedstawionej zależności $E_{\text{KL}2} = f(\text{Fe-N}_L)$ (rys. 2.8) określano energię wiązania. Wartości energii wiązań Fe-N_L przedstawiono w tabeli 2.1. W podobny sposób jak dla kompleksu z imidazolem określono parametry dla pozostałych dwóch kompleksów na podstawie rys. 2.9 i 2.10 (podane w tabeli 2.1).

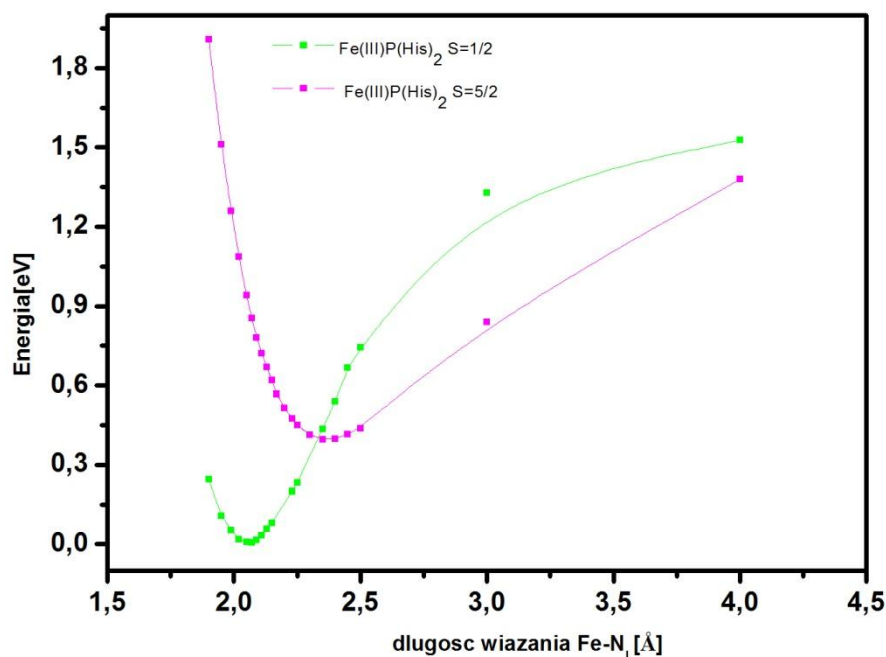


Rys. 2.8. Wykresy zależności energii określonej względem minimalnej wartości dla kompleksu $[\text{Fe(III)(P)(Im)}_2]^+$, $S=1/2$, od długości wiązania Fe-N_L . $\Delta E_{w1/2}$ i $\Delta E_{w5/2}$ oznaczają energie wiązań dla $S=1/2$ i $S=5/2$, ΔE_s – różnica pomiędzy minimalnymi wartościami energii dla $S=1/2$, $S=5/2$, d_m – długość wiązania Fe-N_L , odpowiadająca równowadze stanów spinowych $S=1/2$, $S=5/2$

Tabela 2.1. Parametry struktury określone na podstawie rys. 2.8–2.10

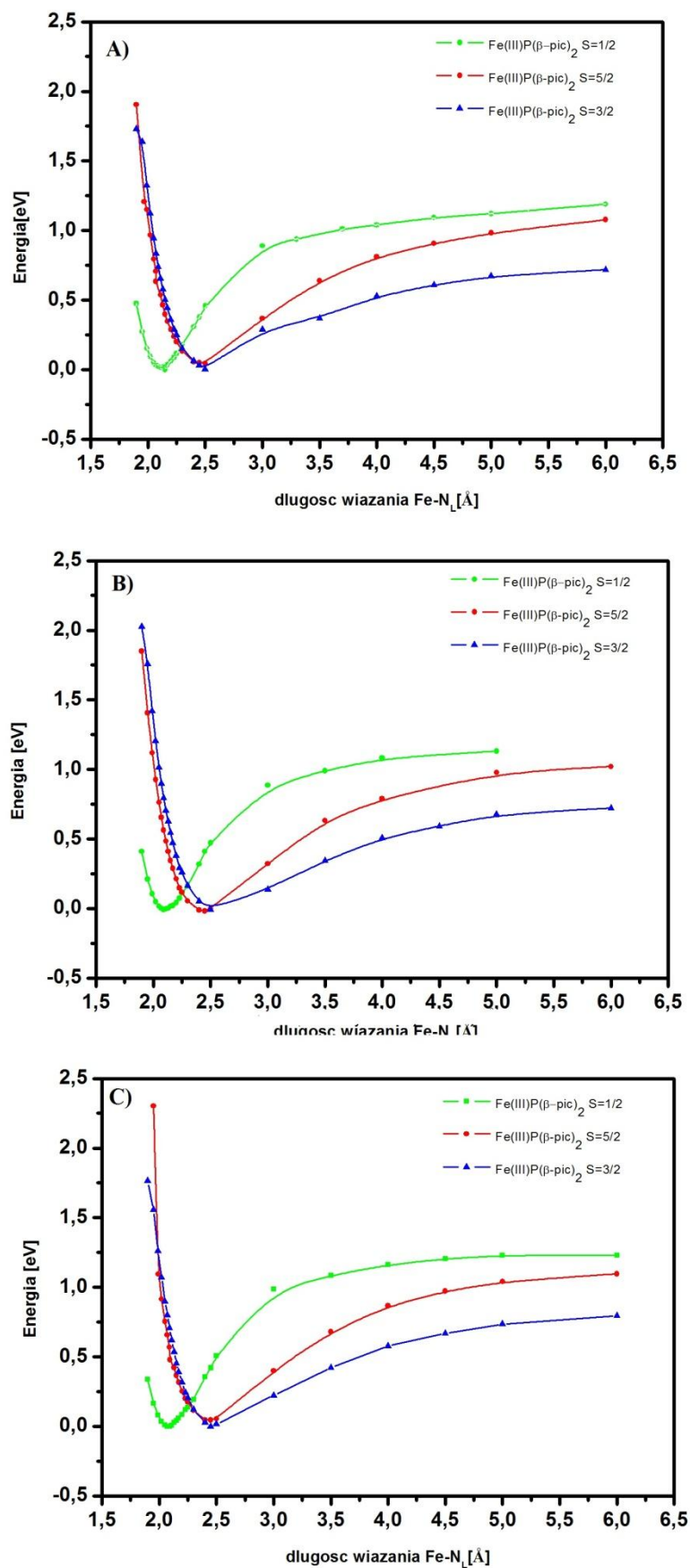
Kompleks	Kąt pomiędzy płaszczyznami ligandów osiowych [deg]	Różnica energii pomiędzy stanami $S=5/2$ i $S=1/2$ [eV]	Długość wiązania Fe-N_L odpowiadająca równowadze stanów $S=1/2$ i $S=5/2$ [Å]	Energia wiązania Fe-N_L [eV]	
				Metoda 1 *)	Metoda 2
$[\text{Fe(III)(P)(Im)}_2]^+$	0	0,318	2,312	1,129	1,413
$[\text{Fe(III)(P)(His)}_2]^+$	90	0,392	2,335	1,291	1,522
$[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$	0	0,031	2,285	0,956	1,492 ($S=1/2$) 1,028 ($S=5/2$)
$[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$	55	-0,023	2,258	0,978	1,117 ($S=1/2$) 1,032 ($S=5/2$)
$[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$	90	0,046	2,266	0,985	1,230 ($S=1/2$) 1,049 ($S=5/2$)

*) E_w w metodzie 1 określono jako różnicę bezwzględnych wartości energii całkowitych



Rys. 2.9. Wykresy zależności energii określonej względem minimalnej wartości dla kompleksu $[\text{Fe}(\text{III})(\text{P})(\text{His})_2]^+$

W obydwu przypadkach energia potrzebna na oderwanie pierwszego z dwóch ligandów osiowych zawarta jest w zakresie 0,96–1,52 eV, przy czym metoda 1 daje nieco mniejsze wartości energii wiązań w porównaniu z metodą 2. Należy dodać, że obliczone wartości energii wiązań obydwoma metodami mają przybliżony charakter, gdyż w metodzie 1 przy odrywaniu ligandów nie uwzględniono zmian w strukturze molekularnej pozostałej części porfirynowego pierścienia, ani w strukturze elektronowej jonu żelaza. W metodzie 2, ze względu na trudności ze zbieżnością procesu optymalizacji, nie można było doprowadzić, w niektórych przypadkach, do uzyskania wyraźnego plateau na wykresie $E_w=f(\text{Fe}-\text{N}_L)$. Jednakże to, że dwie różne metody dały zbliżone wartości energii wiązań, może świadczyć o akceptowalnych wynikach obliczeń. Obliczone wartości energii wiązań trzech badanych kompleksów nie różnią się na tyle, aby można było stwierdzić, że jeden z kompleksów $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{His})_2]^+$ jest mniej stabilny w porównaniu z dwoma pozostałymi. Można przypuszczać, że mniejsza stabilność kompleksu z histydyną wynika z obecności rozbudowanego łańcucha zawierającego grupę karboksylową, aminokwasową i resztę NH_2 przyłączonego do imidazolowego pierścienia.



Rys. 2.10. Wykresy zależności energii określonej względem minimalnej wartości dla kompleksu $[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pic)}_2]^+$. Kąt pomiędzy płaszczyznami pierścieni β -pikoliny: 0° (A), 55° (B), 90° (C)

Struktura molekularna tego łańcucha sprzyja oddziaływaniu z otaczającymi cząsteczkami, w szczególności poprzez wiązania wodorowe, co nie było uwzględnione w obliczeniach. Wiązania wodorowe mogą powodować osłabienie wiązania Fe-N_L poprzez jego wydłużenie lub znaczące odchylenie ligandu histydyny od kierunku prostopadłego do porfiryнового pierścienia [273].

Energia jonizacji Fe³⁺-porfiryń, otrzymana z danych doświadczalnych dla fazy gazowej, jest rzędu 6,09 eV [274]. Oszacowana z naszych obliczeń na podstawie energii HOMO (rys. 2.16 - 2.20) jest rzędu 7,1 eV, a więc jest znacznie wyższa niż oszacowana energia wiązań ligandów osiowych, co powoduje, że w widmach SM obserwuje się tylko piki pochodzące od samego pierścienia Fe(OEP) bez ligandów osiowych, gdyż łatwiej jest oderwać ligandy osiowe niż zjonizować kompleks. Znajduje to potwierdzenie w przeprowadzonych, w ramach niniejszej pracy, obliczeniach DFT.

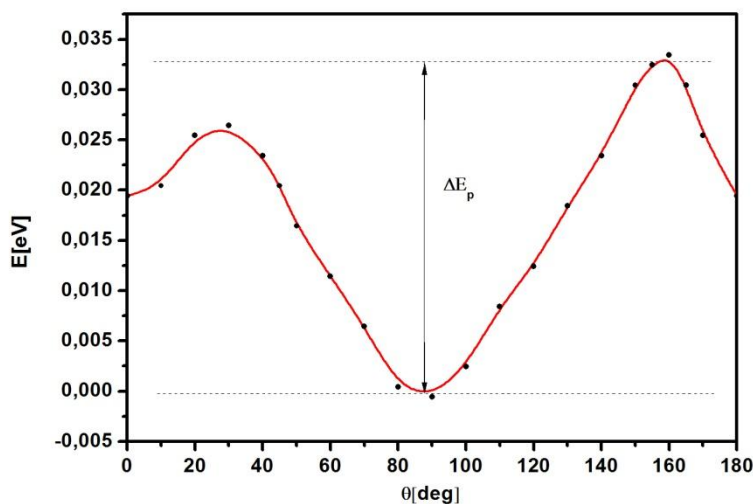
W przypadku kompleksu z β-pikoliną zależność energii kompleksu od długości wiązania obliczono również dla spinu S=3/2 (rys. 2.10). Minima energetyczne mają wartości bardzo bliskie w przypadku spinów: S=3/2 i S=5/2, natomiast energia wiązania Fe-N_L jest mniejsza dla spinu S=3/2 w porównaniu ze spinem S=5/2. Podobny przebieg krzywych na rys. 2.10, dla spinów: S=3/2 i S=5/2 w zakresie długości wiązania Fe-N_L 2–2,5 Å sugeruje, że te dwa rodzaje spinów mogą tworzyć stan kwantowo-mechanicznie mieszany.

2.4. Dynamika obrotu ligandów osiowych

Badania dynamiki obrotu ligandów pierścieniowych wokół wiązań Fe-N_L, czy to pięciocłonowych imidazolowych, czy też sześciocłonowych pirydynowych lub fenyłowych, w przypadku Fe-porfiryń są dość skomplikowanym problemem a rozbieżność pomiędzy danymi doświadczalnymi i obliczeniami kwantowo-mechanicznymi jest jeszcze dosyć duża [193, 194]. W przypadku kompleksów sześciokoordynacyjnych problem jest jeszcze bardziej złożony, gdyż oprócz orientacji tych ligandów względem kierunków N_p-Fe-N_p, gdzie N_p są atomami azotu w porfiryńowym pierścieniu, istotna jest również wzajemna orientacja dwóch ligandów osiowych. W przypadku niektórych kompleksów, np. typu [Fe(III)(R-TPP)(R₁-Im)₂]⁺, gdzie R jest podstawnikiem pierścieni fenyłowych w tetrafenyloporfiryń, a R₁ – podstawnikiem protonów w pierścieniu imidazolowym, występują rozbieżności pomiędzy danymi ¹H NMR i EPR [193] co, stosownie do sugestii autorów,

spowodowane może być wpływem na parametry spektroskopowe nie tylko wzajemnej orientacji ligandów osiowych, ale również deformacji płaszczyzny porfirynowego pierścienia. W obliczeniach kwantowo-mechanicznych należałoby uwzględnić jednocześnie zmianę trzech kątów: kąta pomiędzy płaszczyznami pierścieni ligandów osiowych i dwóch kątów pomiędzy płaszczyznami każdego z pierścieni ligandów osiowych a wybranym kierunkiem wiązania N_p -Fe- N_p w porfirynowym pierścieniu. Ponadto należałoby również wziąć pod uwagę deformację płaszczyzny makropierścienia, wywołaną obrotem ligandów osiowych. To wszystko powinno się uwzględnić w obliczeniach izolowanych cząsteczek. W przypadku badań doświadczalnych trzeba do tego dołożyć oddziaływanie z otoczeniem w postaci sąsiednich cząsteczek i rozpuszczalnika. Powyższe czynniki powodują, że uzyskanie idealnej zgodności pomiędzy wynikami badań doświadczalnych i teoretycznych należałoby traktować bardziej jako przypadek niż jako regułę.

Według naszego rozeznania nie ma w literaturze danych dotyczących obliczeń DFT bariery potencjału ΔE_p dla obrotów ligandów osiowych wokół wiązań Fe- N_L . Wykonaliśmy więc tego typu obliczenia, których wyniki dla kompleksu $[Fe(III)(P)(Im)_2]^+$ zostały przedstawione na rys. 2.11.



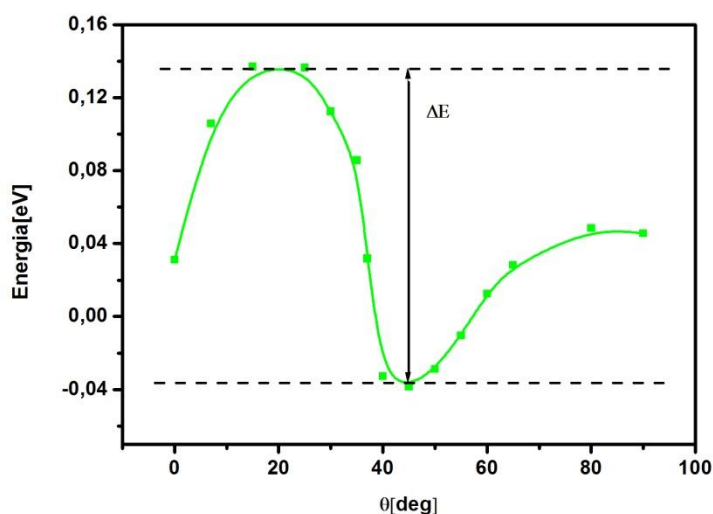
Rys. 2.11. Względna zmiana energii całkowitej kompleksu $[Fe(III)(P)(Im)_2]^+$, $S=1/2$, w zależności od kąta pomiędzy pierścieniami ligandów osiowych, $\Delta E_p=0,033$ eV

Obliczenia przeprowadzono dla makropierścienia Fe-porfiny (atomy H zamiast etylowych grup peryferyjnych – C_2H_5). Geometria do obliczeń energii była otrzymana w wyniku optymalizacji struktury molekularnej jak w tabeli 2.6. Optymalizacja

struktury molekularnej dla każdego z kątów podanych na osi odciętych, na rys. 2.11, pomiędzy pierścieniami imidazolu pozwoliła na jednoczesne uwzględnienie kąta i deformacji pierścienia porfiryнового w obliczeniach energii kompleksu.

Zależność energii całkowitej kompleksu od kąta pomiędzy pierścieniami histydyny i β -pikoliny ma podobny kształt, a bariery potencjału wynoszą odpowiednio: dla $[\text{Fe(III)(P)(His)}_2]^+$ $\Delta E=0,214$ eV, dla $[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ $\Delta E=0,272$ eV. Dane doświadczalne dla kompleksów $[\text{Fe(III)(TPP)(R-Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(TMP)(R-Im)}_2]^+$ wskazują na barierę potencjału rzędu 0,5–0,6 eV [194]. Jest to około 4–5 razy więcej niż obliczenia dla $[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$. Jednak w realnej strukturze w fazie stałej występują dodatkowo oddziaływania ligandów imidazolu z takimi elementami struktury jak pierścienie fenyłowe lub grupy metylowe $-\text{CH}_3$ w położeniach mostkowych porfiryнового pierścienia oraz oddziaływanie z sąsiednimi cząsteczkami. W pracy [194], na podstawie badań kompleksów Fe-porfiryn i bezmetalicznych H_2 -porfiryn z różnym stopniem deformacji porfiryнового pierścienia, zaobserwowano znaczące różnice w wartości bariery potencjałów dla obydwu typów kompleksów, co autorzy pracy [194] wiążą z wpływem deformacji porfiryнового pierścienia na barierę potencjału w odniesieniu do obrotów ligandów osiowych. Przeprowadzone w naszej pracy obliczenia potwierdzają tę sugestię.

Obliczenia różnicy energii ΔE pomiędzy stanami dla $S=1/2$ i $S=5/2$ w funkcji kąta pomiędzy płaszczyznami ligandów β -pikoliny (rys. 2.12) wskazują zmianę stanu spinowego jonu Fe^{3+} indukowaną obrotem ligandów.



Rys. 2.12. Wykres zależności różnicy minimum energii dla kompleksu $[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ w stanie spinowym $S=1/2$ i $S=5/2$ w zależności od kąta pomiędzy pierścieniami β -pikoliny

W zakresie kątów około 35–55° wyniki obliczeń wskazują na stan spinowy $S=5/2$ jako na stan podstawowy, natomiast dla kątów spoza tego zakresu – na stan spinowy $S=1/2$ jako podstawowy. Maksymalna wartość różnicy minimów energii dwóch stanów spinowych $\Delta E_S=0,173$ eV. Przypuszcza się, że wzajemna orientacja ligandów osiowych może wpływać na deformację porfiryнового pierścienia [133, 193, 194]. W celu bardziej dokładnego zbadania tego problemu przeprowadzono teoretyczne badania deformacji płaszczyzny porfiryнового pierścienia powodowane obrotem osiowych ligandów imidazolu i β -pikoliny.

2.5. Deformacja płaszczyzny porfiryнового pierścienia powodowana obrotem ligandów osiowych

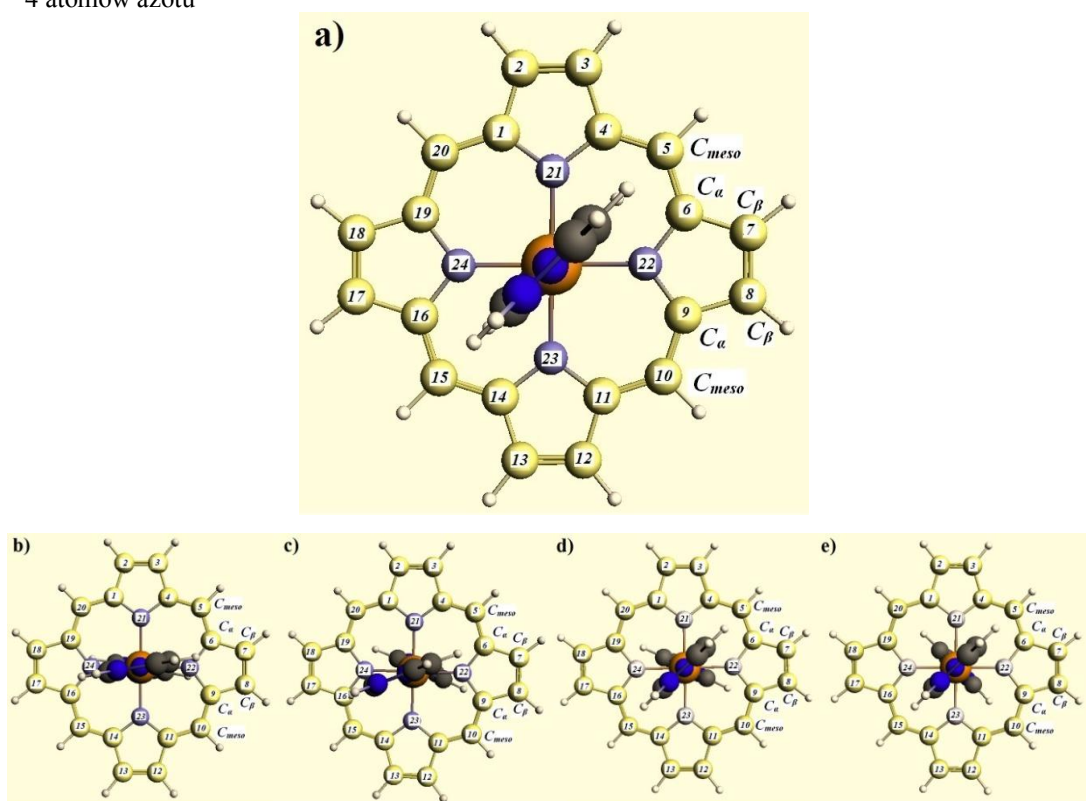
Wpływ deformacji porfiryнового pierścienia na przebieg biologicznych procesów zachodzących z udziałem białek hemowych nie jest w pełni zrozumiały i jest ciągle aktualnym problemem dyskusji i badań [275]. Wzajemne ustawienie płaszczyzn ligandów osiowych wpływa na wielkość i kształt deformacji płaszczyzny makropierścienia. Wyniki przeprowadzonych obliczeń metodą DFT przedstawiono w tabelach 2.2 i 2.3. Sposób obrotu ligandów osiowych, przyjęty w obliczeniach, przedstawiono na rys. 2.13. Dla każdej z orientacji ligandów osiowych przeprowadzono optymalizację geometrii, przy czym strukturą początkową (danymi wejściowymi) za każdym razem był płaski porfiryновый pierścień. Za płaszczyznę odniesienia, względem której określano wartość odchylenia poszczególnych atomów węgla, jako miarę deformacji pierścienia, przyjęto płaszczyznę, której zerową wartość składowej z -towej stanowi średnia wartość składowych z -towych czterech atomów azotu, skoordynowanych z jonem żelaza.

Analiza danych (tabele 2.2 i 2.3) wskazuje na istotny wpływ ligandów osiowych na geometrię porfiryнового makrocyklu. Wzajemnie prostopadła orientacja pierścieni ligandów osiowych prowadzi do deformacji płaszczyzny porfiryнового pierścienia typu *ruffling*. We wszystkich rozpatrywanych przypadkach największym wychyleniom z płaszczyzny ulegają mostkowe azoty węgla (C_5 , C_{10} , C_{15} , C_{20}), nieznacznie mniejszym atomy C_β pirolowych pierścieni (C_2 , C_3 , C_7 , C_8 , C_{12} , C_{13} , C_{17} , C_{18}), a nieco mniejszym odchyleniom atomy C_α (C_1 , C_4 , C_6 , C_9 , C_{11} , C_{14} , C_{16} , C_{19}).

Tabela 2.2. Deformacja płaszczyzny porfirynowego pierścienia w kompleksie [Fe(III)(P)(Im)₂]⁺ w zależności od kąta pomiędzy pierścieniami ligandów osiowych

Atomy węgla w porfirynowym pierścieniu	Deformacja płaskiej struktury porfirynowego pierścienia – Δz [Å] ^{*)}				
	Kąt 0°	Kąt 20°	Kąt 45°	Kąt 70°	Kąt 90°
C(1)	0,03	-0,01	0,09	0,15	0,15
C(2)	0,07	-0,02	0,05	0,10	0,08
C(3)	0,09	-0,01	-0,05	-0,11	-0,07
C(4)	0,07	0,00	-0,05	-0,15	-0,12
C(5)	0,08	0,05	-0,06	-0,23	-0,22
C(6)	0,07	0,09	0,05	-0,10	-0,11
C(7)	0,10	0,06	0,17	0,00	-0,04
C(8)	0,07	0,06	0,29	0,23	0,16
C(9)	0,03	0,09	0,24	0,23	0,19
C(10)	0,00	0,04	0,24	0,32	0,28
C(11)	-0,03	-0,03	0,10	0,16	0,16
C(12)	-0,07	-0,09	0,00	0,08	0,09
C(13)	-0,09	-0,12	-0,17	-0,18	-0,13
C(14)	-0,07	-0,09	-0,15	-0,22	-0,18
C(15)	-0,08	-0,08	-0,21	-0,34	-0,31
C(16)	-0,07	-0,03	-0,10	-0,21	-0,20
C(17)	-0,09	-0,02	-0,06	-0,16	-0,19
C(18)	-0,07	0,00	0,08	0,07	0,03
C(19)	-0,03	0,00	0,11	0,14	0,11
C(20)	0,00	0,00	0,16	0,25	0,23

*) $\Delta z = z_{\text{at}} - z_{\text{sr.N}}$, gdzie z_{at} jest składową z-tową danego atomu, $z_{\text{sr.N}}$ – średnia wartość składowych z-towych 4 atomów azotu



Rys. 2.13. Wzajemna orientacja ligandów osiowych dla kątów: a) 0°, b) 20°, c) 45°, d) 70°, e) 90°

Tabela 2.3. Deformacja płaszczyzny porfirynowego pierścienia w kompleksie [Fe(III)(P)(β -pik) $_2$] $^+$ w zależności od kąta pomiędzy pierścieniami ligandów osiowych

Atomy węgla w porfirynowym pierścieniu	Deformacja płaskiej struktury porfirynowego pierścienia – Δz [Å]		
	Kąt 0°	Kąt 45°	Kąt 90°
C(1)	0,00	0,10	-0,15
C(2)	0,02	0,08	-0,10
C(3)	0,03	-0,05	0,08
C(4)	-0,01	-0,08	0,13
C(5)	0,01	-0,15	0,22
C(6)	0,01	-0,09	0,15
C(7)	0,00	-0,04	0,13
C(8)	0,00	0,09	-0,03
C(9)	0,00	0,10	-0,09
C(10)	0,00	0,16	-0,17
C(11)	0,00	0,08	-0,10
C(12)	-0,01	0,04	-0,06
C(13)	-0,01	-0,10	0,10
C(14)	0,00	-0,12	0,13
C(15)	0,00	-0,19	0,20
C(16)	-0,01	-0,12	0,11
C(17)	-0,02	-0,01	0,04
C(18)	-0,02	0,04	-0,13
C(19)	-0,01	0,09	-0,16
C(20)	-0,01	0,16	-0,24

Średnia wartość odchylenia od płaskiej struktury, określona jako:

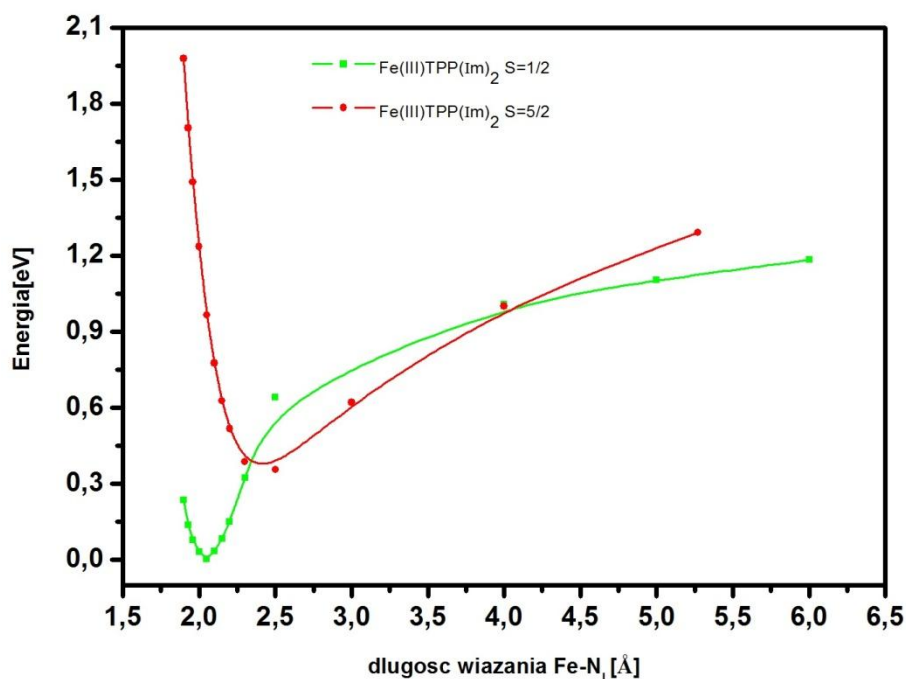
$$\Delta Z_{sr} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |\Delta z_i|, \quad (2.2)$$

gdzie n jest liczbą atomów węgla, a Δz_i wychyleniem i -tego atomu z płaszczyzny, może służyć jako parametr deformacji płaszczyzny porfirynowego pierścienia. W przypadku kompleksu z imidazolem dla orientacji prostopadłej $\Delta Z_{sr} = 0,15\text{Å}$, a dla kompleksu z β -pikoliną $\Delta Z_{sr} = 0,13\text{Å}$, a więc stopień deformacji płaszczyzny porfirynowego pierścienia dla obydwu kompleksów jest podobny. Nie ma też przesłanek, dla których ligandy histydyny miałyby inaczej wpływać na deformację porfirynowego pierścienia.

Obrót ligandów osiowych wokół wiązania Fe-N_L powoduje dodatkowe drgania atomów makropierścienia w kierunku prostopadłym do jego płaszczyzny, przy czym największa amplituda drgań dotyczy atomów w położeniach mostkowych. Deformacja pierścienia porfirynowego zwiększa się wraz ze wzrostem kąta i przy kącie między płaszczyznami pierścieni ligandów osiowych równym około 70° osiąga maksimum.

Dalszy obrót ligandów, zmierzający do orientacji równoległej, powoduje zmniejszenie deformacji, której minimum osiągalne jest w pobliżu równoległej orientacji pierścieni imidazolu.

W celu przeprowadzenia weryfikacji wyników teoretycznych, dotyczących deformacji porfiryнового pierścienia indukowanej obrotem ligandów osiowych, przeprowadzono, wychodząc z płaskiej struktury, optymalizację geometrii kompleksu $[\text{Fe(III)(TPP)(Im)}_2]^+$, dla kąta pomiędzy płaszczyznami imidazolu równego 57° (rys. 2.15), określonego dla fazy stałej na podstawie badań rentgenostrukturalnych [276]. Odchylenia od płaszczyzny porfiryнового pierścienia, odpowiadające minimum energii cząsteczki $[\text{Fe(III)(TPP)(Im)}_2]^+$, są w dobrej zgodności z danymi otrzymanymi z badań rentgenostrukturalnych [276] (tabela 2.4), co potwierdza wysoką skuteczność metody DFT w przewidywaniu struktury molekularnej, nawet tak rozbudowanej jak w przypadku Fe-porfiryn. Na rys. 2.14 przedstawiono zależność energii kompleksu $[\text{Fe(III)(TPP)(Im)}_2]^+$ od długości wiązań Fe-N_L . Na tej podstawie, podobnie jak w przypadku $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ (rys. 2.8), określono energię wiązań ligandów imidazolu $\Delta E_w=1,179$ eV, różnicę energii pomiędzy stanami spinowymi $S=1/2$ i $S=5/2$ $\Delta E_s=0,346$ eV i długość wiązania dla równowagi stanów $d_m=2,346$ Å.

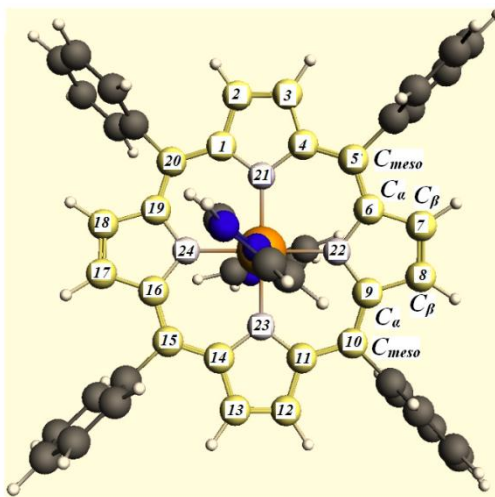


Rys. 2.14. Zależność energii całkowitej od długości wiązań Fe-N_L w kompleksie $[\text{Fe(III)(TPP)(Im)}_2]^+$ dla kąta 57° między ligandami imidazolu

Tabela 2.4. Deformacja płaszczyzny porfirynowego pierścienia w kompleksie $[\text{Fe(III)(TPP)(Im)}_2]^+$ z danych doświadczalnych i obliczeń kwantowo-mechanicznych dla kąta pomiędzy pierścieniami imidazolu równego 57°

Atomy węgla w porfirynowym pierścieniu	Deformacja płaskiej struktury porfirynowego pierścienia – Δz [Å]	
	dane doświadczalne ¹⁾	dane obliczone
C(1)	-0,06	-0,05
C(2)	-0,18	-0,16
C(3)	-0,37	-0,33
C(4)	-0,34	-0,29
C(5)	-0,42	-0,34
C(6)	-0,26	-0,12
C(7)	-0,19	0,00
C(8)	0,13	-0,32
C(9)	0,23	0,36
C(10)	0,54	0,56
C(11)	0,45	0,41
C(12)	0,50	0,44
C(13)	0,19	0,14
C(14)	0,01	-0,03
C(15)	-0,22	-0,27
C(16)	-0,18	-0,26
C(17)	-0,29	-0,32
C(18)	-0,12	-0,17
C(19)	0,02	-0,05
C(20)	0,06	0,02

1) Dane pozyskane z pracy [8]

Rys. 2.15. Struktura $[\text{Fe(III)(TPP)(Im)}_2]^+$ dla kąta 57° między ligandami imidazolu

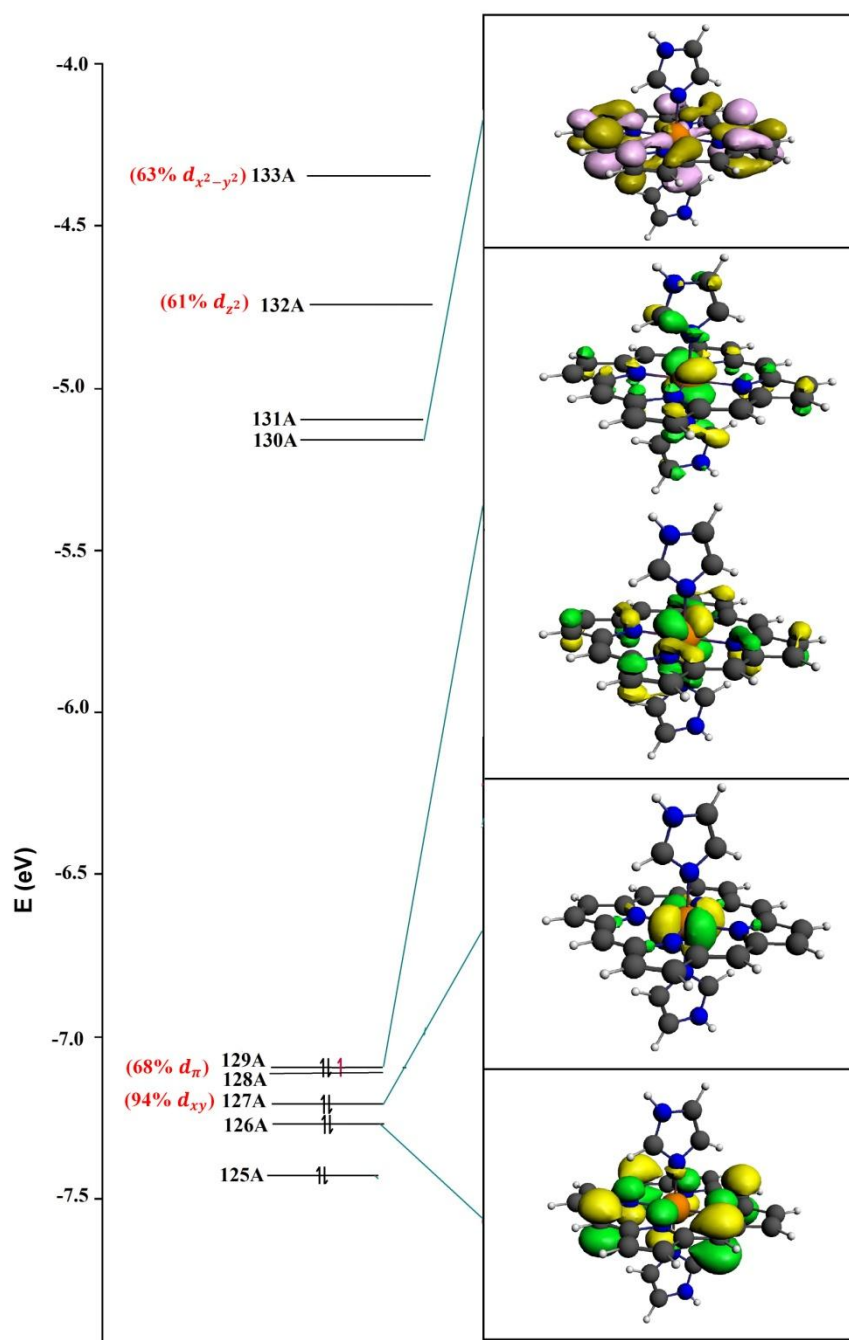
Z powyższych badań wynika stosunkowo złożony obraz struktury molekularnej badanych kompleksów, co przekłada się na ich urozmaiconą strukturę elektronową.

Deformacja porfirynowego pierścienia zmienia stopień przekrywania się π -orbitali makropierścienia z d -orbitalami jonu żelaza. W szczególności, π -orbitale makropierścienia nie są już dokładnie prostopadłe do jego płaszczyzny, a w przypadku orbitali d_{xy} i $d_{x^2-y^2}$, leżących w płaszczyźnie makropierścienia, pojawiają się składowe w kierunku prostopadłym. W rezultacie prowadzi to do zwiększonego mieszania się π -orbitali pierścienia z d -orbitalami jonu Fe^{3+} . Efekt ten widoczny jest w przypadku orbitali HOMO i LUMO, które mają istotny wpływ na charakterystyki spektroskopowe i właściwości fizyko-chemiczne kompleksów.

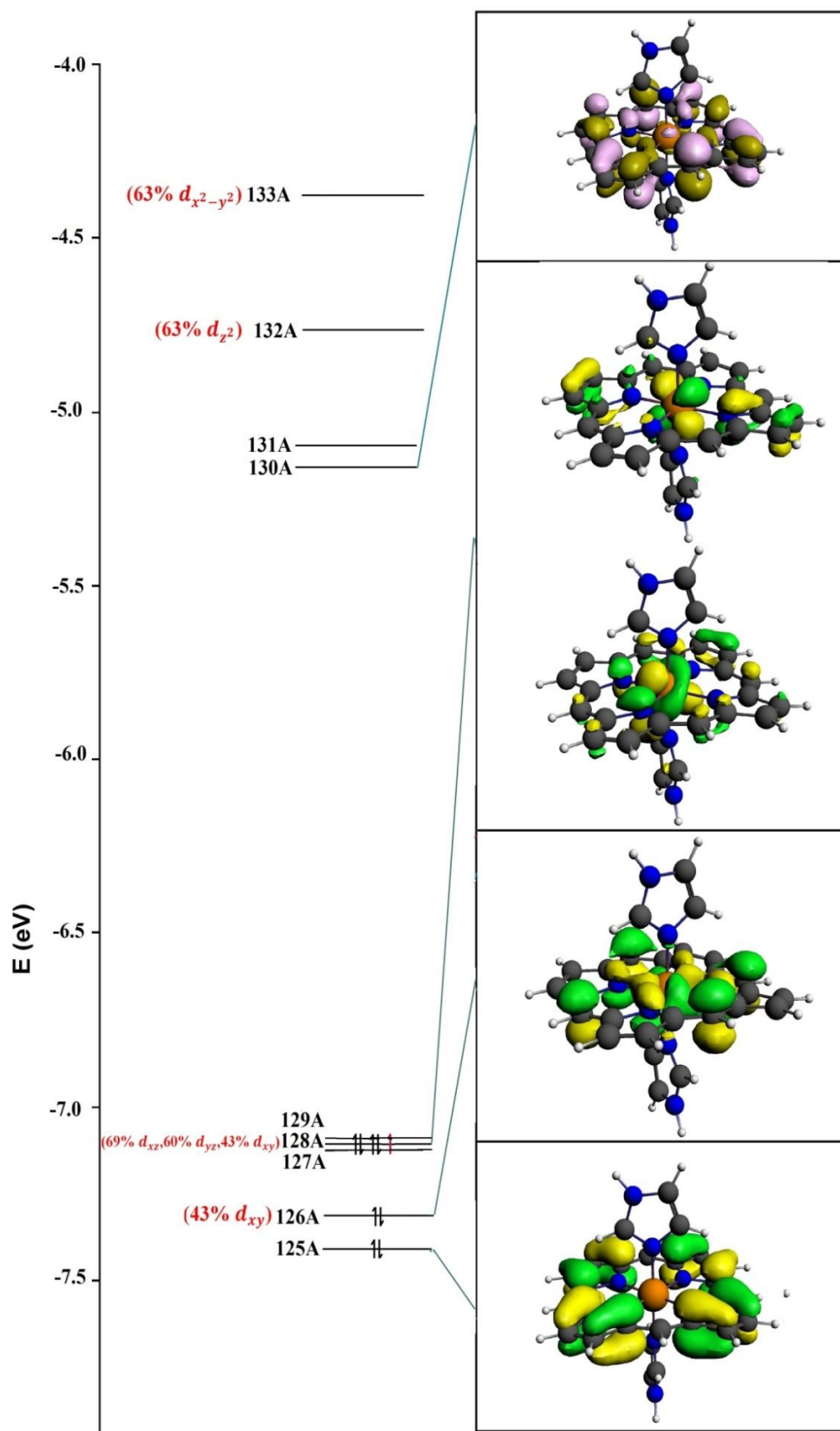
2.6. Rozkład gęstości elektronowej na orbitalach HOMO i LUMO

Niesparowane elektrony zlokalizowane bądź to na orbitalach molekularnych z większościovym wkładem d -orbitali metalu, bądź też na orbitalach zawierających orbitale atomowe ligandów osiowych i porfirynowego pierścienia w istotny i zróżnicowany sposób wpływają na charakterystyki spektroskopowe i właściwości fizyko-chemiczne kompleksów. Analiza rozkładu gęstości elektronowych w odniesieniu do poszczególnych orbitali molekularnych, w szczególności tych z pogranicza zapełnionych i niezapełnionych elektronami (HOMO i LUMO), jest celowa i ułatwia zrozumienie pewnych mechanizmów przepływu ładunków elektrycznych pomiędzy jonem metalu i otaczającymi go ligandami, co w kontekście cytochromów sześciokoordynacyjnych, odpowiedzialnych m. in. za transport ładunku, nabiera szczególnego znaczenia. W przypadku Fe-porfiryn, w których niesparowane elektrony mogą być zlokalizowane na jednym lub więcej d -orbitalach, transport elektronów może zachodzić albo przez orbitale typu σ o gęstości elektronowej głównie w płaszczyźnie porfirynowego pierścienia, albo poprzez orbitale typu π o gęstości elektronowej nad i pod płaszczyznę makrocyklu. Przy przyptywie elektronów pomiędzy jonem żelaza i ligandami nie może być naruszony zakaz Pauliego, a więc przepływ taki może następować w wyniku częściowego przekrywania się orbitali obsadzonych dwoma elektronami z orbitalami obsadzonymi jednym elektronem lub nieobsadzonymi elektronami, przy czym w kierunku od orbitali całkowicie zapełnionych do orbitali częściowo zapełnionych lub pustych. W przypadku Fe-porfiryn częściej obserwuje się przepływ elektronów z zapełnionych π -orbitali ligandów (utworzonych z p_z -orbitali atomowych węgla i azotu) do π -orbitali jonu Fe^{3+} (utworzonych z orbitali d_{xz} i d_{yz}), co skrótowo można zapisać jako $L \rightarrow M$ [132]. Rzadziej występują przypadki przepływu

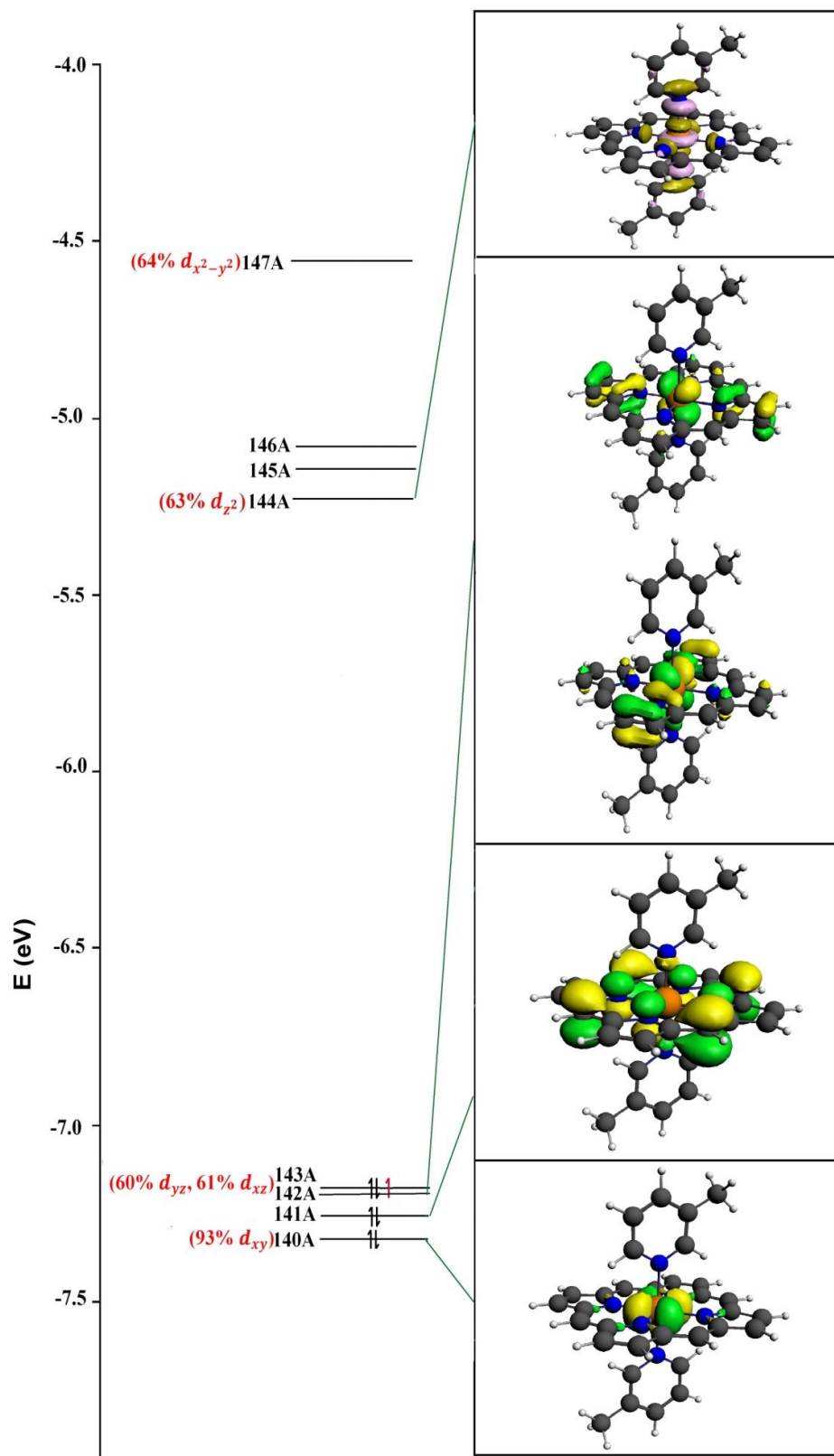
M→L z udziałem d -orbitali żelaza i częściowo zapełnionych π -orbitali ligandu lub z d -orbitali żelaza do niezapełnionych, antywiążących π^* -orbitali ligandu (tzw. π -back-bonding). Na rys. 2.16–2.19 przedstawiony jest rozkład gęstości elektronowych dla orbitali HOMO i jednego orbitalu LUMO dla kompleksów z imidazolem i β -pikoliną, dla orientacji prostopadłej i równoległej ligandów osiowych.



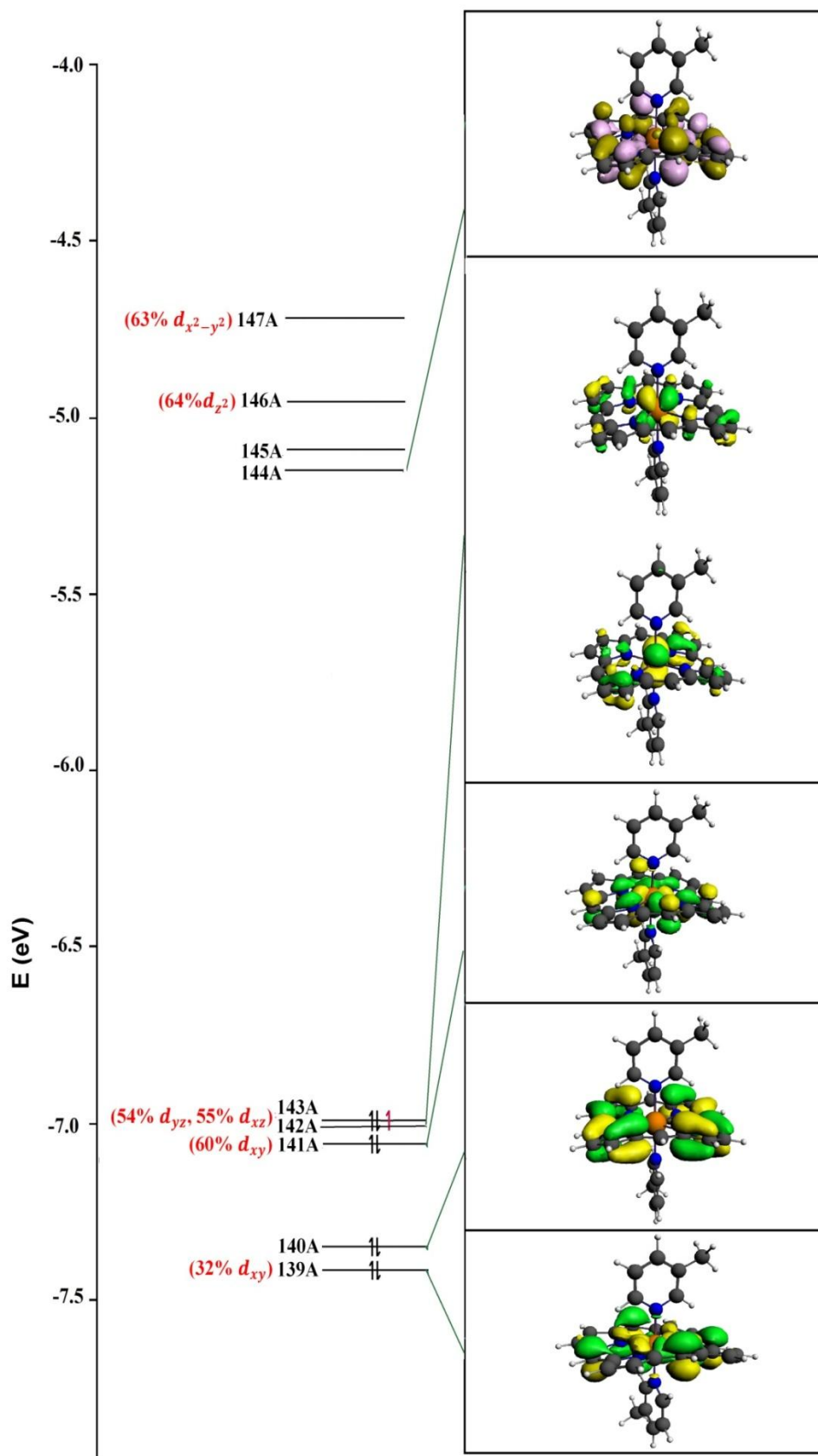
Rys. 2.16. Rozkład gęstości elektronowych dla orbitali HOMO i jednego orbitalu LUMO dla kompleksu [Fe(III)(P)(Im)₂]⁺ w przypadku równoległej orientacji pierścieni ligandów osiowych



Rys. 2.17. Rozkład gęstości elektronowych dla orbitali HOMO i jednego orbitalu LUMO dla kompleksu $[\text{Fe(III)(P)(Im)}_2]^+$ w przypadku prostopadłej orientacji pierścieni ligandów osiowych



Rys. 2.18. Rozkład gęstości elektronowych dla orbitali HOMO i jednego orbitalu LUMO dla kompleksu $[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ w przypadku równoległej orientacji pierścieni ligandów osiowych



Rys. 2.19. Rozkład gęstości elektronicznych dla orbitali HOMO i jednego orbitalu LUMO dla kompleksu $[\text{Fe(III)(P)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ w przypadku prostopadłej orientacji pierścieni ligandów osiowych

Rozkład gęstości elektronowej kompleksu z histydyną jest podobny jak w przypadku kompleksu z imidazolem. Z przedstawionych na rys. 2.16–2.19 rozkładów gęstości elektronowej wynika, że tylko w przypadku z równoległą orientacją pierścieni imidazolowych ligandy osiowe mają znaczący udział w częściowo zapełnionych orbitalach molekularnych, do których największy wkład wnoszą orbitale atomowe d_{π} .

Porównując rozkład gęstości dla orientacji równoległej i prostopadłej pierścieni ligandów osiowych można zauważyć, że wzajemna orientacja tych ligandów wpływa w sposób istotny na strukturę elektronową całego porfirynowego pierścienia, co powinno mieć odzwierciedlenie w charakterystykach spektroskopowych i właściwościach fizyko-chemicznych badanych kompleksów. Różnice w strukturze elektronowej dotyczą w szczególności tych orbitali molekularnych, w których większościowy wkład wnoszą d -orbitale jonu żelaza. W rezultacie deformacji płaszczyzny porfirynowego pierścienia dochodzi do zwiększonego mieszania się π -orbitali pierścienia z d -orbitalami jonu Fe^{3+} . Widoczne jest to na rys. 2.17 i 2.19, gdzie orbital d_{xy} wnosi istotny wkład do dwóch orbitali molekularnych (126A i 127A na rys. 2.17 oraz 141A i 139A na rys. 2.19), podczas gdy przy orientacji równoległej orbital d_{xy} stanowi ponad 90% orbitali molekularnych 127A (rys. 2.16) i 140A (rys. 2.18). Orbital molekularny zawierający $d_{x^2-y^2}$ jest zlokalizowany stosunkowo wysoko na skali energii (133A i 147A na rys. 2.16–2.18). Niższą energię posiadają 4 niezapełnione orbitale molekularne, dlatego udział tego orbitalu w transporcie ładunku wydaje się mało prawdopodobny.

Istotnym parametrem struktury elektronowej jest rozmieszczenie na skali energii orbitali HOMO, w szczególności orbitali molekularnych zawierających orbitale atomowe d_{xz} , d_{yz} (d_{π}) i d_{xy} . W tabeli 2.5 podano rozszczepienie orbitali d_{π} oznaczone jako Δd_{π} oraz różnice energii Δd_{xy} pomiędzy orbitalami d_{xy} i d_{π} . W przypadku rozszczepienia orbitali d_{π} różnica Δd_{xy} określana jest w stosunku do średniej wartości energii pomiędzy orbitalami d_{xz} i d_{yz} . Parametry te określono na podstawie orbitali molekularnych przedstawionych na rys. 2.16–2.19.

Tabela. 2.5. Wzajemne rozmieszczenie orbitali molekularnych z większościowym wkładem orbitali atomowych d_{xy} oraz d_{π} w zależności od wzajemnej orientacji ligandów osiowych

Różnica energii [Å]	[Fe(III)(P)(Im) ₂] ⁺		[Fe(III)(P)(His) ₂] ⁺		[Fe(III)(P)(β-pik) ₂] ⁺	
	orientacja równoległa	orientacja prostopadła	orientacja równoległa	orientacja prostopadła	orientacja równoległa	orientacja prostopadła
Δd_{π}	0,032	0,000	0,053	0,000	0,027	0,004
Δd_{xy}	0,063	0,131	0,065	0,142	0,033	0,301

Z przytoczonych w tabeli 2.5 danych wynika, że równoległa orientacja pierścieni ligandów osiowych powoduje większe rozszczepienie Δd_{π} -orbitali w porównaniu z orientacją prostopadłą.

2.7. Przygotowanie próbek i metodyka badań spektroskopowych

Aby wyniki badań doświadczalnych były powtarzalne, zarówno przygotowanie próbek, jak i warunki przeprowadzenia pomiarów, powinny zostać precyzyjnie określone.

NMR. Widma ¹H NMR były rejestrowane w temperaturze pokojowej na spektrometrze Bruker Advance III 500 w Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi. Próbki do badań NMR przygotowano w probówkach o średnicy 5 mm z firmy Norell. Pomiary prowadzono dla roztworów w deuterowanym chloroformie firmy Armar Chemical. Przesunięcia chemiczne były określone względem resztkowego sygnału, pochodzącego od chloroformu ($\delta=7,26$ ppm). Transformację widm ¹H NMR prowadzono przy użyciu programu TopSpin 3.1, pracującym w systemie Windows, zainstalowanym na komputerze HP Z700, który był sprzężony ze spektrometrem NMR.

EPR. Rejestrację widm EPR wykonano za pomocą spektrometru EPR, działającego w paśmie X (dla częstotliwości rzędu 9,5 GHz), sterowanego komputerowo, wyposażonego w system zbierania danych IBM PC. Badania przeprowadzono w ciekłym azocie w temperaturze 80 K oraz w ciekłym helu (4,2 K). Widma w temperaturze ciekłego helu zarejestrowane zostały w Centrum Dydaktyczno-Naukowym Mikroelektroniki i Nanotechnologii Uniwersytetu Rzeszowskiego. Pomiarom poddano kompleksy [Fe(III)(OEP)(Im)₂]⁺, [Fe(III)(OEP)(β-pik)₂]⁺ i [Fe(III)(OEP)(His)₂]⁺ w fazie stałej oraz w roztworze 1,2-dimetoksyetanu (DME).

Roztwór DME został odgazowany w cyklach zamrażania i odmrażania oraz oczyszczony w układzie próżniowym z wykorzystaniem metalicznego stopu K+Na.

Spektroskopia Mössbauera. Rejestrację widm mössbauerowskich wykonano za pomocą spektrometru Mössbauera pracującego w geometrii transmisyjnej w układzie horyzontalnym. Zastosowano radioaktywne źródło mössbauerowskie w matrycy rodowej ($^{57}\text{Co}(\text{Rh})$). Do kalibracji prędkości spektrometru i przesunięcia izomerycznego (δ) użyto parametrów widma Mössbauera dla polikrystalicznej folii α -Fe o grubości 20 μm . Widma rejestrowane były w temperaturze pokojowej oraz w niższych temperaturach: 240 K, 160 K, 80 K i 6 K, w Instytucie Fizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Ze względu na stosunkowo duży rozmiar porfirynowego ligandu, na który przypada tylko jeden atom żelaza, koncentracja jonów żelaza była na tyle mała, że nie powinna powodować poszerzenia linii widmowej. Analizę widm Mössbauera przeprowadzono za pomocą programu NORMOS [277] z optymalizacją bazującą na metodzie najmniejszych kwadratów.

Do badań mössbauerowskich wykorzystano próbki w fazie stałej. Rozmiar próbek określa wielkość użytej diafragmy o średnicy 1 cm. Oszacowana gęstość powierzchniowa jonów ^{57}Fe dla tych związków wynosi odpowiednio około 10^{-4} g/cm^2 .

Elektronowa spektroskopia absorpcyjna. Elektronowe widma absorpcyjne zostały zarejestrowane na dwuwiązkowym elektronowym spektrofotometrze absorpcyjnym UV-Vis Carry 100 firmy Varian. Badania wykonano w zakresie długości fal: 250–800 nm. Do pomiarów wykorzystano kuwety kwarcowe o długości drogi optycznej 1 mm. Roztwory zostały przygotowane w chloroformie (CHCl_3), tetrahydrofuranie ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$), dimetoksyetanie ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2$). Rozpuszczalniki pochodziły z firmy Polskie Odczynniki Chemiczne (POCH), o klasa czystości: cz.d.a. Oczyszczano je w układzie próżniowym z wykorzystaniem stopu Na+K. Widma zostały zarejestrowane w temperaturze pokojowej.

2.8. Parametry obliczeń teoretycznych

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono badania teoretyczne w oparciu o teorię funkcjonału gęstości DFT przy pomocy programu ADF w wersji 2013.01 [278].

ADF jest wszechstronnym pakietem kwantowo-mechanicznych obliczeń stosowanym zarówno w przemyśle, jak i przez środowiska akademickie. Unikalną właściwością tego pakietu jest to, że w odróżnieniu od innych programów, ADF w obliczeniach wykorzystuje bazy funkcyjne oparte na funkcjach typu Slatera (STO), co stanowi zamiennik do często stosowanych baz zbudowanych z funkcji gaussowskich (GTO). Zaletą tego pakietu jest rozbudowane narzędzie graficzne GUI, umożliwiające zaawansowaną analizę wyników. Oferuje on również bogatą bibliotekę funkcji bazowych, dzięki czemu jest niezastąpionym narzędziem badania własności białek, począwszy od wyznaczenia geometrii i energii [268] aż po obliczenia parametrów spektroskopowych, tj. spektroskopii Mössbauera [143] i Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego [269]. Niemniej jednak z uwagi na złożoność stosowanych procedur obliczeniowych, jak również przybliżonego ich charakteru, wyniki obliczeń teoretycznych są akceptowalne wyłącznie w przypadku, kiedy są one zadowalająco zgodne z danymi doświadczalnymi.

Istotnym elementem w modelowaniu komputerowym jest dobór odpowiedniej bazy funkcji charakteryzujących orbitale. Cząsteczka składa się z atomów, a orbitale molekularne tworzy się z orbitali atomowych. Na podstawie tego wybiera się bazę w postaci skończonej liczby orbitali atomowych tworzących daną cząsteczkę [10, 279]. Określone orbitale atomowe w umownej postaci przedstawia się jako tzw. bazę funkcyjną. W mechanice kwantowej zastosowanie bazy funkcyjnej dopuszcza zastąpienie układu równań różniczkowo-całkowych układem równań algebraicznych. Liniowa kombinacja funkcji bazowych jest liniową kombinacją orbitali atomowych. We współrzędnych sferycznych funkcje bazy atomowych orbitali typu Slatera STO (ang. *Slater Type Orbitals*) przyjmują postać [279, 280]:

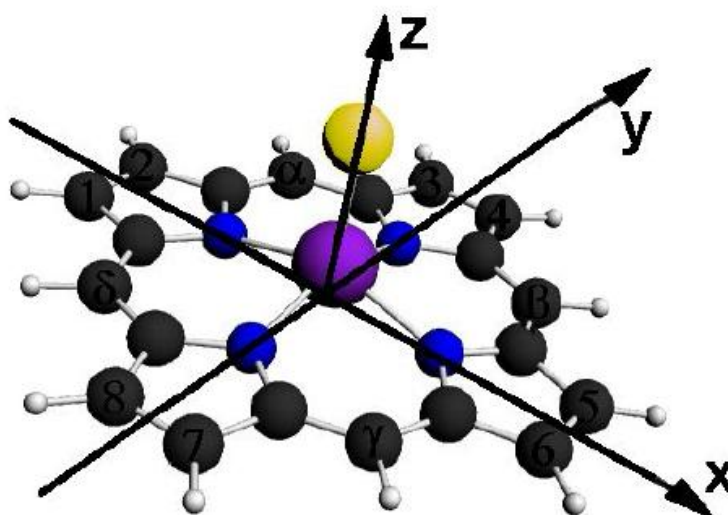
$$\chi_{\zeta,n,l,m}(r,\theta,\phi) = NY_l^m(\theta,\phi)r^{n-1}e^{-\zeta r}, \quad (2.3)$$

gdzie: N jest stałą normalizacyjną, $Y_{l,m}$ są funkcjami sferycznymi, a suma l_x, l_y, l_z determinuje typ orbitalu (np. $l_x+l_y+l_z=1$ – orbital p).

Do obliczeń geometrii pierścienia porfiryny, jak również struktury elektronowej, zastosowano zbiory bazowe typu potrójna – ξ STO. Do obliczania gęstości elektronowej zastosowano poprawki gradientowe (GGA) [281]. Obliczenia struktury molekularnej i elektronowej zrealizowane zostały w oparciu o potencjał wymienny Hady'ego (O) [282] oraz korelacyjny Lee–Young–Parr'a (LYP) [245]. Korekty relatywistyczne elektronów walencyjnych zostały uwzględnione przy pomocy

relatywistycznej metody ZORA [255]. Zastosowano funkcje bazowe TZP z zamrożeniem elektronów rdzeni. Strukturę molekularną układów modelowych Fe^{3+} -oktaetyloporfiryny z podwójnymi ligandami imidazolu, histydyny i β -pikoliny, jak również parametry widm NMR i elektronowej spektroskopii absorpcyjnej, badano w modelu Hartree–Focke’a nieograniczonym ze względu na spin (UHF), natomiast parametry widm EPR i Mössbauera metodą ograniczoną ze względu na spin (RHF).

Przeprowadzone obliczenia wykonano w układzie kartezyjskim, gdzie płaszczyzna pierścienia porfiryny znajduje się w płaszczyźnie xy (osie x , y przechodzą przez pirolowe atomy azotu), zaś oś z znajduje się w płaszczyźnie do niej prostopadłej (rys. 2.20).



Rys. 2.20. Układ współrzędnych zastosowany w obliczeniach

Obliczenia DFT struktury elektronowej badanych kompleksów prowadzono po uprzednim dokonaniu optymalizacji struktury molekularnej. W tabeli 2.6 przedstawiono długości wiązań pomiędzy jonem Fe^{3+} , $S=1/2$ i atomami azotu porfirynowego pierścienia Fe-N_p oraz atomami azotu ligandów osiowych Fe-N_L otrzymane w wyniku optymalizacji struktury molekularnej dla różnych wartości kątów pomiędzy płaszczyznami pierścieni ligandów osiowych.

Tabela 2.6. Długości wiązań ligandów połączonych bezpośrednio z jonem Fe³⁺, S=1/2

Kąt pomiędzy pierścieniami ligandów osiowych [deg]	[Fe(III)(P)(Im) ₂] ⁺			[Fe(III)(P)(His) ₂] ⁺			[Fe(III)(P)(β-pik) ₂] ⁺		
	Długość wiązania [Å]								
	Fe-N _p	Fe-N _{L1} ^{*)}	Fe-N _{L2}	Fe-N _p	Fe-N _{L1}	Fe-N _{L2}	Fe-N _p	Fe-N _{L1}	Fe-N _{L2}
0	2,010	2,028	2,028	2,011	2,026	2,030	2,004	2,102	2,102
10	2,010	2,026	2,028	2,011	2,027	2,029	2,005	2,101	2,106
20	2,010	2,024	2,033	2,010	2,027	2,032	2,006	2,099	2,118
30	2,009	2,022	2,037	2,009	2,024	2,036	2,005	2,090	2,135
40	2,007	2,019	2,040	2,008	2,039	2,022	2,002	2,084	2,143
45	2,006	2,018	2,040	2,007	2,022	2,037	2,001	2,080	2,142
50	2,005	2,017	2,038	2,007	2,021	2,038	1,999	2,079	2,138
60	2,003	2,016	2,036	2,004	2,020	2,036	1,996	2,079	2,124
70	2,002	2,015	2,034	2,004	2,018	2,035	1,995	2,080	2,108
80	2,001	2,013	2,036	2,001	2,016	2,038	1,993	2,084	2,087
90	2,001	2,013	2,038	2,001	2,011	2,045	1,993	2,085	2,087
100	2,001	2,013	2,037	2,001	2,013	2,042	1,993	2,082	2,089
110	2,002	2,015	2,035	2,002	2,015	2,037	1,994	2,074	2,092
120	2,003	2,016	2,037	2,004	2,016	2,038	1,995	2,079	2,115
130	2,005	2,018	2,039	2,005	2,016	2,041	1,999	2,081	2,136
140	2,007	2,020	2,039	2,008	2,018	2,041	2,002	2,084	2,143
150	2,009	2,022	2,038	2,009	2,020	2,039	2,004	2,091	2,135
160	2,010	2,025	2,033	2,010	2,024	2,035	2,003	2,096	2,119
170	2,010	2,027	2,029	2,011	2,028	2,028	2,005	2,089	2,107
180	2,011	2,027	2,027	2,011	2,026	2,030	2,008	2,104	2,104

*) Fe-N_{L1} oznacza długość wiązania pomiędzy Fe i pierwszym ligandem osiowym, Fe-N_{L2} – długość wiązania pomiędzy Fe i drugim ligandem osiowym

Danymi startowymi w procesie optymalizacji struktury dla każdego z kątów pomiędzy pierścieniami ligandów osiowych była otrzymana z optymalizacji geometria dla równoległej wzajemnej orientacji pierścieni (kąt 0°). Współrzędne *x* i *y* atomu Fe oraz dwóch atomów węgla w każdym z pierścieni ligandów osiowych były ustalone (nie uległy zmianom w trakcie procesu optymalizacji). Dało to możliwość utrzymania centrum kompleksu w środku układu współrzędnych oraz zadanego kąta pomiędzy ligandami osiowymi podczas optymalizacji. Sposób zmiany kąta przedstawiony na rys. 2.15 wynikał z danych doświadczalnych dla kąta 57° w przypadku kompleksu [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ [276].

Na podkreślenie zasługuje to, że przy jednoczesnym obrocie obydwu ligandów osiowych (rys. 2.13) długości wiązań Fe-N_L, uzyskane w procesie optymalizacji, dla

każdego z ligandów danej cząsteczki, różnią się. Wynika to z deformacji płaszczyzny porfirynowego pierścienia, która największa jest dla orientacji ligandów osiowych zbliżonej do prostopadłej, a najmniejsza dla orientacji równoległej. W podobny sposób zmienia się różnica pomiędzy długościami wiązań Fe-N_L.

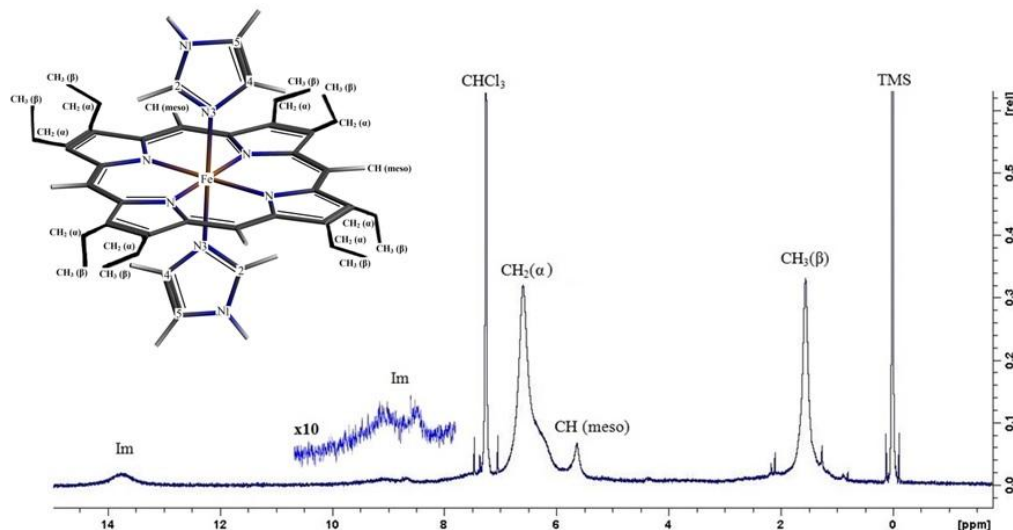
Długości wiązań Fe-N_p zmieniają się w mniejszym stopniu wraz z obrotem ligandów osiowych w porównaniu z długościami wiązań Fe-N_L, czego należało oczekiwać. W porównaniu z danymi doświadczalnymi dla [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ zarówno wiązania Fe-N_p, jak i Fe-N_L, obliczone w procesie optymalizacji modelu [Fe(III)(P)(Im)₂]⁺, są nieco dłuższe. Dane doświadczalne dla [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺: Fe-N_p=1,989 Å, Fe-N_L=1,974 Å [276]. Optymalizacja struktury [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ dla kąta 57° między ligandami imidazolu dała wartości długości wiązań: Fe-N_p=1,992 Å, Fe-N_L=2,016 Å, a więc bardzo dobrą zgodność uzyskano dla wiązań Fe-N_p w porfirynowym pierścieniu i nieco zawyżone wartości dla wiązań Fe-N_L. Struktura molekularna w najbliższym otoczeniu jonu Fe, wpływa na strukturę elektronową całego kompleksu [283].

3. *Struktura molekularna a struktura elektronowa Fe-oktaetyloporfiryny z ligandami imidazolu, histydyny i β -pikoliny*

Na podstawie przedstawionych w poprzednim rozdziale wyników badań struktury molekularnej można stwierdzić, że Fe-porfiryny z ligandami imidazolu stosowane są jako modelowe układy biologicznie aktywnych białek hemowych, gdzie do cząsteczki hemu, a dokładniej do jonu żelaza, położonego w centralnej części hemu, dołączona jest jedna lub dwie cząsteczki histydyny. Ze względu na trudności w syntezie kompleksów Fe-porfiryn z histydyną oraz niestabilność struktury tych kompleksów, dane literaturowe mają charakter szczątkowy i dotyczą jedynie kompleksów w roztworze będącym mieszaniną wody i alkoholu etylowego, co ogranicza krąg możliwych do zastosowania metod badawczych. Na podstawie danych literaturowych nie można ocenić na ile model z imidazolem odpowiada kompleksom z histydyną. W danym rozdziale zostaną porównane charakterystyki spektroskopowe obydwu typów kompleksów w oparciu o takie metody jak ^1H NMR, EPR, spektroskopia Mössbauera i elektronowa spektroskopia absorpcyjna. Z danych teoretycznych dla kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$, przedstawionych w rozdziale 2, wynika, że struktura elektronowa tego kompleksu jest nieco inna niż pozostałych dwóch. Porównanie widm spektroskopowych kompleksu z imidazolem z odpowiednimi widmami kompleksu z β -pikoliną, w przypadku porfiryнового makropierścienia o tej samej strukturze odpowiadającej oktaetyloporfirynie, umożliwi wyeksponowanie czynników struktury molekularnej spoza porfiryнового pierścienia wpływających na charakterystyczne cechy widm spektroskopowych badanych kompleksów. NMR jest jedną z najczęściej stosowanych metod weryfikacji struktury molekularnej, ale w połączeniu z obliczeniami teoretycznymi może być również źródłem informacji o strukturze elektronowej. Poniżej przedstawimy dyskusję wyników ^1H NMR trzech badanych w tej pracy kompleksów, od strony molekularnej i elektronowej.

3.1. Analiza widm ^1H NMR $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$

Widmo ^1H NMR kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ przedstawiono na rys. 3.1, natomiast liczbowe parametry tego widma w tabeli 3.1.



Rys. 3.1. Widmo ^1H NMR $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ w rozpuszczalniku CDCl_3 w temperaturze pokojowej

Tabela 3.1. Przesunięcia chemiczne ^1H NMR i parametry struktury badanych kompleksów sześciokoordynacyjnych

Kompleks	Protony	δ_{obs} [ppm]	δ_{para} [ppm]	r [Å]	θ [deg]	Ω [deg]	$\frac{(3\cos^2\theta-1)}{r^3}$ * $10^{26}[\text{m}^{-3}]$	$\frac{(\sin^2\theta\cos 2\Omega)}{r^3}$ * $10^{26}[\text{m}^{-3}]$	δ_{dip} [ppm]	δ_{con} [ppm]
$[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$	meso-CH	5,6	-4,2	4,5	89	46	-109,0	-3,8	-10,9	6,7
	α -CH ₂	6,6	2,7	6,1	85	17	-43,1	36,2	-7,2	9,9
	β -CH ₃	1,6	-0,2	6,5	78	23	-31,7	24,2	-5,2	5,0
	Im-H ₁	13,7	2,7	5,1	15	47	135,6	0,0	13,9	-11,2
	Im-H ₄	9,1	8,2	3,3	41	43	197,2	8,3	19,5	-11,3
	Im-H ₅	8,7	2,0	5,2	14	41	129,7	0,0	13,3	-11,3
$[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$	meso-CH	5,4	-4,4	4,5	89	46	-109,6	-3,8	-23,2	18,8
	α -CH ₂	6,8	2,9	6,1	85	17	-43,1	36,2	-10,3	13,2
$[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$	meso-CH	5,3	-4,5	4,5	89	46	-109,6	-3,8	-10,0	5,5
	α -CH ₂	6,6	2,7	6,1	85	17	-43,1	36,2	-7,0	9,7

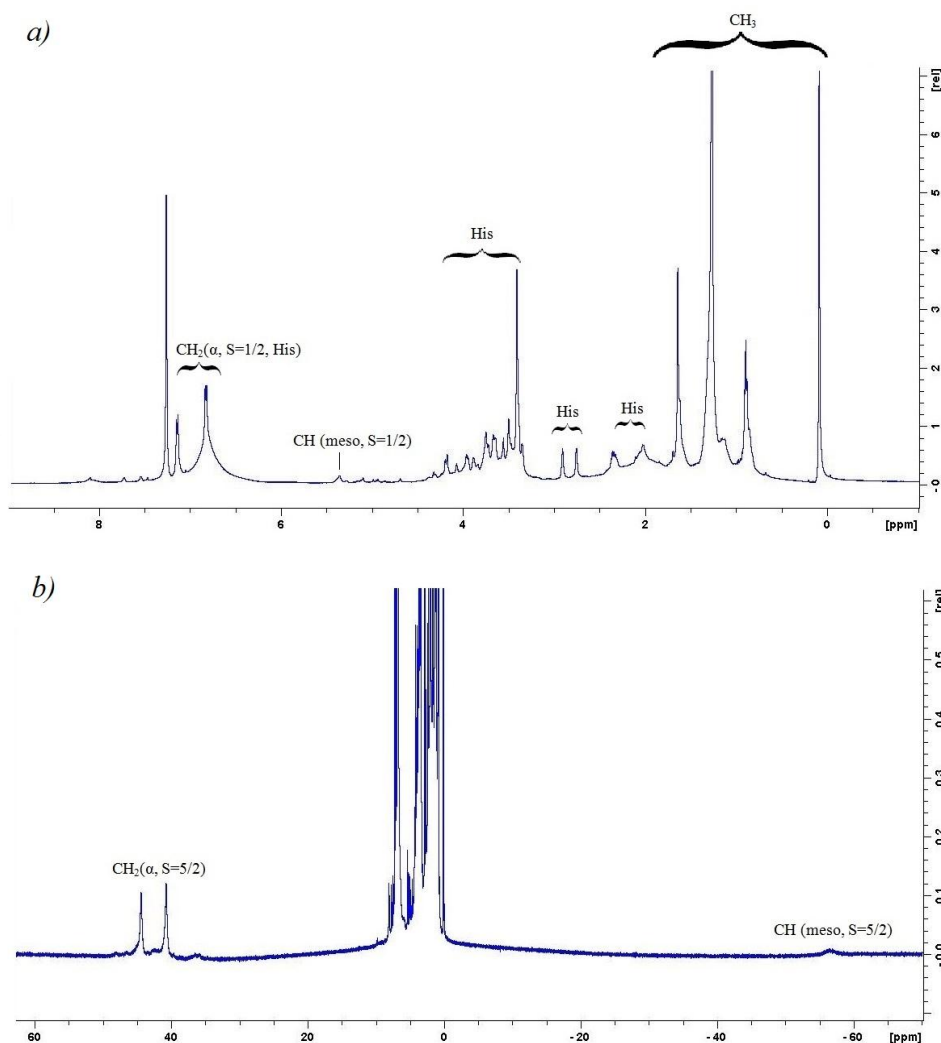
Parametry podane w tabeli 3.1. zostały obliczone na podstawie wzorów (1.10), przy czym wkład kontaktowy został określony po wyliczeniu dipolowego, na podstawie zależności (1.6). Przypisanie pików odpowiednim protonom w strukturze porfiryнового pierścienia było stosunkowo proste, biorąc pod uwagę względny

stosunek intensywności oraz dane z pracy [135]. Poszerzony pik w zakresie 6,4–6,6 ppm kryje sygnały od α -CH₂ oraz trudny do zidentyfikowania sygnał, który może należeć do któregoś z protonów imidazolu, np. do protonu w pozycji 2, albo *meso*-CH – jeśli protony w położeniach mostków metinowych okazałyby się nierównoważne. Charakterystyczny pik od *meso*-CH jest bardziej przesunięty w stronę niskiego pola magnetycznego w porównaniu z widmami przedstawionymi w pracy [135] i jest bliższy danym z pracy [23] dla [Fe(III)(ETIOP)(Im)₂]⁺. Sygnały od protonów pierścieni imidazolowych są trudniejsze do identyfikacji ze względu na małą intensywność i poszerzoną linię. Poszerzenie sygnałów pierścieni imidazolowych może wynikać z tego, że rotacja tych pierścieni, albo drgania wokół wiązania Fe-N_{Im}, są niewystarczająco szybkie, aby sygnały te mogły się uśredniać w podobny sposób jak sygnały grup metylowych (CH₃) lub metylenowych (CH₂). Pik (Im-H₂) nie był obserwowany również w widmach [Fe(III)(ETIOP)(Im)₂]⁺ i [Fe(III)(TPP)(Im)₂]⁺ (rys. 1.24). Wielkości wkładów dipolowych δ_{dip} i kontaktowych δ_{con} w porfirynowym pierścieniu są różne w poszczególnych grupach atomów. W porfirynowym pierścieniu oddziaływanie dipolowe przesunęło sygnały ¹H NMR w kierunku silnego pola magnetycznego, natomiast oddziaływanie kontaktowe – w kierunku słabego pola. W pierścieniu imidazolowym sytuacja jest odwrotna. Ze względu na przybliżony charakter wzoru (1.10), wartości składowych podane w δ_{dip} i δ_{con} należy analizować raczej jakościowo a nie ilościowo, gdyż wyrażenie (1.10) nie uwzględnia odchyłek od symetrii osiowej ani nisko położonych stanów wzbudzonych.

[Fe(III)(OEP)(His)₂]⁺

Porównując widmo ¹H NMR kompleksu z histydyną (rys. 3.2a) z omawianym powyżej widmem kompleksu z ligandami imidazolu (rys. 3.1), można zauważyć bardziej złożony charakter widma z większą ilością pików o różnej intensywności i szerokości w przypadku kompleksu z histydyną. Mogłoby to się wydawać zrozumiałe, gdyż ligandy histydyny zawierają większą ilość nierównoważnych atomów wodoru w porównaniu z ligandami imidazolu, lecz biorąc pod uwagę dużą ilość intensywnych pików w zakresie 0,8–2 ppm, należy przypuszczać, że mamy do czynienia więcej niż z jednym kompleksem Fe(OEP) zawierającym tylko ligandy histydyny. Wiadomo z literatury, że kompleksy Fe-porfiryn z histydyną są niestabilne [273]. Ligandy histydyny mogą odrywać się od jonu żelaza w porfirynowym pierścieniu, tworząc

kompleksy pięciokoordynacyjne lub, po przyłączeniu innego ligandu, np. O_2 , mogą tworzyć struktury o zróżnicowanej charakterystyce spektroskopowej.



Rys. 3.2. Widmo ^1H NMR $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{His})_2]^+$ w rozpuszczalniku CDCl_3 w temperaturze pokojowej: a) fazy odpowiadającej spinowi $S=1/2$, b) fazy odpowiadającej spinowi $S=5/2$

Porównując widma przedstawione na rys. 3.2.a i rys. 3.1, w przypadku widma kompleksu z histydyną można dostrzec charakterystyczne piki, odpowiadające stanowi spinowemu Fe^{3+} , $S=1/2$: są to dwa jednakowej intensywności piki w zakresie 5–5,5 ppm typowe dla protonów w położeniach mostkowych $\text{Fe}(\text{OEP})$ oraz intensywny pik w zakresie 6–7 ppm, pochodzący od grup metylenowych CH_2 . Piki od histydyny trudne są do jednoznacznego przypisania ze względu na przekrywanie się z pikami od porfiryнового pierścienia oraz na zbyt małą intensywność wynikającą z dosyć szybkiego rozpadu kompleksu $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{His})_2]^+$ w roztworze deuterowanego

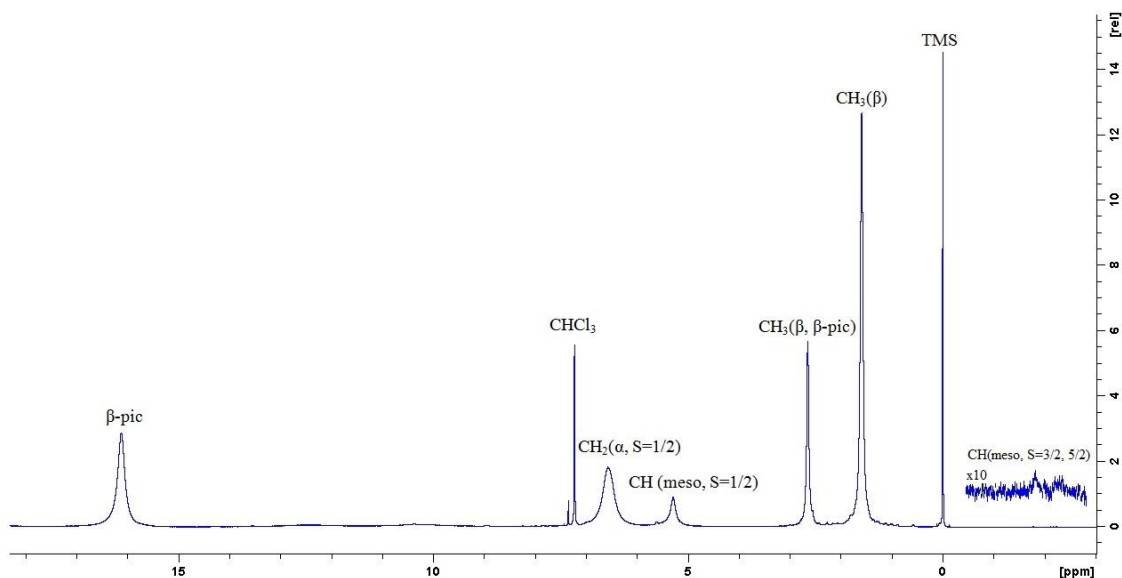
chloroformu. Mogą o tym świadczyć słabej intensywności piki od wolnej histydyny w zakresie 3,5–4,5 ppm [139] oraz widmo zarejestrowane w poszerzonym zakresie przesunięć chemicznych (rys. 3.2b), na którym widoczne są piki charakterystyczne dla kompleksów pięciokoordynacyjnych w stanie Fe(III), $S=5/2$ (tabela. 1.5). Odpowiada temu poszerzony pik w zakresie wysokich pól (-56 ppm) oraz dwa piki o jednakowej intensywności w zakresie niskich pól (42 ppm). W tabeli 3.1 nie podano obliczeń dla protonów histydyny, gdyż trudno jest je przypisać do odpowiednich pozycji, a ponadto nie ma w literaturze danych diamagnetycznego kompleksu Fe-porfiryny z histydyną, na podstawie którego można byłoby określić wkłady paramagnetyczne do przesunięć chemicznych.

Tak więc widma ^1H NMR kompleksu z histydyną potwierdzają możliwość otrzymywania niskospinowych, syntetycznych kompleksów z ligandami histydyny zmodyfikowaną metodą syntezy, zaproponowaną w niniejszej pracy oraz rozpad tego kompleksu w roztworze prowadzący do powstania m.in. wysokospinowych produktów Fe^{3+} .

[Fe(III)(OEP)(β -pik) $_2$] $^+$

Widmo kompleksu z β -pikoliną (rys. 3.3) zawiera piki typowe dla pierścienia oktaetyloporfiryny z jodem żelaza w stanie Fe^{3+} , $S=1/2$, podobnie jak w przypadku kompleksów z imidazolem i histydyną. Charakterystycznym pikiem od protonów pierścienia pirydyny jest pik w położeniu 16,1 ppm, jednak nie można określić na tym etapie, do których konkretnie protonów pirydynowego pierścienia można byłoby ten pik przypisać. W pracy [138] podobny pik również przypisany został do protonów pierścienia pirydyny w kompleksie $[\text{Fe(III)(PPIX)(Py)}_2]^+$. Stosunkowo intensywny pik 2,7 ppm może być przypisany do grupy metylowej CH_3 , przyłączonej do pierścienia pirydyny, na podstawie stosunku powierzchni pod tym pikiem i powierzchni pod pikiem 1,6 ppm, odpowiadającemu w przybliżeniu stosunkowi liczby protonów w grupach CH_3 porfiryнового pierścienia i dwóch pirydynowych pierścieni. W zakresie -1,8 ppm można dostrzec szeroki pik bardzo małej intensywności charakterystyczny dla protonów w położeniach mostkowych pierścienia oktaetyloporfiryny, dla kompleksów w stanie kwantowo-mechanicznym mieszanym $S=3/2,5/2$ [132]. W tabeli 3.1 nie podano obliczeń dla protonów pirydynowego pierścienia z tych samych powodów co w przypadku histydyny.

Widma ^1H NMR kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ potwierdzają stan niskospinowy stan jonu Fe^{3+} w tym kompleksie w roztworze deuterowanego chloroformu w temperaturze pokojowej, z możliwą niewielką domieszką stanu kwantowo-mechanicznie mieszanego $S=3/2, 5/2$.



Rys. 3.3. Widmo ^1H NMR $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ w rozpuszczalniku CDCl_3 w temperaturze pokojowej

Reasumując wyniki badań ^1H NMR można stwierdzić, że potwierdziły one stan niskospinowy jonu Fe^{3+} , świadczący o strukturze sześciokodynacyjnej we wszystkich trzech kompleksach w temperaturze pokojowej, a także domieszki innych faz w próbkach kompleksów zawierających histydynę i β -pikolinę.

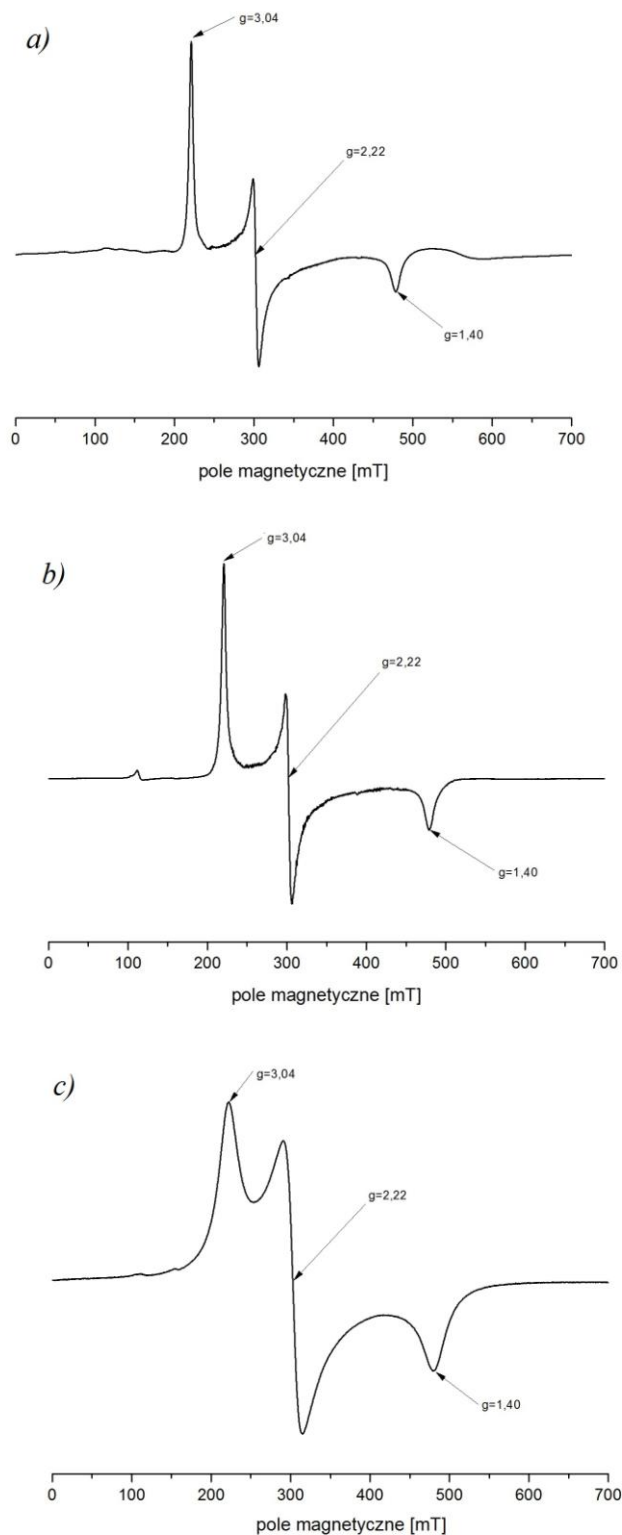
3.2. Analiza widm EPR

Pomimo tego, że mamy do czynienia z kompleksami o takim samym najbliższym otoczeniem jonu Fe^{3+} (6 atomów azotu), to widma EPR, które w danym przypadku charakteryzują elektronową strukturę jonu Fe^{3+} w odniesieniu do rozkładu na d -orbitalach niesparowanych elektronów, dla każdego z kompleksów mają inny kształt i parametry. W tym paragrafie przeanalizujemy bardziej szczegółowo widma każdego z kompleksów.

Kompleks zawierający imidazol

Widma tego kompleksu, przestawione na rys. 3.4, mają kształt i parametry charakterystyczne dla typu II (tabela 1.6), odpowiadające strukturze z wzajemną

orientacją płaszczyzn pierścieni imidazolowych zbliżoną do równoległej oraz płaskim porfirynewym pierścieniem o konfiguracji elektronowej $(d_{xy})^2(d_{xz}, d_{yz})^3$ jonu Fe^{3+} .



Rys. 3.4. Widma EPR $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$: a) fazy stałej w temperaturze 6 K, b) roztworu w DME w temperaturze 6 K, c) roztworu w DME w temperaturze 80 K

Parametry widm EPR wraz z konfiguracją trzech orbitali d_{xy} , d_{xz} i d_{yz} przedstawiono w tabeli 3.2. Podobne widma EPR były rejestrowane w przypadku cytochromów b_5 [171] i innych białek hemowych (tabela 1.6). Rombowej deformacji otoczenia jonu Fe^{3+} , przejawiającej się w stosunkowo dużym rozszczepieniu pasma niskopolewego widma, odpowiada rozszczepienie d -orbitali typu π (d_{xz} , d_{yz}), które można oszacować w oparciu o równania (1.14). Można również określić położenie na skali energii orbitalu d_{xy} , w stosunku do orbitali d_{π} .

Tabela 3.2. Parametry widm EPR oraz konfiguracji orbitali d_{xy} i d_{π} dla kompleksów o spinie $S=1/2$

Kompleks	Faza próbki	Temp. [K]	g_{xx}	g_{yy}	g_{zz}	$V/\lambda^{(1)}$	$\Delta/\lambda^{(1)}$	V/Δ	Δd_{π} [eV]	Δd_{xy} [eV]
$[Fe(III)(OEP)(Im)_2]^+$	proszek	6	1,40	2,22	3,04	1,62	3,16	0,51	0,06	0,12
$[Fe(III)(OEP)(His)_2]^+$	proszek	6	0,85 ²⁾	1,40	3,65	0,67	6,47	0,10	0,02	0,24
$[Fe(III)(OEP)(\beta\text{-pik})_2]^+$	roztwór DME	80	1,43 ²⁾	2,25	2,98	1,76	3,05	0,57	0,06	0,11
			-	-	3,51	-	-	-	-	-

¹⁾ Wartości w jednostkach stałej sprzężenia spin-orbita λ

²⁾ Parametry obliczone na podstawie zależności (1.15)

Wartości rozszczepienia Δd_{π} -orbitali oraz odległość orbitalu Δd_{xy} od środka orbitali d_{π} na skali energii, podane w tabeli 3.2, są znacznie większe od obliczonych metodą DFT (tabela 2.5). Może to wynikać z faktu, że wartości teoretyczne odnoszą się jedynie do struktury molekularnej izolowanej, pojedynczej cząsteczki, natomiast oszacowane na podstawie parametrów widm EPR uwzględniają oddziaływanie z otoczeniem, które może dodatkowo deformować symetrię otoczenia jonu Fe^{3+} , zmieniając przez to energię d -orbitali i ich wzajemne rozmieszczenie. Podany w tabeli 3.2 czynnik geometryczny V/Δ , charakteryzujący stosunek rozszczepienia rombowego do tetragonalnego, jest dosyć wysoki, co potwierdza obniżenie symetrii w otoczeniu jonu Fe^{3+} w wyniku zbliżonej do równoległej wzajemnej orientacji pierścieni imidazolowych. Stosunkowo wąskie piki widma kompleksu w fazie stałej, które niemal pokrywa się z widmem w roztworze DME w temperaturze 6 K, mogą świadczyć o tym, że oddziaływanie w bardzo niskiej temperaturze nie jest zbyt duże ani pomiędzy sąsiednimi cząsteczkami kompleksu (faza stała) ani pomiędzy cząsteczkami kompleksu i rozpuszczalnika (roztwór DME). Słabe oddziaływanie pomiędzy cząsteczkami kompleksu można uzasadnić strukturą molekularną, w której jon Fe^{3+} jest otoczony z każdej strony ligandami. Oddziaływanie z otoczeniem uwidacznia się przy podwyższeniu temperatury do 80 K (rys. 3.4c), gdzie wyraźnie wzrasta szerokość linii absorpcyjnej.

Oddziaływaniu temu sprzyja wzrost amplitudy drgań atomów i całych cząsteczek porfirynowego kompleksu i rozpuszczalnika.

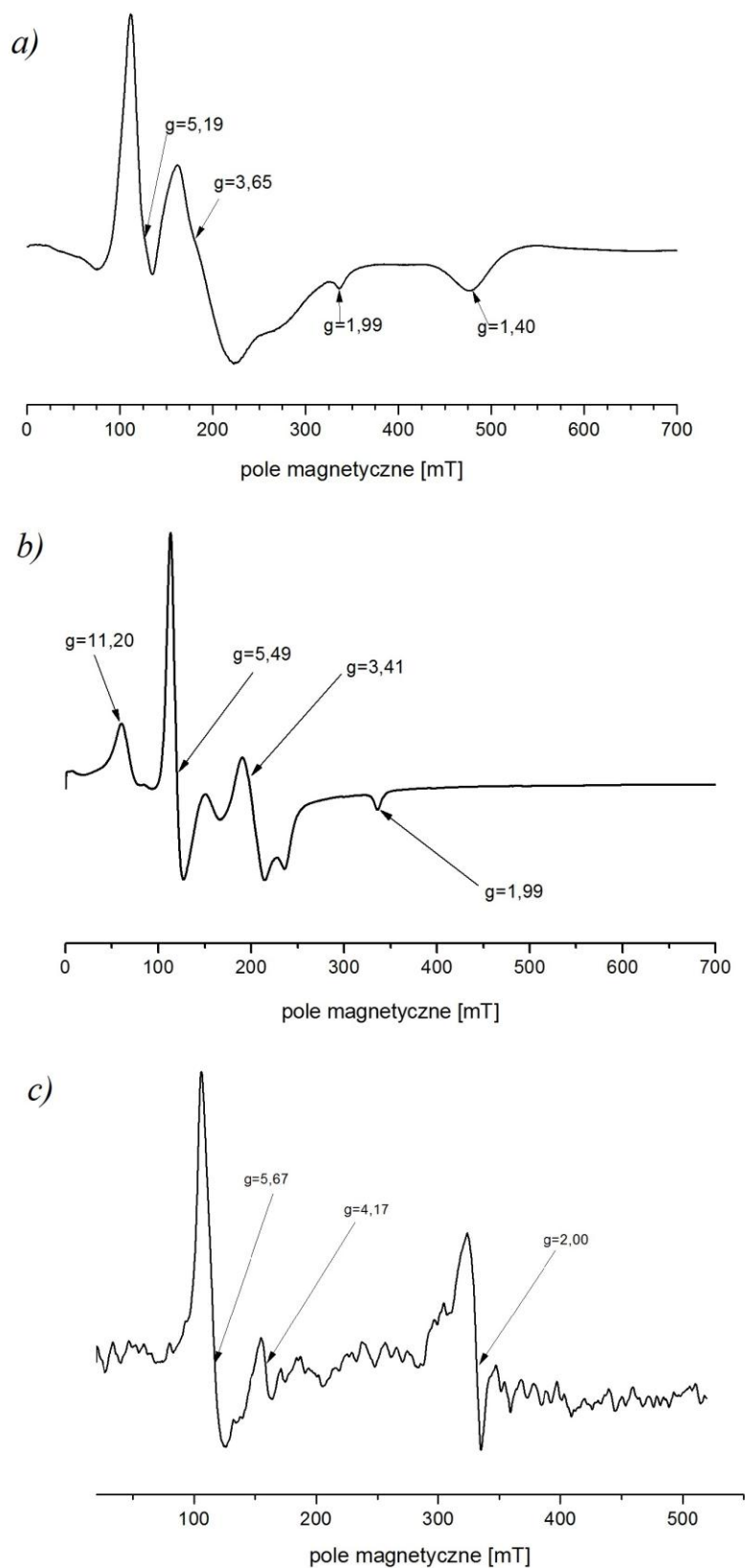
W oparciu o podobieństwo struktury molekularnej kompleksów $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ można byłoby oczekiwać, że widma EPR obydwu kompleksów będą również podobne. Okazuje się, że wcale tak nie musi być. Przedstawimy poniżej omówienie widm kompleksu z histydyną.

Kompleks zawierający histydynę

Widma EPR kompleksu z histydyną przedstawiono na rys. 3.5, a parametry dla składowej odpowiadającej stanowi niskospinowemu, w tabeli 3.2. W widmie kompleksu w fazie stałej można wyróżnić piki pochodzące od jonu Fe^{3+} o spinie $S=1/2$ i piki, które można przypisać do stanu kwantowo-mechanicznie mieszanego, dla którego parametry podano w tabeli 3.3.

Tabela 3.3. Parametry widm EPR kompleksów w stanie kwantowo-mechanicznie mieszanym $S=5/2,3/2$

Kompleks	Faza próbki	Temp. [K]	g_{xx}	g_{yy}	g_{zz}	a	b	Wkład fazy o spinie $S=5/2$ [%]
Produkty rozpadu $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$	proszek	6	$5,19 \pm 0,04$	$5,19 \pm 0,04$	$1,99 \pm 0,01$	0,77	0,64	60
	roztwór DME	6	$5,49 \pm 0,04$	$5,49 \pm 0,04$	$1,99 \pm 0,01$	0,86	0,50	75
	roztwór DME	80	$5,67 \pm 0,04$	$5,67 \pm 0,04$	-	0,91	0,41	84
	roztwór DME	80	$4,17 \pm 0,03$	-	-	0,29	0,96	9
$[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$	Proszek	6	$5,00 \pm 0,03$	$5,00 \pm 0,03$	$1,99 \pm 0,01$	0,71	0,71	50
	roztwór DME	6	$5,84 \pm 0,04$	$5,84 \pm 0,04$	$1,99 \pm 0,01$	0,96	0,28	92
	roztwór DME	6	$4,30 \pm 0,03$	-	-	0,39	0,92	15
	roztwór DME	80	$5,46 \pm 0,04$	$5,46 \pm 0,04$	$2,00 \pm 0,01$	0,85	0,52	73
	roztwór DME	80	$4,26 \pm 0,03$	-	-	0,36	0,93	12



Rys. 3.5. Widma EPR $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$: a) fazy stałej w temperaturze 6 K, b) roztworu w DME w temperaturze 6 K, c) roztworu w DME w temperaturze 80 K

Należy podkreślić, że obydwa piki fazy niskospinowej ($g = 3,65$ i $g = 1,40$) są charakterystyczne dla widm typu I (tabela 1.6) i jednoznacznie potwierdzają otrzymanie w wyniku syntezy kompleksu sześciokoordynacyjnego z ligandami histydyny. Kompleks ten jest dosyć stabilny w fazie stałej (widma rejestrowano po upływie około jednego miesiąca od zakończenia syntezy). Rozszczepienie Δd_{π} -orbitali jest znacznie mniejsze od tego dla kompleksu z imidazolem, a orbital d_{xy} jest bardziej oddalony od orbitali d_{π} (tabela 3.2), co jakościowo jest zgodne z danymi teoretycznymi podanymi w tabeli 2.5, dla prostopadłej orientacji ligandów histydyny. Czynniki geometryczne V/Δ jest znacznie mniejszy w porównaniu z kompleksem zawierającym imidazol, co świadczy o wyższej symetrii struktury w otoczeniu jonu Fe^{3+} z ligandami histydyny. Podobne widma obserwowano w próbkach układów biologicznych zawierających cytochromy *b*, w których hem połączony jest z dwoma ligandami histydyny [284–288]. W strukturze molekularnej odpowiada to przypadkowi, gdy płaszczyzny pierścieni ligandów histydyny ustawione są względem siebie w sposób zbliżony orientacji prostopadłej.

Jak wspomniano wyżej, kompleks z histydyną jest dosyć stabilny w fazie stałej, jednak w roztworze szybko ulega rozkładowi. Widmo przedstawione na rys. 3.5b, zarejestrowano po upływie około 5 minut po rozpuszczeniu w DME. Widać, że intensywność piku ($g = 3.41$) fazy niskospinowej w temperaturze 6 K znacznie się zmniejszyła, a pojawił się nowy pik ($g = 11,20$). Może to świadczyć o rozpadzie kompleksu, a produkty rozpadu mają spin inny niż $1/2$. Sądząc po kształcie i położeniu najbardziej intensywnego piku niskopolowego ($g=5,19-5,67$), obserwowanego we wszystkich widmach na rys. 3.5, można przypuszczać, że pochodzi on od stanu kwantowo-mechanicznie mieszanego $S = 3/2, 5/2$, którego wartości tensora g mieszczą się w przedziale 4–6, w zależności od wielkości wkładów spinów $3/2$ i $5/2$ do stanu kwantowo-mechanicznie mieszanego [227, 289–291]. Procentowy udział składowych $S = 3/2$ i $S=5/2$ w stanie kwantowo-mechanicznie mieszanym może być oszacowany na podstawie modelu Maltempo [292], w którym funkcję falową stanu mieszanego można zapisać w postaci [159]:

$$|\Psi\rangle = a|{}^6A_1\rangle + b|{}^4A_2\rangle \quad (3.1)$$

Kwadraty współczynników a i b , określają procentowy udział stanów $S=3/2$ i $S=5/2$ w stanie kwantowo-mechanicznie mieszanym. Można wyznaczyć je z układu równań [293]:

$$\begin{cases} a^2 + b^2 = 1 \\ 6a^2 + 4b^2 = g_{\perp} \end{cases}, \quad (3.2)$$

gdzie g_{\perp} jest średnią wartością składowych g_{xx} i g_{yy} tensora \mathbf{g} . Wartości współczynników a i b , obliczone na podstawie układu równań (3.2) zebrano w tabeli 3.3.

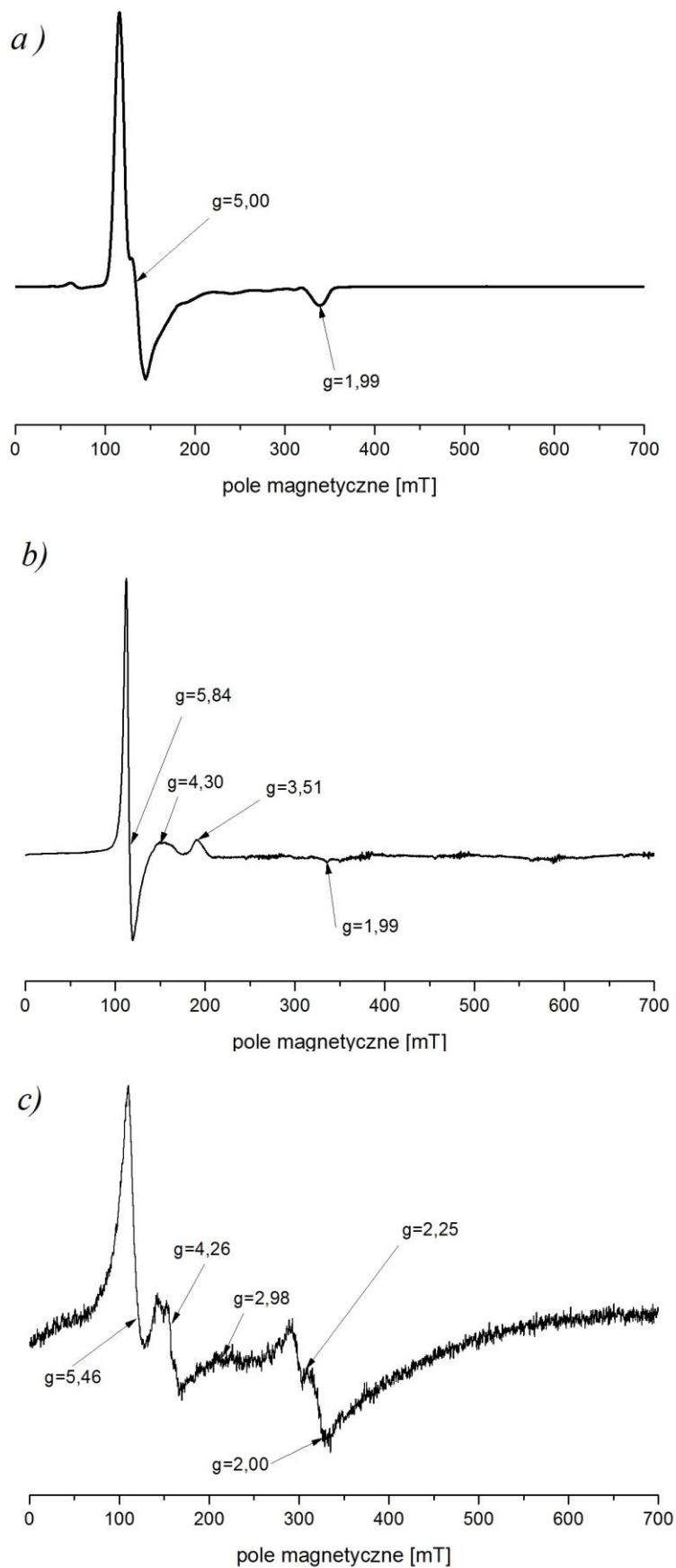
Widma EPR typu I (tabela 1.6), do których należy widmo kompleksu z histydyną o spinie $S=1/2$ obserwowane są tylko w bardzo niskich temperaturach (poniżej 20 K) [132], w odróżnieniu od widm typu II, które mogą być rejestrowane w znacznie wyższych temperaturach. Nie obserwujemy pików fazy niskospinowej w widmie zarejestrowanym w temperaturze 80 K (rys. 3.5c), czego należało oczekiwać i co dodatkowo potwierdza istnienie tej fazy w próbce kompleksu z histydyną.

Ostatnia ze składowych widma ($g=2,00$), zarejestrowanego w temperaturze 80 K, kształtem i wartością tensora \mathbf{g} najbardziej zbliżona jest do produktu zawierającego rodnik typu π lub typu σ , który mógłby się tworzyć w wyniku przyłączenia się do kompleksu np. tlenu lub w inny sposób, ale to wymagałoby potwierdzenia innymi metodami.

Tak więc badania EPR potwierdziły otrzymanie w wyniku syntezy sześciokoordynacyjnych kompleksów w rozpuszczalniku organicznym i w fazie stałej, dobrą stabilność kompleksu w fazie stałej i szybki rozpad w fazie ciekłej. Identyfikacja produktów rozpadu wymaga, dalszych szczegółowych badań.

Kompleks zawierający β -pikolinę

Widma EPR kompleksu zawierającego ligandy β -pikoliny przedstawione są na rys. 3.6 a parametry tych widm w tabelach 3.2 i 3.3. Widmo próbki w fazie stałej w temperaturze 6 K (rys. 3.6a) ma piki charakterystyczne dla stanu kwantowo-mechanicznie mieszanego, z widocznym poszerzeniem linii w zakresie 120–200 mT. Jeśli poszerzoną linię uznać za pojedynczą, to składowe spinów $S=5/2$ i $S=3/2$, odpowiadające wartości $g=5,00$ wnosząby w przybliżeniu jednakowy wkład do stanu mieszanego (tabela 3.3).



Rys. 3.6. Widma EPR $[\text{Fe(III)(OEP)}(\beta\text{-pik})_2]^+$: a) fazy stałej w temperaturze 6 K, b) roztworu w DME w temperaturze 6 K, c) roztworu w DME w temperaturze 80 K

Jednak w zamrożonym roztworze DME szerokość linii widma EPR zmniejsza się i poszerzony pik rozszczepia się na 3 składowe (rys. 3.6b), z których dwie ($g=5,84$ i $g=4,30$) można przypisać fazom w stanie kwantowo-mechanicznie mieszanym, o różnych składowych spinów $S=5/2$ i $3/2$ (tabela 3.3). Pik $g=3,51$ odpowiadałby fazie kompleksu ze spinem $S=1/2$ i zbliżoną do prostopadłej orientacją pierścieni β -pikoliny, z tym, że ze względu na małą intensywność tego pik, który w widmie EPR typu I jest najbardziej intensywny (widmo kompleksu z histydyną rys. 3.5) pozostałe dwa piki są niewidoczne. Podwyższenie temperatury do 80 K prowadzi do wzrostu intensywności pik przypisanego do fazy kwantowo-mechanicznie mieszanej (rys. 3.6c), z większą zawartością składowej $S=3/2$ oraz do stosunkowo intensywnego pik fazy niskospinowej, charakterystycznego dla orientacji pierścieni zbliżonej do równoległej (jak w przypadku kompleksu z imidazolem). Na to widmo nałożona jest jeszcze składowa $g_{zz} = 2,00$ od faz kwantowo-mechanicznie mieszanych (rys. 3.6c). Porównanie widm z rys. 3.6b i 3.6c, wskazuje na zmianę orientacji ligandów osiowych wraz z temperaturą, co może się przejawiać również w bardzo dużej szerokości linii EPR tego widma, biorąc pod uwagę, że próbka jest postaci zamrożonego roztworu. Tak duża szerokość linii może wynikać z szerokiego rozrzutu możliwych orientacji zarówno w odniesieniu do wzajemnego położenia płaszczyzn ligandów osiowych jak i ligandów osiowych względem kierunku N_p -Fe- N_p w porfirynowym pierścieniu. Jak wykazano w przypadku obliczeń kwantowo-mechanicznych tego kompleksu, (rozd. 2 § 2.6) stan spinowy może być zmieniany zarówno w wyniku zmiany temperatury jak i orientacji ligandów osiowych, co potwierdzają widma EPR.

Tak więc kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}]^+$ ma wyjątkowo złożoną, a jednocześnie interesującą pod względem możliwości aplikacyjnych, strukturę elektronową, co przejawia się w widmach spektroskopowych, w tym również w EPR.

Reasumując wyniki badań EPR można stwierdzić, że jest to metoda, która pozwala wyłonić subtelne efekty struktury molekularnej i elektronowej całego kompleksu pomimo tego, że widmo pochodzi jedynie od jonu Fe^{3+} .

3.3. Interpretacja widm mössbauerowskich

Spektroskopia Mössbauera ^{57}Fe , jako samodzielna metoda badań struktury elektronowej, posiada ograniczone możliwości, gdyż odnosi się głównie do jonu żelaza i jego najbliższego otoczenia. W powiązaniu z innymi metodami spektroskopowymi

i teoretycznymi może jednak efektywnie uzupełniać informacje o strukturze badanych kompleksów. Jak wspomniano w § 1.7.1.3 pewnym niedostatkim tej metody jest stosunkowo mała czułość w porównaniu z innymi metodami spektroskopowymi. W przypadku próbek z naturalną zawartością izotopu ^{57}Fe (bez wzbogacenia), wymagana jest stosunkowo duża ilość badanego kompleksu do zarejestrowania dobrej jakości widm. Z uwagi na to, że metoda syntezy kompleksu z histydyną jest stosunkowo mało wydajna i długotrwała, uzyskana do badań próbka w fazie stałej miała masę 12 mg, podczas gdy do zarejestrowania widma, w przypadku źródeł promieniotwórczych o aktywności ok. 25 mCi ($9 \cdot 10^8$ Bq), do których miałam dostęp, minimalna ilość masy próbki to ok. 30 mg. Dlatego poniżej omówione zostaną widma doświadczalne tylko kompleksów z imidazolem i β -pikoliną.

Jako pierwsze omówimy widma kompleksu z imidazolem.

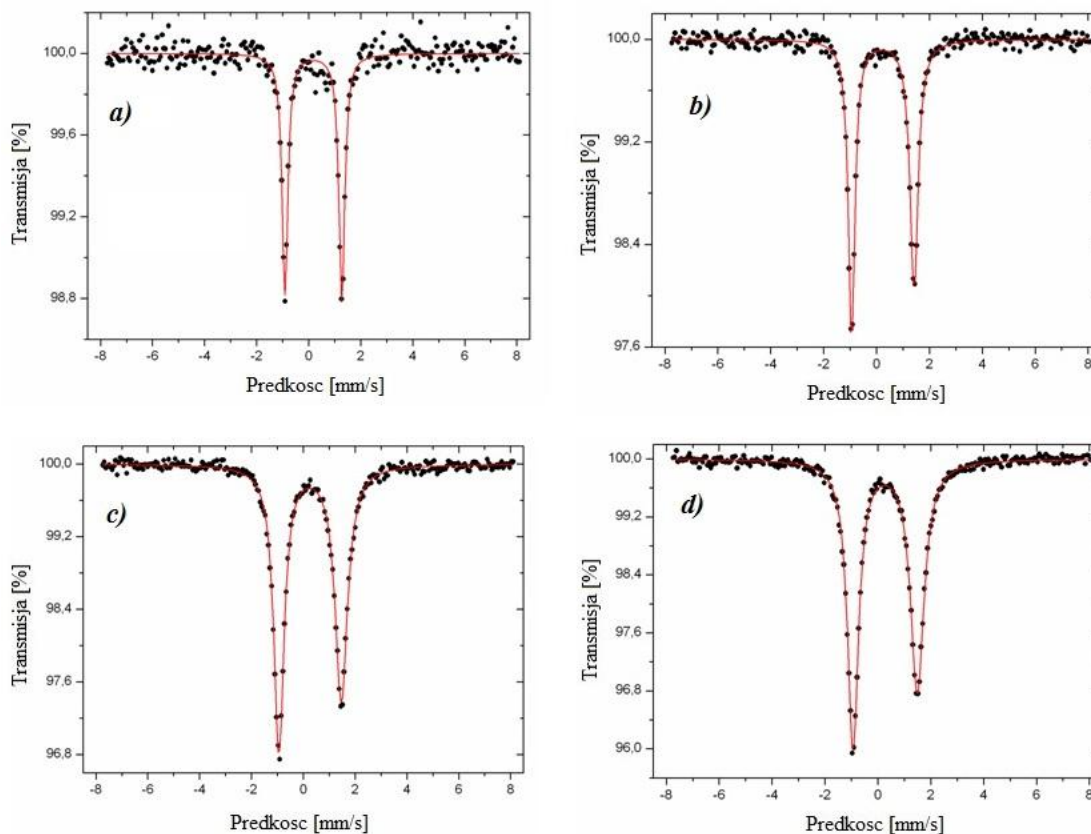
Widma kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$

Parametry tych widm w temperaturach z zakresu 6–295 K przedstawiono w tabeli 3.4, a kształt widm widoczny jest na rys. 3.7.

Tabela. 3.4. Parametry widm mössbauerowskich kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ w różnych temperaturach

Temperatura [K]	δ [mm/s]	QS [mm/s]	Γ [mm/s]	A_{21}	W_{21}
295	$0,18 \pm 0,01$	$2,19 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,03$	$1,04 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,10$
240	$0,20 \pm 0,01$	$2,27 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,03$	$1,02 \pm 0,02$	$1,06 \pm 0,06$
160	$0,24 \pm 0,01$	$2,36 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,02$	$1,04 \pm 0,03$	$1,25 \pm 0,07$
80	$0,26 \pm 0,01$	$2,41 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,02$	$1,22 \pm 0,06$
6	$0,28 \pm 0,01$	$2,43 \pm 0,01$	$0,51 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,03$	$1,23 \pm 0,04$

Wartości przesunięcia izomerycznego δ i rozszczepienia kwadrupolowego QS przedstawione w tabeli 3.4 wskazują na niskospinową konfigurację $(d_{xy})^2(d_{xz}, d_{yz})^3$ jonu Fe^{3+} . W temperaturze pokojowej widma mają postać symetrycznego dubletu. W miarę obniżania się temperatury wzrastają wartości praktycznie wszystkich parametrów widm, w tym również asymetria składowych dubletu staje się widoczna. Omówmy pokrótce zmiany każdego z parametrów wraz z obniżaniem temperatury próbki.



Rys. 3.7. Widma mössbauerowskie $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$: a) w temperaturze pokojowej, b) 160 K, c) 80 K, d) 6 K. Punkty oznaczają dane eksperymentalne, a linia ciągła – widmo dopasowane odpowiadające parametrom podanym w tabeli 3.4

Przesunięcie izomeryczne δ zwiększa nieznacznie wartość ($\Delta\delta=0,1$ mm/s) przy obniżaniu temperatury w przedziale 300–6 K. Z uwagi na to, że należy wykluczyć przejścia fazowe zarówno pierwszego jak i drugiego rodzaju, temperaturowe zmiany tego parametru mogą być spowodowane jedynie efektem Dopplera drugiego rzędu, którego miarą jest przesunięcie δ_{SOD} . Składowa przesunięcia izomerycznego δ , zależna od różnicy rozmiarów jądra w stanie podstawowym i wzbudzonym oraz od rozkładu gęstości elektronów na powłokach s wokół jądra ^{57}Fe , jest temperaturowo niezależna. Wkład δ_{SOD} , związany z efektem Dopplera, zależy od średniej wartości kwadratu prędkości termicznych $\langle v^2 \rangle$ jąder atomów wokół położenia równowagi i może być wyrażony zależnością [23]:

$$\delta_{SOD} = -\frac{E_\gamma \langle v^2 \rangle}{2c^2}, \quad (3.3)$$

gdzie E_γ jest wartością energii kwantu promieniowania γ emitowanego w wyniku rozpadu promieniotwórczego (w danym przypadku $E_\gamma=14,4$ keV), a c – prędkością światła. Ujemny znak δ_{SOD} oznacza, że zmniejszenie wartości δ_{SOD} w wyniku obniżenia

temperatury prowadzi do większych wartości dodatnich obserwowanego doświadczalnie przesunięcia izomerycznego δ .

Rozszczepienie kwadrupolowe QS jest dla większości przypadków praktycznie niezależne od temperatury [294]. W tych przypadkach, kiedy taka zależność pojawia się, tłumaczona jest często istnieniem stanów wzbudzonych, położonych na skali energii w pobliżu stanu podstawowego [295]. W naszych kompleksach taka zależność może pojawiać się w związku z możliwością zmiany obsadzeń orbitali atomowych d_{xz} i d_{yz} wraz ze zmianą temperatury, które zlokalizowane są na rozszczepionych orbitalach molekularnych.

Kolejnym parametrem widm mössbauerowskich, który zmienia się wraz ze zmianą temperatury, jest szerokość składowych dubletu i związana z tym asymetria widma. Stosunek powierzchni składowych dubletu A_{21} jest bliski jedności, co oznacza że efekt Goldanskiego–Carjagina [296], wynikający z anizotropii czynnika Debye–Waller’a w przypadku symetrii w miejscu lokalizacji jądra ^{57}Fe niższej niż kubiczna, w danym przypadku nie zachodzi. Cechą charakterystyczną asymetrii obserwowanej w widmach badanych kompleksów jest poszerzenie linii składowej dubletu, odpowiadającej wartościom o wyższej energii (dodatnie wartości prędkości), w porównaniu ze składową w zakresie niższych energii. Tego typu asymetria pojawia się często w widmach Fe-porfiryn [294, 297, 298] i wynika z procesów relaksacji spinowo-sieciowej i spinowo-spinowej [299]. Za miarę asymetrii widm przyjmuje się często stosunek szerokości linii składowych dubletów. W_{21} oznacza stosunek szerokości linii lorentzowskiej dubletu wysokoenergetycznego do szerokości linii dubletu niskoenergetycznego (tabela 3.4). Zwiększanie się asymetrii widm wraz z obniżaniem temperatury charakterystyczne jest dla relaksacji spinowo-sieciowej, która indukuje fluktuacje pola elektrycznego w kierunku prostopadłym do płaszczyzny porfiryнового pierścienia w miejscu lokalizacji jądra ^{57}Fe , a to z kolei powoduje przejścia pomiędzy poziomami jądrowymi $|\pm 3/2\rangle \rightarrow |\pm 1/2\rangle$, prowadząc do nierównomiernego poszerzenia składowych dubletu. W przypadku relaksacji spinowo-sieciowej jony żelaza Fe^{3+} oddziałują z siecią (najbliższym otoczeniem) poprzez sprzężenie spin-orbita i orbita-fonon, powiązanego z drganiami atomów i fluktuacją pola elektrycznego na jądrze żelaza, która staje się wolniejsza wraz z obniżaniem temperatury [299]. Możliwe jest też poszerzenie składowej dubletu z zakresu ujemnych wartości prędkości, w stosunku do składowej o wyższej energii [300], czyli odwrotna asymetria widma. Taki przypadek

tłumaczy się dominującymi fluktuacjami pola elektrycznego w płaszczyźnie porfirynowego pierścienia.

Relaksacja spinowo-spinowa zachodzi w wyniku oddziaływania dipol→dipol pomiędzy jonami Fe^{3+} . W zasadzie czas relaksacji spinowo-spinowej nie zależy od temperatury a od koncentracji oddziaływujących jonów żelaza, jednak w przypadku kompleksów o spinie $S > 1/2$ temperaturowa zależność relaksacji spinowo-spinowej jest możliwa [301]. Przykładem może być, kompleks ze spinem $S = 5/2$, dla którego obsadzenie dubletów Kramera $|\pm 1/2\rangle$, $|\pm 3/2\rangle$, i $|\pm 5/2\rangle$, wynikających z rozszczepienia w polu krystalicznym, w temperaturze pokojowej jest jednakowe. W wyniku obniżenia temperatury zwiększa się obsadzenie podpoziomu $|\pm 1/2\rangle$, a zmniejsza – podpoziomów $|\pm 3/2\rangle$ i $|\pm 5/2\rangle$. Czas relaksacji dla podpoziomu $|\pm 1/2\rangle$ jest krótszy niż dla pozostałych dwóch, w wyniku czego dublety mössbauerowskie są bardziej symetryczne w niskich temperaturach niż w wysokich. My obserwujemy odwrotny przypadek, co może również potwierdzać stan spinowy $S = 1/2$ w przypadku kompleksu z imidazolem.

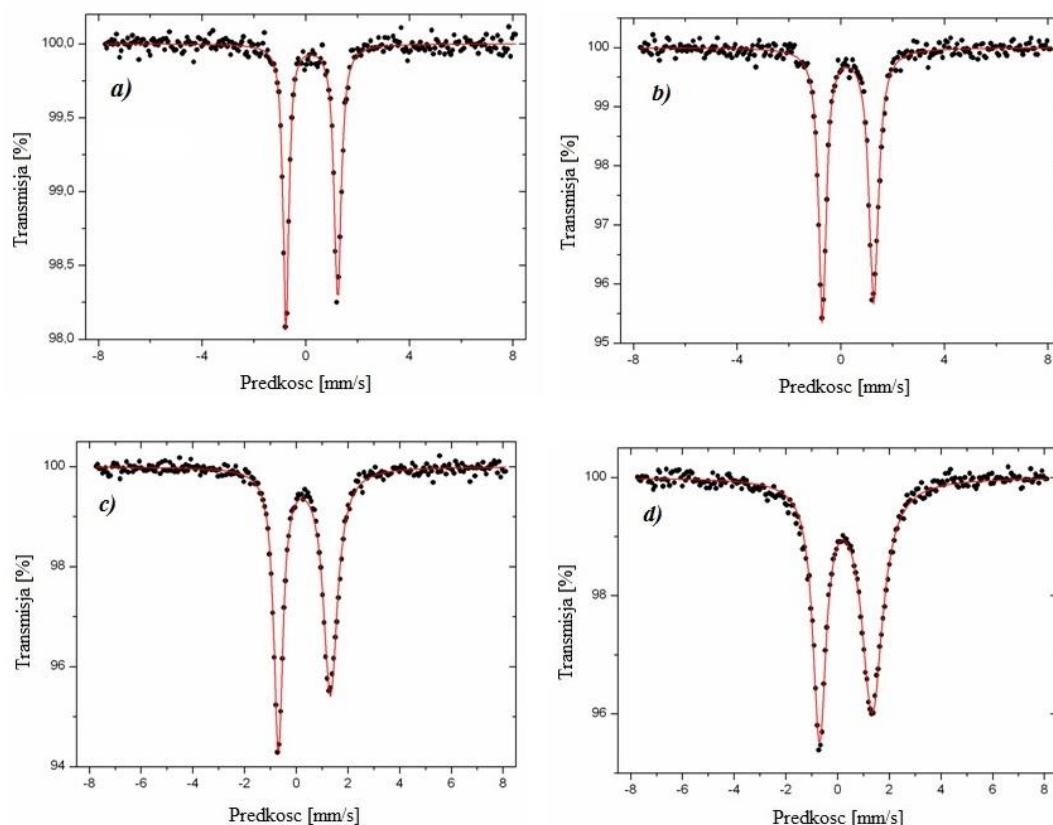
Bardziej złożony jest przypadek widm mössbauerowskich kompleksu z β -pikoliną.

Widma kompleksu $[\text{Fe}(\text{OEP})(\beta\text{-pik})_2]^+$

Analizę widm kompleksu z β -pikoliną rozpoczęto od dopasowania widm pojedynczym dubletem, tak jak to przeprowadzono dla kompleksu z imidazolem. Wyniki takiej analizy przedstawiono w tabeli 3.5, a widma na rys. 3.8. Patrząc na dopasowanie krzywej lorentzowskiej do punktów doświadczalnych można odnieść wrażenie, że jakość dopasowania nie jest gorsza niż w przypadku widm kompleksu z imidazolem i wysnuć wniosek, że analiza została wykonana prawidłowo. Wartości przesunięcia izomerycznego δ są nieco większe w całym zakresie temperatur, co sugeruje większą gęstość elektronową na s -orbitalach jonu Fe^{3+} w porównaniu z omawianym wyżej przypadkiem, natomiast zależność temperaturowa tego parametru jest podobna jak w tabeli 3.4. Jeśli jednak porównać zmiany rozszczepienia kwadrupolowego QS z temperaturą oraz wartości stosunku pól składowych dubletu A_{21} dla poszczególnych temperatur można dostrzec istotne różnice. QS praktycznie nie zmienia się z temperaturą, podczas gdy w przypadku kompleksu z imidazolem wzrost wartości rozszczepienia kwadrupolowego wraz z temperaturą jest istotny. Byłoby to wytłumaczalne, gdybyśmy mieli do czynienia z kompleksem, o którym wiedzielibyśmy, że nie ma nisko położonych stanów wzbudzonych.

Tabela. 3.5. Parametry widm mössbauerowskich kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ przy dopasowaniu pojedynczym dubлетem

Temperatura [K]	δ [mm/s]	QS [mm/s]	Γ [mm/s]	A_{21}	W_{21}
295	$0,24 \pm 0,01$	$2,00 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,03$	$1,10 \pm 0,02$	$1,24 \pm 0,01$
240	$0,25 \pm 0,01$	$1,99 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,03$	$1,18 \pm 0,03$	$1,364 \pm 0,06$
160	$0,28 \pm 0,01$	$1,98 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,02$	$1,23 \pm 0,07$
80	$0,32 \pm 0,01$	$2,02 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,03$	$1,25 \pm 0,02$	$1,57 \pm 0,06$
6	$0,32 \pm 0,01$	$2,04 \pm 0,01$	$0,62 \pm 0,02$	$1,44 \pm 0,03$	$1,59 \pm 0,04$

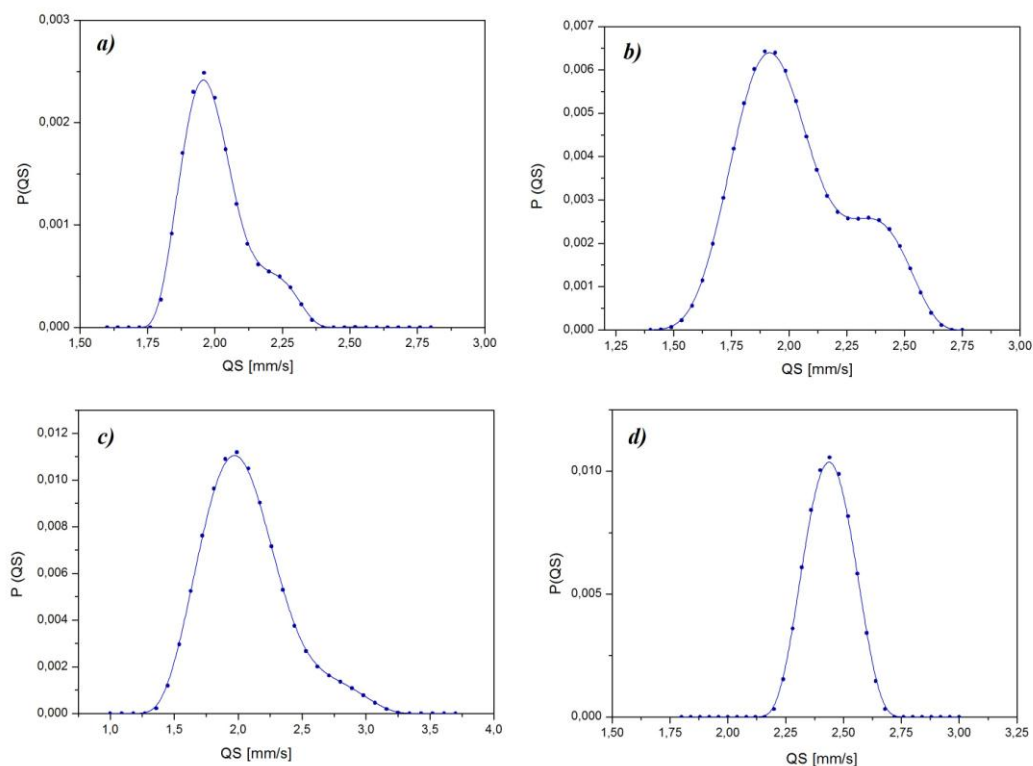
Rys. 3.8. Eksperymentalne widma mössbauerowskie $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$: a) w temperaturze pokojowej, b) 160 K, c) 80 K, d) 6 K

Tymczasem z obliczeń DFT wynika (rozd. 2), że kompleks z β -pikoliną posiada stan wzbudzony, położony tak nisko, że może mieszać się ze stanem podstawowym. Inną ważną różnicą w parametrach obu kompleksów jest znaczna odchyłka parametru A_{21} od wartości równej 1 dla widm w całym zakresie temperatur. Jest to przypadek nietypowy dla Fe-porfiryn. W ogólnym przypadku mógłby świadczyć o jakimś stopniu uporządkowania magnetycznego w wewnętrznym polu magnetycznym próbki, co w przypadku paramagnetyka w próbce proszkowej wydaje się nieprawdopodobne. Omówione powyżej dwa przypadki, w połączeniu z danymi spektroskopowymi

z innych metod, wynikami pomiarów magnetycznymi (rozdz. 4) oraz obliczeniami kwantowo-mechanicznymi (rozdz. 2), sugerują bardziej złożoną strukturę elektronową badanej próbki w porównaniu z próbką zawierającą kompleks z imidazolem. Aby to wykazać, przeanalizowaliśmy rozkład rozszczepienia kwadrupolowego P(QS), przy wykorzystaniu programu NORMOS. Rozkład P(QS) tworzony był na podstawie 30 symetrycznych dubletów, o zmieniających się w zadanym przedziale wartościach QS. Przesunięcia izomeryczne δ dobierane były do każdego dubletu według zależności :

$$\delta(QS) = \delta_0 + A(QS - QS_0) \quad (3.4)$$

gdzie parametry δ_0 i A zostały określone w programie NORMOS w wyniku procesu dopasowania widma teoretycznego do doświadczalnego, a QS_0 jest najmniejszą wartością z przedziału zmienności rozszczepienia kwadrupolowego, w którym chcemy badać jego rozkład. P(QS) oznacza prawdopodobieństwo wystąpienia jednego z 30 (w tym przypadku) dubletów składowych, liczbowo określane jako stosunek pola powierzchni pod tym dubletem do pola powierzchni pod dubletem całego dopasowanego widma. Dla porównania wykonaliśmy również podobny rozkład dla widma kompleksu z imidazolem w temperaturze 6 K, wykazującego asymetrię. Wyniki przedstawiono na rys. 3.9.



Rys. 3.9. Rozkłady eksperymentalnych widm mössbauerowskich $[\text{Fe(III)(OEP)}(\beta\text{-pik})_2]^+$:
a) w temperaturze pokojowej, b) 80 K, c) 6 K, oraz d) dla widma mössbauerowskiego $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ w 6 K

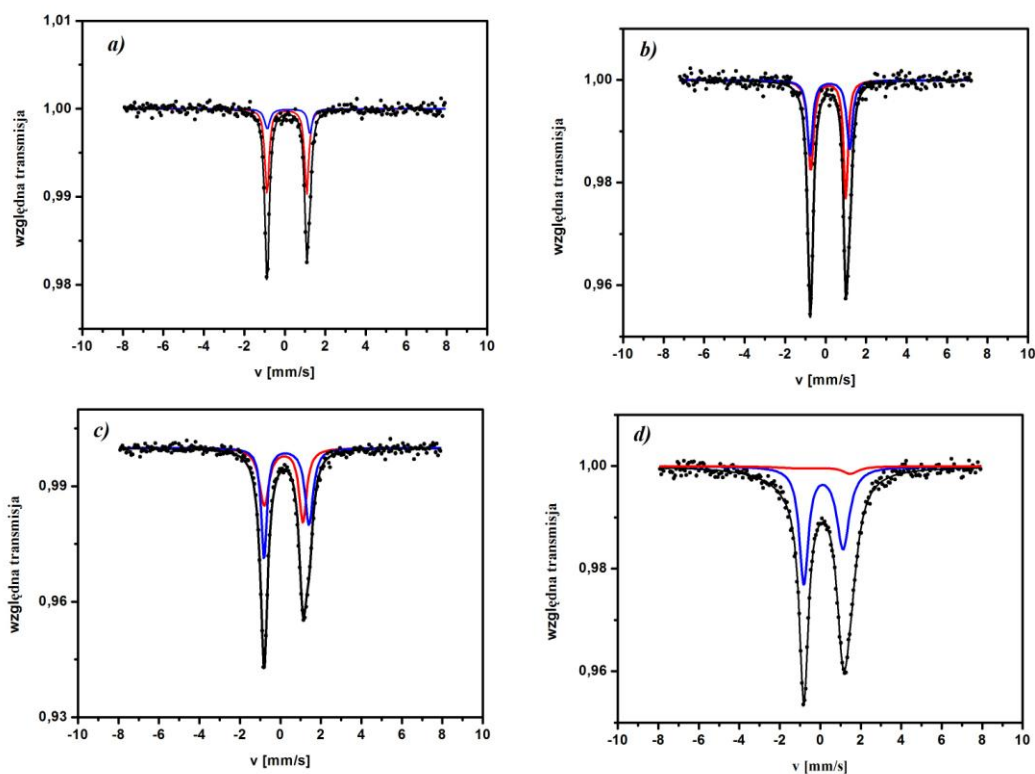
Na rys. 3.9d widać, że dla kompleksu z imidazolem rozkład P(QS) można przedstawić w postaci pojedynczej krzywej gaussowskiej, co potwierdza jednorodność próbki pod względem struktury molekularnej i elektronowej. Inaczej wyglądają rozkłady P(QS) dla próbek zawierających kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ (rys. 3.9a–c). Na rozkładach widoczne są dwa piki sugerujące, że w próbce kompleksu z β -pikoliną znajdują się 2 fazy, różniące się strukturą molekularną lub/i strukturą elektronową. Biorąc pod uwagę wyniki obliczeń metodą DFT (rozdz. 2), można przypuszczać, że jedna z faz pochodzi od kompleksu o spinie $S=1/2$, a druga od kompleksu o spinie $S=3/2$ lub $S=5/2$, albo od stanu kwantowo-mechanicznie mieszanego $S=3/2,5/2$. Przeprowadzono ponowną analizę widm kompleksu z β -pikoliną, w oparciu o dwa dublety, o różnych wartościach rozszczepienia kwadrupolowego, odpowiadającego dwóm maksimum w rozkładach P(QS). Wyniki przedstawiono w tabeli 3.6, a widma na rys. 3.10.

Tabela. 3.6. Parametry widm mössbauerowskich $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ przy dopasowaniu dwoma dubletami

Temperatura [K]	δ [mm/s]	QS [mm/s]	Γ [mm/s]	A_{21}	W_{21}
295	$0,10 \pm 0,01$	$1,96 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,03$	1,00	$1,01 \pm 0,10$
	$0,19 \pm 0,02$	$2,11 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,07$	1,00	$0,78 \pm 0,12$
240	$0,11 \pm 0,01$	$1,96 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,03$	1,00	$0,83 \pm 0,06$
	$0,22 \pm 0,01$	$2,13 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,02$	1,00	$1,23 \pm 0,08$
160	$0,13 \pm 0,01$	$1,73 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,02$	1,00	$0,77 \pm 0,07$
	$0,21 \pm 0,01$	$1,96 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02$	1,00	$1,08 \pm 0,12$
80	$0,16 \pm 0,01$	$1,91 \pm 0,02$	$0,58 \pm 0,03$	1,00	$0,77 \pm 0,06$
	$0,30 \pm 0,01$	$2,23 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,02$	1,00	$1,46 \pm 0,08$
6	$0,16 \pm 0,01$	$1,94 \pm 0,01$	$0,53 \pm 0,02$	1,00	$1,43 \pm 0,04$
	$0,29 \pm 0,01$	$2,36 \pm 0,04$	$3,04 \pm 0,38$	1,00	$0,30 \pm 0,04$

Dublety poszczególnych widm w większym stopniu różnią się wartościami przesunięcia izomerycznego niż rozszczepienia kwadrupolowego. Na odnotowanie zasługuje bardzo duża, nietypowa dla większości widm mössbauerowskich szerokość linii dla dubletu 2 widma w temperaturze 6 K. Takie przypadki zdarzają się [298] i są tłumaczone zazwyczaj długim czasem relaksacji, w danym przypadku typu spin-sieć. Nieco nietypowo przebiegają zmiany z temperaturą rozszczepienia kwadrupolowego. Może to być spowodowane faktem, że wraz ze zmianą stanu spinowego zmienia się nie tylko rozkład elektronów na d -orbitalach, ale również struktura molekularna w otoczeniu jonu żelaza. W szczególności przy przejściu od stanu niskospinowego $S=1/2$, do stanu

o wyższym spinie zmieniają się długości wiązań Fe-N_L i Fe-N_P (rozdz. 2), a przez to symetria rozkładu ładunków, od której zależy wartość rozszczepienia kwadrupolowego. Zbliżone wartości rozszczepienia kwadrupolowego dla fazy o spinie S=1/2 i fazy o wyższym spinie sugerują, że mamy do czynienia raczej ze stanem kwantowo-mechanicznie mieszanym S=3/2,5/2 niż z termiczną mieszaniną stanów S=3/2 i S=5/2. W przypadku termicznej mieszaniny stanów mielibyśmy dwa widma o rozszczepieniach kwadrupolowych znacznie różniących się między sobą oraz między wartością dla stanu niskospinowego.



Rys. 3.10. Eksperymentalne widma mössbauerowskie $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$: a) w temperaturze pokojowej, b) 160 K, c) 80 K, d) 6 K. Kolorem czerwonym i niebieskim oznaczono widma składowe, kolorem czarnym widmo wypadkowe

Czysty stan spinowy S=5/2 charakteryzuje się rozszczepieniem o wartości znacznie mniejszej (ze względu na równomierne zapelnienie wszystkich pięciu *d*-orbitali) od wartości QS dla spinu S=1/2, natomiast stan S=3/2 – rozszczepieniem o wartościach znacznie większych [23]. Stan kwantowo-mechanicznie mieszanym może dawać wartości pośrednie parametrów QS, zbliżone do wartości dla S=1/2. Z zależności QS od temperatury, przedstawionej w tabeli 3.6, wynika, że w temperaturze 160 K wartości QS obydwu dubletów jednocześnie ulegają zmniejszeniu w stosunku do tych w temperaturze 240 K, co może sugerować, że w obydwu przypadkach zmianę QS

wywołuje ta sama przyczyna. Może nią być zmiana wzajemnej orientacji płaszczyzn pierścieni β-pikoliny lub/i płaszczyzn pierścieni β-pikoliny względem pierścieni pirolowych porfirynowego makrocyklu, a przy tym obydwie dublety pochodzą od różnych stanów energetycznych tej samej cząsteczki. Zależność QS od orientacji płaszczyzn ligandów osiowych odnotowano również w pracy [302]. Jeżeli cząsteczki $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ w danym zakresie temperatur znajdują się w równowadze pomiędzy dwoma stanami o bardzo zbliżonych energiach, to może prowadzić do procesu relaksacyjnego o stosunkowo długim czasie. Proces relaksacyjny indukowany np. przez oddziaływanie z otoczeniem, w widmach spektroskopowych będzie się przejawiał w dużych szerokościach linii widmowych, co obserwujemy w przypadku widm mössbauerowskich i EPR.

Należy odnotować, że w przypadku analizy widm kompleksu z β-pikoliną mamy interesujący przypadek z punktu widzenia optymalizacji funkcji wieloekstremalnych. Dwa różne zbiory parametrów dają podobny wynik optymalizacji. Jest to szczególnie trudny przypadek do analizy z wykorzystaniem procedur optymalizacji, gdyż wartość funkcji w procedurze najmniejszych kwadratów, odpowiadająca minimum globalnemu, jest bliska wartościom minimów lokalnych i w takich przypadkach powinny być stosowane dodatkowe kryteria doboru funkcji stosowanych w optymalizacji. W naszym przypadku były to rozkłady P(QS). Podobne przypadki można spotkać w innych metodach spektroskopowych, np. w EPR [303].

Zależność rozszczepienia kwadrupolowego od wzajemnej orientacji ligandów osiowych przeanalizujemy teoretycznie, w oparciu o obliczenia DFT.

Zależność rozszczepienia kwadrupolowego od orientacji ligandów osiowych

W tabeli 3.7 podano wartości rozszczepienia kwadrupolowego obliczone metodą DFT, w opcji ograniczonego formalizmu Hartree–Fock’a. Uwzględniono wzajemne orientacje prostopadłe i równoległe płaszczyzn ligandów osiowych oraz w przypadku kompleksu z imidazolem i histydyną – dodatkowo dwie orientacje pośrednie: dla kątów 20° i 45°.

Tabela 3.7. Wartości rozszczepienia kwadrupolowego obliczone metodą DFT dla spinu $S=1/2$ jonu Fe^{3+}

Rozszczepienie kwadrupolowe QS [mm/s]									
$[Fe(III)(OEP)(Im)_2]^+$				$[Fe(III)(OEP)(His)_2]^+$				$[Fe(III)(OEP)(\beta\text{-pik})_2]^+$	
Wzajemna orientacja płaszczyzn ligandów osiowych									
0°	20°	45°	90°	0°	20°	45°	90°	0°	90°
1,98	2,04	1,70	1,91	1,94	1,98	1,42	2,18	2,44	1,93

Bliższe danym doświadczalnym są wartości odpowiadające kątowi 20° w przypadku kompleksu z imidazolem oraz prostopadłej orientacji w przypadku kompleksu z β -pikoliną. Obliczone wartości rozszczepienia kwadrupolowego mieszczą się w stosunkowo wąskim zakresie zmienności tak, że trudno jest jednoznacznie określić właściwą konfigurację ligandów osiowych tylko na podstawie danych w tabeli 3.7. Obliczenia przeprowadzono dla konfiguracji $(d_{xy})^2 (d_{xz}, d_{yz})^3$, przy czym rozkład elektronów na d_π -orbitalach, który odpowiadał dobrej zbieżności procesu iteracyjnego w procedurze optymalizacji energii, to $(d_{xz})^{1,6} (d_{yz})^{1,4}$ w przypadku kompleksów z imidazolem i histydyną, natomiast $(d_{xz})^{1,5} (d_{yz})^{1,5}$ dla kompleksu z β -pikoliną. Należy dodać, że rozkład elektronów typu $(d_{xz})^2 (d_{yz})^1$ daje bardzo słabą zbieżność procesu iteracyjnego i wartości QS powyżej 3 mm/s, co nie odpowiada danym doświadczalnym.

Dla kompleksu z β -pikoliną dodatkowo obliczono wartości rozszczepienia kwadrupolowego dla konfiguracji elektronowej odpowiadającej spinowi $S=3/2$ jonu Fe^{3+} . Uzyskano wyniki zbliżone dla orientacji równoległej i prostopadłej ligandów β -pikoliny: $QS=2,11$ mm/s i $QS=2,12$ mm/s. Podjęto również próbę obliczenia wartości QS dla spinu $S=5/2$. Jednak ze względu na to, że orbital molekularny zawierający $d_{x^2-y^2}$, który przy tej konfiguracji powinien być obsadzony jednym elektronem, usytuowany był stosunkowo wysoko na skali energii, co odpowiada jednemu z wyższych stanów wzbudzonych, dla którego nie uzyskano zbieżności procesu iteracyjnego. Obliczenia teoretyczne potwierdzają, że rozszczepienie orbitali d_π jest na tyle małe, że ich obsadzenie elektronami jest zbliżone do równomiernego.

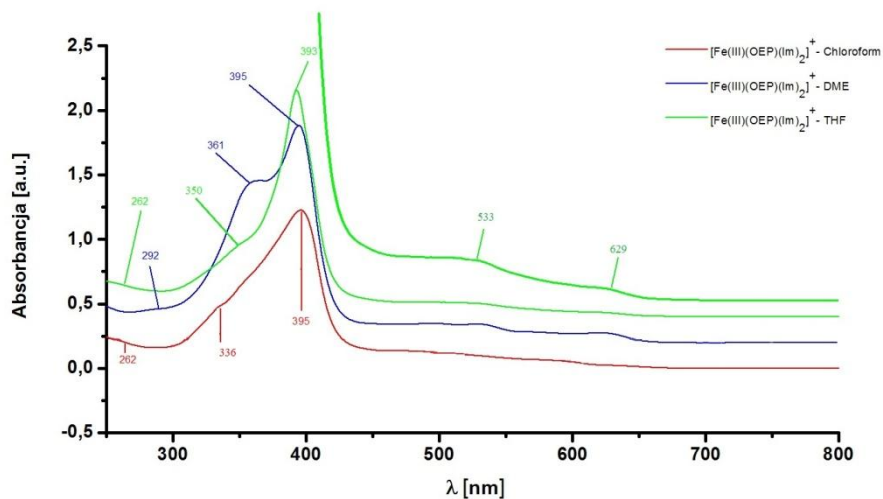
Dla kompleksu z histydyną w stanie spinowym $S=1/2$ otrzymano zbliżone wartości rozszczepienia kwadrupolowego, jak w przypadku kompleksu z imidazolem z tym, że dla orientacji ligandów histydyny, odpowiadającej kątowi 90° , wartość QS jest nieco większa. Wskazuje to na bardziej prawdopodobną orientację prostopadłą niż równoległą [297].

Należy dodać, że w przypadku orientacji prostopadłej ligandów osiowych orbital d_{xy} miesza się z d_{π} -orbitalami i rozkłada na trzy orbitale molekularne HOMO w ilościach około 20–30% na każdy z tych orbitali. Trudno jest więc przypisać odpowiednie obsadzenie elektronami każdemu z atomowych d -orbitali. Jeśli wziąć pod uwagę, że orbitale molekularne, których obsadzenie elektronami zadajemy w danych wejściowych do obliczeń, są mieszaniną atomowych d -orbitali jonu Fe w zbliżonych proporcjach oraz p -orbitali atomów węgla i azotu, jak również to, że wzajemna orientacja ligandów osiowych w próbkach rzeczywistych niekoniecznie musi odpowiadać tej uwzględnionej w obliczeniach, to wyniki obliczeń rozszczepienia kwadрупolowego należy w większym stopniu rozpatrywać na poziomie zmian jakościowych niż ilościowych, w zależności od konfiguracji elektronowej na poszczególnych d -orbitalach. Z obliczeń kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ wynika, że zwiększenie kąta pomiędzy płaszczyznami pierścieni β -pikoliny prowadzi do zmniejszenia wartości QS, a więc w wyższych temperaturach mielibyśmy konfigurację ligandów zbliżoną do równoległej, a w niskich temperaturach – do prostopadłej. Jest to zgodne z danymi EPR.

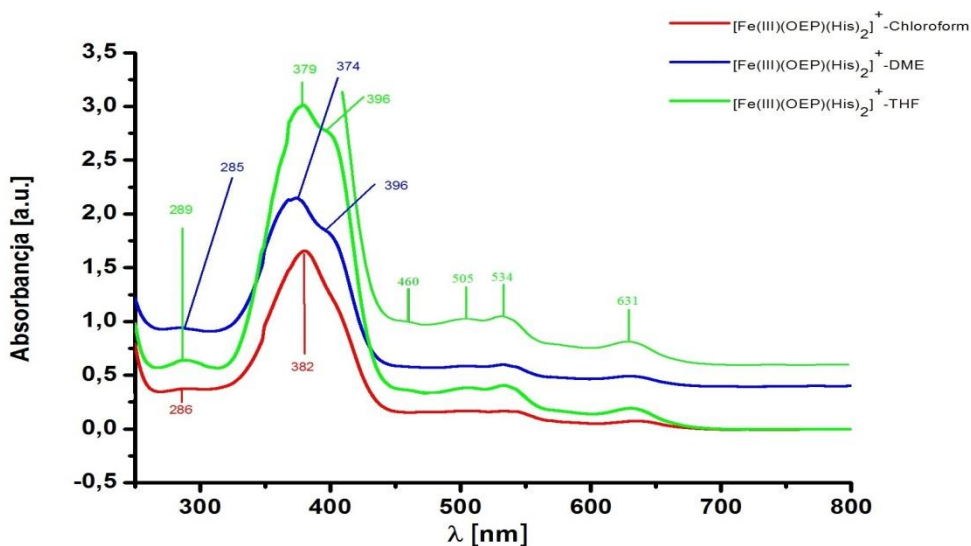
Reasumując, należy stwierdzić, że wyniki uzyskane z temperaturowych badań mössbauerowskich wskazują na jednorodny, niskospinowy stan kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ w całym zakresie temperatur oraz zależne od temperatury zmiany konfiguracji elektronowej w kompleksie $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$, co potwierdzają również temperaturowe badania EPR i pomiary magnetyczne.

3.4. Elektronowe widma absorpcyjne

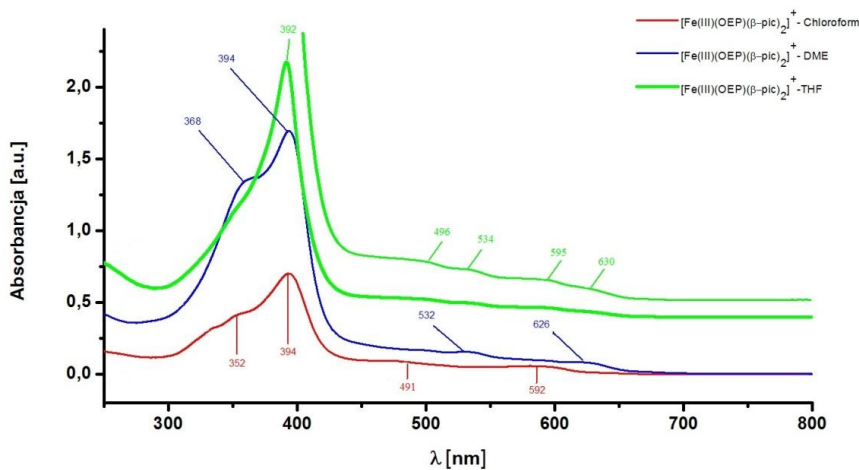
Elektronowe widma absorpcyjne badanych kompleksów przedstawiono na rys.: 3.11–3.13. Widma zarejestrowano w temperaturze pokojowej w trzech rozpuszczalnikach organicznych, aby ocenić wpływ najbliższego otoczenia cząsteczek kompleksów porfirynewych na parametry widm elektronowych. Z rys.: 3.11 i 3.13 wynika, że w przypadku kompleksów z imidazolem i β -pikoliną piki w zakresie krótkofalowym (pasmo B) mają podobny kształt i położenie na skali długości fali promieniowania elektromagnetycznego. Pasma Q, o znacznie mniejszej intensywności, różni się nieco w obydwu kompleksach.



Rys. 3.11. Eksperymentalne widmo absorpcyjne $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$



Rys. 3.12. Eksperymentalne widmo absorpcyjne $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$

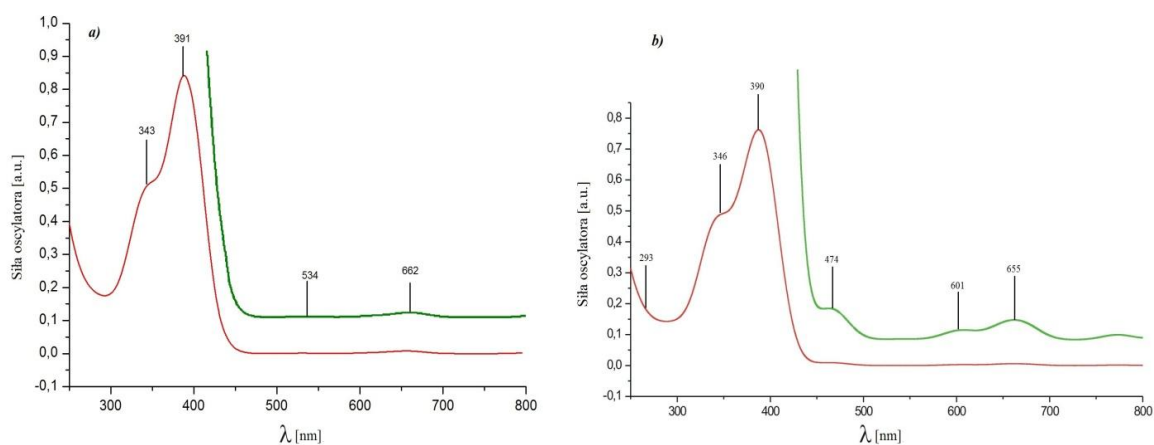


Rys. 3.13. Eksperymentalne widmo absorpcyjne $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$

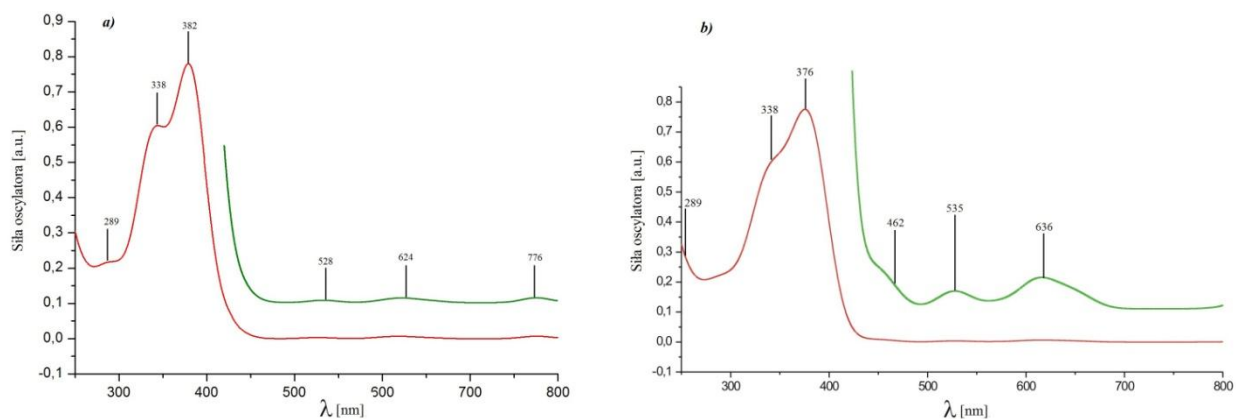
W przypadku kompleksu z β -pikoliną, oprócz dwóch pików (534 nm i 630 nm), widocznych w widmie kompleksu z imidazolem, można wyodrębnić dwa dodatkowe piki (496 nm i 595 nm), które występują tylko w roztworze $[\text{Fe(III)(OEP)}(\beta\text{-pik})_2]^+$ z chloroformem jako rozpuszczalnikiem. Jeśli porównać widma przedstawione na rys.: 3.11 i 3.13 można zauważyć, że rozpuszczalnik w większym stopniu wpływa na pasmo B niż na pasmo Q w przypadku kompleksu z imidazolem, w szczególności na stosunek intensywności dwóch pików składających się na pasmo B. W przypadku kompleksu z β -pikoliną obserwowane są również zmiany w obrębie pasma Q. Ciekawą cechą charakteryzującą te zmiany może być to, że w roztworze chloroformu obserwowane są w zakresie fal długich cztery piki, natomiast w roztworze DME tylko dwa spośród tych czterech (532 nm i 626 nm), a w roztworze THF dwa pozostałe (491 nm i 592 nm) spośród tych dla roztworu z chloroformem.

Co się tyczy kompleksu z histydyną (rys. 3.12) kształt pasma B jest inny, intensywność dwóch pików składowych jest odwrotna w porównaniu z omawianymi wyżej kompleksami. W paśmie Q występują dwa piki obserwowane w widmach kompleksów z imidazolem i β -pikoliną (534 nm i 631 nm). Ponadto piki w paśmie Q są bardziej intensywne w przypadku kompleksu z histydyną niż w widmach pozostałych dwóch badanych kompleksów. Różnice w widmach kompleksów z histydyną, w porównaniu z widmami kompleksów z imidazolem i β -pikoliną wynikają ze słabej stabilności struktury kompleksu z histydyną w fazie ciekłej [304].

Teoretyczne widma badanych kompleksów, dla orientacji prostopadłej i równoległej ligandów osiowych przedstawiono na rys.: 3.14 i 3.15.



Rys. 3.14. Teoretyczne widmo absorpcyjne $[\text{Fe(III)(OEP)}(\text{Im})_2]^+$ dla: a) równoległej, b) prostopadłej orientacji pierścieni ligandów osiowych, $S=1/2$

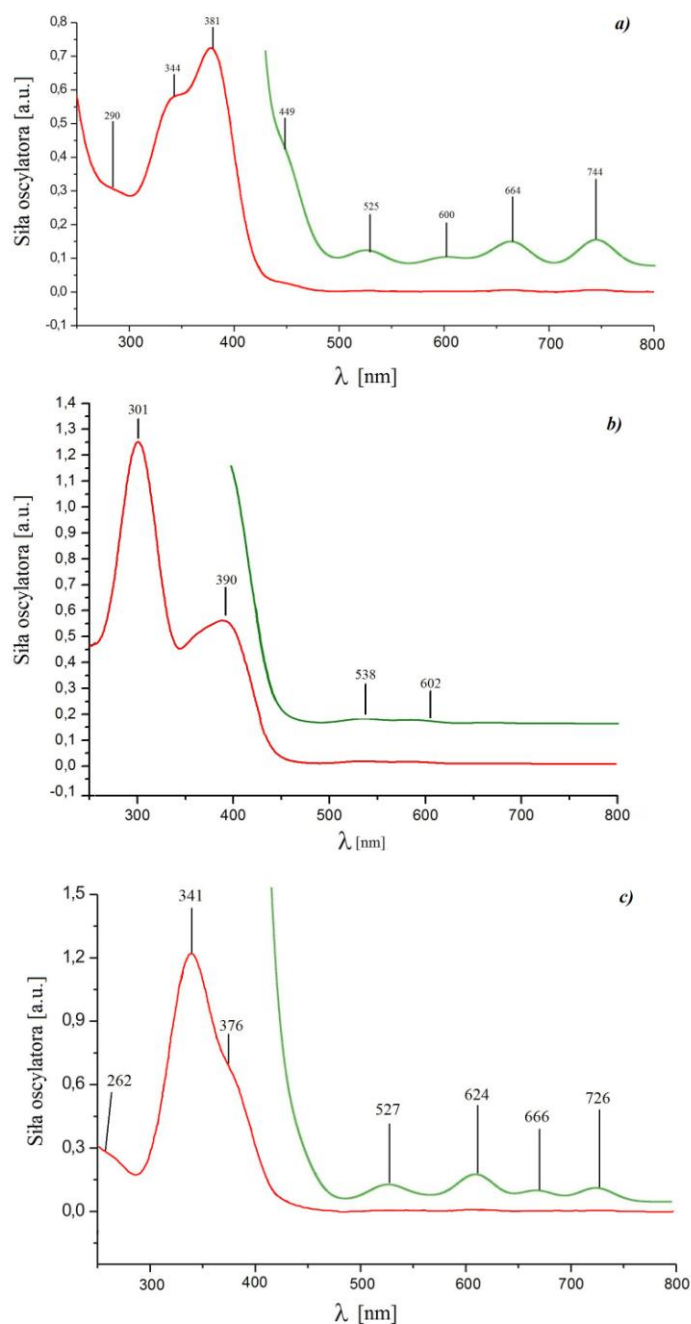


Rys. 3.15. Teoretyczne widmo absorpcyjne $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ dla: a) równoległej, b) prostopadłej orientacji pierścieni ligandów osiowych, $S=1/2$

W przypadku kompleksu z imidazolem widmo dla orientacji równoległej jest bliższe widmu eksperymentalnemu niż widmo teoretyczne dla orientacji prostopadłej. W widmie dla orientacji prostopadłej widoczny jest pik 474 nm, którego nie ma w widmie eksperymentalnym. Jeśli wziąć pod uwagę, jak duża liczba przejść elektronów pomiędzy orbitalami molekularnymi jest możliwa pod wpływem absorpcji energii fal elektromagnetycznych, które wpływają na kształt widma, stopień odzwierciedlenia charakterystycznych cech widma doświadczalnego w widmie teoretycznym kompleksu z imidazolem należy uznać za dosyć wysoki. W przypadku kompleksu z β -pikoliną na rys. 3.16 przedstawiono widma dla konfiguracji elektronowej odpowiadającej stanom spinowym $S=1/2$, $S=3/2$ i $S=5/2$. Porównanie tych widm z widmem eksperymentalnym jednoznacznie wskazuje na konfigurację elektronową o spinie $S=1/2$ w temperaturze pokojowej, co zgodne jest z danymi $^1\text{H NMR}$, Mössbauera i pomiarami magnetycznymi.

Co się tyczy widma kompleksu z histydyną, to odwrócenie intensywności pików składowych w paśmie B może świadczyć o tym, że produktami rozpadu kompleksu z histydyną są kompleksy o spinie $S=5/2$ lub/i $S=3/2$, albo w stanie kwantowo-mechanicznie mieszanym, zawierającym obydwie składowe.

Widma doświadczalne badanych kompleksów zawierających żelazo na trzecim stopniu utlenienia Fe^{3+} nie wskazują na redukcję jonu żelaza do Fe^{2+} , gdyż piki krótkofalowe w widmach kompleksów sześciokoordynacyjnych, zawierających jon Fe^{2+} , są przesunięte w stronę fal długich (powyżej 420 nm) [198], a takich pików w widmach doświadczalnych nie obserwujemy.



Rys. 3.16. Teoretyczne widmo absorpcyjne $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\beta\text{-pik})_2]^+$ dla prostopadłej orientacji pierścieni ligandów osiowych, a) $S=1/2$, b) $S=3/2$, c) $S=5/2$

Tak więc porównanie doświadczalnych i teoretycznych elektronowych widm absorpcyjnych potwierdza stabilną strukturę kompleksów $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{Im})_2]^+$ i $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\beta\text{-pik})_2]^+$ w fazie ciekłej, odpowiadającą stanowi niskospinowemu jonu Fe^{3+} oraz zmiany strukturalne w przypadku kompleksu $[\text{Fe}(\text{III})(\text{OEP})(\text{His})_2]^+$, w wyniku których otrzymujemy produkty charakteryzujące się wyższym stanem spinowym jonu żelaza niż w kompleksie wyjściowym.

4. Paramagnetyzm Fe-porfiryn

4.1. Podstawowe pojęcia i jednostki

Właściwości magnetyczne materiałów „od zawsze” były przedmiotem zainteresowań ze względów czysto poznawczych oraz z uwagi na ich możliwości aplikacyjne, które poszerzają się wraz z rozwojem nauki i techniki. Rozwijająca się ostatnio w szybkim tempie nanotechnologia materiałów metalicznych stymuluje rozwój technologii w zakresie innych materiałów funkcjonalnych, w tym materiałów molekularnych, w których pokłada się nadzieję na szersze zastosowania, w szczególności w mikroelektronice. Metaloporfiryny, ze względu na ich specyficzną strukturę molekularną i występowanie w przyrodzie, były przedmiotem zainteresowań również pod względem właściwości magnetycznych, chociaż jak do tej pory brak jest w literaturze szerszego, jednolitego opracowania dotyczącego właściwości magnetycznych metalicznych kompleksów związków tetrapiolowych. Zanim przejdziemy do przeglądu prac z zakresu właściwości magnetycznych Fe-porfiryn, przedstawimy, w skróconej formie, podstawowe informacje dotyczące podatności magnetycznej, która badana była dla trzech rozpatrywanych w tej pracy kompleksów sześciokoordynacyjnych.

W przypadku wielu słabo magnetycznych substancji (tj. w przypadku paramagnetyków i diamagnetyków) w niedużym polu magnetycznym bardzo dobrym przybliżeniem jest zależność liniowa:

$$M = \hat{\chi} \cdot H, \quad (4.1)$$

gdzie $\hat{\chi}$ jest tzw. podatnością magnetyczną.

Dla materiałów anizotropowych, gdzie kierunek indukowanego przez pole H namagnesowania M nie musi być równoległy do kierunku pola H, jest ona wielkością tensorową. Dla materiałów izotropowych jest wielkością skalarną. Podatność χ (jak wynika ze wzoru (4.1)) jest wielkością bezwymiarową, gdyż M mierzymy w tych samych jednostkach co pole H. W praktyce często wygodniej jest korzystać z momentu przypadającego na 1 mol lub na jednostkę masy, aniżeli na jednostkę objętości, jak we wzorze (4.1). Można też posługiwać się indukcją pola magnetycznego B zamiast

natężeniem H . W ogólnym przypadku przyjęto w magnetyzmie definiować podatność również jako:

$$\chi = \frac{dM}{dH} \quad (4.2)$$

Magnetyzacja M , próbki umieszczonej w jednorodnym polu magnetycznym H , może być określona prostą zależnością wynikającą ze wzoru (4.1):

$$\chi_x = \frac{M_x}{H} = \mu_0 \frac{M_x}{B} \quad (4.3).$$

Wskaźnik x informuje w stosunku do czego odnosimy podatność, np. do jednostki masy (χ_m), do jednostki objętości (χ_v), czy też do jednego mola (χ_{mol}). Odpowiednie zależności wraz z jednostkami w układzie SI mają postać:

$$\chi_v = \frac{M}{H} \quad \text{– bezwymiarowa podatność objętościowa} \quad (4.4)$$

$$\chi_{mol} = \frac{MV_{mol}}{H} = \frac{m_{mol}}{H} \left[\frac{m^3}{mol} \right] \quad \text{– podatność molowa} \quad (4.5)$$

$$\chi_m = \frac{\chi_v}{\rho} \left[\frac{m^3}{mol} \right] \quad \text{– podatność masowa (na jednostkę masy),} \quad (4.6)$$

gdzie ρ oznacza gęstość materiału, m_{mol} – masę molową, V_{mol} – objętość molową.

Podatność magnetyczna paramagnetyka składa się z dwóch wkładów: diamagnetycznego i paramagnetycznego, co można zapisać jako:

$$\chi = \chi^D + \chi^P, \quad (4.7)$$

gdzie χ^D i χ^P są odpowiednio podatnością diamagnetyczną i podatnością paramagnetyczną. Pierwszy z nich jest ujemny, a drugi dodatni. Kiedy dominuje χ^D , próbka jest diamagnetyczna, gdy wkładem dominującym jest χ^P , próbka jest paramagnetyczna.

Wkład diamagnetyczny (χ^D) próbki można oszacować [305]:

$$\chi^D = kM_{CZ} \times 10^{-6} \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}, \quad (4.8)$$

gdzie k jest współczynnikiem z przedziału 0,4–0,5, M_{CZ} – oznacza masę cząsteczkową.

Właściwości magnetyczne monomerów Fe-porfiryn, w tym kompleksów sześciokoordynacyjnych, ograniczają się w zasadzie do paramagnetyzmu. Określeniem „paramagnetyki” definiuje się grupę materiałów magnetycznych, które w nieobecności zewnętrznego pola magnetycznego nie mają wypadkowego, niezerowego momentu magnetycznego, ale wykazują dodatnią podatność magnetyczną. Oznacza to, że w przypadku przyłożenia zewnętrznego pola magnetycznego pojawi się w nich niezerowy moment magnetyczny, który ma składową równoległą do przyłożonego pola, pochodzącą od nieoddziaływujących lub słabo oddziaływujących magnetycznie jonów, z których każdy ma niezerowy moment magnetyczny.

Paramagnetyzm jest wynikiem wzajemnych oddziaływań orbitalnego lub spinowego momentu pędu niesparowanych elektronów w zewnętrznym polu magnetycznym. Namagnesowanie odniesione do 1 mola substancji jest sumą momentów magnetycznych poszczególnych cząsteczek i może być ogólnie określone, stosownie do prawa rozkładu Boltzmanna, poprzez energię E_n w polu magnetycznym o natężeniu H , w zależności od temperatury, jako [306]:

$$M = \frac{\sum_n^N \frac{-dE_n}{dH} \exp(-E_n/kT)}{\exp(-E_n/kT)}, \quad (4.9)$$

gdzie N oznacza liczbę Avogadro, n – liczbę stanów rozszczepionych w polu H , T – jest temperaturą bezwzględną, k – jest stałą Boltzmanna równą $0,695039 \text{ cm}^{-1}\text{K}^{-1}$. W praktyce równanie (4.9) jest stosunkowo trudne do zastosowania.

Odnośnie podatności magnetycznej Van Vleck, w oparciu o równanie (4.9) przy założeniu, że natężenie pola H nie jest zbyt duże i energię E_n liniowo zależą od H , a próbka nie wykazuje spontanicznego namagnesowania, podał wyrażenie o postaci [306]:

$$\chi = \frac{\sum_n^N [(E_n^{(1)})^2/kT - 2E_n^{(2)}] \exp(-E_n^{(0)}/kT)}{\sum_n \exp(-E_n^{(0)}/kT)} \quad (4.10).$$

Przy założeniu, że różnica energii pomiędzy stanem podstawowym i pierwszym stanem wzbudzonym jest na tyle duża, że sprzężenie pomiędzy tymi stanami można pominąć, dla izotropowych właściwości magnetycznych wyrażenie (4.10) może być uproszczone do prawa Curie o postaci:

$$\chi = \frac{Ng^2\mu_B^2}{3kT} S(S+1), \quad \chi = \frac{C}{T}, \quad (4.11)$$

gdzie N oznacza liczbę Avogadro, μ_B – jest magnetonem Bohra, S – jest spinem stanu podstawowego, g – jest współczynnikiem proporcjonalności pomiędzy różnicą energii ΔE poziomów rozszczepionych w polu magnetycznym (efekt Zeemana), a natężeniem pola H . W przypadku, gdy właściwości magnetyczne cząstki związane są tylko ze spinem S stanu podstawowego, $g=2,0023$. W przypadku, gdy wypadkowy moment magnetyczny zależy również od momentu orbitalnego, wartość g może różnić się znacznie od 2. Zgodnie z prawem Curie podatność paramagnetyka, będącego zbiorem wielu nieoddziałujących ze sobą momentów magnetycznych, jest odwrotnie proporcjonalna do temperatury. Warty uwagi jest fakt, że w pobliżu temperatury pokojowej podatność paramagnetyczna jest wielkością małą, tego samego rzędu ($\sim 10^{-6}$), co wartość bezwzględna podatności diamagnetycznej.

Jednakże okazało się, że nie wszystkie paramagnetyki spełniają prawo Curie. W niektórych materiałach podatność może być wyrażona poprzez prawo Curie–Weissa:

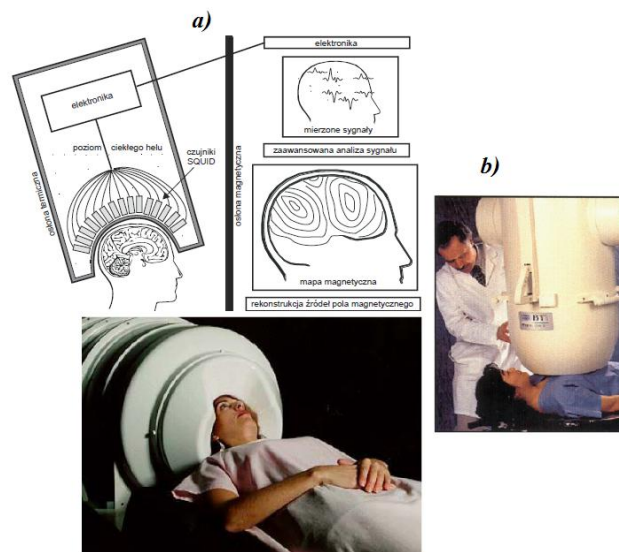
$$\chi = \frac{C}{T - \theta}, \quad (4.12)$$

gdzie θ jest stałą Weissa, która ma wymiar temperatury, chociaż w sensie fizycznym nie jest temperaturą. Stała ta jest dodatnia w przypadku zawartości w badanej próbce dodatków ferromagnetycznych i ujemna w przypadku dodatków antyferromagnetycznych.

4.2. Aparatura i pomiary wielkości magnetycznych

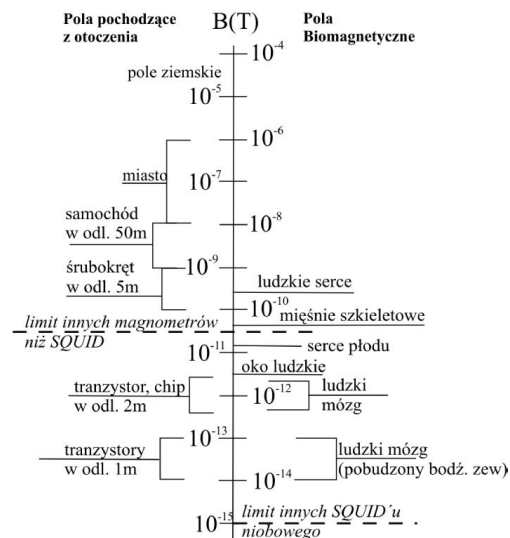
Najogólniej rzecz ujmując, SQUID (ang. *Superconducting Quantum Interference Device*) jest magnetometrem o ogromnej czułości, opierającym się na pomiarze zmian strumienia magnetycznego za pośrednictwem nadprzewodzącego interferometru kwantowego [307]. Jest przyrządem przeznaczonym do detekcji zmian strumienia magnetycznego, który wykorzystuje kwantową interferencję nośników prądu do wykrywania i pomiaru bardzo małych zmian indukcji magnetycznej. Fluksony to bardzo małe cząstki powodujące, że interferometr SQUID jest bardzo wrażliwy na minimalne zmiany strumienia (słabsze niż 10^{-14} T) [308]. Umożliwia to wykrywanie bardzo słabych pól magnetycznych w słabych magnetykach, bardzo małych próbkach,

zawierających w sobie materiał biologiczny oraz w układach w skali nano [309]. Magnetometry tego typu są szeroko wykorzystywane w badaniu anomalii pojawiających się w różnego typu materiałach i żywych organizmach. Interesującym przykładem zastosowań jest badanie pola elektromagnetycznego emitowanego przez ludzki mózg (magnetoencefalografia (MEG) – czyli monitorowanie pracy ludzkiego mózgu przez impulsy nerwowe pola magnetycznego) (rys. 4.1a), czy też obserwacja tzw. magnetokardiogramów (rys. 4.1b), tzn. sygnałów magnetycznych serca ludzkiego, co otwiera nowe możliwości w diagnostyce medycznej [310, 311].



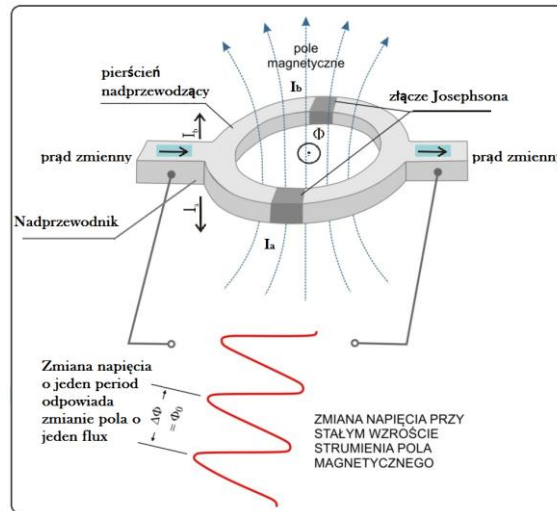
Rys. 4.1. Schematyczne przedstawienie wielokanałowego systemu SQUID dla: a) magnetoencefalografii i b) magnetokardiografii [312]

Dla zilustrowania ogromnej czułości SQUID-a na (rys. 4.2) przedstawiono kilka wartości pól magnetycznych pochodzących z różnych źródeł.



Rys. 4.2. Źródła pól magnetycznych o różnym natężeniu względem poziomu detekcji SQUID-a [313]

Zasada działania SQUID-a jest powiązana ze zjawiskiem nadprzewodnictwa wykrytym przez Kamerlingha Onnesa w 1911 roku i opiera się na dwóch zjawiskach: kwantowaniu strumienia magnetycznego w pierścieniu nadprzewodzącym oraz efekcie Josephsona (tunelowanie par Coopera za pośrednictwem warstwy izolatora (tj. słabe złącze) z jednego nadprzewodnika do drugiego). Układ ideowy SQUID-a przedstawiony jest na (rys. 4.3). Obwód układu nadprzewodzącego zawiera dwa złącza Josephsona i połączony jest ze współpracującym układem elektronicznym [314].



Rys. 4.3. Schemat układu pomiarowego SQUID-a typu DC [315]

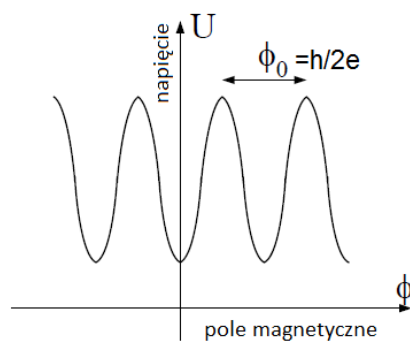
Pętla typowego SQUID-a ma poniżej $0,1\text{mm}^2$ powierzchni S i jest wykonana z drutu nadprzewodzącego. Najczęściej złącza wykonywane są z tlenku niobu i posiadają grubość około 1nm , wobec tego złożone są tylko z kilku warstw atomów [314].

Na zjawisku interferencji opiera się działanie SQUID-a. W interferometrze falowym zjawisko interferencji zachodzi pomiędzy funkcjami falowymi w dwu nadprzewodzących połówkach pierścienia. Zakładając tezę, że złącza są jednakowe natężenie przepływającego prądu jest równe sumie prądów w połówkach obwodu. W wyniku przepływu prądu na każdym ze złącz następuje zmiana fazy (adekwatnie θ_A i θ_B). Wówczas różnica faz wynosi [279]:

$$\theta_A - \theta_B = 2\pi \frac{\phi}{\phi_0} \quad (4.13)$$

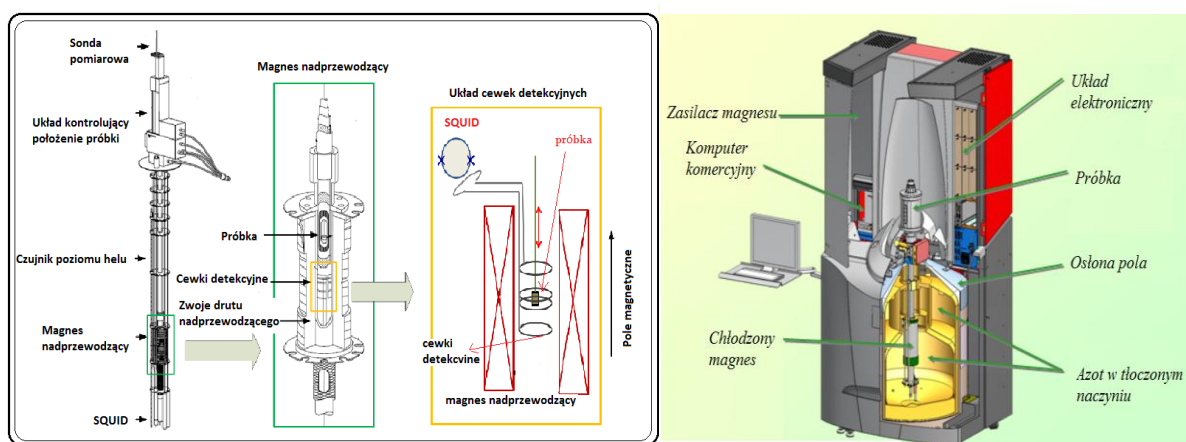
Podczas gdy, strumień magnetyczny $\Phi = B \cdot S$ przenikający przez pętlę (wynosi 0 , Φ_0 , $2\Phi_0$, itd.) wówczas jest on całkowitą wielokrotnością kwantu strumienia $\Phi_0 = h/2e = 2 \cdot 10^{-15} \text{ Wb}$ zmiana fazy w przypadku obu złączy jest niezmienną. W sytuacji, gdzie strumień nie jest wielokrotnością Φ_0 , zmiana fazy na złączach nie jest

równa, albowiem kompensujący prąd I ma przeciwny kierunek w lewym i prawym złączu. W konsekwencji interferencji funkcji falowych w dwóch połówkach pierścienia dochodzi do oscylacji natężenia prądu krytycznego $J \sim |\pi\Phi/\Phi_0|$. W związku z tym zachodzi bardzo silna zależność J od pola B_a . Z uwagi na to, że zależność tę wyznacza się poprzez pomiar napięcia V , wobec tego SQUID działa jako konwerter strumień-napięcie co pokazuje (rys. 4.4) [279]. W wypadku gdy, przez SQUID-a przepływa prąd o odpowiedniej wartości to wówczas napięcie na tym elemencie zależy od strumienia magnetycznego objętego pierścieniem w przybliżeniu sinusoidalnie, z okresem równym kwantowi strumienia.



Rys. 4.4. Konwerter strumień-napięcie [316]

Najważniejszymi elementami magnetometru typu SQUID są magnes nadprzewodzący (wytwarzający jednorodne pole magnetyczne o natężeniu kilku tesli), nadprzewodzące cewki detekcyjne (współosiowe do magnesu) jak również element SQUID skonsolidowany z cewką detekcyjną (rys. 4.5):



Rys. 4.5. Schemat układu magnetometru MPMS [279, 317]

Wszystkie elementy nadprzewodzące mieszczą się wewnątrz kriostatu wypełnionego ciekłym helem o temperaturze równej 4,2 K. W trakcie pomiaru próbka przesuwa się bądź też drga w nadprzewodzących cewkach detekcyjnych umieszczonych w jednorodnym polu magnetycznym. Prąd w cewkach jest indukowany poprzez moment magnetyczny poruszającej się próbki. Ze SQUID-em sprzężone są indukcyjne cewki detekcyjne. Urządzenie to mierzy indukowany moment działając jako konwerter strumień – napięcie. Sygnał pobrany z cewki gradientowej jest przekazywany do detektora SQUID-owego przy pomocy nadprzewodzącej przetwornicy, ponadto jest on wzmocniony i rejestrowany przy pomocy elektroniki pracującej w temperaturze pokojowej [279, 317].

Do charakteryzacji magnetycznej próbek porfiryńowych w danej pracy posłużył magnetometr SQUID-owy MPMS-5 (*Magnetic Property Measurement System*) firmy Quantum Design, z rotatorami horyzontalnym i wertykalnym, wykorzystywany do precyzyjnego określania namagnesowania i podatności magnetycznej próbek nano- i polikrystalicznych, cienkowarstwowych oraz proszkowych w zakresie temperatur 1,9–400 K. W tym zakresie możliwe jest przykładanie pola magnetycznego w zakresie 0–5 T.

4.3. Właściwości magnetyczne Fe-porfiryn

Odnośnie badań właściwości magnetycznych metaloporfiryn, w szczególności Fe-porfiryn, jak wspomniano na początku tego rozdziału, jest stosunkowo mało prac w porównaniu z doświadczalnymi badaniami metodami spektroskopowymi czy obliczeniami kwantowo-mechanicznymi. Duża różnorodność możliwych konfiguracji elektronowych jonów żelaza w porfiryńowych kompleksach z jednej strony sprzyja poznaniu mechanizmów kontroli aktywności biologicznej białek hemowych, a także poszerza możliwości aplikacyjne, z drugiej zaś strony komplikuje interpretację wyników badań spektroskopowych i magnetycznych. Dlatego też do rozwiązania problemów z zakresu korelacji pomiędzy strukturą molekularną i elektronową tych kompleksów konieczne jest w wielu przypadkach wzajemne uzupełnianie się wyników z metod spektroskopowych i magnetycznych. Z uwagi na tematykę ograniczymy się tu do krótkiego omówienia magnetycznych badań kompleksów Fe³⁺-porfiryn, w szczególności sześciokoordynacyjnych. Badania właściwości magnetycznych kompleksów molekularnych mogą być prowadzone metodami statycznymi z wykorzystaniem stałych pól magnetycznych [306, 318–320] lub metodami

dynamicznymi z wykorzystaniem zmiennych pól magnetycznych [109]. W przypadku żelazoporfiryn dominuje metoda statyczna, chociaż metoda dynamiczna dostarcza również wiele istotnych informacji, w szczególności o procesach relaksacyjnych i oddziaływaniach pomiędzy jonami paramagnetycznymi wchodzącymi w skład struktury molekularnej kompleksu [110]. Najbardziej obszernym i systematycznym, chociaż już nieco przestarzałym opracowaniem z tej tematyki jest rozdział pt. *Magnetic Susceptibility of Iron Porphyrins* autorstwa S. Mitry w monografii *Iron Porphyrins, Part II* [320]. Dokonano tam przeglądu prac dotyczących właściwości magnetycznych kompleksów Fe³⁺- i Fe²⁺-porfiryn we wszystkich możliwych stanach spinowych. Co się tyczy kompleksów sześciokoordynacyjnych to wskazano tylko na prace [153, 321, 322]. W pracy [321] omówiono strukturę Fe-tetrafenyloporfiryny z dwoma różnymi, w tym samym kompleksie, ligandami osiowymi: N₃ i pirydyny oraz własności magnetyczne w zakresie temperatur 77–300 K. Widoczna na wykresie 1/χ vs. T odchyłka od prawa Curie nie jest jednak dyskutowana. Poprawka Weissa, określona na podstawie tylko 3 punktów odpowiadających temperaturze z zakresu 80–120 K, wyniosła 4 K. Efektywny moment magnetyczny zmienia się nieznacznie z temperaturą i w zakresie temperatur 77–297 K mieści się w przedziale 2,09–2,33 μ_B. Jest to nieco wyższa wartość w porównaniu z teoretyczną wartością μ=1,73 μ_B dla spinu S=1/2, obliczoną z zależności [319]:

$$\mu = g\sqrt{S(S+1)} \quad (4.14).$$

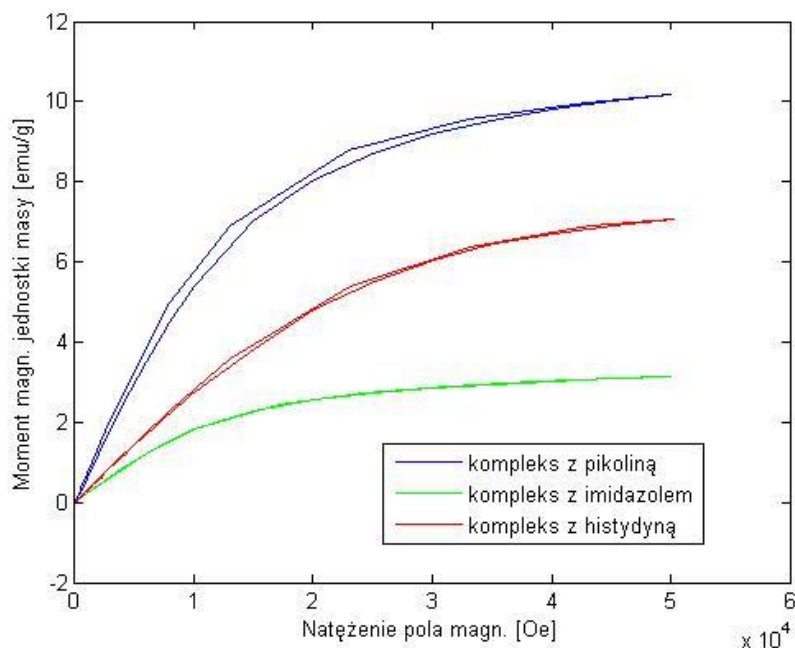
Wyższą wartość momentu magnetycznego w stosunku do wartości teoretycznej, uwzględniającej tylko wkład pochodzący od spinu, autorzy objaśniają udziałem składowej orbitalnej w ramach oddziaływania spin orbita, które w danym polu krystalicznym ligandów może występować.

Prace [153] i [322] wzajemnie się uzupełniają. W pracy [322] przedstawiono dane doświadczalne dotyczące temperaturowych badań efektywnego momentu magnetycznego kompleksu Fe(III)(OEP) z dwoma ligandami pirydyny i jej pochodnych oraz z pochodną imidazolu 1-MeIm zawierającą dołączoną do imidazolowego pierścienia grupę CH₃. Nietypowe charakterystyki magnetyczne tych kompleksów tłumaczono występowaniem dwóch stanów energetycznych będących w równowadze i odpowiadających spinom S=1/2 i S=5/2. Bardziej dokładną analizę wyników pracy [322] przedstawił jeden z jej współautorów A. K. Gregson w pracy [153]. Porównał on wyniki badań doświadczalnych z teoretycznymi, obliczonymi na podstawie równania

Van Veck'a (4.9), z uwzględnieniem oddziaływania spin-orbita w oktaedrycznym polu ligandów. Wyraził przypuszczenie, że wartości momentów magnetycznych i ich temperaturowa zależność bardziej odpowiada kwantowo-mechanicznie mieszanemu stanowi spinowemu stanów $S=1/2$ i $S=5/2$ z blisko leżącym w skali energii stanem $S=3/2$. W zakończeniu autor stwierdza, że elektronowa struktura badanych sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe(OEP) z przeciwjonem ClO_4^- jest zbyt złożona, aby na danym etapie badań można było jednoznacznie wyjaśnić ich charakterystyki magnetyczne i parametry ^1H NMR. Wyniki badań magnetycznych właściwości kompleksów sześciokoordynacyjnych Fe-porfiryn w późniejszym okresie pojawiają się sporadycznie na uboczu badań NMR i EPR [132]. Ta tematyka badań jest ciągle otwarta i wymaga dalszych prac.

4.4. Zależność magnetycznych momentów jonów żelaza w sześciokoordynacyjnych kompleksach Fe-oktaetyloporfiryny od natężenia zewnętrznego pola

Chociaż większość wyników doświadczalnych w danej pracy pochodzi z metod spektroskopowych, to zbadanie właściwości magnetycznych może również dostarczać dodatkowych, wartościowych informacji o strukturze elektronowej kompleksów, w szczególności zawierających paramagnetyczne jony żelaza. Przeprowadzono statyczne badania właściwości magnetycznych trzech rozpatrywanych w niniejszej pracy kompleksów w dwóch aspektach: w stałej temperaturze i zmieniającym się zewnętrznym polu magnetycznym oraz w stałym polu magnetycznym przy zmieniającej się temperaturze. Krzywe namagnesowania, zmierzone w temperaturze 2 K, w zakresie pól od 0 do 50 kOe ($\sim 4 \cdot 10^6$ A/m) w dwóch kierunkach: pola rosnącego i malejącego, nie wykazują pętli histerezy, (poza niewielkimi odchyłkami w przypadku kompleksu z β -pikoliną), a więc badane kompleksy są paramagnetyczne, bez śladów oddziaływań o charakterze wymiennym (rys. 4.6).

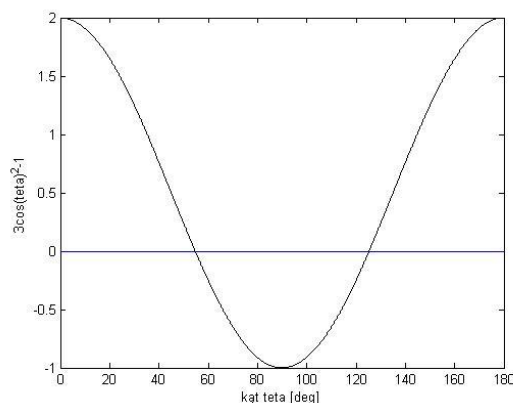


Rys. 4.6. Zależność momentów magnetycznych jednostki masy od natężenia zewnętrznego pola magnetycznego

Przejścia pomiędzy poziomami energetycznymi rozszczepionymi w polu magnetycznym mogą być stymulowane poprzez dipolowe lub kontaktowe oddziaływania pomiędzy momentami magnetycznymi. W ujęciu klasycznym energia oddziaływania pomiędzy dipolami magnetycznymi zależy od wielkości oddziaływujących momentów m_1 i m_2 , od odległości r między nimi, od ich wzajemnego położenia (kąta θ pomiędzy wektorem \vec{r} łączącym równoległe dipole a wybranym kierunkiem, np. kierunkiem lokalnego lub zewnętrznego pola magnetycznego), oraz od zmian w czasie ich wzajemnego położenia. Może to być zapisane wzorem [323]:

$$E \approx \frac{\mu_0 m_1 m_2}{2\pi r^3} \cdot (3\cos^2 \theta - 1) \quad (4.15)$$

gdzie $\mu_0 = 1.266 \cdot 10^{-6}$ H/m jest przenikalnością magnetyczną próżni. Należy zauważyć, że nawet przy bliskim wzajemnym rozmieszczeniu dipoli, jeśli ich wzajemna orientacja uśrednia się w przestrzeni ($\cos^2 \theta = 1/3$) to energia oddziaływania również uśrednia się do zera. Z wykresu zależności $(3\cos^2 \theta - 1)$ (rys. 4.7) w przedziale kątów $0-180^\circ$ wynika, że energia oddziaływania dipol-dipol zeruje się również w przypadku kątów $\theta = 54.7^\circ$ i $\theta = 144.7^\circ$, umownie nazywanymi w spektroskopii NMR „kątami magicznymi”. Aby oszacować wartość energii oddziaływania dipol-dipol w naszym przypadku przyjęliśmy maksymalną wartość wyrażenia $(3\cos^2 \theta - 1) = 2$.

Rys. 4.7. Zależność $(3\cos^2\theta-1)$ od kąta

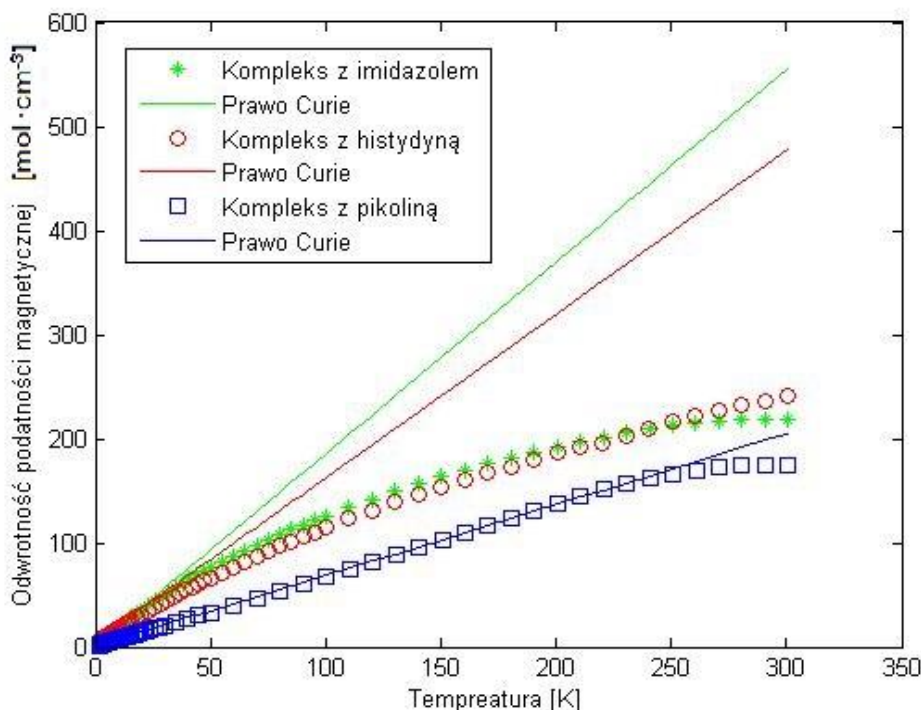
Oszacowana przez nas energia oddziaływania dipolowego dla jonów Fe^{3+} o spinie $S=1/2$ ($m_1=m_2=2\mu_B$) i najmniejszej możliwej odległości między jonami $r = 4\text{\AA}$, jest ponad 10^3 razy mniejsza od energii termicznej kT dla temperatury 2 K, a więc oddziaływanie to nie powinno mieć znaczącego wpływu na właściwości magnetyczne badanych w danej pracy kompleksów, nawet w tak niskiej temperaturze.

Oddziaływanie kontaktowe występuje wtedy, gdy funkcje falowe elektronów i protonów jonów paramagnetycznych w jakimś stopniu przekrywają się. Może oddziaływanie to mieć znaczenie, gdy niesparowane elektrony zlokalizowane są na s -orbitalach, co w naszym przypadku nie występuje.

Z rys. 4.6 wynika, że najszybciej w temperaturze 2 K nasycenie osiągnięte jest w przypadku kompleksu z imidazolem, posiadającego niską wartość momentu magnetycznego. Nieco trudniej osiągnięte jest nasycenie w przypadku kompleksu z histydyną, co najprawdopodobniej związane jest z domieszką kompleksu wysokospinowego, powstającego w wyniku rozpadu kompleksu z histydyną (§ 3.2). Stosunkowo najtrudniej magnetycznie nasycić się kompleks z β -pikoliną. Wynika to z faktu, że w temperaturze 2 K występuje on w stanie będącym mieszaniną stanów $S=5/2$ i $S=3/2$, z dominującym wkładem stanu $S=5/2$ (§ 3.2, 3.3).

4.5. Analiza temperaturowych zmian podatności i momentów magnetycznych

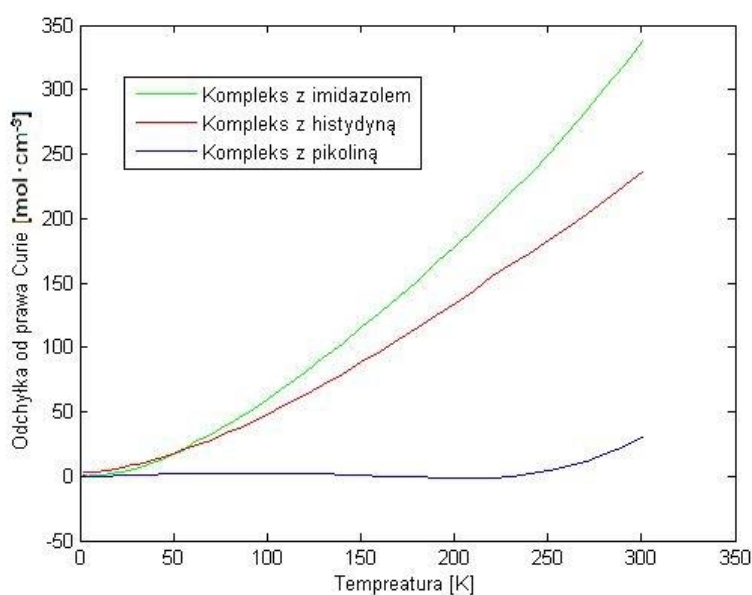
Dane dotyczące temperaturowych badań podatności magnetycznej przedstawiono na rys. 4.8:

Rys. 4.8. Zależność $1/\chi_m$ od temperatury

W obliczeniach podatności oszacowano wkład diamagnetyczny, wynikający ze struktury molekularnej w oparciu o metodę Slatera – Angusa, wykorzystując podane w monografii [319] podatności diamagnetyczne jonów C, N i H. Poprawki te wynoszą: $\chi^D \approx -850 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ dla kompleksów z imidazolem i β -pikoliną oraz $\chi^D \approx -900 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ dla kompleksu z histydyną.

Z danych przedstawionych na rys. 4.8 wynika, że w przypadku kompleksów z imidazolem i histydyną obserwuje się odstępstwo od liniowości w zależności odwrotności podatności magnetycznej od temperatury, praktycznie w całym zakresie 2–300 K, natomiast w przypadku kompleksu z β -pikoliną liniowość zachowana jest w zakresie temperatur 2–220 K, a odstępstwo pojawia się powyżej temperatury 230 K. Podobne odstępstwo obserwowano w pracy [321] dla sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe^{3+} -porfiryn, gdzie jednym z ligandów osiowych była grupa N_3 , a drugim pirydyna. Badania były przeprowadzone w zakresie temperatur 77–300 K. Autorzy nie ustosunkowują się do odchyłki, a wartość poprawki Weissa $\theta \approx 4\text{K}$, która ma związek z odchyłką, tłumaczą wpływem bliżej nieokreślonych zanieczyszczeń. Tego typu odchyłki nie można, naszym zdaniem, tłumaczyć oddziaływaniem dipolowym, ani tym bardziej wymiennym, pomiędzy jonami żelaza. Jednak w naszych wszystkich próbkach występują paramagnetyczne jony ClO_4^- , które nie są związane z kompleksem porfiryńowym, a rozmieszczone są swobodnie w całej

objętości próbki [36]. W zasadzie powinny oddziaływać elektrostatycznie z kompleksami porfiryńowymi, ponieważ mają w stosunku do nich przeciwny ładunek, jednak wydaje się, że struktura molekularna kompleksu nie pozwala na zbyt bliski kontakt z jonami żelaza. Nieznacznie mniejsze odstępstwo od prawa Curie w przypadku kompleksu z histydyną, w porównaniu z kompleksem z imidazolem, ligandem o mniejszych rozmiarach w porównaniu z histydyną, może sugerować pewne oddziaływanie typu dipolowego pomiędzy jonami żelaza i ClO_4^- , większe w przypadku kompleksu z imidazolem, niż w przypadku kompleksu z histydyną. Bardziej prawdopodobne może być oddziaływanie między samymi jonami ClO_4^- , które chociaż elektrostatycznie odpychają się, to i tak ze względu na stosunkowo małych rozmiarów cząsteczki mogą sytuować się wzajemnie znacznie bliżej siebie, niż atomy żelaza w badanych kompleksach i oddziaływanie dipolowe może mieć istotny wpływ na odstępstwo od prawa Curie. Liniowy przebieg odwrotności podatności magnetycznej w stosunkowo szerokim zakresie temperatur w przypadku kompleksu z β -pikoliną, nie oznacza, że w tym kompleksie nie występują te same czynniki, co w omawianych wcześniej dwóch próbkach, powodujące odstępstwo od prawa Curie. W przypadku ostatniego kompleksu tak się złożyło, że odstępstwo zwiększające się wraz ze wzrostem temperatury (rys. 4.9), prowadzące do wzrostu podatności magnetycznej, kompensowane jest zmniejszaniem się momentu magnetycznego próbki w wyniku przejścia ze stanu $S=5/2,3/2$ do stanu $S=1/2$ coraz większej liczby cząsteczek kompleksu.



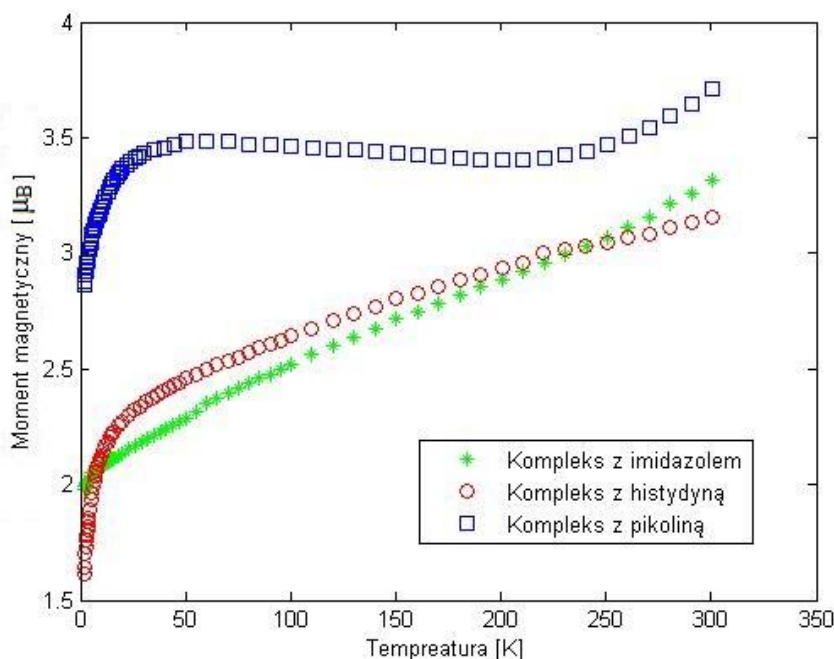
Rys. 4.9. Zależność od temperatury odchyłki od prawa Curie

W momencie, kiedy dominująca część próbki osiągnie stan $S=1/2$ (temperatura około 230 K) odchyłka ujawnia się w sposób podobny, jak w przypadku pozostałych dwóch kompleksów. W zasadzie prawo Curie nie stosuje się do kompleksów, które posiadają blisko położony stan wzbudzony, gdy w skali energii różnica pomiędzy energią stanu wzbudzonego i podstawowego jest porównywalna z energią termiczną kT , jak to ma miejsce w przypadku kompleksu z β -pikoliną. Jednak ze względu na liniowy charakter zależności $1/\chi$ od temperatury określono poprawkę Weissa $\theta=-0.70\text{K}$.

Korzystając z liniowej części zależności $1/\chi_m$ od temperatury oraz na podstawie zależności [319]:

$$\mu_{\text{eff}} = 2.828\sqrt{\chi_m T} \cdot \mu_B, \quad (4.16)$$

wynikającej z prawa Curie–Weissa, określono zależność wypadkowego momentu magnetycznego paramagnetycznych jonów w próbce z kompleksem zawierającym β -pikolinę, którą przedstawiono na rys. 4.10.



Rys. 4.10. Zależność momentu magnetycznego od temperatury

Dla kompleksów z imidazolem i histydyną wyznaczono proste odpowiadające prawu Curie w oparciu o 15 punktów z dolnego zakresu temperatury i wyznaczono również zależności momentów magnetycznych jonów paramagnetycznych od temperatury. Widać, że przebieg krzywych dla kompleksu z β -pikoliną różni się istotnie od przebiegu

krzywych dla pozostałych dwóch kompleksów. Potwierdza to fakt, że w przypadku kompleksu z β -pikoliną, następuje przejście ze stanu $S=1/2$ do stanu $S=5/2,3/2$ przy obniżeniu się temperatury, a kiedy stan $S=5/2,3/2$ stanie się dominującym (około 20 K), następuje typowy spadek wartości momentu przy dalszym obniżeniu temperatury. Spadek wartości momentu magnetycznego w zakresie niskich temperatur w kompleksach o spinie $S>1/2$ wynika głównie z przejść pomiędzy poziomami energetycznymi, rozszczepionymi w zerowym polu magnetycznym. Rozszczepienie to związane jest z oddziaływaniem jonu paramagnetycznego z otaczającym go polem ligandów oraz z oddziaływaniem spin-orbita [319].

Wyniki pomiarów magnetycznych są w dobrej zgodności z danymi temperaturowych badań metodami EPR i Mössbauera. Nietypowe właściwości magnetyczne kompleksu z β -pikoliną wskazują na potencjalne możliwości zastosowań w technologiach przemysłowych, w szczególności w mikroelektronice molekularnej ze względu na łatwe do sterowania zmienne momenty magnetyczne indukowane zmianami stanu spinowego jonu Fe^{3+} .

5. *Wnioski końcowe*

W ramach niniejszej pracy doktorskiej przeprowadzono doświadczalne i teoretyczne badania trzech kompleksów sześciokoordynacyjnych: $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$, $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$. Wyniki tych badań można sformułować następująco:

1. Otrzymano po raz pierwszy sześciokoordynacyjny kompleks Fe-porfiryn z osiowymi ligandami histydyny w oparciu o zmodyfikowaną procedurę syntezy, z wykorzystaniem cienkowarstwowej chromatografii cieczowej i rozpuszczalników organicznych, co pozwoliło rozszerzyć krąg metod badawczych tego typu kompleksów na EPR, $^1\text{H NMR}$, spektrometrię mas i pomiary magnetyczne.
2. Po raz pierwszy dokonano korelacji pomiędzy danymi doświadczalnymi z kilku metod spektroskopowych i pomiarów magnetycznych, dla próbek sześciokoordynacyjnych Fe-porfiryn, pozyskanych z tej samej syntezy każdego z badanych kompleksów, z uwzględnieniem struktury elektronowej określonej na podstawie obliczeń DFT.
3. Wykazano, że energia wiązania ligandów osiowych jest niższa od energii jonizacji we wszystkich trzech badanych kompleksach, co uzasadnia odrywanie się ligandów osiowych od jonu Fe^{3+} w trakcie badań z wykorzystaniem spektrometrii mas.
4. Wskazano na korelację pomiędzy parametrami metod spektroskopowych i wynikami temperaturowych zależności podatności i momentów magnetycznych jonów żelaza Fe^{3+} w badanych kompleksach.
5. Kompleksy Fe-porfiryn z ligandami imidazolu wykorzystywane są często w badaniach jako prostsze modele białek hemowych, zawierających histydynę jako ligandy osiowe. Z analizy porównawczej kompleksów $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ wynika, że kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ może być traktowany jako model elementów układów biologicznych zawierających pierścienie hemowe z histydyną w odniesieniu do właściwości magnetycznych, natomiast kompleksy te mogą mieć różne charakterystyki spektroskopowe ze względu na różną wzajemną orientację ligandów osiowych i deformację porfiryнового pierścienia.
6. Kompleks $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pik)}_2]^+$ jest szczególnym przypadkiem Fe-porfiryn, w którym stan spinowy jonu Fe^{3+} może ulegać zmianom pod wpływem temperatury i poprzez obrót ligandów osiowych. W zakresie temperatur 6–300 K występuje stan spinowy $S=1/2$ o różnych charakterystykach spektroskopowych, wynikających

ze zmieniającej się energetycznej konfiguracji d -orbitali jonu Fe^{3+} oraz stan kwantowo-mechanicznie mieszany $S=3/2, 5/2$. W temperaturze pokojowej dominującym stanem jest stan niskospinowy $S=1/2$, a wraz z obniżaniem temperatury konfiguracja elektronowa jonu Fe^{3+} zmienia się na stan kwantowo-mechanicznie mieszany. Zmienia się przy tym względna orientacja płaszczyzn pierścienia β -pikoliny z bliskiej równoległej na bliską prostopadłej, która powoduje zmiany we wzajemnej konfiguracji na skali energii trzech orbitali d_{xz} , d_{yz} i d_{xy} . Zmiany struktury molekularnej oraz relaksacja pomiędzy stanami spinowymi prowadzą do nietypowych poszerzeń linii w widmach EPR i Mössbauera. Relaksacja pomiędzy stanami może być stymulowana oddziaływaniami spin-orbita lub/i spin-sieć.

7. Wyniki kwantowo-mechanicznych badań wykazały, że najwyżej obsadzony elektronami π -orbital molekularny, złożony z atomowych p_z -orbitali porfiryнового pierścienia, w przypadku kompleksów $[\text{Fe(III)(OEP)(Im)}_2]^+$ i $[\text{Fe(III)(OEP)(His)}_2]^+$ jest usytuowany poniżej jakiegokolwiek molekularnego orbitalu z większościovym wkładem d -orbitali jonu Fe^{3+} , natomiast w przypadku kompleksu $[\text{Fe(III)(OEP)(}\beta\text{-pic)}_2]^+$ sytuje się na skali energii między orbitalami z większościovym udziałem orbitali atomowych d_{xy} i d_π . Zwiększa to prawdopodobieństwo przepływu elektronów pomiędzy porfiryновym ligandem i jonem Fe^{3+} . Ponadto wykazano, że w przypadku prostopadłej orientacji ligandów osiowych płaszczyzna porfiryнового pierścienia ulega stosunkowo silnej deformacji, a orbital atomowy d_{xy} , przestrzennie usytuowany w tej płaszczyźnie, miesza się z dwoma orbitalami molekularnymi pierścienia. W przypadku orientacji równoległej, kiedy płaszczyzna porfiryнового pierścienia jest lekko deformowana, występuje on w kompleksach praktycznie w czystej postaci, z udziałami ponad 90% w orbitalach molekularnych.
8. Dobra zgodność struktury molekularnej, modelowanej metodą DFT, z danymi rentgenostrukturalnymi sześciokoordynacyjnych kompleksów Fe-porfiryнов oraz struktury elektronowej z parametrami widm spektroskopowych i pomiarów magnetycznych świadczy o przydatności metody DFT do badań strukturalnych tych kompleksów oraz o właściwym doborze parametryzacji dla tej metody. Wyniki badań spektroskopowych, magnetycznych i teoretycznych obliczeń wzajemnie się uzupełniają dając możliwie jednolity obraz struktury elektronowej badanych kompleksów.

6. *Literatura*

- [1] L. J. Smith, A. Kohraman, J. M. Thornton, *Heme proteins – diversity in structural characteristics, function, and folding*, *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* **78** (2010) 2349–2368.
- [2] J. B. Schenkman, I. Jansson, *The many roles of cytochrome b₅*, *Pharmacol. Ther.* **97** (2003) 139–152.
- [3] K. Abe, Y. Sugita, *Properties of cytochrome b₅ and methemoglobin reduction in human erythrocytes*, *Eur. J. Biochem* **101** (1979) 423–428.
- [4] G. Vergeres, L. Waskell, *Cytochrome b₅, its functions, structure and membrane topology*, *Biochimie.* **77** (1995) 604–620.
- [5] S. M. Liao, Q. S. Du, J. Z. Meng, Z. W. Pang, R. B. Huang, *The multiple roles of histidine in protein interactions*, *Chem Cent J.* **7** (2013) 1–44.
- [6] Ch. Fufezan, J. Zhang, M. R. Gunner, *Ligand preference and orientation in b- and c-type heme binding proteins*, *Proteins* **73** (2008) 690–704.
- [7] K. M. Kadish, K. M. Smith, G. Guilard, *The porphyrin handbook. Vol. VI. Applications: Past, present and future*, San Diego: Academic Press, 2000.
- [8] L. R. Milgrom, *The colours of life, an introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds*, Oxford–New York–Tokyo: Oxford University Press 1997.
- [9] A. Shanti, *Understanding the factors which influence the interactions of iron(II) and iron(III) in porphyrins and the chemistry of silicon phthalocyanine*, PhD, University of Greenwich 2012.
- [10] A. Pasewicz-Sokół, *Synteza i badania właściwości fizykochemicznych wybranych pochodnych tetra – aryloporfiryn*, praca doktorska, Katowice 2010.
- [11] J. Dargiewicz-Nowicka, S. Radzki, *Chemi- i biosensory optyczne wykorzystujące porfiryny*, *Acta Bio-Optica et Informatica Medica* **8** (2002) 119–131.
- [12] S. Gunathilagan, *Metalloporphyrin – catalysed epoxidation using hydrogen peroxide*, PhD, University of Surrey, Guildford 2001.
- [13] G. P. Gurinovich, I. F. Gurinovich, N. V. Ivashin, G. N. Sinyakov, A. M. Shulga, S. N. Terekhov, I. V. Filatov, K. Dziliński, *Electronic structure of metalloporphyrin π -anions*, *Jour. Molec. Struct.* **172** (1988) 317–343.
- [14] M. Trytek, M. Makarska, K. Polska, S. Radzki, J. Fiedurek, *Porfiryny i ftalocyjaniny. Cz.1. Właściwości i niektóre zastosowania*, *Biotechnologia* **4** (2005) 109–127.
- [15] R. E. Blankenship, H. Hartman, *The origin and evolution of oxygenic photosynthesis*, *Talking Point* **23** (1998) 94–97.
- [16] J. K. M. Sanders, N. Bampas, Z. Clyde-Watson, S. L. Darling, J. C. Hawley, H. J. Kim, Ch. Ch. Mak, S. J. Webb, *Axial coordination chemistry of metalloporphyrins*, in: *The porphyrin handbook. Vol. III*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, San Diego: Academic 2000, Chapter 15, s. 3–49.
- [17] T. Kaczmarzyk, *Struktura elektronowa kompleksów azaporfiryn z żelazem*, praca doktorska, Częstochowa 2010.
- [18] K. Polska, M. Makarska, S. Radzki, *Wzajemne oddziaływanie pomiędzy kationową tetrakis [4-(trimetylamino)fenylo] porfiryną a konkanawaliną A*, *Acta Bio-Optica et Informatica Medica* **9** (2003) 157–158.
- [19] W. Śliwa, *Porphyrins and related compounds*, Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Częstochowa 2000.

- [20] J. A. Shelnut, X. Z. Song, J. G. Ma, S. L. Jia, W. Jentzen, C. J. Medforth, *Nonplanar porphyrins and their significance in proteins*, Chem. Soc. Rev. **27** (1998) 31–41.
- [21] M. Nakamura, *Electronic structures of highly deformed iron(III) porphyrin complexes*, Coord. Chem. Rev. **250** (2006) 2271–2294.
- [22] E. Harbitz, *Studies on c-type cytochromes exhibiting “large g_{max} ” / HALS EPR behavior*, PhD, Oslo 2011.
- [23] P. G. Debrunner, *Mössbauer spectroscopy of iron porphyrins*, in: *Iron porphyrins. Part III*, (ed.) A. B. P. Lever, H. B. Gray, Weinheim: VCH Publishers 1989, s. 37–227.
- [24] W. R. Scheidt, C. A. Reed, *Spin-state/stereochemical relationship in iron porphyrins. Implication for the hemoproteins*, Chem. Rev. **81** (1981) 543–555.
- [25] H. Razavi, E. Mohajerani, N. Safari, H. Shohroosvand, A. Khabbazi, *Electroluminescence and photoluminescence in porphyrin derived compounds in a new polymeric PVK:PBD host*, J. Porphyrin Phthalocyanine **16** (2012) 396–402.
- [26] I. A. Cohen, *Dimeric nature of hemin hydroxides*, J. Am. Chem. Soc. **91** (1969) 1980–1983.
- [27] C. Hu, B. C. Noll, C. E. Schulz, W. R. Scheidt, *Low-spin bis(2-methylimidazole) (octaethylporphyrinato)iron(III) chloride (perp- [Fe(OEP)(2-MeHIm)₂]Cl). A consequence of hydrogen bonding?*, Inorg. Chem. **27** (2006) 9721–9728.
- [28] J. C. Salerno, *Cytochrome electron spin resonance line shapes, ligand fields, and components stoichiometry in ubiquinol-cytochrome c oxidoreductase*, J. Biol. Chem. **259** (1984) 2331–2336.
- [29] D. Rhynard, G. Lang, K. Spartalian, T. Yonetani, *Mössbauer studies of low-symmetry crystal fields in low-spin ferric heme complexes*, J. Chem. Phys. **71** (1979) 3715–3721.
- [30] B. H. Huynh, M. C. Lui, J. J. G. Moura, I. Moura, P. O. Ljungdahl, E. Miinck, W. J. Payne, H. D. Peck, D. V. DerVartanian, J. LeGall, *Mössbauer and EPR studies on nitrite reductase from thiobacillus denitrificans*, J. Biol. Chem. **257** (1982) 9576–9581.
- [31] M. R. Cheesman, S. J. Ferguson, J. W. B. Moir, D. J. Richardson, W. G. Zumft, A. J. Thomson, *Two enzymes with a common function but different heme ligands in the forms as isolated. Optical and magnetic properties of the heme groups in the oxidized forms of nitrite reductase, cytochrome cd₁, from pseudomonas stutzeri and thiosphaera pantotropha*, Biochemistry **36** (1997) 16267–16276.
- [32] I. Rutkowska, K. Dziliński, T. Kaczmarzyk, J. Stanek, *Spectroscopic study of a bis(imidazole)(octaethylporphyrinato) iron (III) complex*, Nukleonika **58** (2013) 419–423.
- [33] D. K. Geiger, Y. J. Lee, W. R. Scheidt, *Control of spin state in (porphinato) iron(III) complexes. An axial ligand effect on the spin state in bis(2-methylimidazole) (octaethylporphinato) iron(III) perchlorate*, J. Am. Chem. Soc. **106** (1984) 6339–6643.
- [34] M. M. Maltempo, *Magnetic state of an unusual bacterial heme protein*, J. Chem. Phys. **61** (1974) 2540–2547.
- [35] W. R. Scheidt, D. K. Geiger, K. J. Haller, *Structural characterization of a variable spin (porphinato) iron(III) complex. Molecular stereochemistry of bis(3-chloropyridine)(octaethylporphinato)iron(III) perchlorate at 98 K ($S=1/2$) and 293 K ($S=1/2$, $S=5/2$)*, J. Am. Chem. Soc. **104** (1982) 495–499.
- [36] W. R. Scheidt, D. K. Geiger, R. G. Hayes, G. Lang, *Control of spin state in porphinatoiron(III) complexes. An axial ligand orientation effect leading to an intermediate spin complex. Molecular structure and physical*

- characterization of the monoclinic form of bis(3chloropyridine) (octaethylporphinato) iron(III) perchlorate*, J. Am. Chem. Soc. **105** (1983) 2625–2632.
- [37] W. R. Scheidt, D. K. Geiger, Y. J. Lee, C. A. Reed, G. Lang, *On the preparation of five-coordinate mono(3-chloropyridine)porphinatoiron(III) complexes*, Inorg. Chem. **26** (1987) 1039–1045.
- [38] F. A. Walker, U. Simonis, *Iron porphyrin chemistry*, in: *Encyclopedia of inorganic chemistry*, (ed.) R. B. King, Ed. 2, Chichester: Wiley & Sons 2005, s. 2390–2521.
- [39] J. Grodkowski, D. Behar, P. Neta, P. Hambright, *Iron porphyrin-catalyzed reduction of CO₂. Photochemical and eadiation chemical studies*, J. Phys. Chem. A **101** (1997) 248–254.
- [40] R. J. Donohoe, M. Atamian, D. F. Bocian, *Characterization of singly reduced iron(II) porphyrins*, J. Am. Chem. Soc. **109** (1987) 5593–5599.
- [41] T. Kaczmarzyk, I. Rutkowska, K. Dziliński, *Mössbauer spectroscopy of reduced forms of a Fe-tetraphenylporphyrine complex*, Nukleonika **60** (2015) 51–55.
- [42] T. Kaczmarzyk, T. Jackowski, K. Dziliński, L. Kania, *Mössbauer study of a reduction process in iron azaporphyrins*, Acta Phys. Pol. A **115** (2009) 656–659.
- [43] G. S. Srivatsa, D. T. Sawyer, N. J. Boldt, D. F. Bocian, *EPR and resonance Raman studies of the (5,10,15,20tetraphenylporphinato)ferrate(I) anion: formation of a five-coordinate pyridine adduct*, Inorg. Chem. **24** (1985) 2123–2125.
- [44] J. P. Collman, R. R. Gagne, C. A. Reed, C. R. Habbert, G. Lang, W. T. Robinson, *Picket fence porphyrins. Synthetic models for oxygen binding hemoproteins*, J. Am. Chem. Soc. **97** (1975) 1427–1439.
- [45] J. P. Collman, J. L. Hoard, N. Kim, G. Lang, C. A. Reed, *Synthesis, stereochemistry, and structure-related properties of alpha, beta, gamma, delta-tetraphenylporphinatoiron (II)*, J. Am. Chem. Soc. **97** (1975) 2676–2681.
- [46] D. H. Dolphin, J. R. Sams, T. B. Tsin, *Intermediate-spin (S=3/2) porphyrinatoiron(III) complexes*, Inorg. Chem. **16** (1971) 711–713.
- [47] M. E. Kastner, W. R. Scheidt, T. M. Mashiko, C. A. Reed, *Molecular structure of diaquo- $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -tetraphenylporphinatoiron(III) perchlorate and perchlorato- $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -tetraphenyl-porphinatoiron(III). Two new structural types for iron(III) porphyrins*, J. Am. Chem. Soc. **100** (1978) 666–667.
- [48] C. A. Reed, T. Mashiko, S. P. Bentley, M. E. Kastner, W. E. Scheidt, K. Spartialian, G. Lang, *The missing heme spin state and a model for cytochrome c'. The mixes S=3/2, 5/2 intermediate spin ferric porphyrin: perchlorate(meso-tetraphenylporphinato)iron(III)*, J. Am. Chem. Soc. **101** (1979) 2948–2958.
- [49] L. M. Epstein, D. K. Straub, C. Maricondi, *Mössbauer spectra of some porphyrin complexes with pyridine, piperidine, and imidazole*, Inorg. Chem. **6** (1967) 1720–1724.
- [50] W. R. Scheidt, D. A. Summerville, I. A. Cohen, *Molecular stereochemistry of a nitrogen-bridged metalloporphyrin: .mu.-nitrido-bis [.alpha., .beta., .gamma., .delta. -tetraphenylporphinatoiron]*, J. Am. Chem. Soc. **98** (1976) 6623–6628.
- [51] B. Filipowicz, W. Więckowski, *Biochemia*, t.2, Warszawa–Łódź: PWN 1986.
- [52] B. D. Berezin, N. S. Enikopijan, *Metalloporfiryny*, Nauka, Moskwa 1988.
- [53] K. Dziliński, *Metalloporfiryny w przyrodzie i medycynie*, Polish Ceramic Socjety **46** (1994) 135–139.
- [54] <http://pl.wikipedia.org/wiki/Hemoglobina>, 05.11.2014 r.
- [55] R. K. Murray, D. K. Granner, V. W. Rodwell, *Biochemia Harpera ilustrowana*, wyd. VI, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2006.

- [56] J. Chlebińska, *Anatomia i fizjologia człowieka*, wyd. III, Warszawa: WSiP 1978.
- [57] E. Zapora, I. Jarocka, *Hemoglobina – źródłem reaktywnych form tlenu*, *Postępy Hig. Med. Dosw.* **67** (2013) 214–220.
- [58] L. Trząski, *Słownik biologiczny*, Katowice: Videograf 1998.
- [59] M. Wnuk, *Rola układów porfirynewych w ewolucji życia*, w: *Z Zagadnień Filozofii Przyrodznawstwa i Filozofii Przyrody. IX*, red. M. Lubański, S. W. Ślaga, Warszawa: Akademia Teologii Katolickiej 1987, s. 34–56.
- [60] W. Sylwanowicz, A. Michajlik, W. Ramotowski, *Anatomia i fizjologia człowieka*, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1985.
- [61] E. P. Solomon, L. R. Berg, D. W. Martin, C. A. Villet, *Biologia*, wyd. I, Warszawa: Oficyna Wydawnicza Multico 1996.
- [62] D. M. Cline, J. Ma, *Medycyna ratunkowa*, red. J. Jakubaszko, wyd. I, Wrocław: Elsevier Urban & Partner 2003.
- [63] B. Filipowicz, W. Więckowski, *Biochemia. T.1*, Warszawa–Łódź: PWN 1990.
- [64] http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Miooglobina&lang=3, 05.11.2014 r.
- [65] L. Wojtczak, *Dwa oblicza cytochromu c*, w: *Postępy biochemii*, red. Polskie Towarzystwo Biologiczne, Warszawa **52** (2006) 122–128.
- [66] M. R. Roat-Malone, *Chemia bionieorganiczna*, Warszawa: PWN 2010.
- [67] W. S. Ostrowski, *Zarys rozwoju badań nad metaloporfirynami*, *Post. Biochem.* **29** (1983) 247–253.
- [68] J. Baj, Z. Markiewicz, *Biologia molekularna bakterii*, Warszawa: PWN 2012.
- [69] A. Bruce, D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Podstawy biologii komórki*, Warszawa: PWN 2009.
- [70] H. G. Schlegel, *Mikrobiologia ogólna*, Warszawa: PWN 2005.
- [71] E. Harbitz, *Spectroscopic and sequence studiem of cytochrome c-554 from methylosinus trichosporium OB3b*, PhD, Oslo 2003.
- [72] B. Filipowicz, *Biochemia dziś i jutro*, Warszawa: PWN 1973.
- [73] P. Kafarski, B. Leszczak, *Chemia bioorganiczna*, Warszawa: PWN 1994.
- [74] G. Jagow, W. Sebald, *B-type cytochromes*, *Ann. Rev. Biochem.* **49** (1980) 281–314.
- [75] A. Altuve, S. Silchenko, et al., *Probing the differences between rat liver outer mitochondrial membrane cytochrome b(5) and microsomal cytochromes b(5)*, *Biochemistry* **40** (2001) 9469–9483.
- [76] A. Kołodziejczyk, *Naturalne związki organiczne*, Warszawa: PWN 2013, 236.
- [77] N. Sutin, J. K. Yandell, *Mechanisms of the reactions of cytochrome c*, *J. Biol. Chem.* **247** (1972) 6932–6936.
- [78] S. J. Lippard, J. M. Berg, *Podstawy chemii bionieorganicznej*, Warszawa: PWN 1998.
- [79] *Chemia. Encyklopedia szkolna*, red. A. Latusek, M. Stęplewska, Kraków: Wydawnictwo Zielona Sowa 2008.
- [80] T. L. Poulos, *Cytochrome P-450*, *Current Opinion in Structural Biology* **5** (1995) 767–774.
- [81] <http://www.esrf.eu/UsersAndScience/Publications/Highlights/2006/SB/SB09>, 05.11.2014 r.
- [82] I. Z. Siemion, *Biostereochemia*, Warszawa: PWN 1985.
- [83] J. Czosnowski, *Charakterystyka fizjologiczna trzech typów tkanek Vitis vinifera: normalnej, tumora bakteryjnego (crown-gall) i tumora chemicznego, hodowanych in vitro*, Poznań: Towarzystwo Przyjaciół Nauk, *Prace Kom. Biol.* **13** (1952) 189–208.
- [84] J. Czosnowski, *Badania nad gospodarką witaminową tkanek roślinnych hodowanych in vitro na tle ich gospodarki substancjami wzrostowymi typu*

- auksyny*, Poznań: Towarzystwo Przyjaciół Nauk, Prace Kom. Biol. **13** (1952) 209–246.
- [85] http://www.kierunkizamawiane.vxo.pl/pliki/Skrypty/mwb_krolicka_kultury_rosl_inne_invitro.pdf, 02.11.2014 r.
- [86] M. Pawłowska, E. Augustin, *Systemy ekspresyjne białek cytochromu P450 w badaniach in vitro metabolizmu leków*, Postepy Hig. Med. Dosw. **65** (2011) 367–376.
- [87] A. Wojtczak, J. Skrętkowicz, *Rola polimorfizmu cytochromu P450 w metabolizmie leków stosowanych w farmakoterapii chorób układu krążenia*, Kardiologia Polska **67** (2009) 1011–1014.
- [88] J. E. Kowalczyk, *Kinaza białkowa c w mitochondriach a przekazywanie sygnału ischemicznego w mózgu gryzoni*, praca doktorska, Warszawa 2010.
- [89] O. Daltrop, J. W. A. Allen, A. C. Willis, S. J. Ferguson, *In vitro formation of a c-type cytochrome*, PNAS **99** (2002) 7872–7876.
- [90] D. Śclblor, H. Czeczot, *Katalaza – budowa, właściwości, funkcje*, Postepy Hig. Med. Dosw. **60** (2006) 170–180.
- [91] http://openwetware.org/wiki/Biomod/2012/Titech/Nano-Jugglers/Methods/Varification_catalase, 05.11.2014 r.
- [92] M. Zielińska-Dawidziak, *Wykorzystanie ferrytyny roślinnej do wzbogacania żywności w żelazo*, Biotechnologia **87** (2009) 35–39.
- [93] *Medycyna ratunkowa na dyżurze*, red. F. Kokot, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2007.
- [94] <http://pl.wikipedia.org/wiki/Ferrytyna>, 02.11.2014 r.
- [95] *Poradnik lekarza praktyka*, red. R. Ściborski, Wrocław: Ossolineum 1995.
- [96] <http://pl.wikipedia.org/wiki/Hemosyderyna#mediaviewer/File:Hemosiderin1.jpg>, 05.11.2014 r.
- [97] A. Ślawska-Waniewska, *Wybrane zagadnienia współczesnego biomagnetyzmu*, Postępy fizyki **55** (2004) 157–161.
- [98] A. Słomka, E. Żekanowska, K. Piotrowska, J. Kwapisz, *Metabolizm żelaza z zagadnieniami matczyno- płodowego krążenia żelaza*, Postepy Hig. Med. Dosw. **66** (2012) 876–887.
- [99] http://en.wikipedia.org/wiki/Transferrin#mediaviewer/File:Protein_TF_PDB_la8e.png, 06.11.2014 r.
- [100] P. Kis, H. Springer-Lederer, *A photoelectrochemical cell based on chlorophyll, Thin solid films*, **66** (1980) L47–L49.
- [101] K. Dziliński, *Metaloporfiryny w przemyśle*, Inżynieria Materiałowa **1** (1996) 28–31.
- [102] Y. S. Gerasymchuk, M. Makarska, K. Polska, S. Radzki, *Niektóre zastosowania porfiryn i ftalocyjanin*, Laboratoria Aparatura Badania **5** (2008) 9–12.
- [103] E. H. Lan, B. C. Dave, J. M. Fukuto, B. Dunn, J. I. Zink, J. S. Valentine, *Synthesis of sol-gel encapsulated heme proteins with chemical sensing properties*, J. Mater. Chem. **9** (1999) 45–53.
- [104] M. Mifune, R. Harada, A. Iwado, N. Motohashi, Y. Saito, *Glutathione oxidase-like activity of glass beads, silica gel and anion-exchange resin modified with cobalt(III)-tetrakis (4-carboxyphenyl) porphine*, Talanta **46** (1998) 1583–1590.
- [105] T. Gośliński, D. Brudnicki, *Zastosowanie fluorowanych porfirynoidów w technice i wojskowości*, Biuletyn WAT **3** (2011) 125–146.
- [106] D. Gatteschi, *A coupling powered by nature*, Molecular Magnets **6** (2007) 471–472.
- [107] H. Wende, M. Bernien, J. Luo, C. Sorg, N. Ponpandian, J. Kurde, J. Miguel, M. Piantek, X. Xu, Ph. Eckhold, W. Kuch, K. Baberschke, P. M. Panchmatia,

- B. Sanyal, P. M. Oppeneer, O. Eriksson, *Substrate – induced magnetic ordering and switching of iron porphyrin molecules*, *Nature Mater* **6** (2007) 516–520.
- [108] O. Kahn, *Molecular Magnetism*, Weinheim: VCH Publishers 1994.
- [109] M. Bałanda, *AC susceptibility studies of phase transitions and magnetic relaxation: conventional, molecular, and low-dimensional magnets*, *Acta Phys. Pol. A* (**124**) (2013) 964–976.
- [110] M. Bartoszek, M. Bałanda, D. Skrzypek, Z. Drzazga, *Magnetic field effect on hemin*, *Physica B* **307** (2001) 217–223.
- [111] K. V. Raman, *Interface – assisted molecular spintronics*, *Appl. Phys. Rev.* **1** (2014) 031101–031111.
- [112] M. Rajkiewicz, *Pochodne tetraaryloporfiryny o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej – synteza i wybrane właściwości fizykochemiczne*, praca doktorska, Katowice 2012.
- [113] Z. Luksiene, P. Juzenas, J. Moan, *Radiosensitization of tumours by porphyrins*, *Cancer Letters* **235** (2006) 40–47.
- [114] R. R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun, *Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions*, International series of monographs on chemistry 14, *Angewandte Chemie International Edition in English* **26** (1987) 1192–1195.
- [115] *Fizyczne metody badań w biologii, medycynie i ochronie środowiska*, red. Z. Hrynkiewicz, E. Rokita, Warszawa: PWN 1999.
- [116] F. A. Walker, *Magnetic Spectroscopic (EPR, ESEEM, Mössbauer, MCD and NMR) studies of low-spin ferriheme centers and their corresponding heme proteins*, *Coord. Chem. Rev.* **185–186** (1999) 471–534.
- [117] M. Nakamura, Y. Ohgo, A. Ikezaki, *Electronic and magnetic structures of iron porphyrin complexes*, in: *Handbook of porphyrin science. Vol VII*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, Word Scientific, New Jersey–London 2010 Chapter 32, s. 1–146.
- [118] R. J. Abraham, M. Mobli, *Modeling ¹H NMR spectra of organic compounds: theory, applications and NMR prediction software Chichester*, J. Wiley and Sons Ltd, 2008.
- [119] M. Nakamura, Y. Ohgo, A. J. Ikezaki, *Electronic ground states of low-spin iron(III) porphyrinoids*, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 433–445.
- [120] F. A. Walker, *Models of the bis-histidine-ligated electron-transferring cytochromes. Comparative geometric and electronic structure of low-spin ferro- and ferrihemes*, *Chem. Rev.* **104** (2004) 589–616.
- [121] F. A. Walker, *Pulsed EPR and NMR spectroscopy of paramagnetic iron porphyrinates and related iron macrocycles: how to understand patterns of spin delocalization and recognize macrocycle radicals*, *Inorg. Chem.* **42** (2003) 4526–4544.
- [122] F. A. Walker, *Proton NMR and EPR spectroscopy of paramagnetic metalloporphyrins*, in: *The Porphyrin Handbook. Vol. V*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, San Diego: Academic Press, CA **5** 2000, s. 81–183.
- [123] G. N. La Mar, J. D. Satterlee, J. S. De Ropp, *Nuclear magnetic resonance of hemoproteins*, in: *The porphyrin handbook. Vol. V*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, San Diego: Academic Press, CA **5** 2000, s. 185–298.
- [124] I. Bertini, C. Luchinat, *NMR of Paramagnetic Substances*, *Coord. Chem. Rev.* **150** (1996) 1–300.
- [125] F. A. Walker, U. Simonis, *Proton NMR Spectroscopy of model hemes*, in: *Biological magnetic resonance. NMR of paramagnetic molecules. Vol. 12*, (ed.) L. J. Berliner, J. Reuben, New York: Plenum Press 1993, s. 133–274.

- [126] I. Bertini, C. Luchinat, *NMR of paramagnetic molecules in biological systems*, Menlo Park: Benjamin-Cummings Publishing Company CA, 1986.
- [127] H. M. Goff, *Nuclear magnetic resonance of iron porphyrins*, in: *Iron porphyrins. Part 1*, (ed.) A. B. P. Lever, H. B. Gray, Physical Bioinorganic Chemistry. Series 1, Massachusetts: Addison-Wesley Reading 1983, s. 237–281.
- [128] G. N. La Mar, F. A. Walker, *NMR studies of paramagnetic metalloporphyrins*, in: *The Porphyrins. Vol. IV*, (ed.) D. Dolphin, New York: Academic Press 1979, s. 61–157.
- [129] H. Günther, *NMR spectroscopy. An introduction*, New York: John Wiley and Sons 1980.
- [130] H. P. Blustin, *Aromatic proton chemical shift without ring currents*, Chem. Phys. Lett. **64** (1979) 507–510.
- [131] C. J. Medforth, *NMR spectroscopy of diamagnetic porphyrins*, in: *The porphyrin handbook. Vol. V*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, San Diego: Academic 2000, Chapter 35, s. 1–80.
- [132] F. A. Walker, *NMR and EPR spectroscopy of paramagnetic metalloporphyrins and heme proteins*, in: *Handbook of Porphyrin Science. Vol. VI*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, New Jersey–London–Singapore: Word Scientific 2010, Chapter 29, s. 1–304.
- [133] A. L. Balch, L. Lotos-Grażyński, B. C. Noll, M. M. Olmstead, L. Szterenber, N. Safari, *Structural characterization of verdoheme analogs. Iron complexes of octaethylxoporphyrin*, J. Am. Chem. Soc. **115** (1993) 1422–1429.
- [134] D. Dolphin, J. R. Sams, T. B. Tsin, K. L. Wong, *Synthesis and Mössbauer spectra of octaethylporphyrin ferrous complexes*, J. Am. Chem. Soc. **98** (1976) 6970–6975.
- [135] G. N. La Mar, F. A. Walker, *Proton nuclear magnetic resonance and elektron spin resonance investigation of the electronic structure and magnetic properties of synthetic low-spin ferric porphyrins*, J. Am. Chem. Soc. **95** (1973) 1782–1790.
- [136] J. D. Satterlee, G. N. La Mar, *A proton nuclear magnetic resonance study of imidazole-iron bonding in low-spin ferric complexes with synthetic porphyrins*, J. Am. Chem. Soc. **98** (1976) 2804–2808.
- [137] L. B. Dugad, V. R. Marathe, S. Mitra, *Electronic structure of spin-mixed iron(III) porphyrins: a proton magnetic resonance study*, Proc Indian Acad. Sci. **95** (1985) 189–205.
- [138] H. A. O. Hill, K. G. Morallee, *Nuclear magnetic resonance spectra of bis(pyridinato) iron(III)-protoporphyrin IX complexes*, J. Am. Chem. Soc. **94** (1972) 731–738.
- [139] G. N. La Mar, J. S. Frye, J. D. Satterlee, *Proton NMR study of coordinated imidazoles in low-spin ferric heme complexes*, Biochim. Biophys. Acta **428** (1976) 78–90.
- [140] R. J. Cheng, P. Y. Chen, T. Lovell, T. Liu, L. Noodleman, D. A. Case, *Symmetry and bonding in metalloporphyrins. A modern implementation for the bonding analyses of five- and six-coordinate high-spin iron(III)-porphyrin complexes through density functional calculation and NMR spectroscopy*, J. Am. Chem. Soc. **125** (2003) 6774–6783.
- [141] A. D. Boersma, H. M. Goff, *Electrochemical oxidation of spin-admixed $S = 5/2, 3/2$ iron(III) porphyrins: in situ characterization by deuterium NMR spectroscopy*, Inorg. Chem. **23** (1984) 1671–1676.
- [142] E. T. Kintner, J. H. Dawson, *Spectroscopic studies of ferric porphyrins with quantum mechanically admixed intermediate-spin states: models for cytochrome c'* , Inorg. Chem. **30** (1991) 4892–4897.

- [143] A. Ikezaki, M. Nakamura, *Models for cytochromes c': Spin states of mono(imidazole)-ligated (meso-tetramesitylporphyrinato)iron(III) complexes as studied by UV-Vis, ^{13}C NMR, ^1H NMR, and EPR spectroscopy*, Inorg. Chem. **41** (2002) 6225–6236.
- [144] Y. Ohgo, S. Neya, T. Ikeue, M. Takahashi, M. Takeda, N. Funasaki, M. Nakamura, *Molecular structures of five-coordinated halide ligated iron(III) porphyrin, porphycene, and corphycene complexes*, Inorg. Chem. **41** (2002) 4627–4629.
- [145] J. P. Simonato, J. Pécaut, L. Le Pape, J. L. Oddou, C. Jeandey, M. Shang, W. R. Scheidt, J. Wojaczyński, S. Wolowiec, L. Latos-Grażyński, J. C Marchon, *An integrated approach to the mid-spin state ($S = 3/2$) in six-coordinate iron(III) chiroporphyrins*, Inorg. Chem. **39** (2000) 3978–3987.
- [146] Y. Ling, Y. J. Zhang, *Mössbauer, NMR, geometric, and electronic properties in $S = 3/2$ iron porphyrins*, J. Am. Chem. Soc. **131** (2009) 5386–6388.
- [147] F. A. Walker, U. Simonis, H. Zhang, J. M. Walker, T. M. Ruscitti, C. Kipp, M. A. Amputch, B. V. Castillo, S. H. Cody, D. L. Wilson, R. E. Graul, G. J. Yong, K. Tobin, J. T. West, B. A. Barichievich, *Models of the cytochromes b. 9. The effect of ortho substituent size and type on the binding and restriction of rotation of axial ligands in tetraphenylporphyrinatoiron(III) and -zinc(II) complexes*, New J. Chem. **16** (1992) 609–620.
- [148] Q. Lin, U. Simonis, A. R. Tipton, C. J. Norvell, F. A. Walker, *Models of the cytochromes b. 10. Application of ^1H COSY to delineate the spin density distribution at the β -Pyrrole positions of unsymmetrically substituted low-spin Fe(III) tetraphenylporphyrins*, Inorg. Chem. **31** (1992) 4216–4217.
- [149] M. Nakamura, K. Tajima, K. Tada, K. Ishizu, N. Nakamura, *Rotation and orientation of axially coordinated imidazoles in low-spin ferric porphyrin complexes*, Inorg. Chem. Acta **224** (1994) 113–124.
- [150] K. I. Momot, F. A. Walker, *Investigations of rotation of axial ligands in six-coordinate low-spin iron(III) tetraphenylporphyrinates: measurement of rate constants from saturation transfer experiments and comparison to molecular mechanics calculations*, J. Phys. Chem. A **101** (1997) 2787–2795.
- [151] V. P. Chacko, G. N. La Mar, *Proton NMR study of the deprotonation of axial imidazole ligands in low-spin ferric porphyrin complexes*. J. Am. Chem. Soc. **104** (1982) 7002–7007.
- [152] F. A. Walker, U. Simonis, *Model of the cytochrome b. 8. Two-dimensional nuclear overhauser and exchange spectroscopy studies of paramagnetic "Cavity" type tetraphenylporphyrinatoiron(III) complexes of planar ligands*, J. Am. Chem. Soc. **113** (1991) 8652–8657.
- [153] A. K. Gregson, *Quantitative description of the magnetic properties and proton isotropic shifts of hemichrome salts (derivatives of iron(III) octaethylporphyrin complexes): the presence of a spin equilibrium*, Inorg. Chem. **20** (1981) 81–87.
- [154] L. B. Dugad, O. K. Medhi, S. Mitra, *Electronic structure of hemin chloride in pyridine and pyridine-chloroform solution: proton NMR study*, Inorg. Chem. **26** (1987) 1741–1746.
- [155] V. P. Shedbalkar, L. B. Dugad, S. Mazumdar, S. Mitra, *Electronic structure of synthetic iron(III) porphyrins in pyridine and pyridine-water solutions: a proton magnetic resonance study*, Inorg. Chem. Acta **148** (1988) 17–20.
- [156] M. K. Safo, G. P. Gupta, C. T. Watson, U. Simonis, F. A. Walker, W. R. Scheidt, *Models of the cytochromes b. Low-spin bis-ligated (porphyrinato)iron(III) complexes with "unusual", molecular structures and NMR, EPR, and Mössbauer spectra*, J. Am. Chem. Soc. **114** (1992) 7066–7075.

- [157] M. Rivera, G. A. Caignan, A. V. Astashkin, A. M. Raitsimring, T. Kh. Shokhireva, F. A. Walker, *Models of the low-spin iron(III) hydroperoxide intermediate of heme oxygenase: magnetic resonance evidence for thermodynamic stabilization of the d_{xy} electronic state at ambient temperatures*, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 6077–6089.
- [158] Z. Kęcki, *Podstawy spektroskopii molekularnej*, Warszawa: PWN 1992.
- [159] G. Palmer, *Electron paramagnetic resonance of hemoproteins*, in: *Iron Porphyrins. Part II*, (ed.) A. B. P. Lever, H. B. Gray, London–Amsterdam: Addison-Wesley Publishing 1982, s. 43–88.
- [160] W. D. Blumberg, J. Peisach, *Low-spin compounds of heme proteins*, *Advances in Chemistry Series* **100** (1971) 271–291.
- [161] R. Cammack, C. E. Cooper, *Electron paramagnetic resonance spectroscopy of iron complexes and iron-containing proteins*, *Methods Enzymol* **227** (1993) 353–384.
- [162] F. A. Walker, B. H. Huynh, W. R. Scheidt, S. R. Osvath, *Model of the cytochromes b. Effect of axial ligand plane orientation on the EPR and Mössbauer spectra of low-spin Ferrihemes*, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 5288–5297.
- [163] M. K. Safo, G. P. Gupta, F. A. Walker, W. R. Scheidt, *Model of the cytochrome b. Control of axial ligand orientation with a hindered porphyrin system*, *J. Am. Chem. Soc.* **113** (1991) 5497–5510.
- [164] H. Ogura, L. Yatsunyk, C. J. Medforth, K. M. Smith, K. M. Barkigia, M. W. Renner, D. Melamed, F. A. Walker, *Molecular structures and magnetic resonance spectroscopic investigations of highly distorted six-coordinate low-spin iron(III) porphyrinate complexes*, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 6564–6578.
- [165] V. Schünemann, A. X. Trautwein, J. Illerhaus, W. Haehnel, *Mössbauer and electron paramagnetic resonance studies of cytochrome *b_f* complex*, *Biochemistry* **38** (1999) 8981–8991.
- [166] L. A. Yatsunyk, M. D. Carducci, F. A. Walker, *Low-spin ferriheme models of the cytochromes: Correlation of molecular structure with EPR spectral type*, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 15986–16005.
- [167] A. X. Trautwein, E. Bill, E. L. Bominaar, H. Winkler, *Iron-containing proteins and related analogs-complementary Mössbauer, EPR and magnetic susceptibility Studies*, *Struct. Bond.* **78** (1991) 1–95.
- [168] B. L. Buynh, M. H. Emptage, E. Münck, *Mössbauer study of cytochrome *c₂* from *rhodospirillum rubrum*. Sign of the product $g_x g_y g_z$ of some low spin ferric heme proteins*, *Biochim. Biophys. Acta* **534** (1978) 295–306.
- [169] A. Dwivedi, W. A. Jr. Toscano, P. G. Debrunner, *Mössbauer studies of cytochrome *c-551*. Intrinsic heterogeneity related to *g*-strain*, *Biochim. Biophys. Acta* **576** (1979) 502–508.
- [170] R. Bois-Poltoratsky, A. Ehrenberg, *Magnetic and spectrophotometric investigations of cytochrome *b₅**, *Eur. J. Biochem.* **2** (1967) 361–365.
- [171] V. I. Guzov, H. L. Houston, M. B. Murataliev, F. A. Walker, R. Feyereisen, *Molecular cloning, overexpression *Escherichia coli*, structural and functional characterization of house fly cytochrome *b₅**, *J. Biol. Chem.* **271** (1996) 26637–26645.
- [172] R. Aasa, S. P. J. Albracht, K. E. Falk, B. Lanne, T. Vänngård, *EPR signals from cytochrome *c oxidase**, *Biochim. Biophys. Acta Enzym.* **422** (1976) 260–272.
- [173] H. Hori, *Analysis of the principal *g*-tensors in single crystals of ferrimyoglobin complexes*, *Biochim. Biophys. Acta* **251** (1971) 227–235.

- [174] V. Schünemann, R. Benda, A. X. Trautwein, F. A. Walker, *Mössbauer spectroscopic studies of six-coordinate heme-nitric oxide complex of iron(III) octaethylporphyrin N-methylimidazole, the first model of the Nitrophorin-NO complexes*, Israel J. Chem. **40** (2000) 9–14.
- [175] R. Quinn, C. E. Strouse, J. S. Valentine, *Crystal-structure and properties of a potassium cryptate salt of bis (4-methylimidazolato)(tetraphenylporphinato) iron(III)*, Inorg. Chem. **22** (1983) 3934–3940.
- [176] O. Q. Munro, H. M. Marques, P. G. Debrunner, K. Mohanrao, W. R. Scheidt, *Structural and molecular mechanics studies on highly ruffled low-spin porphyrinato iron(III) complexes*, J. Am. Chem. Soc. **117** (1995) 935–954.
- [177] J. C. Salerno, J. S. Leigh, *Crystal field of atypical low-spin ferriheme complexes*, J. Am. Chem. Soc. **106** (1984) 2156–2159.
- [178] F. A. Walker, H. Nasri, I. Turowska-Tyrk, K. Mohanrao, C. T. Watson, N. V. Shokhirev, P. G. Debrunner, W. R. Scheidt, *II-acid ligands in iron(III) porphyrinates. Characterization of low-spin bis (tert-butylisocyanide) (porphyrinato) iron(III) complexes having $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$ ground states*, J. Am. Chem. Soc. **118** (1996) 12109–12118.
- [179] M. R. Cheesman, F. A. Walker, *Low-temperature MCD studies of low-spin ferric complexes of tetramesitylporphyrin: Evidence for a novel $(d_{xz}, d_{yz})^4 (d_{xy})^1$ ground state which models the spectroscopic properties of heme d*, J. Am. Chem. Soc. **118** (1996) 7373–7380.
- [180] C. T. Migita, M. Iwaizumi, *Low-temperature EPR studies of highly anisotropic low-spin (protoporphyrinato)iron(III) complexes*, J. Am. Chem. Soc. **103** (1981) 4378–4381.
- [181] T. Teschner, L. Yatsunyk, V. Schunemann, et al., *Models of the membrane bound cytochromes: Mössbauer spectra of crystalline low-spin ferriheme complexes having axial ligand plane dihedral angles ranging from 0° to 90°* , J. Am. Chem. Soc. **128** (2006) 1379–1389.
- [182] J. S. Griffith, *Theory of EPR in low-spin ferric hemoproteins*, Mol. Phys. **21** (1971) 135–139.
- [183] C. P. Taylor, *The EPR of low spin heme complexes. Relation of the t_{2g} hole model to the directional properties of the g tensor, and a new method for calculating the ligand field parameters*, Biochim. Biophys. Acta **491** (1977) 137–148.
- [184] A. J. Thomson, P. M. A. Gadsby, *A theoretical model of the intensity of the near-infrared porphyrin-to-iron charge-transfer transitions in low-spin iron(III) haemoproteins. A correlation between the intensity of the magnetic circular dichroism bands and the rhombic distortion parameter of iron*, J. Chem. Soc. Dalton Trans. (1990) 1921–1928.
- [185] R. D. Arasasingham, C. R. Cornman, A. L. Balch, *Detection of alkylperoxo and ferryl, $(FeIV:O)2+$, intermediates during the reaction of tert-butyl hydroperoxide with iron porphyrins in toluene solution*, J. Am. Chem. Soc. **111** (1989) 7800–7805.
- [186] P. Stoch, J. Szczerba, *Zastosowanie spektroskopii mössbauerowskiej do oznaczania zawartości Fe^{2+}/Fe^{3+} w kruszywach magnezjowych*, Ceramic Materials **65** (2013) 429–432.
- [187] A. Błachowski, *Wpływ domieszek, mikrostruktury i temperatury na kinetykę przemiany fazowej α - σ w układzie Fe-Cr*, praca doktorska, Kraków 2000.
- [188] J. Sawicki, *Badanie elektronowego oddziaływania kwadrupolowego metodą spektroskopii mössbauerowskiej*, Kraków–Warszawa: PWN 1975.
- [189] O. Q. Munro, J. A. Serth-Guzzo, I. Turowska-Tyrk, K. Mohanrao, T. K. Shokhireva, F. A. Walker, P. G. Debrunner, W. R. Scheidt, *Two*

- crystalline forms of low-spin [Fe(TMP)(5-MeHIm)₂]ClO₄. Relative parallel and perpendicular axial ligand orientations*, J. Am. Chem. Soc. **121** (1999) 11144–11155.
- [190] Y. Zhang, J. Mao, E. Oldfield, *⁵⁷Fe Mössbauer isomer shifts of heme protein model systems: electronic structure calculations*, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 7829–7839.
- [191] Y. Zhang, J. Mao, N. Godbout, E. Oldfield, *Mössbauer quadrupole splittings and electronic structure in heme proteins and model systems: a density functional theory investigation*, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 13921–13930.
- [192] W. C. Nieuwpoort, D. Post, P. Th. van Duijnen, *Calibration constant for ⁵⁷Fe Mössbauer isomer shifts derived from ab initio self-consistent-field calculations on octahedral FeF₆ and Fe(CN)₆*, Phys. Rev. B **17** (1978) 91–98.
- [193] C. Hu, B. C. Noll, C. E. Schulz, W. R. Scheidt, *Ligand orientation control in low-spin six-coordinate (porphinato) iron(II) species*, Inorg. Chem. **44** (2005) 4346–4358.
- [194] R. Giovannetti, *The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins*, in: *Macro to nano spectroscopy*, (ed.) J. Uddin, Rijeka 2012, Chapter 6, s. 87–108.
- [195] M. Gouterman, *Optical spectra and electronic structure of porphyrins and related rings*, in: *The porphyrins. Vol. 3*, (ed) D. Dolphin, New York: Academic Press 1978, s. 1–165.
- [196] G. H. Loew, *Theoretical investigations of iron porphyrins*, in: *Iron porphyrins. Part I*, (ed.) A. B. P. Lever, H. B. Gray, Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Company 1983, s. 1–87.
- [197] K. Nienhaus, G. U. Nienhaus, *Probing heme protein-ligand interactions by UV/visible absorption spectroscopy*, Methods Mol. Biol. **305** (2005) 215–242.
- [198] D. A. Baldwin, H. M. Marques, J. M. Pratt, *Proton-coupled reductions of haemin complexes: models for redox-linked effects in the cytochromes*, S. Afr. J. Chem. **39** (1986) 189–196.
- [199] A. S. Brill, R. J. P. Williams, *The absorption spectra, magnetic moments and the binding of iron in some haemoproteins*, Biochem. J. **78** (1961) 246–253.
- [200] D. W. Smith, R. J. P. Williams, *The spectra of ferric haems and haemoproteins*, Structure and Bonding **7** (1970) 1–45.
- [201] S. R. Bolsover, E. A. Shephard, H. A. White, J. S. Hyams, *Cell biology: A short course, 3rd edition*, Chichester: Wiley-Blackwell 2011.
- [202] J. R. Platt, *Electronic structure and excitation of polyenes and porphyrins*, in: *Radiation Biology*, (ed.) A. Hollaender, New York: McGraw-Hill **3** (1956) 71–123.
- [203] M. Gouterman, *Spectra of porphyrins*, J. Mol. Spectr. **6** (1961) 138–163.
- [204] M. Zerner, M. Gouterman, *Porphyrins. Extended Hückel calculations on transition metal complexes*, Theoret. Chim. Acta **4** (1966) 44–63.
- [205] Y. K. Choe, T. Hashimoto, H. Nakano, K. Hirao, *Theoretical study of the electronic ground state of iron(II)porphine*, Chem. Phys. Lett. **295** (1998) 380–388.
- [206] Y. K. Choe, T. Nakajima, K. Hirao, *Theoretical study of the electronic ground state of iron(II)porphine II*, J. Chem. Phys. **111** (1999) 3837–3845.
- [207] A. Gosh, B. J. Persson, P. T. Taylor, *Ab initio multiconfiguration reference perturbation theory calculation on the energetics of low-energy spin state of iron(III)porphyrins*, J. Biol. Inorg. Chem. **8** (2003) 507–511.

- [208] E. J. Baerends, G. Ricciardi, A. Rosa, S. J. A. van Gisbergen, *A DFT/TDDFT interpretation of the ground and excited states of porphyrin and porphyrazine complexes*, *Coord. Chem. Rev.* **230** (2002) 5–27.
- [209] E. A. Berry, F. A. Walker, *Bis-histidine-coordinated hemes in four-helix bundles: how the geometry of the bundle controls the axial imidazole plane orientations in transmembrane cytochromes of mitochondrial complexes II and III and related proteins*, *J. Biol. Inorg. Chem.* **13** (2008) 481–498.
- [210] A. V. Astashkin, F. A. Walker, *Determination of the principal g-values of type I or highly-anisotropic low spin (HALS) ferriheme centers in frozen solutions*, *J. Magn. Reson.* **231** (2013) 15–21.
- [211] J. Sadlej, *Pólempiryczne metody chemii kwantowej CNDO, INDO, NDDO*, Warszawa: PWN 1988.
- [212] W. Koch, M. C. Holthausen, *A chemist's guide to density functional theory*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH 2001.
- [213] R. M. Dreisler, E. K. Gross, *Density Functional Theory: An approach to the quantum many body problem*, Berlin: Springer-Verlag 1990.
- [214] R. Hoffman, W. N. Lipscomb, *Boron hydrides. LCAO MO and resonance studies*, *J. Phys. Chem.* **37** (1962) 2872–2883.
- [215] M. Guterman, *Study of the effect of substitution on the absorption spectra of porphyrin*, *J. Phys. Chem.* **30** (1959) 1139–1160.
- [216] H. C. Longuet-Higgins, C. W. Rector, J. R. Platt, *Molecular orbital calculations on porphine and tetrahydroporphine*, *J. Phys. Chem.* **18** (1950) 1174–1181.
- [217] M. Guterman, G. H. Wagnière, *Spectra of porphyrins. Part II. Four orbital model*, *J. Mol. Spectr.* **11** (1963) 108–127.
- [218] R. Hoffmann, *An extended Hückel theory. I. Hydrocarbons*, *J. Phys. Chem.* **39** (1963) 1397–1412.
- [219] E. B. Moore, Jr. and Ch. M. Carlson, *Calculation of the properties of solids by the extended Hückel theory*, *Phys. Rev. B* **4** (1971) 2063–2066.
- [220] J. S. Gómes-Jeria, *The limits of the extended Hückel theory to calculate the total density of states of medium-sized molecules*, *J. Chil. Chem. Soc.* **51** (2006) 1061–1064.
- [221] M. Wolfsberg, L. Helmholz, *The spectra and electronic structure of the tetrahedral ions MnO_4^- , CrO_4^{--} , and ClO_4^-* , *J. Chem. Phys.* **20** (1952) 837–843.
- [222] M. Zerner, M. Guterman, H. Kobayashi, *VIII. Extended Hückel calculation on iron complexes*, *Theoret. Chim. Acta* **6** (1966) 363–400.
- [223] H. Kishiwagi, S. Obara, *Ab initio orbital calculation of Fe-porphine with a double zeta basis set*, *Int. J. Quantum Chem.* **20** (1981) 843–859.
- [224] A. Dedieu, M. M. Rohmer, A. Veillard, *Ab initio calculation of metaloporphyrins*, *Adv. Quantum Chem.* **16** (1982) 43–95.
- [225] W. D. Edwards, B. Weiner, M. C. Zerner, *Electronic structure and spectra of various spin states of (porphinato)iron(III) chloride*, *J. Phys. Chem.* **92** (1988) 6188–6197.
- [226] W. D. Edwards, B. Weiner, M. C. Zerner, *On the low-lying states and electronic spectroscopy of iron(II) porphine*, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 2196–2204.
- [227] R. J. Cheng, P. Y. Chen, *Bonding characteristics mediate by Saddle-Shaped porphyrin derofmation: A theoretical approach to the control of spin state of iron(III) porphyrins*, *Chem. Eur. J.* **5** (1999) 1708–1715.
- [228] V. Bach, M. Loss, J. P. Solovej, *There are no unfilled shells in unrestricted Hartree–Fock theory*, *Phys. Rev. Lett.* **72** (1994) 2981–2983.
- [229] K. I. Ramacharidran, G. Deepa, K. Namboori, *Computational chemistry and molecular modeling*, Berlin–Heidelberg: Springer-Verlag 2008.

- [230] A. D. Becke, *A new mixing of Hartree–Fock and local density functional theories*, J. Phys. Chem. **98** (1993) 1372.
- [231] L. Piela, *Idee chemii kwantowej*, Warszawa: PWN 2006.
- [232] N. G. Handy, *Density Functional Theory*, in: *European summerschool in quantum chemistry. Vol. II*, (ed.) B. O. Roos, P. O. Widmark, Lund Universitet 2003, s. 506–547.
- [233] J. N. Harvey, *On the accuracy of density functional theory in transition metal chemistry*, Annu. Rep. Prog. Chem., Sect C: Phys. Chem. **102** (2006) 203–226.
- [234] I. Štich, M. Mihalkovič, M. Krajči, *Počítačové modelovanie materialov na nanoškale*, Čs. čas. fyz. **58** (2008) 364–379.
- [235] R. F. Nalewajski, *Podstawy i metody chemii kwantowej*, Warszawa: PWN 2001.
- [236] P. Hohenberg, W. Kohn, *Inhomogeneous electron gas*, Phys. Rev. B **136** (1964) 864–871.
- [237] E. S. Kryachko, *Hohenberg–Kohn theorem*, Int. J. Quantum Chem. **18** (1980) 1029–1035.
- [238] P. Geerlings, F. de Proft, W. Langenaeker, *Conceptual density functional theory*, Chem. Rev. **103** (2003) 1793–1873.
- [239] R. G. Parr, W. Yang, *Density functional theory of atoms and molecules*, New York: Oxford University Press 1989.
- [240] R. O. Jones, O. Gunnarsson, *The density functional formalism. Its applications and prospects*, Rev. Mod. Phys. **61** (1989) 689–745.
- [241] T. Ziegler, *Approximate density theory as a practical tool on molecular energetics and dynamics*, Chem. Rev. **91** (1991) 651–667.
- [242] W. Kohn, J. Sham, *Self-consistent equations including exchange and correlation effect*, Phys. Rev. **140** (1965) A1133–A1138.
- [243] P. W. Kozłowski, T. G. Spiro, A. B. Zgierski, M. Z. Zgierski, *Low-lying spin stat of iron(II) porphine*, J. Phys. Chem. B **102** (1998) 2603–2608.
- [244] A. D. Becke, *Density – functional exchange – energy approximation with correct asymptotic behavior*, Phys. Rev. A **38** (1988) 3098–3100.
- [245] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Development of the Colle–Salvetti correlation – energy formula into a functional of the electron density*, Phys. Rev. B **37** (1988) 785–789.
- [246] N. Matsuzawa, M. Ata, D. A. Dixon, *Density functional theory prediction of the second – order hyperpolarizability of metalloporphyrines*, J. Phys. Chem. **99** (1995) 7698–7706.
- [247] A. D. Becke, *Density – functional thermochemistry. III. The role of exact exchange*, J. Phys. Chem. **98** (1993) 5648–5652.
- [248] J. C. Rovira, K. Kunc, J. Hutter, P. Ballone, M. Parrinello, *Equilibrium geometries and electronic structure of iron-porphyrin complexes: A density functional study*, J. Phys. Chem. A **101** (1997) 8914–8925.
- [249] J. P. Perdew, *Density – functional approximation for the correlation energy of the inhomogeneous electron gas*, Phys. Rev. B **33** (1986) 8822–8824.
- [250] A. D. Becke, *Density functional calculations of molecular bond energies*, J. Phys. Chem. **84** (1986) 4524–4529.
- [251] R. Car, M. Parrinello, *Unified approach for molecular dynamics and density functional theory*, Phys. Rev. **55** (1985) 2471–2474.
- [252] S. Amira, D. spangberg, V. Zelin, M. Probst, *Car-Parrinello molecular dynamics simulation of Fe 3+(aq)*, J. Phys. Chem. **109** (2005) 14235–14242.
- [253] A. Ghosh, T. Vangberg, E. Gonzalez, P. Taylor, *Molecular structure and electron distribution of Higher–Valent iron and manganese porphyrins. Density functional theory calculations and some preliminary open-shell Coupled–Cluster result*, J. Porphyrin Phthalocyanines **5** (2001) 345–356.

- [254] M. S. Liao, S. Scheiner, *Comparative study of metal-porphyrins, -porphyrazines and -phthalocyanines*, J. Comput. Chem. **23** (2002) 1391–1403.
- [255] E. van Lenthe, E. J. Baerends, J. G. Snijders, *Relativistic total energy using regular approximations*, J. Phys. Chem. **101** (1994) 9783–9792.
- [256] M. S. Liao, S. Scheiner, *Relativistic effects in iron-, ruthenium-, and osmium porphyrins*, Chem. Phys. **208** (2002) 195–206.
- [257] K. A. Nguyen, P. N. Day, R. Pachter, *Effect of halogenation on the ionized and excited states of free-base and zinc porphyrins*, J. Phys. Chem. **110** (1999) 9135–9144.
- [258] K. A. Nguyen, R. Pachter, *Ground state electronic structures and spectra of zinc complexes of porphyrin, tetraazaporphyrin, tetrabenzoporphyrin, and phthalocyanine: A density functional theory study*, J. Phys. Chem. **114** (2001) 10757–10767.
- [259] S. Vancoillie, H. Zhao, M. Radoń, K. Pierloot, *Performance of CASPT2 and DFT for relative spin – state energetic of heme models*, J. Chem. Theory Comput. **6** (2010) 576–582.
- [260] M. Radoń, *Spin-state energetics of heme-related models from DFT and coupled cluster calculations*, J. Chem. Theory Comput. **10** (2014) 2306–2321.
- [261] D. A. Scherlis, D. A. Estrin, *Structure and spin-state energetic of an iron porphyrin model: an assessment of theoretical methods*, Int. J. Quantum Chem. **87** (2002) 158–166.
- [262] M. Radoń, E. Broclawik, *Electronic properties of iron sites and their active forms in porphyrin – type architectures*, in: *Computational methods to study the structure and dynamics of biomolecules and biomolecular processes – from bioinformatics to molecular quantum mechanics*, (ed.) A. Liwo, Berlin–Heidelberg: Springer-Verlag 2014, s. 711–782.
- [263] Md. E. Ali, B. Sanyal, P. M. Oppeneer, *Electronic structure, spin – states, and spin – crossover reaction of heme – related Fe-porphyrins: a theoretical perspective*, J. Phys. Chem. B **116** (2012) 5849–5859.
- [264] M. S. Liao, M. J. Huang, J. D. Watts, *Iron porphyrins with different imidazole ligands. A theoretical comparative study*, J. Phys. Chem. A, **35** (2010) 9554–9569.
- [265] A. S. Galstyan, S. D. Zarić, E. W. Knapp, *Computational studies on imidazole heme conformations*, J. Biol. Inorg. Chem. **10** (2005) 343–354.
- [266] V. Medaković, S. D. Zarić, *Theoretical study on orientations of axially coordinated imidazoles in model systems of cytochromes*, Inorg. Chim. Acta **349** (2003) 1–5.
- [267] D. M. Smith, M. Dupnis, E. R. Vorpapel, T. P. Straatsma, *Characterization of electronic structure and properties of a bis(histidine) heme model complex*, J. Am. Chem. Soc. **125** (2003) 2711–2717.
- [268] A. Ghosh, E. Gonzalez, T. Vangberg, *Theoretical studies of low-spin six-coordinate iron (III) porphyrins relevant to cytochromes b: Variable electronic configurations, ligand noninnocence, and macrocycle ruffling*, J. Chem. Phys. B **103** (1999) 1363–1367.
- [269] M. D. Liptak, X. Wen, K. L. Bren, *NMR and DFT investigation of heme ruffling: functional implications for cytochrome c*, J. Am. Chem. Soc. **132** (2010) 9753–9763.
- [270] G. Zoppellaro, K. L. Bren, A. A. Ensign, E. Harbitz, R. Kaur, H. P. Hersleth, U. Ryde, L. Hederstedt, K. K. Andersson, *Review: studies of ferric heme proteins with highly anisotropic/highly axial low spin ($S=1/2$) electron paramagnetic resonance signals with bis-histidine and histidine-methionine axial iron coordination*, Biopolymers **91** (2009) 1064–1082.

- [271] F. Neese, *Quantum chemical calculations of spectroscopic properties of metalloproteins and model compounds: EPR and Mössbauer properties, current opinion in chemical biology*, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **7** (2003) 125–135.
- [272] S. Ostrowski, *Porfiryryny syntetyczne – krótki przegląd przykładowych syntez i możliwości wykorzystania*, w: *Kierunki badawcze młodzieży akademickiej: nauki ścisłe*, pod red. K. Jankowskiego, J. Nowaczyk, Siedlce: Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, 2005, s. 7–13.
- [273] O. K. Medhi, J. Silver, *Mössbauer spectroscopic studies on the bis(histidine) adducts of (protoporphyrinato IX) iron (II)*, *Inorg. Chim. Acta* **168** (1990) 271–274.
- [274] Y. Nakota, K. Abe, H. Tsubomura, *Experimental determination of ionization potentials of tetraphenylporphine and metallotetraphenylporphines*, *Chem. Phys. Lett.* **39** (1976) 358–360.
- [275] J. G. Kleingardner, S. E. J. Bowman, K. L. Bren, *The influence of heme ruffling on spin densities in ferricytochromes c probed by heme core ¹³C NMR*, *Inorg. Chem.* **52** (2013) 12933–12946.
- [276] D. M. Collins, R. Countryman, J. L. Hoard, *Stereochemistry of low-spin iron porphyrins. I. bis(imizalole) – α, β, γ, δ – tetraphenylporphinatoiron(III) chloride*, *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972) 2066–2072.
- [277] R. A. Brandt, *Improving the validity of hyperfine field distribution from magnetic alloys: part I: unpolarized source*, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B* **28** (1987) 398–416.
- [278] G. te Velde, E. J. Baerends, *Numerical Integration for Polyatomic Systems*, *J. Comp. Phys.* **99** (1992) 84–98.
- [279] M. Laskowska, *Charakterystyka spektroskopowa i własności magnetyczne krzemionki mezoporowatej SBA-15 aktywowanej metalami*, praca doktorska, Częstochowa 2015.
- [280] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, Chichester: John Wiley & Sons 1999.
- [281] P. Hu, D. A. King, S. Crampin, M. H. Lee, M. C. Payne, *Gradient corection in Density Function Theory calculations for surfaces: CO on Pd (110)*, *Chem. Phys. Lett.* **230** (1994) 501–506.
- [282] N. C. Handy, A. J. Cohen, *Left-right correlation energy*, *Mol. Phys.* **99** (2001) 403–412.
- [283] W. R. Scheidt, Y. J. Lee, *Recent advances in the stereochemistry of metallotetrapyrroles*, *Structure and Bonding* **64** (1987) 1–70.
- [284] D. Xia, C. A. Yu, H. Kim, J. Z. Xia, A. M. Kachurin, L. Zhang, L. Yu, J. Deisenhofer, *Crystal structure of the cytochrome bc₁ complex from bovine heart mitochondria*, *Science* **277** (1997) 60–66.
- [285] S. Iwata, J. W. Lee, K. Okada, J. K. Lee, M. Iwata, B. Rasmussen, T. A. Link, S. Ramaswamy, B. K. Jap, *Complete structure of the II-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc₁ complex*, *Science* **281** (1998) 64–71.
- [286] Z. Zhang, L. Huang, V. M. Shulmeister, Y. I. Chi, K. K. Kim, L. W. Hung, A. R. Crofts, E. A. Berry, S. H. Kim, *Electron transfer by domain movement in cytochrome bc₁*, *Nature* **392** (1998) 677–684.
- [287] E. A. Berry, L. S. Huang, Z. Zhang, S. H. Kim, *Structure of the avian mitochondrial cytochrome bc₁ complex*, *J. Bioenerg. Biomembr.* **31** (1999) 177–190.
- [288] C. Hunte, J. Koepke, C. Lange, T. Rossmann, H. Michel, *Structure at 2,3 Å resolution of the cytochrome bc₁ complex from the yeast *saccharomyces cerevisiae* co-crystallized with an antibody Fv fragment*, *Structure* **8** (2000) 669–684.

- [289] R. J. Cheng, P. Y. Chen, P. R. Gau, C. C. Chen, S. M. Peng, *Control of spin state by ring conformation of iron(III) porphyrins. A novel model for the quantum-mixed intermediate spin state of ferric cytochrome c' from photosynthetic bacteria*, *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 2563–2569.
- [290] R. Weiss, J. Fischer, V. Bulach, V. Schünemann, M. Gerdan, A. X. Trautwein, J. A. Shelnut, C. P. Gros, A. Tabard, R. Guillard, *Structure and mixed spin state of the chloroiron(III) complex of 2,3,7,8,12,13,17,18-octaphenyl-5,10,15,20-tetraphenylporphyrin Fe(dpp)Cl*, *Inorg. Chem. Acta* **337** (2002) 223–232.
- [291] B. J. Kennedy, G. Brain, K. S. Murray, *Chlorophthalocyanine iron(III). FePc(-2)Cl. A spin-admixed (S=3/2 / S=5/2) system*, *Inorg. Chem. Acta* **81** (1984) L29–L31.
- [292] M. M. Maltempo, T. H. Moss, *The spin 3/2 state and quantum spin mixtures in heme proteins*, *Quart. Rev. Bio.* **9** (1976) 181–215.
- [293] S. M. Palmer, J. L. Stanton, N. K. Jaggi, B. M. Hoffman, J. A. Ibers, L. H. Schwartz, *Preparation, structures, and physical properties of two products from the iodination of (phthalocyaninato)iron(II)*, *Inorg. Chem.* **24** (1985) 2040–2046.
- [294] J. R. Sams, T. B. Tsin, Mössbauer spectroscopy of iron porphyrins, in: *The Porphyrins Vol. IV*, (ed.) D. Dolphin, New York–London: Academic Press 1979, s. 425–475.
- [295] G. Simonneaux, A. Bondon, *Isocyanides and phosphines as axial ligands in heme proteins and iron porphyrin models*, in: *The Porphyrins Handbook. Vol. 5*, (ed.) K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard, Academic Press, New York 2000, s. 299–322.
- [296] V. I. Goldanskii, R. H. Herber, *Chemical applications of Mössbauer Spectroscopy*, Academic Press, New York-London, 1968.
- [297] T. Kaczmarzyk, T. Jackowski, K. Dziliński, G. N. Sinyakov, *Asymmetry in Mössbauer spectra of Fe(III)-azaporphyrin complexes*, *Nukleonika* **52** (2007) 93–98.
- [298] K. Dziliński, *Unusual linewidth in Mössbauer spectra of methoxy-Fe(III)-octaethylporphyrin complexes*, *Mol. Phys. Rep.* **30** (2000) 38–43.
- [299] P. Gülich, R. Link, A. Trantwein, *Mössbauer spectroscopy and transition metal chemistr*, Springer-Verlag, Berlin–New York, 1978.
- [300] W. R. Scheidt, S. R. Osvath, Y. Ja Lee, C. A. Reed, B. Shaevitz, G. P. Gupta, *Control of spin state in iron (III) porphyrinates. The admixed intermediate-spin case. Crystal structure, Mössbauer and susceptibility study of [Fe(OEP)(3,5-Cl₂py)₂]ClO₄*, *Inorg. Chem.* **28** (1989) 1591–1595.
- [301] M. Blume, *Magnetic relaxation and asymmetric quadrupole doublets in the Mössbauer effects*, *Phys. Rev. Lett.* **14** (1965) 96–98.
- [302] O. K. Medhi, J. Silver, *Mössbauer studies on cytochrome b models: bis ligated complexes of iron(III) protoporphyrinate IX with imidazole and substituted imidazoles*, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1990) 263–270.
- [303] I. Rutkowska, K. Dziliński, *An optimization problem in numerical analysis of some spectroscopic data*, Young Academy 2010, Abstracts, s. 112–113.
- [304] O. K. Medhi, J. Silver, *Models of cytochrome b: Mössbauer studies on bis-ligated complexes of (protoporphyrinato IX) iron (III) with histidine and its substituted derivatives*, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1990) 555–559.
- [305] K. Graham, *The synthesis and characterization of polymetallic transition metal complexes towards single-molecule magnets*, PhD, Glasgow 2009.
- [306] O. Kohn, *Molecular magnetism*, New York: VCH Publishers 1993.
- [307] A. Szewczyk, A. Wiśniewski, R. Puźniak, H. Szymczak, *Magnetyzm i nadprzewodnictwo*, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 2012.

- [308] M. Szota, *Nowe nadprzewodniki wysokotemperaturowe. Metody badań oraz technologie wytwarzania*, Monografie **16**, Częstochowa 2011.
- [309] J. Clarke, „SQUIDS” *Scientific American*, **271** (1994) 46–53.
- [310] A. Sukiennicki, A. Zagórski, *Fizyka ciała stałego*, Warszawa: Wydawnictwa Naukowo – Techniczne, 1984.
- [311] P. A. Tipler, R. A. Llewellyn, *Fizyka Współczesna*, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN 2012.
- [312] R. Gross, A. Marx, *Applied superconductivity Josephson effect and superconducting electronics*, Garching 2005.
- [313] A. Wójcik, *Właściwości strukturalne i magnetyczne niskotemperaturowych warstw ZnO i ZnMnO*, praca doktorska, Warszawa 2008.
- [314] M. Rams, *Coś niecoś o SQUID-ach*, *Foton* **78** (2002) 24–29.
- [315] V. Stsefanonovich, *Magnetyczne właściwości rozcieńczonych półprzewodników magnetycznych (Ga, Mn)As o orientacji podłoża (113)A oraz (Ga, Mn)N*, praca doktorska, Białystok 2010.
- [316] S. Tumański, *Czujniki pola magnetycznego – stan obecny i kierunki rozwoju*, *Przegląd Elektrotechniczny*, Warszawa: Sigma NOT, **2** (2004) 74–80.
- [317] Magnetic Property Measurement System. Hardware Reference Manual, Quantum Design, San Diego 1996.
- [318] B. Staliński, *Magnetochemia*, Warszawa: PWN 1966.
- [319] R. L. Carlin, *Magnetochemistry*, Springer-Verlag, Berlin 1986.
- [320] S. Mitra, *Magnetic susceptibility of iron porphyrins*, in: A. B. P. Lever, H. B. Gray (ed.), *Iron porphyrins. Part II*, Canada: Addison-Wesley Publishing Company 1983, s. 1–42.
- [321] K. M. Adams, P. G. Rasmussen, W. R. Scheidt, K. Hatano, *Structure and properties of an unsymmetrically substituted six-coordinate iron(III) porphyrin*, *Inorg. Chem.* **18** (1979) 1892–1899.
- [322] H. A. O. Hill, P. D. Skyte, J. W. Buchler, H. Lueken, M. Tonn, A. K. Gregson, G. Pellizer, *Magnetic properties of hemichrome salts [derivatives of iron (III) octaethylporphyrin complexes]: the presence of a 'spin-equilibrium'*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1979) 151–152.
- [323] R. Skomski, *Simple models of magnetism*, Oxford University Press, 2008.