

VESZPRÉMI EGYETEM



A 2-METIL-3-HIDROXI-4(1*H*)-OXOKINOLIN 2,3-DIOXIGENÁZ ENZIM FUNKCIONÁLIS ENZIMMODELL RENDSZEREINEK VIZSGÁLATA

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Készítette:

CZAUN MIKLÓS

okleveles vegyészmérnök

Témavezető:

Dr. SPEIER GÁBOR

egyetemi tanár

Veszprémi Egyetem Kémia Doktori Iskola

Szerves Kémia Program

Szerves Kémia Tanszék

Veszprém

2003

**A 2-METIL-3-HIDROXI-4(1H)-OXOKINOLIN 2,3-DIOXIGENÁZ ENZIM
FUNKCIONÁLIS ENZIMMODELL RENDSZEREINEK VIZSGÁLATA**
Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:

Czaun Miklós okleveles vegyészmérnök

Készült a Veszprémi Egyetem Kémia Doktori Iskolájának keretében.

Témavezető: Dr. Speier Gábor egyetemi tanár

Elfogadásra javasolom (igen / nem)

.....
(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton %-ot ért el.

Veszprém,

.....
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javasolom:

Bíráló neve: igen / nem

.....
(aláírás)

Bíráló neve: igen / nem

.....
(aláírás)

Bíráló neve: igen / nem

.....
(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Veszprém,

.....
a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése

.....
az EDT elnöke

Kivonat

A 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz enzim funkcionális enzimmodell rendszereinek vizsgálata

Írta: Czaun Miklós, MTA-VE Petrolkémiai Kutatócsoport

Témavezető: Dr. Speier Gábor, Veszprémi Egyetem, Szerves Kémia Tanszék

A dolgozatban bemutatásra kerülő kutatómunka célja a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz enzim szerepének tisztázása a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin oxidatív gyűrűbontási reakciójában. A rendelkezésre álló szakirodalmi adatok alapján feltételeztem, hogy az enzim legfontosabb szerepe a szubsztrátum deprotonálása, így a kísérletek során bázissal aktiváltam a modellszubsztrátumokat. Elvégeztem néhány 4-kinolonszármazék autoxidációjának kinetikai vizsgálatát és azonosítottam a termékeket, valamint az átmenetileg keletkező intermediereket. Megállapítottam, hogy az autoxidáció kétféle mechanizmus szerint játszódhat le: endoperoxid- és 1,2-dioxetán intermediereken keresztül. A termékegy összetételéből az egyes reakcióutak aránya kiszámítható. A protonos és aprotinos közegben végrehajtott kinetikai mérések során meghatároztam az egyes reakciópartnerek részrendjét és javaslatot tettem az autoxidáció mechanizmusára. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin és mangán-dioxid reakciójában szabad gyökök nem keletkeznek, a reakció termékeinek, valamint a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin szerkezetét röntgendiffrakcióval meghatároztam. Előállítottam a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin egymagvú és hárommagvú rézkomplexeit és a szerkezetüket spektroszkópiai és röntgendiffrakciós módszerrel állapítottam meg.

Abstract

Investigation on functional models of 2-methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline 2,3-dioxygenase

Written by: Miklós Czaun, Hungarian Academy of Sciences, Research Group for Petrochemistry

Supervisor: Prof. Gábor Speier, University of Veszprém, Department of Organic Chemistry

The aim of the presented work was to get insight into the role of 2-methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline 2,3-dioxygenase in ring scission reaction of 2-methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline. We supposed that the role of the enzyme is to deprotonate 2-methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline which is susceptible to the reaction with dioxygen. Products and reactive intermediates in oxygenation of some 4-quinolone derivatives were characterized and reaction pathways via 1,2-dioxetane and via endoperoxide were proposed. The rate equations of autoxidation of 2-phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline were determined in protic and aprotic solvents. On the basis of the kinetic results possible mechanisms of the autoxidation were suggested. By carrying out reaction of 2-phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline with manganese dioxide no free radicals could be detected. A bis(2-phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinolinato)copper(II) complex was prepared from copper and 2-phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxoquinoline, while in the presence of triphenylphosphine a trinuclear copper(I)-copper(II) complex was formed. Both structures were established by X-ray diffraction and spectroscopic methods.

Zusammenfassung

Studien über funktionelle Modellsysteme Enzymes 2-Methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxochinolin
2,3-dioxygenase

Ausgeführt von: Miklós Czaun, Forschungsgruppe für Petrochemie der
Ungarischen Academie der Wissenschaften, Universität
Veszprém

Unter der Leitung von: Dr. Gábor Speier, Universität Veszprém, Lehrstuhl für
Organische Chemie

Das Ziel der in der Dissertation vorgeführten Forschungsarbeit war die Ermittlung der Rolle des Enzymes 2-Methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxochinolin 2,3-dioxygenase in der oxidativen Ringspaltungsreaktion von 2-Methyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxochinolin. Aufgrund der verfügbaren Fachliteraturangaben nahm ich an, dass die wichtigste Rolle des Enzyms die Deprotonierung des Substrats ist, so habe ich während der Modellversuche das Enzym mit Basis aktiviert. Aus dem Grunde habe ich kinetische Untersuchungen der Autoxidation einiger 4-Chinolonderivate durchgeführt, die Produkte und die vorübergehend entstehende Intermediere identifiziert. Es konnte festgestellt werden, dass sich die Autoxidation nach zwei möglichen Mechanismen abläuft: des Eine über Endoperoxyd- und der andere über 1,2-dioxetan Intermedieren. Aus der Zusammensetzung der Produkten war das Verhältnis der einzelnen Reaktionswege auszurechnen. Von der in protischen und aprotischen Lösungsmitteln durchgeführten kinetischen Messungen wurden die Geschwindigkeitsgleichungen festgestellt Vorschläge zum Mechanismus der Autoxidation gemacht. In der Reaktion von 2-Phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxochinolin und Mangan-dioxid entstanden keine freie Radikale. Die Struktur der Reaktionsprodukte und des 2-Phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxochinolins wurde mit Röntgendiffraktometrie bestimmt. Zwei Kupferkomplexe von 2-Phenyl-3-hydroxy-4(1*H*)-oxochinolin wurden hergestellt und ihre Strukturen mit spektroskopischer und diffraktometrischer Methode festgestellt.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőmnek Dr. Speier Gábor egyetemi tanárnak, hogy munkámat hasznos tanácsaival és észrevételeivel támogatta. Köszönettel tartozom Dr. Rockenbauer Antalnak és Dr. Korecz Lászlónak (MTA Kémiai Kutatóközpont) az ESR spektrumok felvételében és azok értékelésében nyújtott segítségért, Dr. Párkányi Lászlónak (MTA Kémiai Kutatóközpont) a röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatokért. Szeretném megköszönni Dr. Ungváry Ferencnek, az MTA-VE Petrolkémiai Kutatócsoport vezetőjének, hogy a dolgozat elkészítéséhez szükséges idő alatt helyet biztosított számomra a Kutatócsoportban. Köszönet illeti meg a Veszprémi Egyetem Szerves Kémia Tanszékének és az MTA-VE Petrolkémiai Kutatócsoportjának mindazon dolgozóit akik munkámat segítették. Külön köszönet illeti meg Szüleimet, akik hitükkel mindvégig támogattak a dolgozat elkészítésében.

Czaun Miklós

A dolgozatban használt rövidítések:

MeQDO:	3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolin 2,4-dioxigenáz
HQDO:	3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinaldin 2,4-dioxigenáz
ARD:	aci-redukton-dioxigenáz
SOD:	szuperoxid dizmutáz
DMF:	<i>N,N</i> -dimetil-formamid
DMSO:	dimetil-szulfoxid
THF:	tetrahidro-furán
PhQuinH ₂ :	2-fenil-3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolin
PhQuinH ⁻ :	a 2-fenil-3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolinból az OH-csoport deprotonálásával származtatható anion
PhQuinH ²⁻ :	a 2-fenil-3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolinból az OH- és NH-csoportok deprotonálásával származtatható anion
MePhQuinH:	<i>N</i> -metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolin
MePhQuin ⁻ :	az <i>N</i> -metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolinból az OH-csoport deprotonálásával származtatható anion
PhQuinHLi:	A 2-fenil-3-hidroxi-4(1 <i>H</i>)-oxokinolin Li sója
indH:	1,3-bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin
TEMPO:	2,2,6,6-tetrametil-piperidinil-oxyl
4-POBN:	α-(4-piridil-1-oxid)- <i>N-terc</i> -butironitron
NtB:	2-metil-2-nitrozo-propán
NBT:	nitroblue-tetrazolinum
SET:	egy elektron átmenettel járó elemi lépés
FlaH:	3-hidroxi-flavon

1. BEVEZETÉS

Az aromás vegyületek mikrobiológiai átalakításának tanulmányozása éppen olyan nagy jelentőséggel bír a biológiával, biokémiával, szerves kémiával, mint az orvoslással vagy a környezetvédelemmel foglalkozó szakemberek számára. Nehéz volna szám szerint megmondani, hogy hány, biokémiai szempontból fontos molekulának ismerjük pontosan a bioszintézisét vagy lebontását napjainkban. Az elkövetkezendő évtizedek kutatói mégis komoly kihívásokra számíthatnak, mivel a gyógyszeripar és a hulladékok ártalmatlanításával foglalkozó iparágak is egyre nagyobb felvevőpiacai lesznek ezen ismereteknek.

A XXI. század emberének rendelkezésére állnak a számára fontos vegyületek szintézisére szolgáló ipari és laboratóriumi eljárások, azonban számos esetben magas hőmérsékletre és nyomásra, a neutrálistól eltérő pH-ra, valamint költséges katalizátorokra van szükség. Ezzel szemben a biológiai rendszerekben működő katalizátorok - az enzimek - segítségével lejátszódó reakciók viszonylag enyhe körülmények között is végbemennek, néha az előbb említett módszereket felülmúló kemo-, regio- és sztereoszelektivitással.

Az emberi szervezetben lejátszódó kémiai átalakulásokat is nagyszámú enzim katalizálja. Bármelyik rendellenes működése súlyos betegségek kialakulásához vezethet (pl. Tay-Sachs-szindróma), így a szerepük pontos ismerete elengedhetetlenül fontos a terápia kidolgozásában.

Nem véletlen tehát, hogy az enzimek kutatása egyre nagyobb figyelmet kap korunk tudományában. Az enzimek tiszta formában való kinyerése nagy molekulatömegüknél fogva nehéz feladat, és még ritkábban van lehetőségünk arra, hogy a szilárd kristályos enzim szerkezetét röntgendiffrakcióval meghatározzuk. Természetesen oldatban elvégezhető anyagvizsgálati módszerek (EXAFS, NMR, ESR) is rendelkezésre állnak, amelyeknek gyors fejlődése kikövezte az utat az aktív centrumok szerkezetének vizsgálata előtt.

Amennyiben az enzim tiszta formában előállítható akkor is célszerű úgynevezett bioutánzó modell rendszereket kidolgozni az enzimkatalízis mechanizmusának megértéséhez. A modellek szerkezetüket és/vagy működésüket tekintve hasonlítanak a biokémiai folyamatokban résztvevő enzimekhez.

A 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz enzim röntgenszerkezete nem ismeretes. Működésére többféle elképzelés található a szakirodalomban, melyek a mai napig is tudományos vita tárgyát képezik. Enzimmodell vizsgálatokat ezidáig nem végeztek.

Dolgozatomban a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz enzim működésének megértését szolgáló funkcionális modellek vizsgálata során elért eredményeket mutatom be.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A kinolinszármazékok környezetünkben

A kinolinok és egyéb N-heterociklikus gyűrűt tartalmazó vegyületek gyakran előforduló szennyezői környezetünknek, többek között szén elgázosítása, fosszilis tüzelőanyagok feldolgozása, és kátrány előállítása során szabadulnak fel. Összehasonlítva egyéb azarénekekkel, amelyek a kőszénkátrányban és a nyersolajban találhatóak meg, a kinolinok vízoldhatósága viszonylag magas. Nem meglepő tehát, hogy nemcsak a városi levegőben és talajban, hanem a kőszénkátrány desztillálók és szeméttelpek közelében lévő talajvízben, sőt még halak szöveteiben is kimutathatóak. A nitrogén heteroatomot tartalmazó heterociklusos vegyületek általában nagyobb biológiai aktivitással bírnak, mint a homociklikus megfelelőik, ezért kimutatásuk a minket körülvevő környezetben különösen fontos. Állatkísérletek során kiderült, hogy a kinolin daganatos májbetegséget okozott egerekben és patkányokban, illetve a mutagén hatása is bizonyítható. Olyan N-heterociklikus aminokat is kimutattak főtt ételekből, aminosavak és fehérjék pirolizátumaiból, továbbá keratin, aminosavak és cukrok hevítése során keletkező termékekből, amelyek mutagén, illetve karcinogén hatást fejtenek ki a baktériumokra és egyes emlősállatokra.

Természetesen nemcsak káros anyagokat találhatunk a kinolinszármazékok között, hiszen a kinin alkaloidok több mint háromszáz éve ismertek terápiás hatásukról és még napjainkban is használják ezeket a hatóanyagokat malária elleni szerekben. A hidroxikinolinokat bőr és bélfertőzés kezelésére alkalmazzák. A 4-kinolonok fluorszármazékai jól ismertek baktériumölő hatásukról, többségében gram-pozitív patogének esetében. Ezen kívül hastífusz ellen is hatékony gyógyszernek bizonyultak. Mindemellett a kinolinvázat tartalmazó vegyületek megtalálhatóak a festékiparban, növényvédelemben, sőt még az élelmiszeriparban is (a kinolinsárgát Németországban E104 jelzésű élelmiszerfestékként hozzák forgalomba).

Tévedés volna azonban azt hinni, hogy kinolinszármazékok csak az emberi tevékenység révén kerülnek a környezetbe. Mára már több száz kinolinvázas alkaloid szerkezetét határozták meg és a papaverin, mint izokinolinvázas vegyület is jól ismert. A 4(1*H*)-oxokinolin-2-karbonsavat 1853-ban Liebig izolálta elsőként kutya vizeletéből, a 4(1*H*)-oxokinolint pedig Butenandt és munkatársai selyemhernyóból. Később kiderült, hogy mindkét vegyület a triptofán aminosav lebontása közben keletkezik [1].

Láthattuk, hogy kinolinszármazékok nagy számban vannak jelen környezetünkben, részben a természetes- és sajnálatos módon az antropogén emisszió következtében. Így nem véletlen, hogy a természetben kialakultak olyan lebontó mechanizmusok, amelyek feladata, hogy e vegyületeket kevésbé toxikus termékekké alakítsák át. Lingens és munkatársai olyan baktériumtörzseket különítettek el, amelyek kinolint vagy kinolinszármazékokat használnak fel szén- és energiaforrásként. Az egyes intermediereket elválasztották, karakterizálták és meglepő módon egy új dioxigenáz enzimet fedeztek fel (2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz, MeQDO), amely katalizálja a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin szén-szén kettőskötésének felbomlását szén-monoxid felszabadulása közben [2, 3].

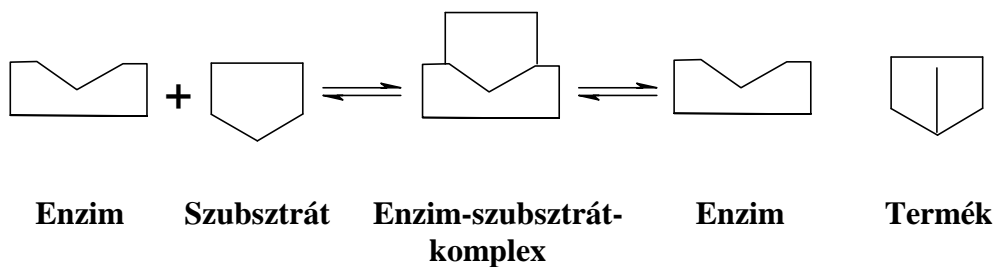
2.2. Az enzimekről általában

Az enzimek a biológiai rendszerekben megtalálható nagy molekulatömegű fehérjék, amelyek az ott lejátszódó reakciókat katalizálják. Minden enzimre jellemző a katalitikus képessége és a szelektivitása, ami azt jelenti, hogy csak bizonyos kémiai reakciók lejátszódását segíti elő, azt is csak igen specifikus körülmények (pl. pH, hőmérséklet) között.

Azt az anyagot (egyszerűbb vagy bonyolultabb összetételű molekulát), amelynek átalakulását az enzim katalizálja szubsztrátumnak nevezzük. Az enzimek molekulatömege $1,2 \times 10^4$ Dalton-tól 5×10^5 Dalton-ig változhat, míg a szubsztrátumok általában kisebb molekulatömegű anyagok ($M < 10^3$ Dalton) [4].

Az enzim-katalizálta reakció első lépése az enzim-szubsztrátum-komplex kialakulása, így a szubsztrátum aktivált állapotba kerül. A szubsztrátum az enzim egy adott részében az úgynevezett aktív centrumában kötődik meg, ahol a protein kavitást tartalmaz. A megvizsgált enzimek röntgendiffrakciós adataiból következik, hogy a kavitás az aminosavláncok aktív részeit, illetve más funkciós csoportokat (például fémiont) tartalmaz. A fém kofaktorok némely esetben a katalitikus folyamatokhoz nélkülözhetetlenek. Az enzim és a szubsztrátum közötti kötés erőssége viszonylag kicsi (12-50 kJ/mol), ami arra utal, hogy ezt a kölcsönhatást főleg másodlagos kötőerők (hidrogénkötés, dipólus-dipólus kölcsönhatás, hidrofób-kötés) alakítják ki. Az enzimekben az aktív helyek száma kevés, az esetek nagyobb többségében enzimmolekulánként csak egy található. Majdnem az összes enzim száznál több aminosavból épül fel. A fehérjemolekula legnagyobb része csak azt a célt szolgálja, hogy az aktív helyek kialakulhassanak, továbbá, hogy megfelelő legyen ezek körül az elektrosztatikus környezet.

Az aktív hely háromdimenziós, üregerű képződmény, amelyet sokszor egymástól - a lineáris sorrendben - igen távol álló aminosavak és oldalláncaik alakítanak ki. Miután az enzim-szubsztrátum-komplex kialakult, megtörténik a szubsztrátum kémiai átalakulása. A reakció lejátszódása után az enzim-szubsztrátum-komplex szétválik, a szubsztrátumból termék lesz, az enzim pedig szabad formába kerül, így képes ismét belépni a katalitikus ciklusba. Amennyiben az enzim a terméket erősen megköti, egy stabilis enzim-termék-komplex keletkezik, amely az enzim inaktívvá válását eredményezi. Az enzim általában királis molekula, így a szubsztrátumnak csak egyetlen enantiomerjével lép reakcióba, mert a nem megfelelő enantiomer nem kötődik meg az aktív helyen. Egy általános enzimreakciót a 1. ábra mutat be [5].



1. Ábra. Általános enzimreakció sematikus ábrázolása

A Nemzetközi Biokémiai Unió ajánlása szerint az enzimek a katalizált reakciók típusa szerint hat osztályba sorolhatók:

1. *Hidrolázok.* Ezek az enzimek a fehérjék, poliszacharidok, zsírok és foszfátok víz hatására történő átalakulását (hidrolízisét) segítik elő, vagyis hasítják a peptidkötést, a glikozidkötést, illetve az észterkötést. Ezen reakciók során nagyobb molekulákból kisebb molekulák jönnek létre.
2. *Oxidoreduktázok.* Az ebbe a csoportba sorolható enzimek a sejtekben lejátszódó redoxireakciókat katalizálják. E folyamatok során egy vagy több elektron vagy hidrogénatom átvitele történik meg az egyik molekuláról a másikra.
3. *Transzferázok.* Ezek az enzimek katalizálják egy meghatározott atomcsoportnak (pl. $-CH_3$, $-NH_2$, $-CH_2OH$, $-CHO$, $-CO_2H$, $-PO_4$) az átvitelét egyik molekuláról a másikra.

4. *Izomerázok.* Az enzimeknek ezen csoportja egy molekulán belüli átrendeződést katalizál. Például optikai izomerek kölcsönös átalakulását, aldózok átalakulását ketózokká és egyéb izomerációs vagy racemizációs folyamatokat segítenek elő.
5. *Liázok.* Az ebbe a csoportba tartozó enzimek nem hidrolitikus reakcióval a szubsztrátumok –C-C-, -C-O- és –C-S- kötéseit bontják fel, vagy létrehoznak ilyen kötéseket. Így pl. a dekarboxilázok a karboxilcsoportból szén-dioxidot hasítanak ki. Ha a szintézis irányába történik a katalitikus reakció, akkor szintetázoknak nevezzük őket.
6. *Ligázok.* Ezen enzimek két molekula összekapcsolódását katalizálják. Vannak C – O, C – N és C – C kötést kialakító ligázok [5].

2.2.1. Fémtartalmú enzimek

Az eddig ismert enzimek száma több mint 2000-re tehető, közel egyharmaduk tartalmaz fémiot vagy fémionokat, amelyek többféle funkciót is elláthatnak. A könnyebb áttekinthetőség kedvéért tárgyaljuk két csoportban ezen enzimeket: úgymint metalloenzimek és fémionok által aktivált enzimek.

A két csoport elemei képződési állandójuk alapján különböztethetők meg:

-metalloenzimek képződési állandója $\geq 10^8 \text{ M}^{-1}$

-fémion által aktivált enzimek képződési állandója $\leq 10^8 \text{ M}^{-1}$.

A metalloenzimekben a fémion az enzimmolekulába beépült alkotórész, a fémion és a fehérje sztöchiometrikus aránya egy meghatározott érték. A fémionok a fehérjemolekulának speciális helyein vannak megkötve. Fiziológias körülmények között a fémion nem szakad ki a metalloenzimből, ha azonban eltávolítjuk belőle, az enzim elveszti az aktivitását. Egyes rendszerek esetében a fémmentes fehérje (apoenzim) aktivitása az eredeti fémion hozzáadására visszaáll. Néhány ritka esettől eltekintve, más fémion hozzáadására az enzim nem aktiválható. A metalloenzimek gyakran tartalmaznak olyan fémeket, elsősorban vas(III)-at, réz(II)-t, cink(II)-t és mangán(III)-at, amelyek igen stabilis kelátkomplexeket képeznek. Az egyes reakciókhoz speciális fémek szükségesek, így a réz az oxidázokhoz, a cink többféle

dehidrogenázhoz és hidrolázhoz, a vas-protoporfirin pedig számos elektronátvivő enzimhez és oxigenázhoz szükséges.

A metalloenzimek aktív centrumában található fémion szerepe kétféle lehet:

- mint Lewis sav, a Lewis bázisként szereplő szubsztrátumot megkötve, ionos formában (a szubsztrátum töltésével ellenkező töltéssel) vesz részt a katalitikus folyamatban,

- redox centrumként, fém-ligandum elektronátmenet révén a szubsztrátum aktiválásával gyorsítja a katalitikus reakciót. Ez a szerep a réz- és vastartalmú metalloenzimek esetében igen fontos, mivel a fémionok főleg réz(I) és réz(II), valamint vas(II) és vas(III) formában lehetnek jelen, és a különböző oxidációs állapotú fémionok közötti elektronátmenet a fém-ligandum elektronátmenet velejárója.

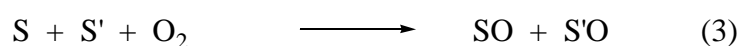
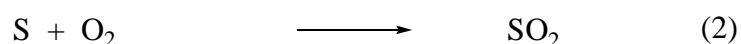
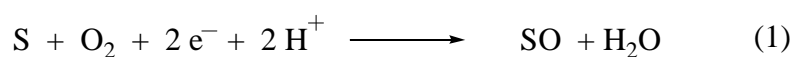
A fémionok által aktivált enzimekben a fémion ugyan lazán kötődik a fehérjéhez, de azért fontos szerepet játszik a teljes enzimaktivításban. Az ilyen enzimek esetében egyensúly áll fenn a fémion és az enzim között. Ennél az enzimcsoportnál a fémet egyszerű kémiai módszerekkel el lehet választani a fehérjétől anélkül, hogy a fémmentes fehérje aktivitását teljesen elvesztené.

Ezek az enzimek a fémionra nem annyira specifikusak, a fehérjespecifikusság azonban igen nagy. Fémion aktiválta enzimeket képező fémek közé tartozik a cink, a mangán, továbbá a magnézium, a kalcium, a nátrium és a kálium [5].

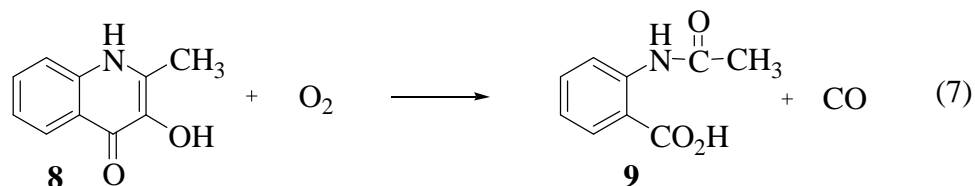
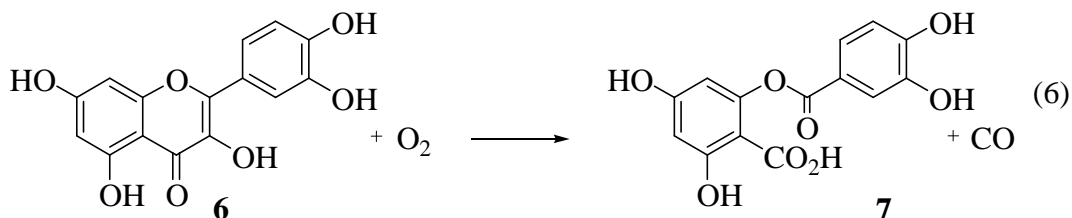
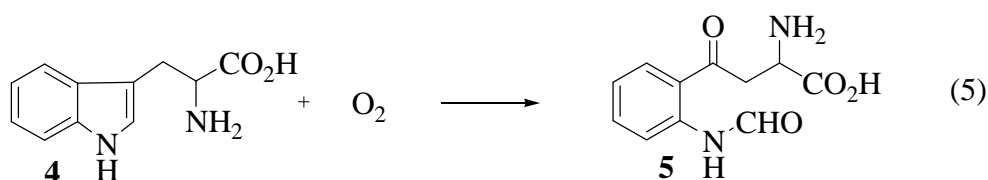
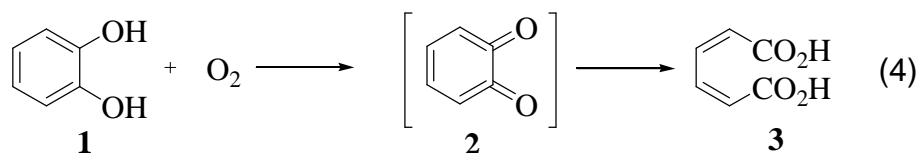
2.2.2. Az oxigenázok

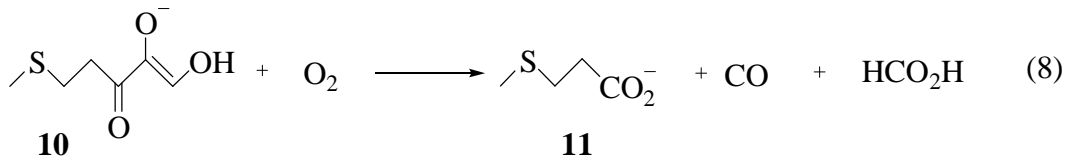
Az aerob mikroorganizmusok az oxigenázok gazdag forrásai, csaknem minden kristályosított oxigenáz mikrobiológiai eredetű [6]. Az oxigén az élethez alapvetően szükséges elem, ezért igen fontos, hogy megértsük a biológiában és a kémiában játszott szerepét. A tárgykörben végzett kutatások egyik feladata a különböző enzimek által aktivált molekulák és a dioxygen kölcsönhatásának felderítése.

Az oxigenázok két fajtája ismeretes: a monooxigenázok és dioxigenázok [7, 8]. Amint az (1-3) egyenletekben is látható, az előbbieket által katalizált reakciókban a dioxigén molekula egyik atomja a szubsztrátumba épül be, a másik vízzé alakul, míg a dioxigenázok reakcióiban a dioxigén mindkét atomja a szubsztrátumba (intramolekuláris dioxigenáz) vagy szubsztrátumokba (intermolekuláris dioxigenáz) épül be.



Az intramolekuláris dioxigenázok öt legfontosabb képviselője a pirokatechin 1,2-dioxigenáz (4) [9], a triptofán 2,3-dioxigenáz (5) [10], a kvercetin 2,3-dioxigenáz (6) [11], a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz (MeQDO) (7) [12], és az aci-redukton-dioxigenáz (ARD) (8) [13]. Az általuk katalizált folyamatok a (4-8) reakcióegyenletekkel írhatók le.

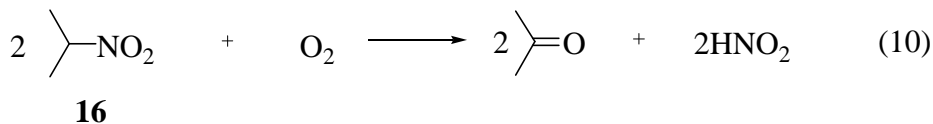
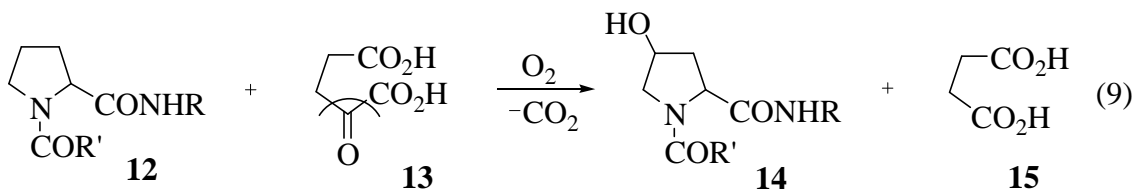




A legtöbb monooxygenáz tartalmaz fém kofaktort, ezért valószínű, hogy a dioxigén koordinációja a fém kofaktorhoz azért szükséges, mert az alapállapotú szingulett szubsztrátum és a triplett állapotú dioxigén reakciója spin tiltott.

A dioxigenázok esetében a dioxigén aktiválása kevésbé fontos, hiszen szubsztrátumaik már reaktívak a triplett dioxigénnel szemben. Dai által 2001-ben publikált eredmények szerint a kvercetin 2,3-dioxigenáz, az aci-redukton dioxigenáz és az MeQDO bázis által aktivált szubsztrátumai dioxigén jelenlétében azonos termékekké bomlanak le, mint az enzimatis folyamatban [13]. A disszertációm későbbi részében rá fogok mutatni, hogy az általam elért eredmények az MeQDO esetében megcáfolták ezt az állítást, az autoxidáció során az enzimatis úton nem keletkező terméket is kimutattam.

A (9, 10) reakcióegyenletek az intermolekuláris dioxigenázok csoportjába tartozó prolin-hidroxiláz [14] és a 2-nitro-propán dioxigenáz enzim [15] által katalizált enzimfolyamatokat írják le. Látható, hogy a dioxigén molekula egyes oxigén atomjai különböző szubsztrátumokba épülnek be.



A felsorolt enzimek közül csak az MeQDO és az aci-redukton-dioxigenáz nem metalloenzim, a többi kivétel nélkül tartalmaz rezet, vasat vagy mindkettőt az aktív centrumában [16, 17, 18].

Az enzimatis oxigénezés során az aktivált oxigén állapotok keletkezése és felépítése még nem teljesen tisztázott. A szubsztrátumok (szingulett spin állapotú) oxigénezése molekuláris oxigénnel (triplett spin állapotú) akkor történik meg, ha a dioxid vagy a szubsztrátum, vagy mindkettő aktiválva van. Az oxigénezési reakciókban ritkán tárgyalják a 2. ábrán látható szingulett oxigénállapotok részvételét.

A dioxid elektronállapotai és tulajdonságai az 1. táblázatban található [19].

1. Táblázat. A dioxid elektronállapotai és tulajdonságai

Elektronállapot	HOMO-ok	Relatív energia (kJ)	Élettartam (s) gáz-folyadékf.	Szerkezet
1S	↑ ↓	154,8	7,12 10^{-9}	↑O - O↓
1D	↑↓ –	92,0	3000 10^{-3}	O = O
3S	↑ ↑ $\pi^* x$ $\pi^* y$	0,0	∞ ∞	↑O - O↑



2. Ábra. A dioxidból származtatható molekulafajták

Az oxigénezési folyamatokban gyakran javasolnak szabad gyökök részvételével lejátszódó reakciómechanizmust. Erre példa a tirozin hidroxiláz [20] és a galaktóz oxidáz [21]. Meg kell azonban jegyezni, hogy az autoxidáció, mint szabad gyökös folyamat sztérikusan kontrollált reakciók esetén nem kedvező. Az aktivált szubsztrátum (alkil gyök) keletkezése és annak dioxidénnel való reakciója feltételezések szerint az enzim koordinációs övezetében játszódik le.

2.3. Az enzimmodellek

Gyakran az izolált enzim nehezen hozzáférhető, vagy nem áll rendelkezésre, ezért használunk előszeretettel az enzimreakció mechanizmusának megismerésére irányuló

kutatások során úgynevezett enzimmodelleket. Ha a tiszta enzim rendelkezésünkre áll és szerkezete pontosan ismert, akkor is nagy segítségünkre van az enzimmodellek vizsgálata a reakció mechanizmusának megértésében. Az enzimmodellek két nagy csoportra oszthatók: szerkezeti- és működési (funkcionális) modellekre.

A szerkezeti modellek az aktív centrum térbeli felépítésének megismerését segítik elő a modellek és az enzimek spektroszkópiai adatainak összehasonlításával. A modellek ligandumainak változtatásával egyre jobban meg lehet közelíteni az enzim felépítését, azonban a szerkezeti modellek gyakran túl stabilisak ahhoz, hogy katalitikus funkciót lássanak el.

A működési modelleknél a szerkezeti hasonlóság nem követelmény, csupán az, hogy a modell segítsen az enzimikus reakciók mechanizmusainak megértésében. Instabilis köztitermékek kimutatásával, kinetikai vizsgálatokkal néhány feltételezett mechanizmus írható fel, s ezek segítségünkre lehetnek mesterséges katalitikus folyamatok kifejlesztésében. Számos esetben nehéz feladat az enzimek aktivitását és főleg a szelektivitását elérni, mégsem lehetetlen, hogy az egyre hatékonyabb modellek segítségével megközelítsük vagy akár felül is múljunk az enzimek ezen tulajdonságait.

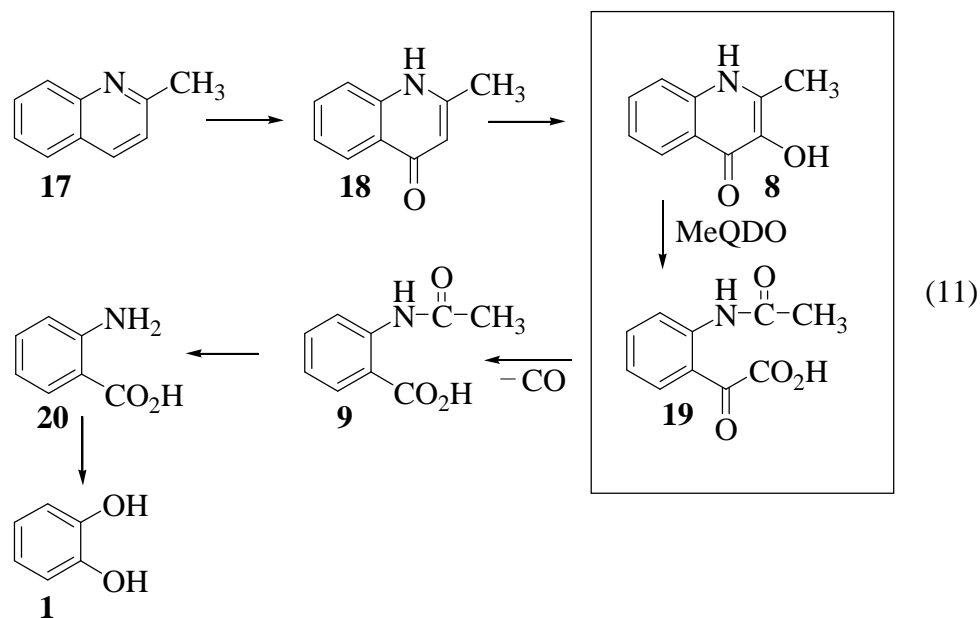
2.4. Kinolinszármazékok mikrobiológiai lebontása

Jelenleg négy különböző metabolikus útról találhatunk információkat a szakirodalomban, úgymint: antranilsavon (**20**), 5,6-dihidroxi-1*H*-2-oxoquinolinon (**30**) [22], 7,8-dihidroxi-1*H*-2-oxokinolinon (**37**) [23] és a 8-hidroxi-kumarinon (**45**) [24, 25] keresztül lejátszódó lebomlások.

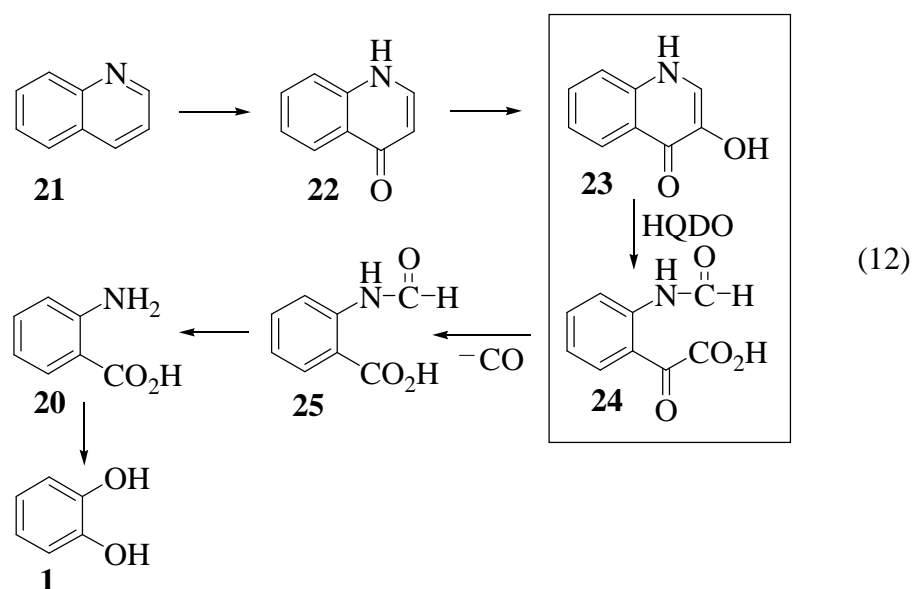
2.4.1. Lebontás antranilsavon keresztül [2, 3]

A kinaldin (2-metil-kinolin) (**17**) *Arthrobacter* sp. Rű61a segítségével (11) egyenlet szerint történő lebontása során a 4-es szénatom hidroxilálása után a 3-as szénatom monooxigénezése következik. Ezután a 1*H*-3-hidroxi-4-oxokinaldin (**8**) dioxi-génezése játszódik le a 2,3-as helyen. Ezt biokémiai viszonylatban egy meglehetősen szokatlan lépés követi, ugyanis szén-monoxid kihasadása közben *N*-acetyl-antranilsav (**9**) keletkezik. A **9**

hidrolízis terméke az antranilsav (**20**), pirokatechinen (**1**) vagy a Krebs-ciklus intermedierén, a 2-oxoadipáton keresztül bomlik le [2].

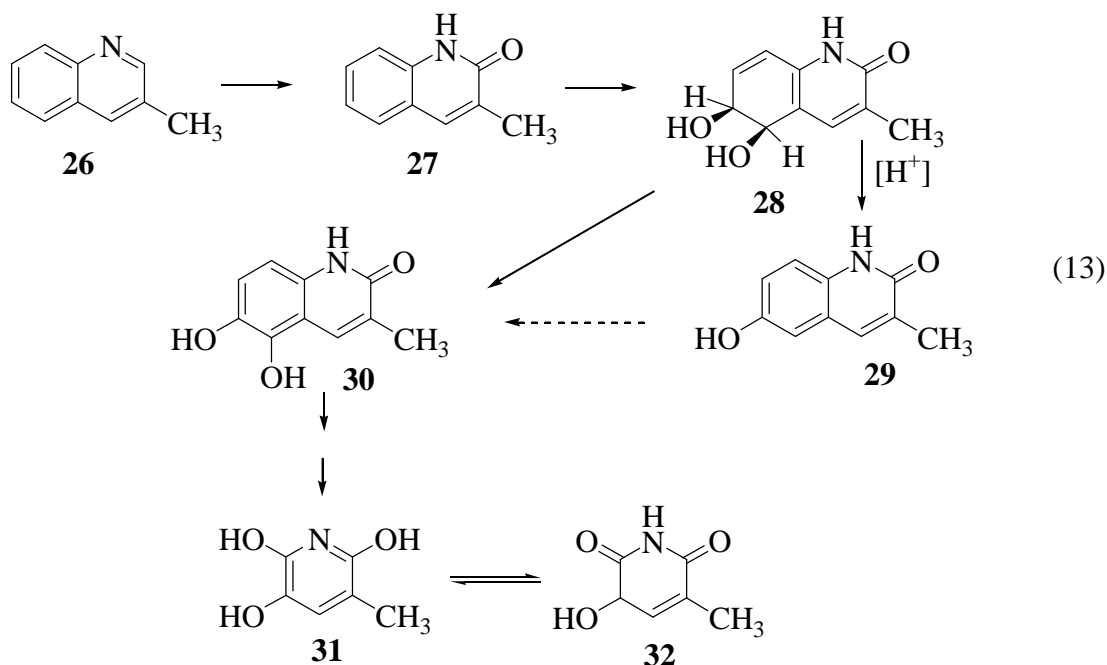


Ismert még emellett az 1*H*-4-oxokinolinra (**22**) vonatkozó, *Pseudomonas putida* 33/1 segítségével lejátszódó analóg lebontási folyamat (ld. (12) egyenlet). Összefoglalva megállapítható, hogy ezen a lebontási úton a kinolinszármazékok heteroatomot tartalmazó gyűrűje és nem a kondenzált benzol-gyűrű hasad fel [3].



2.4.2. Lebontás 5,6-dihidroxi-1*H*-3-metil-2-oxokinolinon (30) keresztül

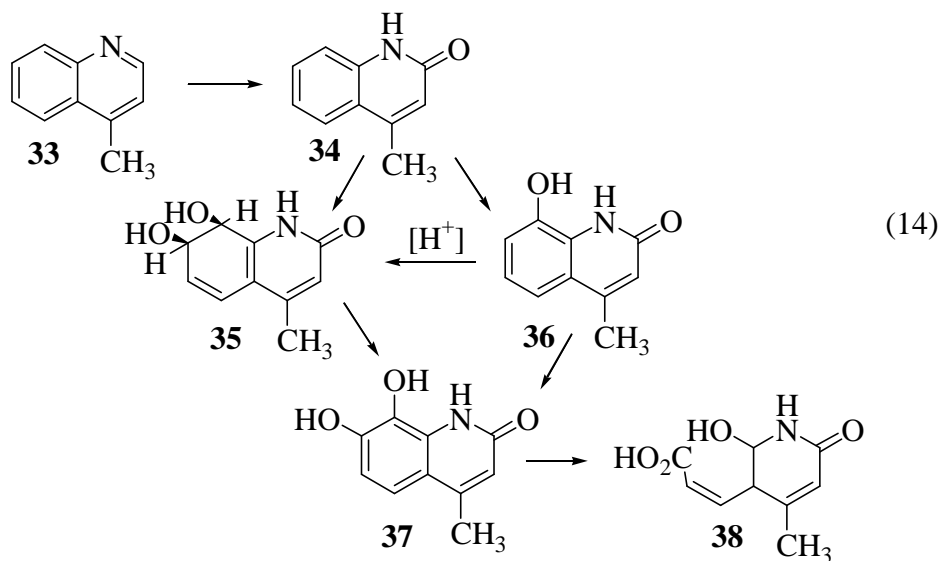
A 3-metil-kinolint (26) a *Comamonas testosteroni* 63 bontja le 5,6-dihidroxi-1*H*-3-metil-2-oxokinolinon (30) keresztül, amelyből a benzolgyűrű felnyitása után 3-metil-2,5,6-trihidroxi-piridin (31) keletkezik (13) egyenletnek megfelelően.



A 30 aromás *o*-dihidroxi-származék a 28 dihidrodiolekből keletkezik, amelynek kialakulását egy dioxigenáz enzim katalizálja. A hidrogénatomok eliminációjában egy dehidrogenáz enzim vesz részt, vagy egy másik feltételezés szerint két, monooxigenáz enzim által katalizált reakcióban képződik [22].

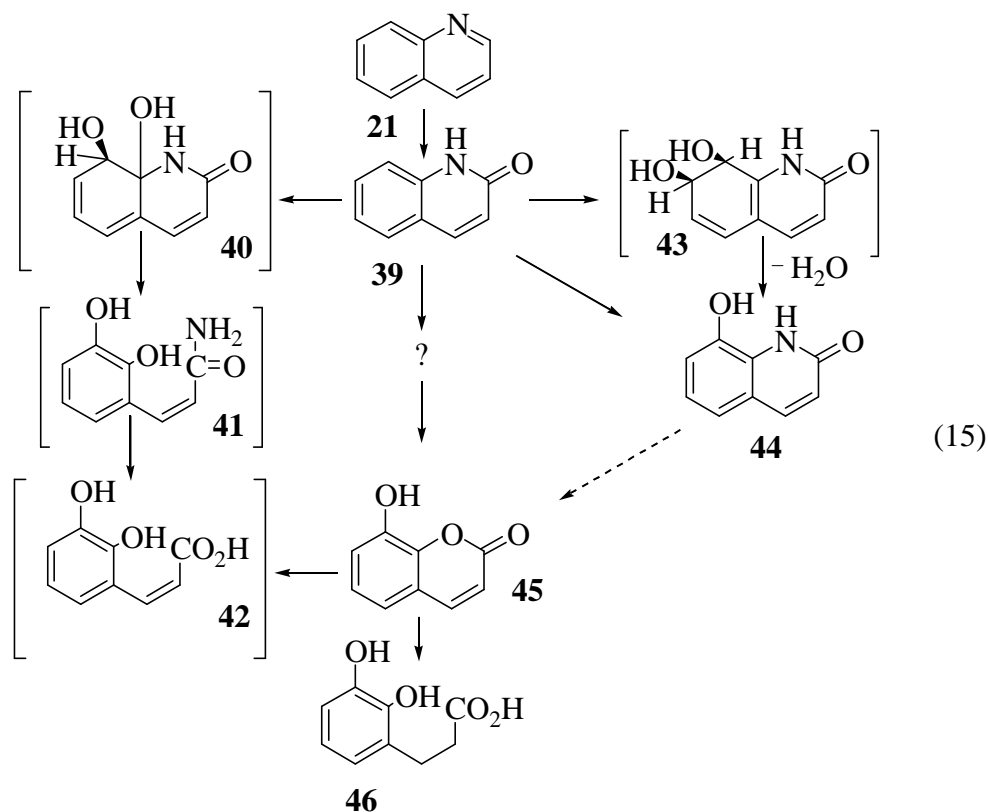
2.4.3. Lebontás 7,8-dihidroxi-1*H*-2-oxokinolinon (37) keresztül

A 7,8-dihidroxi-1*H*-2-oxokinolinon (37) keresztül lejátszódó lebontási út (14) nagyjában hasonló a (13) egyenlethez, hiszen ebben az esetben is megjelenik egy, a benzolgyűrű felnyitásában kulcsszerepet játszó *o*-dihidroxi-benzol származék (37). Az 1*H*-4-metilkinolin 8-monohidroxi származékát (36) kimutatták a *Pseudomonas putida* K1 táptalajának savas extraktumából, de lehetséges, hogy a 36 komponens a feltételezett 7,8-dihidrodiol (35) dehidratációjából származik és nem vesz részt a további folyamatokban, vagyis nem valódi intermedier [23].



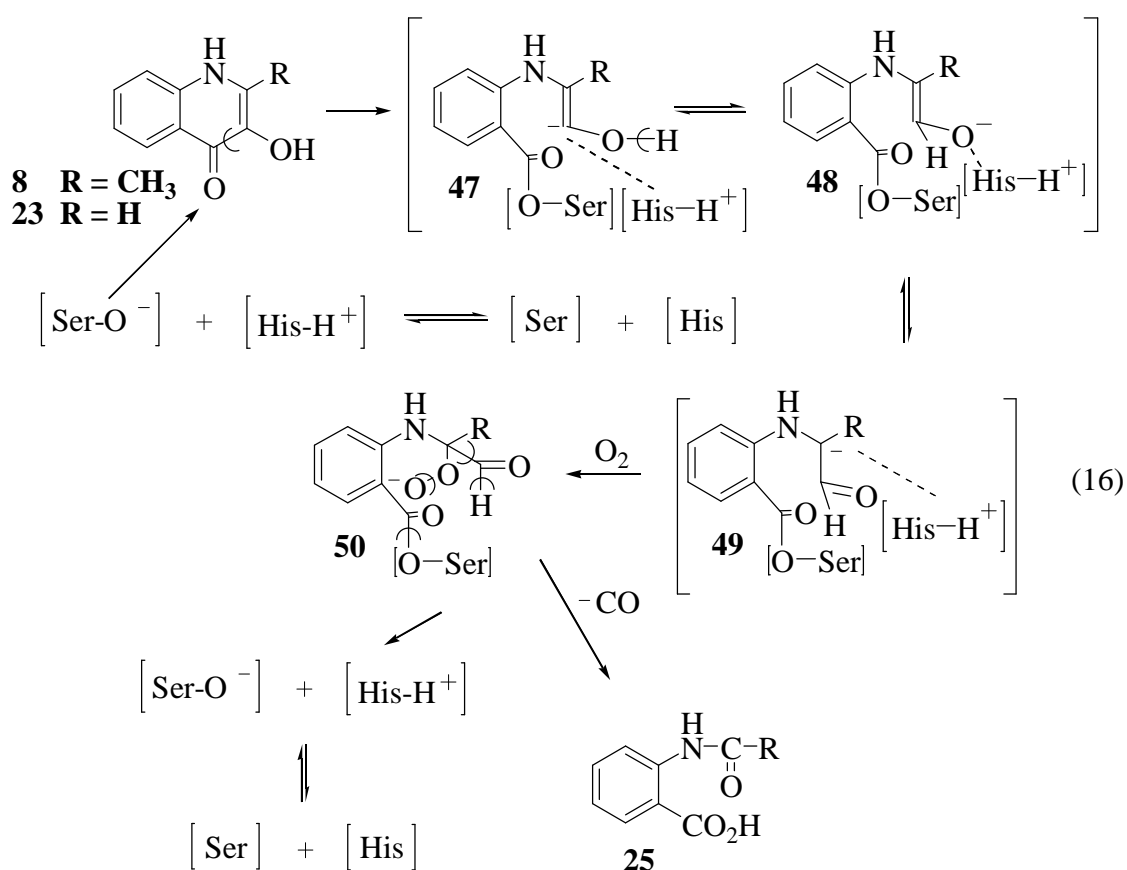
2.4.4. Lebontás 8-hidroxi-kumarinon (45) keresztül

A két utóbbi egyenletben (ld. a 13, 14 egyenletek) a benzolgyűrű felbontása következett be két különböző mechanizmus szerint. A 8-hidroxi-kumarinon (45) keresztül történő lebontás esetében a heterociklikus gyűrű hasad fel (hasonlóan a (11) egyenlethez), azonban az egymást követő reakciók mechanizmusa ezidáig még nem tisztázott (15) [24, 26].



4.5. Az MeQDO enzim

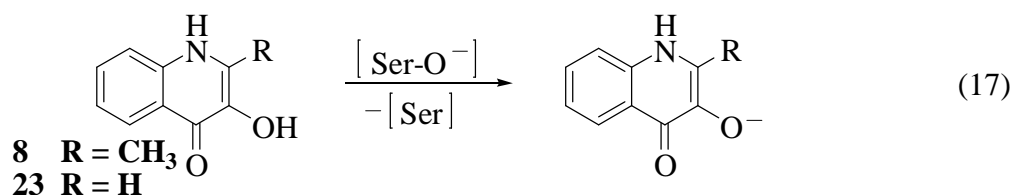
Fetzner és munkatársai többféle javaslatot tettek arra vonatkozólag, hogy az MeQDO enzim miképpen fejt ki a hatását [26]. Összehasonlították az MeQDO és a HQDO, valamint számos olyan fehérje aminosav sorrendjét, amelyek az α/β -hidrolázok családjába tartoznak, és megállapították, hogy a szerkezeti hasonlóság alapján az MeQDO és a HQDO ezen enzimsorozatba is sorolható. Kiderült, hogy az MeQDO 95. szerin aminosav egysége, valamint a 244. hisztidin aminosav egysége úgy rendeződik el, ahogy a katalitikus nukleofil molekularész és a katalitikus hisztidin rész az α/β -hidrolázokban (16).



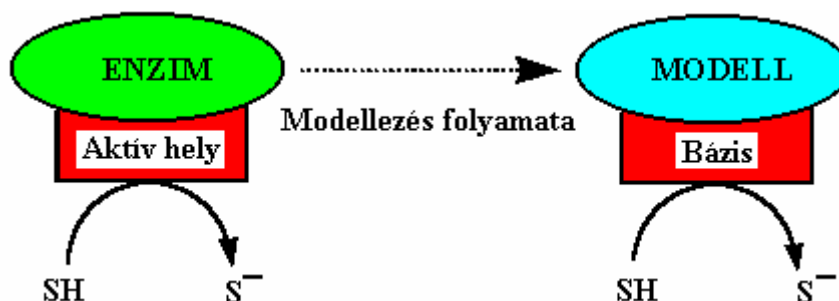
Az aktív helyen lévő szerint a szintén ott elhelyezkedő hisztidin deprotonálja. Az így kialakuló, nukleofil jelleggel bíró molekularész támadja a **23** szubsztrátum karbonil szénatomját és kovalens kötés kialakításával a **47** észter intermedier keletkezik. A protonált hisztidint stabilizálhatja egy máig ismeretlen savas karakterű „maradék”. Alternatív magyarázatként az is felmerül, hogy a protonált hisztidin kölcsönhatásba lép az enzim által kötött szubsztrátum anionnal, és **48** képződése közben stabilizálják egymást. A következő lépésben az enzim-szubsztrátum „komplex” karbanion formáját (**49**) támadja a dioxigén és az

50 peroxi-anion keletkezik, amely azután öttagú gyűrűs peroxiddá alakul. Végül a szerin eliminálódik, szén-monoxid hasad ki és kialakul az *N*-formil-antranilsav (**25**).

Egy másik elképzelhető mechanizmus (17) szerint a deprotonált szerin nem a karbonil szénatomot támadja meg, hanem mint konjugált bázis a **23** szubsztrátumról von el egy protont [27].



Ennek értelmében az általam alkalmazott modellrendszer akkor tekinthető relevánsnak, amennyiben az enzim deprotonálásra képes aktív centrumát valamely bázissal helyettesítem (3. ábra).



3. Ábra. A modellezés folyamata

Mivel a triplett dioxigén reakciója a szingulett szubsztrátummal (anion) spin tiltott reakció, a lebontási folyamatban minden bizonynyal szabad gyököknek is meg kell jelenniük. Ebben az esetben a gyökfogó komponensek hozzáadásának hatással kell lennie a MeQDO aktivitására. Arra is rámutatnak, hogy ha a keletkező szerves gyök és/vagy a szuperoxid gyökön stabilis gyökpárt alkotnak, akkor azok nem mutathatók ki, és a gyökfogók sem biztos hogy hatással lesznek az enzim aktivitására.

A mannitol mint hidroxil-gyökfogó komponens 100 mM-os koncentrációban 26 %-ára csökkentette az eredeti aktivitást. Egyéb gyökfogók, mint például az α -(4-piridil-1-oxid)-N-

tert-butironitron (4-POBN) és a 2-metil-2-nitrozopropán (NtB) adagolása esetén az aktivitás rendre 8, illetve 24 %-ra csökkent.

A citokróm c és a szuperoxid dizmutáz (SOD) nem fejtettek ki negatív hatást, azonban itt azt is hozzá kell tenni, hogy mindkét enzim nagy méretű fehérje. Előfordulhat, hogy az átmenetileg képződő szuperoxid gyökanion nem szabadul ki a MeQDO enzim aktív centrumából, és így nem fér hozzá a citokróm c vagy az SOD aktív helyeihez. A fentiek értelmében nem zárható ki a szuperoxid-ion jelenléte annak ellenére, hogy a nitroblue-tetrazolinum (NBT) nem redukálódott [28]. Kataláz adagolása után szintén nem csökkent az aktivitás, ebből az következik, hogy a reakcióban hidrogén-peroxid nem keletkezik vagy legalábbis nem hozzáférhető a kataláz enzim számára [26].

3. CÉLKITŰZÉSEK

Röviden összefoglalva megállapítható, hogy a kinolinszármazékok - ezen belül is a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin (**8**) - biológiai lebontásának témakörében számos enzimológiai és mikrobiológiai tudományos munka jelent meg az elmúlt évtizedben. A legfontosabb reakciólépéseket katalizáló enzimeket tisztították, a főbb intermediereket elkülönítették, azonban az egyes lépések mechanizmusának kiderítésére irányuló vizsgálatok ezidáig nem történtek. A dolgozatban bemutatásra kerülő kutatómunka célja a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz (MeQDO) enzim működési modelljeinek vizsgálata aprotos és protos oldószerben, valamint a képződő intermedierek kimutatása volt. A kinetikai mérések eredményei alapján javaslatot kívántunk tenni az autoxidációs reakciók mechanizmusára és az MeQDO enzim feltételezett szerepére a biokatalízisben. Ezen kívül a kvercetin 2,3-dioxigenáz enzim modelljeinek analógiájára réztartalmú 4-kinolon komplexek előállítását és szerkezetük vizsgálatát tűztük ki célul. A modellezés során az előző részben a (17) egyenlettel leírható feltételezést vettem alapul, miszerint a hisztidin által deprotonált szerin aminosav nem a karbonil szénatomon támadja a szubsztrátumot, hanem egy protont von el a hidroxil-csoportból. Feltételezhetjük tehát, hogy az enzim legfontosabb funkciója az enzimkatalízis során a szubsztrátum deprotonálása [27]. A modellek tehát akkor tekinthetők relevánsnak, ha az enzim helyett valamely bázis segítségével aktiváljuk a modellvegyületeket (3. ábra).

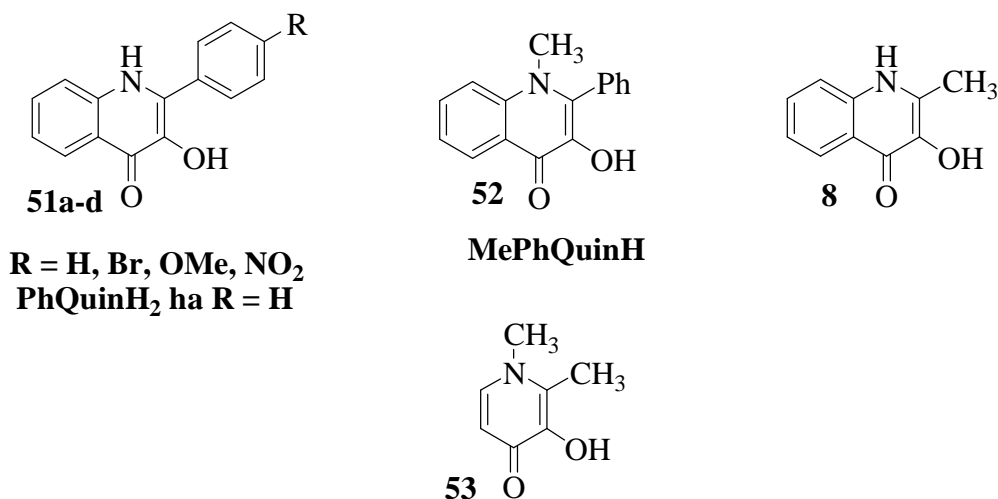
A célkitűzések figyelembe vételével az alábbiakban határoztam meg a kísérleti munka fontosabb lépéseit:

1. A modellvegyületek (javarészt 4-kinolonszármazékok) szintézise.
2. 4-Kinolonszármazékok autoxidációja során keletkező termékek, intermedierek kimutatása és mennyiségi meghatározása, valamint az autoxidáció kinetikai vizsgálata aprotos és protos oldószer alkalmazása esetén.
3. Az autoxidációs reakcióban esetlegesen képződő szabad gyökök alternatív úton történő előállítása és a dioxigénnel szembeni reaktivitásuk vizsgálata.
4. A PhQuinH₂ réztartalmú komplexeinek előállítása és spektroszkópiai vizsgálata.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. A modellvegyületek kiválasztása és azok szintézise

Az MeQDO enzim működési modelljeinek vizsgálatakor a 4. ábrán látható vegyületeket használtam fel szubsztrátumként: 4'-szubsztituált-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin származékok (**51a-d**), *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4-oxokinolin (**52**), 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin (**8**), 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-piridon (**53**). A modellvegyületek előállítását az irodalomból ismert módon történt [29, 30, 31].



4. Ábra. Az MeQDO enzim modellezése során alkalmazott modellvegyületek

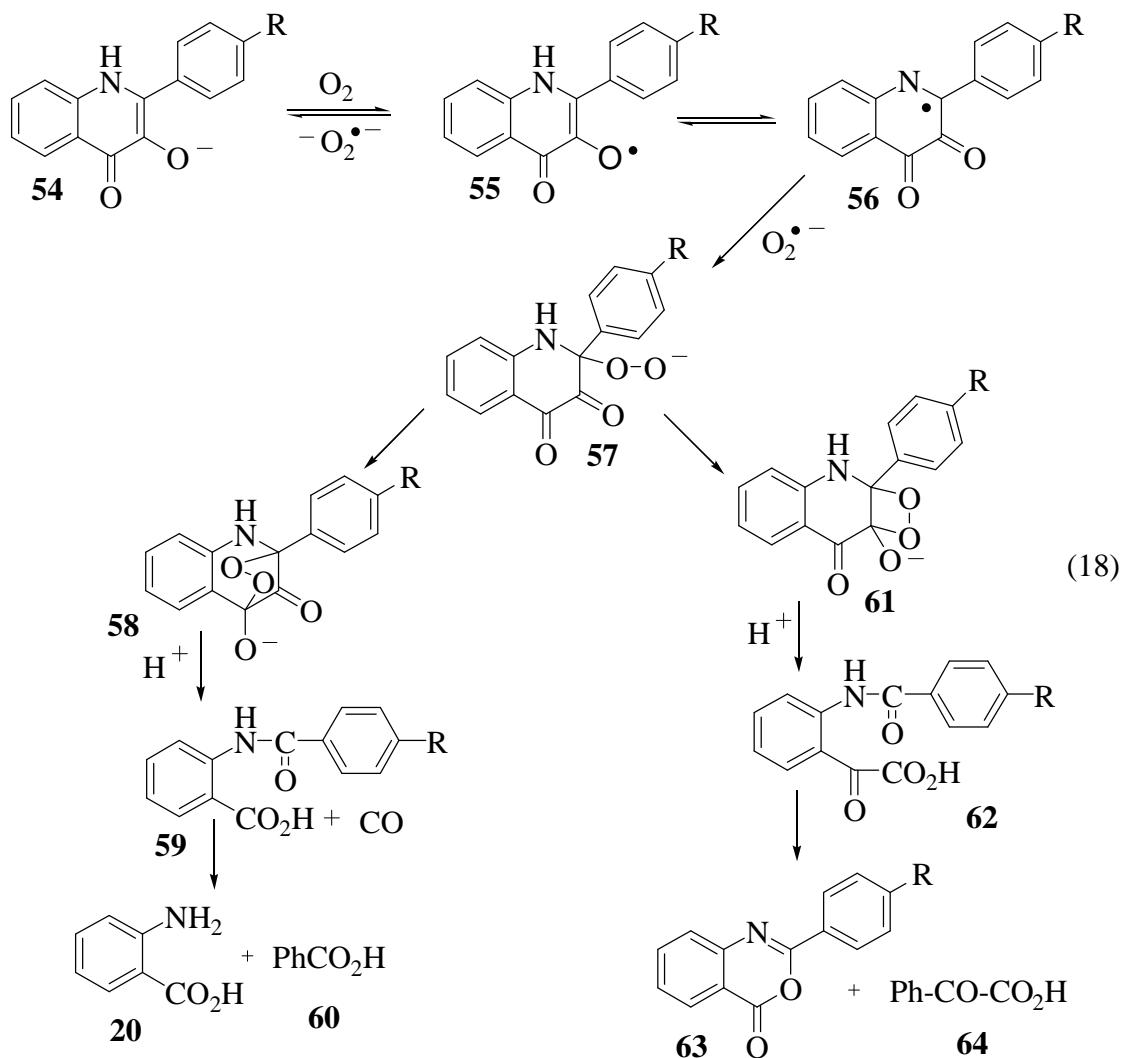
4.2. Autoxidációs reakciók

Előkísérletek során megállapítottam, hogy a 4. ábrán látható modellszubsztrátumként alkalmazott vegyületek hosszú idő alatt sem lépnek reakcióba a dioxigénnel. A 4.2. fejezetben bemutatásra kerülő modellszubsztrátumokban minden esetben aktivált, vagyis a hidroxil csoporton deprotonált szubsztrátumok oxigénezését hajtottam végre.

4.2.1. PhQuinH₂ reakciója dioxigénnel kálium-*tert*-butoxid jelenlétében aprotos oldószerben

A kutatómunka során részletesen vizsgáltam a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin (PhQuinH₂), mint modellszubsztrátum oxigénezését kálium-*tert*-butoxid jelenlétében különböző oldószerben. Az irodalomból ismert analógiák [11, 32] alapján feltételezhető

volt, hogy ezen gyűrűbontó oxigénezési reakció is alapvetően kétféle úton mehet végbe a (18) egyenletnek megfelelően.

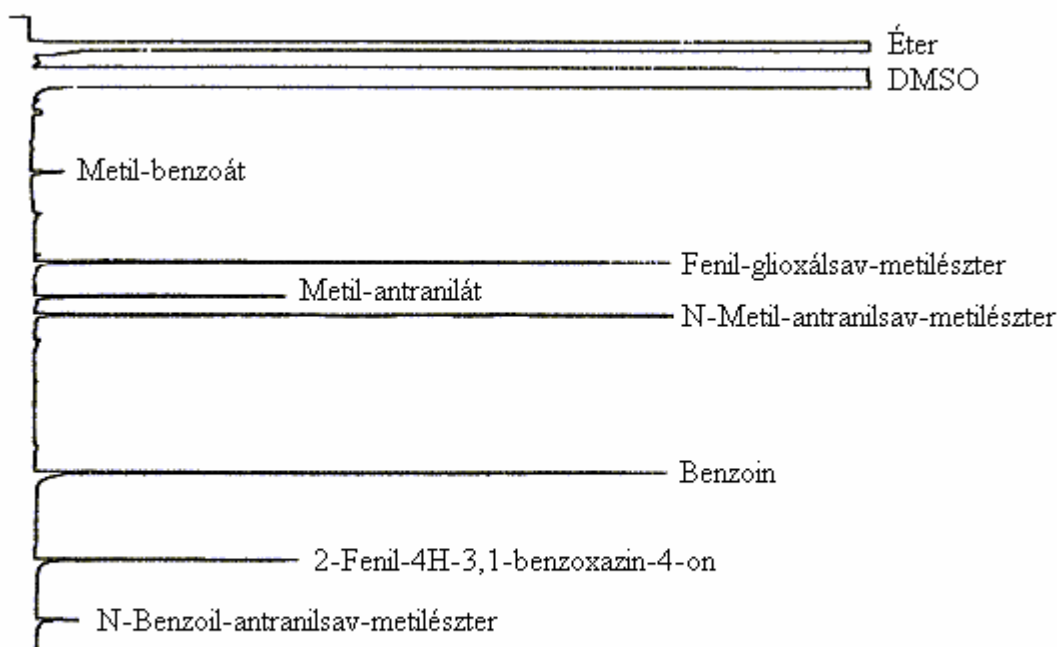


Amennyiben endoperoxid (**58**) közttermék jelenik meg, abban az esetben *N*-benzoyl-antranilsav (**59**) keletkezése mellett az elreagált dioxigénnel megegyező mólszámú szén-monoxid szabadul fel, vagyis térfogatcsökkenést nem tapasztalhatunk a gázvolumetriás vizsgálat során. Ha viszont 1,2-dioxetán származékon (**61**) keresztül játszódik le a reakció, akkor *N*-benzoyl-izatinsavat (**62**), illetve ennek hidrolízis- és gyűrűzárt termékeit (**64**, **63**) kapjuk. Ebben az esetben térfogatcsökkenés következik be, mivel szén-monoxid nem szabadul fel.

A különböző oldószerek alkalmazása esetén mérhető dioxigénfelvételt a 2. táblázatban foglaltam össze. Valószínű, hogy az oldószer anyagi minősége befolyásolja a reakció mechanizmusát, azonban THF, acetonitril és DMF esetében nem vonhatunk le

következtetéseket a gáztérfogat változásból a reakció mechanizmusára. Kísérletekkel alátámasztottam, hogy a nagymértékű dioxigénfelvétel abból adódott, hogy erős bázis jelenlétében az oldószer is reakcióba lép a dioxigénnel. Viszont a DMSO oldószerben mért gáztérfogat-változások alapján feltételezhető, hogy a reakció vegyes mechanizmusú, hiszen sem nulla, sem 1,0 mmól dioxigénfogyást nem tapasztaltam. Ezt a feltételezést támasztja alá a termékelegy összetételének analitikai vizsgálata is, melynek során mind az *N*-benzoil-antranilsavat (**59**), mind pedig a fenil-glioxálsavat (**64**) sikerült kimutatnom.

Az összetevők azonosítása gázkromatográffal összekapcsolt tömegspektrométerrel, mennyiségi meghatározása pedig gázkromatográffal (5. ábra) történt azután, hogy a termékelegyet sósavval semlegesítettem és diazometánnal metileztem. Az egyes vegyületek mennyiségét és a dioxigénfelvételt a 2. táblázatban-, retenciós idejét, illetve a benzoinra, mint belső standardra vonatkozó területfaktorát a 3. táblázatban mutatom be.



5. Ábra. A PhQuinH₂ autoxidációja során keletkező reakcióelegy gázkromatogramja metilezés után. (A gázkromatográfiás vizsgálatok paraméterei: kolonna: SPB-1, 30 m × 0,32 mm, filmvasragság = 0,25 μm, vivőgáz: N₂, kezdeti hőmérséklet = 50 °C, felfűtési sebesség = 5 °C/perc, véghőmérséklet = 300°C)

2. Táblázat. A PhQuinH₂ oxigénezési reakciójának termékei és a dioxigénfelvétel különböző oldószerek alkalmazása esetén. 1 mmól PhQuinH₂, 10 cm³ oldószer, T = 25 °C, p(O₂) = 1 bar, t = 6 h

Termék	THF	CH ₃ CN	DMF	DMSO
	Anyagmennyiség (mmól)			
60	0,3435	0,4305	0,1024	0,2817
64	0,2011	0,0514	0,0314	0,2664
20*	0,1421	0,3791	0,0664	0,0419
63	0,0891	0,1475	0,0276	0,1043
59	0,1384	0,0823	0,6210	0,3264
Dioxigén-felvétel	3,57	7,88	1,81	0,62

* A diazometánnal történő metilezés során a metil-antranilát mellett *N*-metil-metil-antranilát is keletkezett. A 2. táblázatban anyagmennyiségeik összegét tüntettem fel.

3. Táblázat. A PhQuinH₂ autoxidációja során keletkező termékek metilésztereinek retenciós ideje és területfaktora az 5. ábra esetében ismertett körülmények között

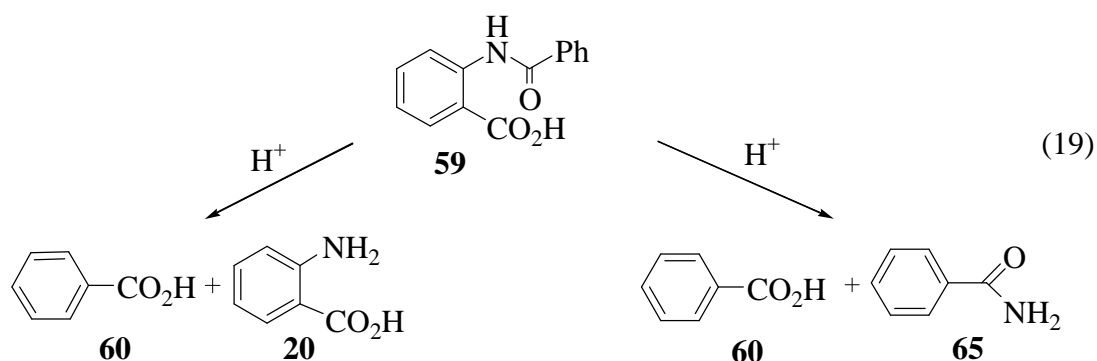
Komponens	Retenciós idő (perc)	Területfaktor
Metil-benzoát	9,15	0,107
Fenil-glioxálsav-metil-észter	14,8	0,911
Metil-antranilát	16,7	0,522
<i>N</i>-Metil-antranilsav-metilészter	17,9	1,456
Benzoin*	27,1	1
2-Fenil-benzoxazin-4-on	32,3	0,404
<i>N</i>-Benzoil-antranilsav-metilészter	35,8	0,119

*belső standard

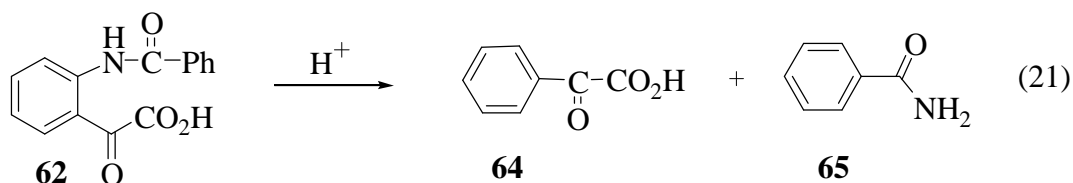
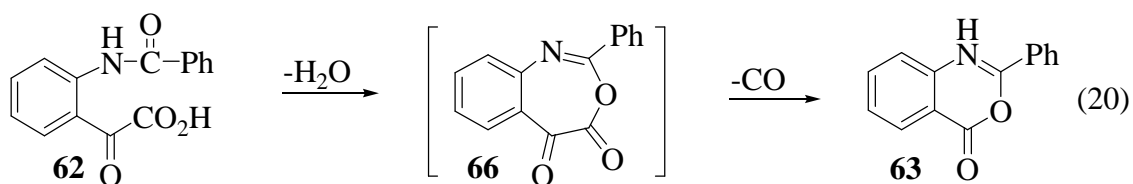
A 4'-helyettesített PhQuinH₂-származékok autoxidációja során keletkező termékek mennyisége a 4. táblázatban látható. A 2. és 4. táblázatokból kiderül, hogy az *N*-benzoil-antranilsav (**59**) és az *N*-benzoil-izatinsav (**62**) egyaránt hidrolízist szenvednek a sósavas kezelés során (ld. (19) egyenlet), illetve **62** gyűrűzáródási reakcióra is képes a (20) egyenlet szerint.

4. Táblázat. A 4'-szubsztituált PhQuinH₂ származékok (**51a-c**) oxidációs reakciójának termékei (mmól). 1 mmól PhQuinH₂, 10 cm³ DMF, T = 25 °C, p(O₂) = 1 bar, t = 6 h

Termék	Szubsztrátum	
	51b	51c
60	0,5240	0,2127
64	0,0181	0,0214
20	0,1723	0,1913
63	0,0560	0,2245
59	0,0986	0,2707



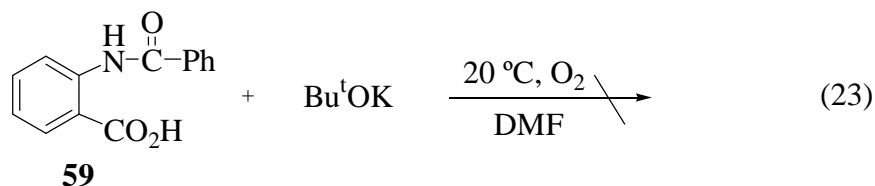
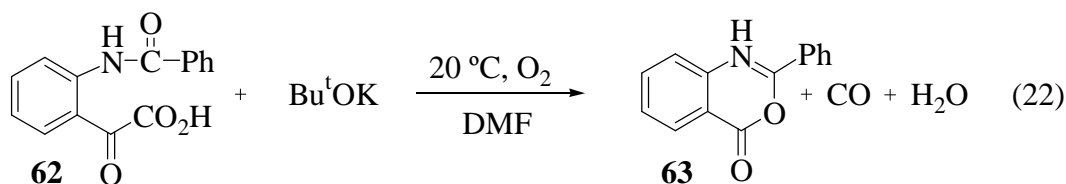
Ahogy a (20) és a (21) egyenletek szemléltetik, az *N*-benzoil-izatinsav (**62**) kétféle úton képes elbomlani.



A dehidratációs reakcióban átmenetileg keletkező 7 tagú gyűrűs heterociklus, a 2-fenil-3,1-benzoxazepin-4,5-dion (**66**) dekarbonileződik és 2-fenil-3,1-benzoxazin-4-on (**63**) képződik. A másik lehetőség szerint az aromás C-atom és a N-atom közötti σ -kötés hasadását követően fenil-glioxálsav (**64**) és benzamid (**65**) keletkezik (21), az utóbbi savas közegben benzooesavvá és ammónium-kloriddá alakul át.

Ha a PhQuinH₂ oxidálásakor keletkező reakcióelegyet feldolgozás előtt (savanyítás, majd metilezés) gázkromatográfiásan megvizsgálom, akkor a 2-fenil-3,1-benzoxazin-4-on (**63**) kimutatható, tehát a gyűrűzáródás még a lúgos közegben (és nem a sósavas kezelés hatására) lejátszódhat.

A feltételezést a (22) és a (23) egyenletekkel leírható kísérletekkel is alátámasztottam. *N*-Benzoil-izatinsavat (**62**) kálium-*tert*-butoxid jelenlétében, dioxigénatmoszférában, szobahőmérsékleten, 10 órát kevertettem a (22) egyenletnek megfelelően, majd a (23) egyenlet szerint ugyanilyen körülmények között *N*-benzoil-antranilsavat (**59**) reagáltattam. A termékelegy összetételét az 5. táblázatban mutatom be.



5. Táblázat. A (22) és a (23) reakciók termékelegyének összetétele. 1 mmól **62**, **59**, 1 mmól Bu^tOK, 10 cm³ DMF

Komponens	(22)	(23)
	(mmol)	
60	0	0,012
64	0	0
20	0	0
63	0,527	0
59	0	0,967
62	0,315	0

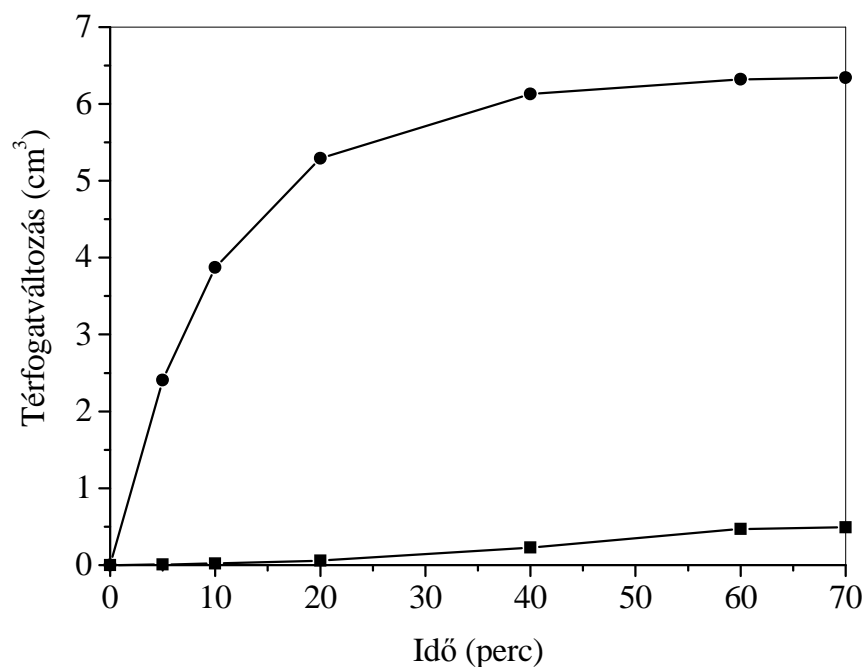
Látható, hogy bázis hatására az *N*-benzoil-antranilsavból (**59**) nem képződött a **63** gyűrűzárt termék, míg az *N*-benzoil-izatinsav (**62**) több mint 52 %-ából 2-fenil-3,1-benzoxazin-4-on (**63**) keletkezett. Ebből következik, hogy az **58** endoperoxid vagy a **61** 1,2-dioxetán köztterméken keresztül lejátszódó reakcióutak teljesen függetlenek egymástól. A

termékelegy összetételének meghatározása után az egyes reakcióutak aránya kiszámítható, mivel nincs olyan intermedier, amely mindkét reakcióútban résztvehet (6. táblázat).

6. Táblázat. Az **58** és a **61** közttermékeken keresztül lejátszódó reakcióutak aránya különböző oldószerekben. 1 mmól PhQuinH₂, 10 cm³ oldószer, T = 25 °C, p(O₂) = 1 bar, t = 6 h

	Oldószer			
	THF	CH ₃ CN	DMF	DMSO
58/61	50:50	70:30	92:8	50:50

Kutatócsoportunk a korábbiakban jelentős eredményeket ért el a 3-hidroxi-flavon (**84**) oxigénezésének területén. A 3-hidroxi-flavon (**84**) autoxidációs reakcióit a kvercetin 2,3-dioxigenáz enzim modelljeiként alkalmazták. Mivel a PhQuinH₂ és a **84** izoelektronos molekulák, célszerűnek tűnt összehasonlítani egymással az azonos körülmények között mért gáztérfogat-változásokat az autoxidációs reakciók során. A görbéket a 6. ábra szemlélteti.

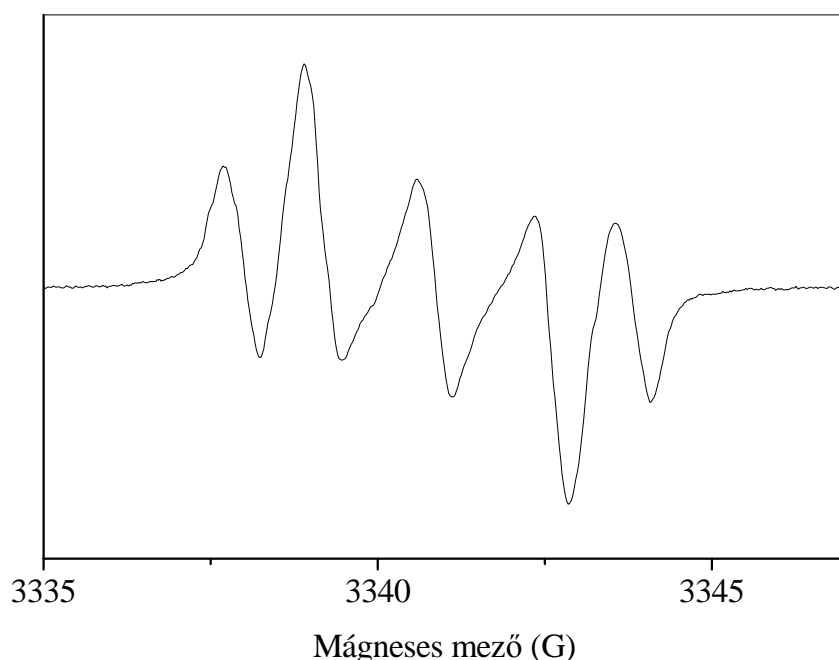


5. Ábra. A 3-hidroxi-flavon (■) és a PhQuinH₂ (●) autoxidációja során mérhető gáztérfogat-változás összehasonlítása. 1 mmól PhQuinH₂, 1 mmól FlaH, 1 mmól Bu^tOK, 10 cm³ DMSO, 25 °C

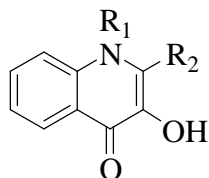
Szembetűnő, hogy a PhQuinH₂ esetében meredeken emelkedő görbét kaptunk, ellentétben a 3-hidroxi-flavonnál (**84**) tapasztaltakkal, ami azzal magyarázható, hogy a **84**

oxigénezése során szinte kizárólag endoperoxidon keresztül játszódik le a reakció. Mivel egy mól dioxidigén fogyása során egy mól szén-monoxid szabadul fel, ezért nincs jelentős térfogatváltozás (6. ábra).

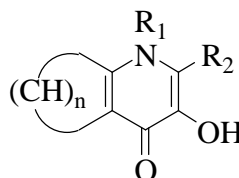
A PhQuinH₂ oxigénezési reakciójában az eredetileg sárga oldat színe bázis jelenlétében azonnal piros színűvé változott. A színváltozás alapján szabad gyök intermedierek jelenlétét feltételeztem, amit az ESR spektroszkópiás vizsgálatok alá is támasztottak (7. ábra). A 8. ábrán, valamint a 7. és a 8. táblázatokban bemutatom valamennyi modellvegyület ESR vizsgálatának eredményeit.



7. Ábra. A PhQuinH₂ báziskatalizált oxigénezésének reakcióelegyéről készült ESR spektrum, DMF, 25 °C



- 51a:** R₁ = H, R₂ = Ph
b: R₁ = H, R₂ = 4'-OMePh
c: R₁ = H, R₂ = 4'-BrPh
d: R₁ = H, R₂ = 4'-NO₂Ph Ph



- 8:** R₁ = H, R₂ = Me, n = 4
53: R₁ = Me, R₂ = Me, n = 0

8. Ábra. Az ESR spektroszkópiás vizsgálatok során felhasznált modellvegyületek

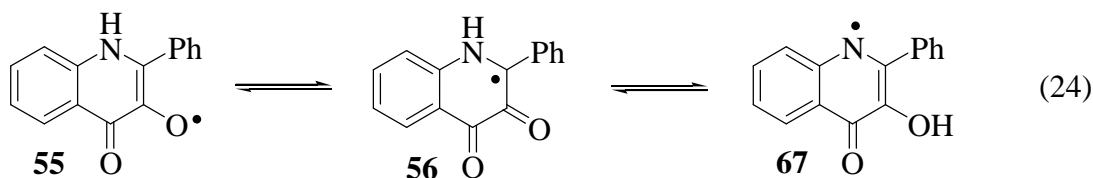
7. Táblázat. 4'-Szubsztituált-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin származékok autoxidációja során keletkező szabad gyökök ESR paramétere

Gyök	<i>g</i>	<i>a_N</i>	<i>a_H</i>	<i>a_{H'}</i>	<i>a_{H''}</i>
51a•	2,0052	1,69	1,19	1,07	0,24
51b•	2,0053	1,57	1,19	1,03	0
51c•	2,0052	1,85	1,19	1,01	0
51d•	2,0052	2,15	1,0	1,00	0,16

8. Táblázat. A 3-hidroxi-2-metil-4(1*H*)-oxokinolin (**8**) és az 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-piridon (**53**) autoxidációja során keletkező szabad gyökök ESR paramétere

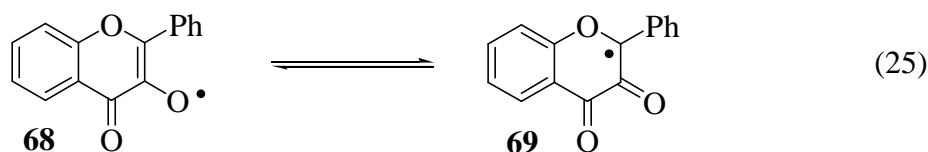
Gyök	<i>g</i>	<i>a_N</i>	<i>a_{2N}</i>
8•	2,0058	12,53	1,46
53•	2,0058	12,60	1,48

A gyökök stabilitására vonatkozólag elmondható, hogy 25 °C-on 6 óra reakcióidő után még intenzív piros szín figyelhető meg, sőt 24 óra elteltével is észlelhető a gyök színe. Amikor az ESR mintát 1 órán keresztül 50 °C-on temperáltam, akkor sem észleltem jelentős intenzitás csökkenést az ESR spektrumban, tehát viszonylag stabilis szabad gyökök keletkeznek az autoxidáció során. Általában megállapítható, hogy egy szabad gyök annál stabilisabb minél jobban delokalizálódik a pár nélküli elektron, vagyis minél több kanonikus forma írható fel a szerkezetére vonatkozóan. Jelen esetben három határszerkezettel (**55**, **56**, **67**) jellemezhető a közbülső termék, attól függően, hogy a pár nélküli elektron az oxigéne (kinolinoxil gyök), a 2-es szénatomon vagy pedig a N atomon lokalizálódik (24) [33].



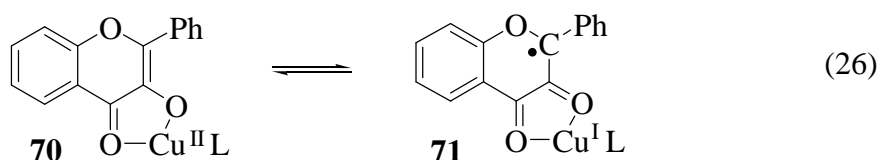
Itt érdemes megjegyezni, hogy Speier és munkatársai [34] analóg kanonikus formákkal leírható szabad gyökök keletkezését feltételezik a PhQuinH₂-al izoelektronos 3-hidroxi-flavon (**84**) báziskatalizált oxigénezésében. A nitrogén helyett az oxigén heteroatom jelenléte eggyel kevesebb kanonikus formát (**68**, **69**) enged meg. Ebből arra következtettek, hogy a favonoxil gyök kisebb stabilitású. A kísérleti tapasztalat ezt is alátámasztotta, mivel az

ESR spektrumban kis intenzitású jelet kaptak, amely nem mutatott finomszerkezetet. A **68** és a **69** kanonikus formákat a (25) egyenlet szemlélteti.



Térjünk vissza néhány gondolat erejéig a bevezetőben említett a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz (MeQDO) [26] és a kvercetin 2,3-dioxigenáz [11] enzimek összehasonlítására. Ismert, hogy a szubsztrátumaik (**8**, **6**) izoelektronos molekulák, ennek ellenére a kvercetin 2,3-dioxigenáz réztartalmú metalloenzim, míg MeQDO enzim egy fehérje, amely nem tartalmaz fémcentrumot. Miért alakult ki az evolúció során két különböző szerkezetű enzim nagyon hasonló szubsztrátumok lebontására?

A kérdés pontos megválaszolása meghaladja e disszertáció kereteit, de egy lehetségesnek tűnő ok felvázolása még felvállalható. A rövid élettartamú flavonoxil gyök (**68**) esetében szükség van egy olyan mechanizmusra, amely a (26) egyenletben bemutatott vegyértékizomerizáción keresztül stabilizálja a **68** gyököt [35]. A réz, mint redoxaktív fém, erre lehetőséget teremt, valószínűleg ezért tartalmaz a kvercetin 2,3-dioxigenáz enzim réz(II)-iont az aktív centrumában.

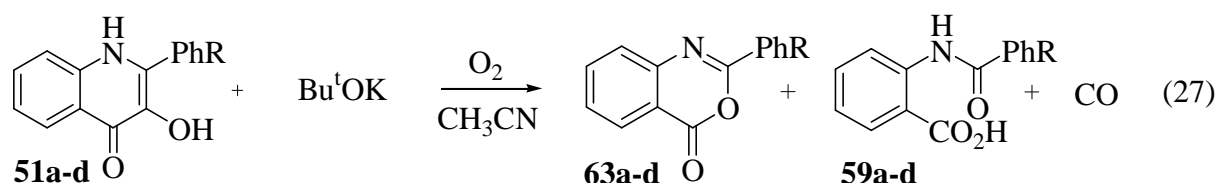


4.2.2. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-oxokinolin báziskatalizált oxigénezésének kinetikai vizsgálata aprotinos oldószerben

Ismeretes, hogy a hemoglobinban, mint légzési pigmentben a vas központi ion hidrofób környezetben van [36] annak ellenére, hogy a vér protikus közeg. Ezért a dioxigén reverzibilis megkötődését és aktiválódását a hemoglobinon vastartalmú komplexekkel modellezték aprotinos közegben. Az MeQDO enzim vizes közegben fejt ki hatását, azonban az aktív centrum hidrofil vagy hidrofób jellegéről a pontos röntgenszerkezet hiányában nem áll rendelkezésünkre információ. A célkitűzésekben említetteknek megfelelően modelleket dolgoztam ki az MeQDO enzim működésének vizsgálatára aprotinos és protonos közegben egyaránt. Valószínűnek tűnt, hogy az aprotinos közegben végrehajtott kinetikai vizsgálatok során nyomon tudjuk követni az átmenetileg keletkező szabad gyökök koncentrációját is. Elsőként a PhQuinH₂ autoxidációjának vízmentes DMF-ben végrehajtott kinetikai vizsgálatát mutatom be.

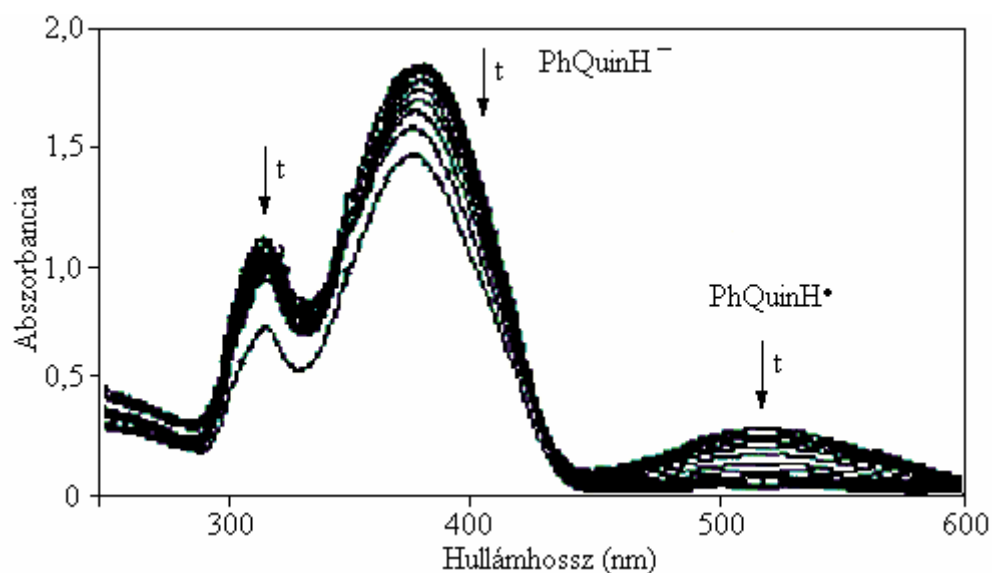
4.2.2.1. A deprotonált szubsztrátum és a szabad gyök moláris abszorbancia együtthatójának meghatározása

A 4.2.2.1. fejezetben a kísérletek célja annak megállapítása volt, hogy a PhQuinH₂-ből bázis jelenlétében keletkező PhQuinH⁻-anion, valamint az autoxidációban átmenetileg képződő szabad gyökök mely hullámhossznál jelennek meg az UV-látható spektrumban. A PhQuinH₂ autoxidációját a (27) egyenletnek megfelelően végeztem el. Mivel a PhQuinH₂ K-sóját sem elemi K-al, sem Bu^tOK-al nem tudtam szilárd állapotban elkülöníteni, ezért Bu^tOK segítségével *in situ* állítottam elő minden reakcióban.

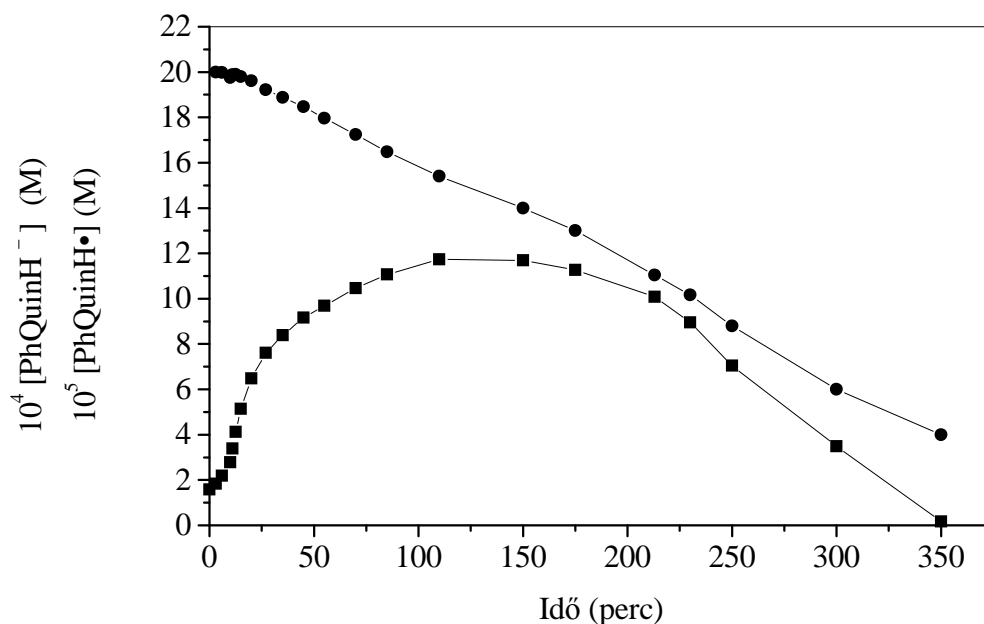


Kezdetben a reakciókörülményeket úgy választottam meg, hogy a szubsztrátumból (51) a Bu^tOK hatására kialakuló PhQuinH⁻ (54) nagy koncentrációban legyen jelen a reakcióelegyben és lehetőség szerint az 55 szabad gyök ne keletkezzen. Ennek érdekében inert atmoszférát, acetonitril oldószerrel, 25 °C hőmérsékletet és 1:1 PhQuinH₂ : Bu^tOK arányt alkalmaztam. Az inert atmoszféra alkalmazása ellenére is ki tudtam mutatni az 55 szabad

gyököt a rendszerben. Ez az oldószerben, illetve az Ar gázban lévő kis mennyiségű dioxigénnel történő reakcióval magyarázható. A 9. ábrát tekintve láthatjuk, hogy az abszorbancia a 374 nm-nél jelentkező sávnál azonnal lecsökken a katalizátor hozzáadása után, de a hullámhossz érték nem tolódott el a tiszta PhQuinH₂ spektrumához képest, amit a 11. ábrán tüntettem fel.



9. Ábra. A PhQuinH⁻ abszorpciós spektrumának időbeli változása Bu^tOK és levegő jelenlétében. [PhQuinH₂]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 1,42 × 10⁻³ M, [Bu^tOK]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, CH₃CN, 50 cm³, 25 °C



10. Ábra. A deprotonált szubsztrátum-(●) és a gyökkoncentráció (■) változása az idő függvényében. [PhQuinH₂]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 1,42 × 10⁻³ M, [Bu^tOK]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, CH₃CN, 50 cm³, 25 °C

Tételezzük fel, hogy az inert atmoszféra alkalmazása miatt nem alakult ki olyan nagy mennyiségű gyök, mint amennyivel csökkent az elnyelési maximum abszorbanciája 374 nm-nél. Az egyszer deprotonált anion moláris elnyelési együtthatója így közelítőleg meghatározható. Ha ezután az inert atmoszférát levegőre cseréljük a szabad gyök ϵ értéke is számítható ($\log \epsilon_{\text{PhQuinH}^-} = 3,66$, $\log \epsilon_{\text{PhQuinH}\bullet} = 5,15$). A 10. ábrán megfigyelhetjük hogyan változott a szubsztrátum és az **55** szabad gyök koncentrációja az idő függvényében.

Az eddigiekben a PhQuinH₂ és a Bu^tOK molarányát egynek választottam meg. A reakciósebesség báziskoncentrációtól való függését vizsgálva kiderült; amennyiben a Bu^tOK legalább háromszoros feleslegben van jelen, újabb intermedier - az NH csoporton is deprotonált dianion (**72**) - jelenléte figyelhető meg az UV-látható spektrumban 403 nm-nél. A reakció előrehaladtával a **72** dianion koncentrációja szintén csökken.

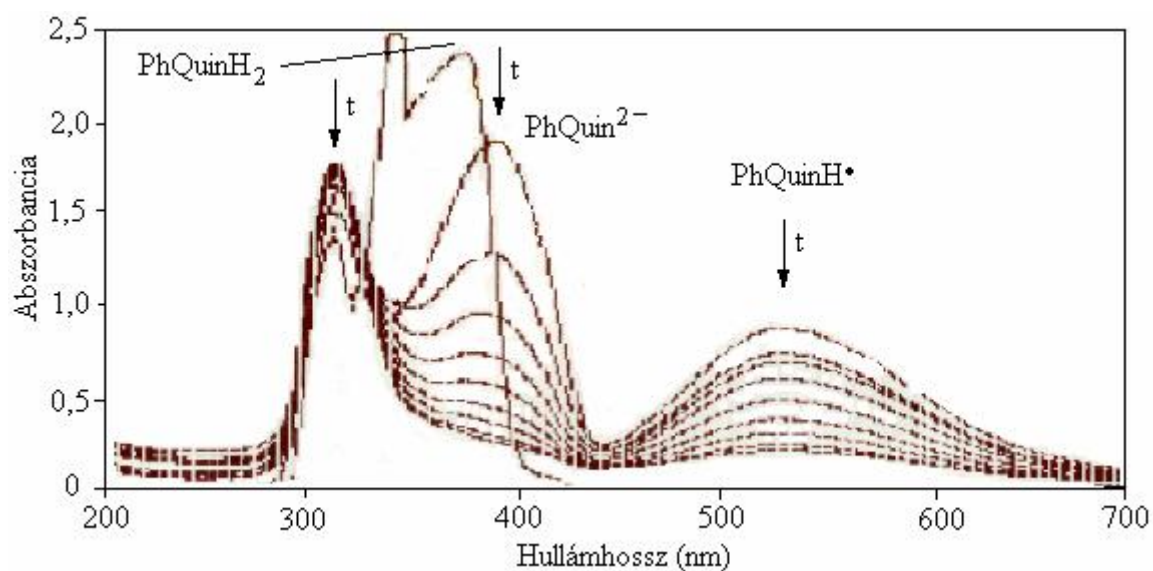
4.2.2.2. Kinetikai vizsgálatok

A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin (**51**) báziskatalizált oxigénezési reakcióit a (27) egyenlet szerint végeztem el vízmentes DMF oldószerben. A szubsztrátumból 50 cm³ ismert koncentrációjú oldatot készítettem, majd adott hőfokra termosztáltam és dioxigénnel telítettem, végül a reakciókinetikai edényben hozzáadtam a kálium-*tert*-butoxidot. Az eredetileg sárga oldat színe azonnal lilára változott a keletkező **55** szabad gyök következtében, amelynek koncentrációját az UV-látható spektroszkópia segítségével követtem.

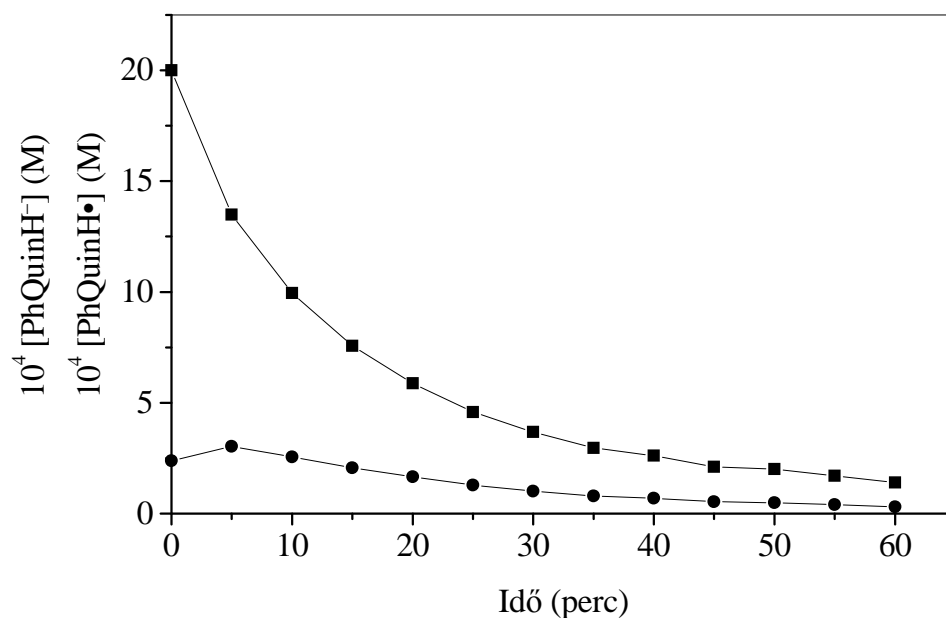
A 11. ábrán a reakcióelegyről az idő függvényében készült UV-látható spektrumot mutatom be, megjelölve, hogy az egyes sávokhoz milyen komponensek rendelhetők hozzá. Az ábrán külön tüntettem fel a báziskatalizátor nélküli PhQuinH₂ spektrumát. Ha a 9. és 11. ábrákat összehasonlítjuk, akkor megállapítható, hogy PhQuinH⁻ ugyanannál a hullámhossznál nyel el mint a PhQuinH₂, viszont az abszorbancia érték nagymértékű csökkenéséből világosan következik, hogy kisebb a moláris elnyelési együtthatója ($\log \epsilon_{\text{PhQuinH}_2} = 3,86$, $\log \epsilon_{\text{PhQuinH}^-} = 3,66$).

A 12. ábrán a szubsztrátum- és az **55** gyök koncentrációjának változását az idő függvényében, a 13. ábrán a szubsztrátum koncentrációjának logaritmusát az idő

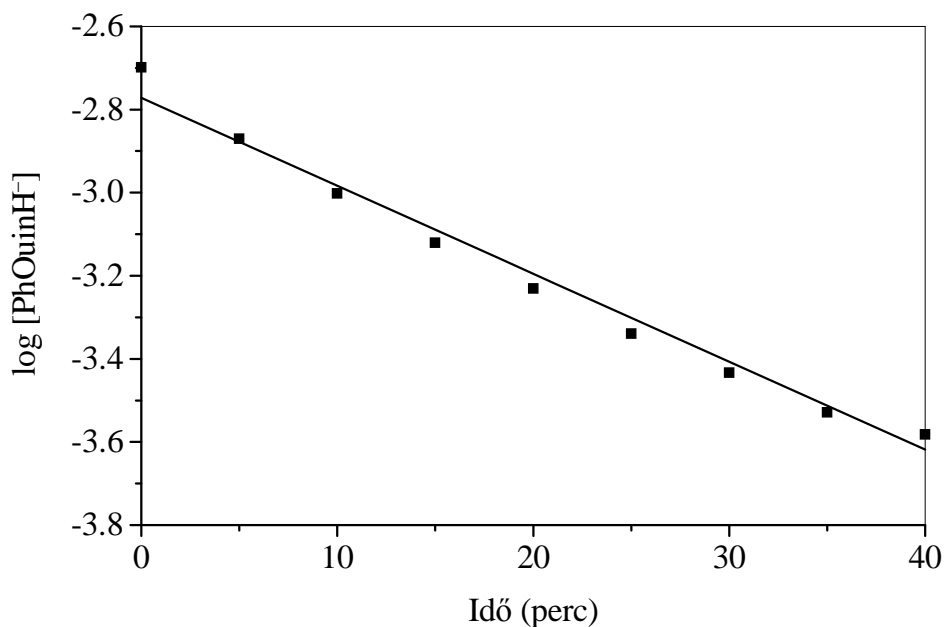
függvényében ábrázoltam. Logaritmizálás után meghatároztam az egyenesek meredekségét, amiből kiszámoltam a reakciósebességi állandókat.



11. Ábra. A PhQuinH₂ abszorpciós spektrumának időbeli változása Bu^tOK és dioxid jelenlétében. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 7,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 6,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm³, 80 °C



12. Ábra. A PhQuinH⁻ (■)- és az 55 gyök (●) koncentrációjának változása az idő függvényében. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 7,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 6,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm³, 80 °C



13. Ábra. A $[\text{PhQuinH}^-]$ logaritmusának változása az idő függvényében. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 7,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 6,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $80 \text{ }^\circ\text{C}$

Az oxigénezési reakcióra a (28) általános egyenlet írható fel.

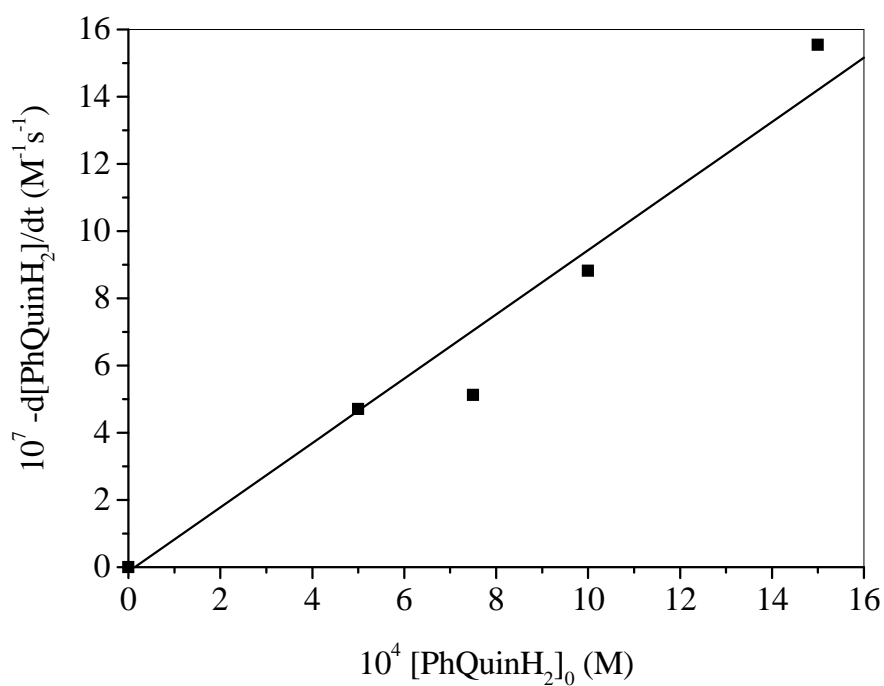
$$-\text{d}[\text{PhQuinH}_2]/\text{dt} = k_A [\text{PhQuinH}_2]^x [\text{O}_2]^y [\text{Bu}^t\text{OK}]^z \quad (28)$$

Az egyes reakciópartnerek részrendjének meghatározása céljából a méréseket különböző szubsztrátum-, bázis- és dioxigén koncentrációk mellett végeztem el. A (28) egyenlet állandó dioxigén és báziskoncentráció esetén (ld. (29) egyenlet) a (30) formára egyszerűsödik.

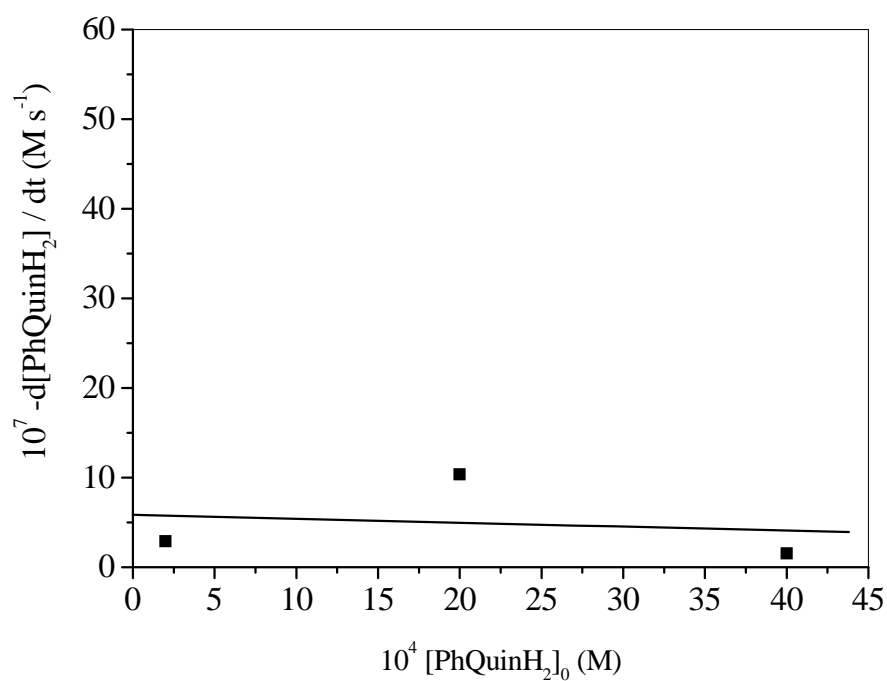
$$k_A [\text{Bu}^t\text{OK}]^z [\text{O}_2]^y = k'_A \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad [\text{PhQuinH}_2] / [\text{Bu}^t\text{OK}] = \text{állandó} \quad (29)$$

$$-\text{d}[\text{PhQuinH}_2]/\text{dt} = k'_A [\text{PhQuinH}_2]^x \quad (30)$$

Célszerűnek tűnt a reakciósebesség függését a szubsztrátum koncentrációjától állandó $[\text{PhQuinH}_2]_0 / [\text{Bu}^t\text{OK}]_0$ arány mellett vizsgálni. A szubsztrátum részrendjének megállapítására a (30) egyenlet szerint ábrázoltam a reakciósebességet a PhQuinH_2 koncentrációjának függvényében (14. ábra). A 14. ábrán láthatjuk, hogy $[\text{PhQuinH}_2]_0 = [\text{Bu}^t\text{OK}]_0$ feltétel teljesülése esetében a reakciósebesség első rend szerint függ a szubsztrátum koncentrációjától. Változó $[\text{PhQuinH}_2]_0 / [\text{Bu}^t\text{OK}]_0$ arány esetében a reakciósebesség $[\text{PhQuinH}_2]$ -től való függése konstans egyenest adott (15. ábra).

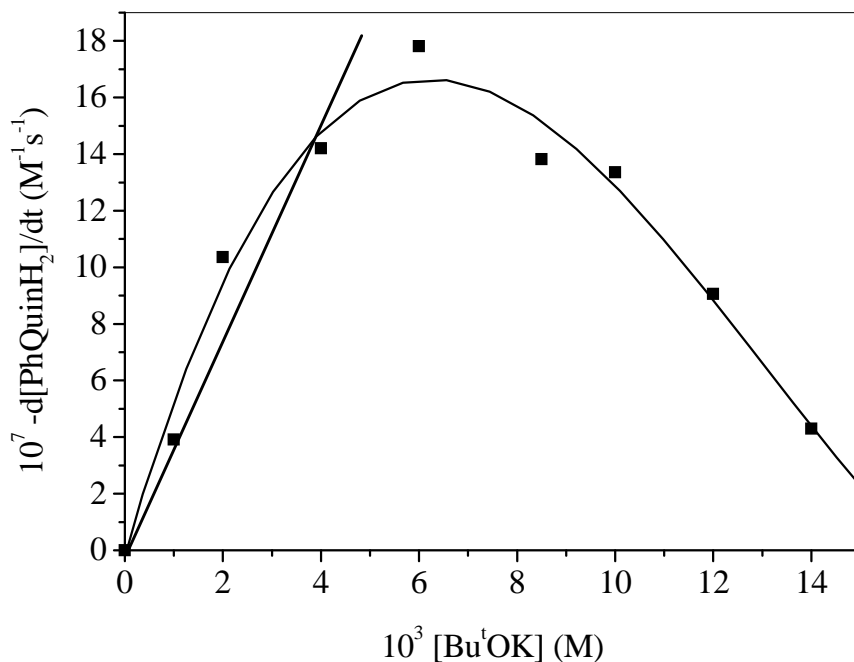


14. Ábra. A reakciósebesség függése a szubsztrátum koncentrációtól, állandó $[\text{PhQuinH}_2]_0 / [\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 1$ arány mellett, $[\text{O}_2] = 7,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $80 \text{ }^\circ\text{C}$



15. Ábra. Az oxigénezési reakció sebessége a szubsztrátum koncentrációjának függvényében. $[\text{O}_2] = 7,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $80 \text{ }^\circ\text{C}$

Állandó PhQuinH₂ és dioxigénkoncentráció mellett megvizsgáltam a reakciósebesség báziskoncentrációtól való függését (16. ábra).



16. Ábra. A reakciósebesség függése a báziskoncentrációtól.

$[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 7,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $80 \text{ }^\circ\text{C}$

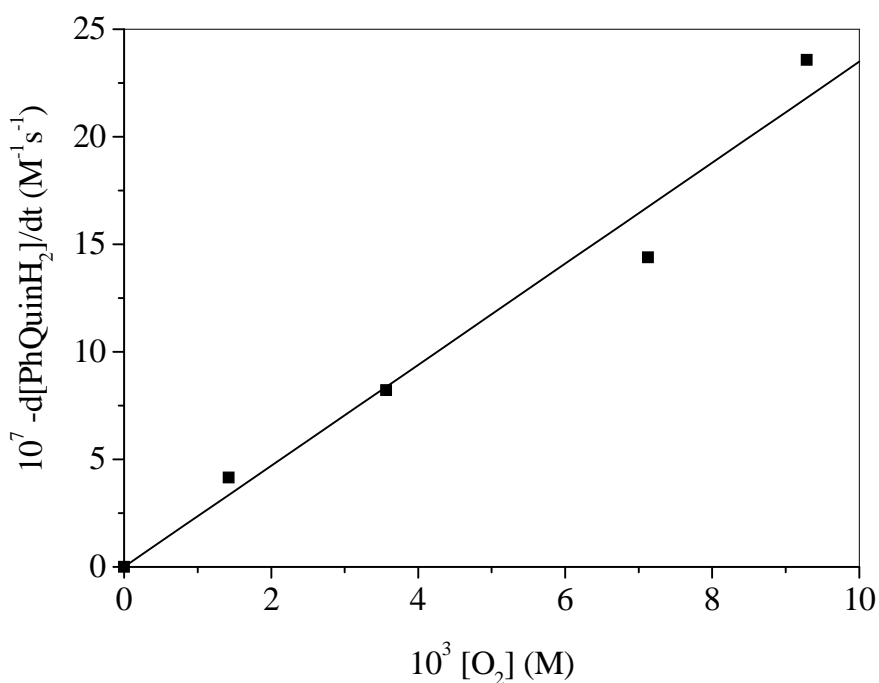
Az 16. ábrán megfigyelhetjük, hogy kezdetben kis báziskoncentrációk esetén a reakció sebessége növekszik, egészen addig, amíg körülbelül háromszoros bázisfeleslegnél elér egy maximumot. Amennyiben tovább növekszik a kálium-*terc*-butoxid koncentrációja, a reakciósebesség csökken. Valószínű, hogy a bázisfelesleg hatására kialakuló **72** dianion nem lép reakcióba a dioxigénnel és ezért tapasztaltam a reakciósebesség csökkenését. A 16. ábrán feltüntettem azt az egyenest, amelyből látható, hogy a $[\text{Bu}^t\text{OK}] \leq 2,5 [\text{PhQuinH}_2]$ feltétel teljesülése esetén a reakciósebesség jó közelítéssel első rend szerint függ a kálium-*terc*-butoxid koncentrációjától.

A (28) általános egyenlet állandó PhQuinH₂ és báziskoncentráció esetén a (32) egyenletnek megfelelően írható fel.

$$k_A [\text{PhQuinH}_2]^x [\text{Bu}^t\text{OK}]^z = k'_A \quad [\text{PhQuinH}_2] = \text{állandó} \quad [\text{Bu}^t\text{OK}] = \text{állandó} \quad (31)$$

$$-d[\text{PhQuinH}_2]/dt = k''_A [\text{O}_2]^y \quad (32)$$

A dioxid részrendjének megállapítására a (31) egyenlet figyelembe vételével a (32) egyenlet szerint ábrázoltam a reakció sebességét a dioxid koncentráció függvényében (17. ábra). Az összefüggés lineáris, tehát a dioxid részrendje egy, vagyis a (32) egyenletben $y = 1$.



17. Ábra. A reakciósebesség függése a dioxid koncentrációjától.

$[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $80 \text{ }^\circ\text{C}$

A PhQuinH_2 báziskatalizált autoxidációjának sebességét a (33) egyenlet írja le, azzal a megszorítással, hogy $[\text{Bu}^t\text{OK}] \leq 2,5 [\text{PhQuinH}_2]$ feltételnek teljesülnie kell.

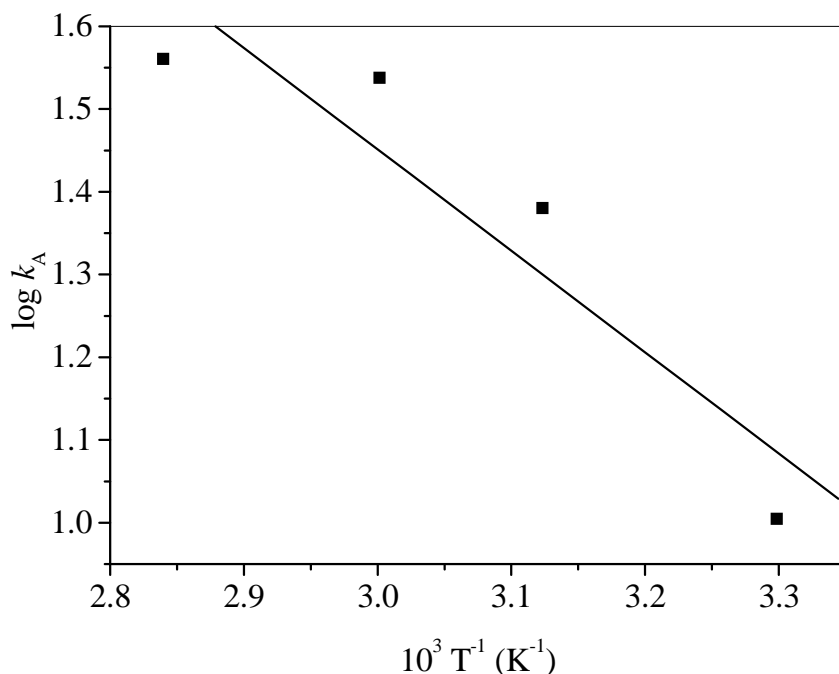
$$-d[\text{PhQuinH}_2] / dt = k_A [\text{PhQuinH}_2] [\text{Bu}^t\text{OK}] [\text{O}_2] \quad (33)$$

Az oxidációt különböző hőmérsékleten elvégezve (10. táblázat 20-23. mérés) azt találtam, hogy az Arrhenius (18. ábra) és az Eyring görbe lineáris.

Az aktiválási paraméterek 30 °C-on a következők [37]:

$$E_a = 23,3 \pm 2,16 \text{ kJ mol}^{-1}, \quad \Delta H^\ddagger = 20,6 \pm 1,96 \text{ kJ mol}^{-1},$$

$$\Delta S^\ddagger = -165,0 \pm 15,8 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}, \quad \Delta G^\ddagger = 70,6 \pm 6,48 \text{ kJ mol}^{-1}$$



18. Ábra. A PhQuinH₂ oxigénezési reakciójának Arrhenius diagrammja.

[PhQuinH₂]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [Bu^tOK]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, DMF

80 °C-on meghatároztam az oxigénezési reakció sebességi állandójának értékét a 4'-helyzetben helyettesített 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin származékok (**51a-d**) esetében is. A kapott értékek a 9. táblázatban találhatóak.

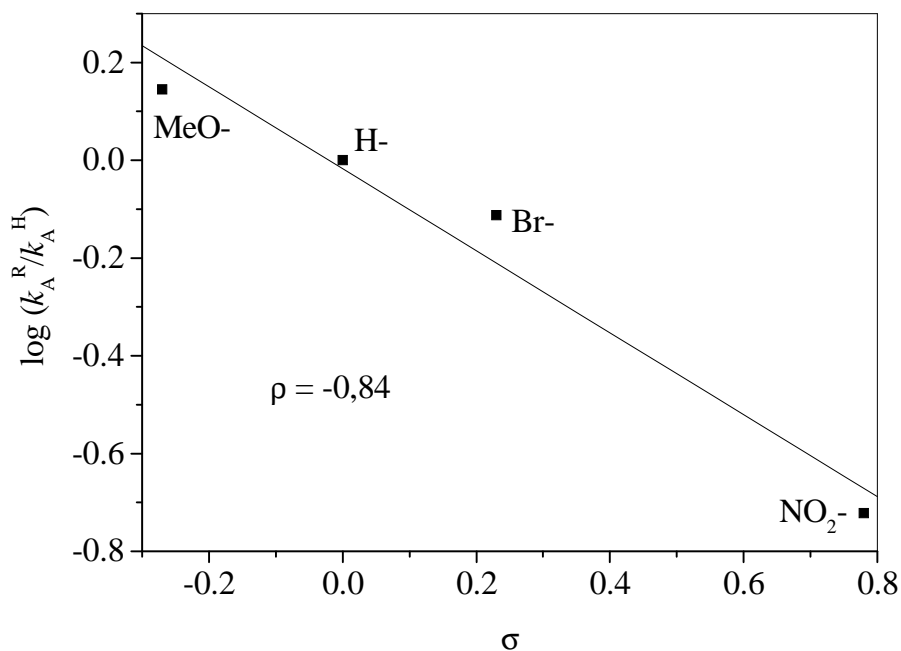
A $\log(k_A^R/k_A^H)$ -t (ahol R = a 4' helyen lévő szubsztituens) ábrázolva a szubsztituens állandók (σ) függvényében egyenest kaptam (19. ábra), melynek meredekségéből a (34) Hammett egyenlet reakcióállandójának értéke $-0,839$ -nek adódott.

$$d \log k_A^R / k_A^H = \rho \sigma \quad (34)$$

9. Táblázat. A 4'-helyzetben helyettesített PhQuinH₂-származékok szubsztituens állandói és az oxigénezési reakció sebességi állandói.

R	s [37]	k_A (M ⁻¹ s ⁻¹)
MeO-	-0,27	8,721
H-	0,00	6,245
Br-	0,23	4,818
NO₂-	0,78	1,184

Az a tény, hogy a (34) Hammett összefüggés lineáris azt mutatja, hogy a sebesség meghatározó lépés érzékeny a 2-es szénatom elektronsűrűségét befolyásoló tényezőkre. A ρ állandó negatív előjele pedig arra utal, hogy elektrondonor szubsztituensek növelik a reakció sebességét. A kinetikai paramétereket a 10. táblázatban foglaltam össze.



19. Ábra. A 4'-helyzetben helyettesített PhQuinH₂-származékok oxigénezési reakciójának Hammett diagramja. [51a-c]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [Bu^tOK]₀ = 6,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 7,13 × 10⁻³ M, DMF, 80 °C

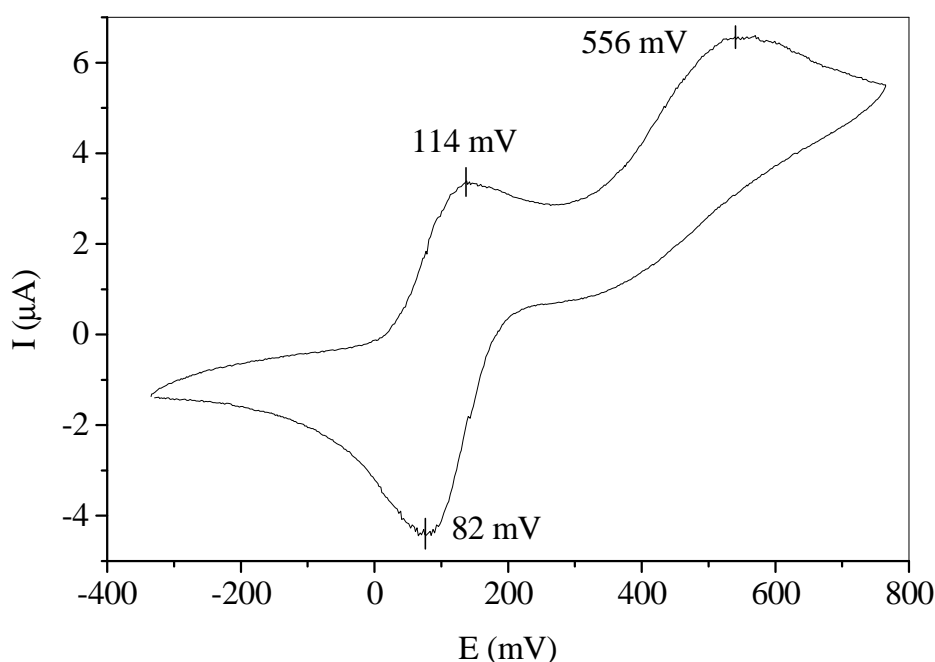
10. Táblázat. A PhQuinH₂ báziskatalizált oxigénezésének kinetikai paramétere

Kísérlet szám	T (°C)	10 ³ [O ₂] (M)*	10 ⁴ [51] (M)	10 ⁴ [Bu ^t OK] (M)	10 ⁴ k' _A (s ⁻¹)	10 ⁻¹ k _A (M ⁻² s ⁻¹)	10 ⁷ -d[51]/dt (M s ⁻¹)
1	80	7,13	2,00	20,00	14,55	102,0 ± 0,40	2,91
2	80	7,13	20,00	20,00	5,18	36,34 ± 0,28	10,36
3	80	7,13	40,00	20,00	0,38	2,69 ± 0,12	1,54
4	80	7,13	5,00	5,00	9,40	2,64 ± 0,17	4,70
5	80	7,13	7,50	7,50	6,83	1,28 ± 0,06	5,13
6	80	7,13	10,00	10,00	8,82	1,24 ± 0,03	8,82
7	80	7,13	15,00	15,00	10,36	0,97 ± 0,02	15,55
8	80	7,13	20,00	10,00	1,96	2,75 ± 0,04	3,92
9	80	7,13	20,00	20,00	5,18	3,63 ± 0,63	10,36
10	80	7,13	20,00	40,00	7,10	2,49 ± 0,09	14,20
11	80	7,13	20,00	60,00	8,91	2,08 ± 0,08	17,81
12	80	7,13	20,00	85,00	6,91	1,14 ± 0,07	13,82
13	80	7,13	20,00	100,0	6,68	0,94 ± 0,02	13,36
14	80	7,13	20,00	120,0	4,53	0,53 ± 0,01	9,06
15	80	7,13	20,00	140,0	2,15	0,22 ± 0,01	4,30
16	80	1,42	20,00	20,00	2,07	7,28 ± 0,08	4,15
17	80	3,57	20,00	20,00	4,11	5,76 ± 0,36	8,21
18	80	7,13	20,00	20,00	7,20	5,05 ± 0,17	14,39
19	80	9,29	20,00	20,00	11,78	6,35 ± 0,13	23,57
20	30	5,13	20,00	20,00	1,04	1,01 ± 0,03	2,07
21	47	5,81	20,00	20,00	2,79	2,40 ± 0,34	5,58
22	60	6,90	20,00	20,00	4,76	3,45 ± 0,02	9,52
23	80	7,13	20,00	20,00	5,18	3,63 ± 0,02	10,34

* A dioxid koncentrációkat számítottam [38, 39].

A 4'-szubsztituált 3-hidroxi-flavon származékok autoxidációs reakcióiban instabilis szabad gyököket mutattak ki [34]. Megállapították, hogy a 3-hidroxi-flavon K-sójának inert körülmények között felvett ciklikus voltamogramja irreverzibilis oxidációs hullámokat mutat. A redukciós hullámok hiányát a **68** flavonoxil gyök instabilitásával magyarázták. A

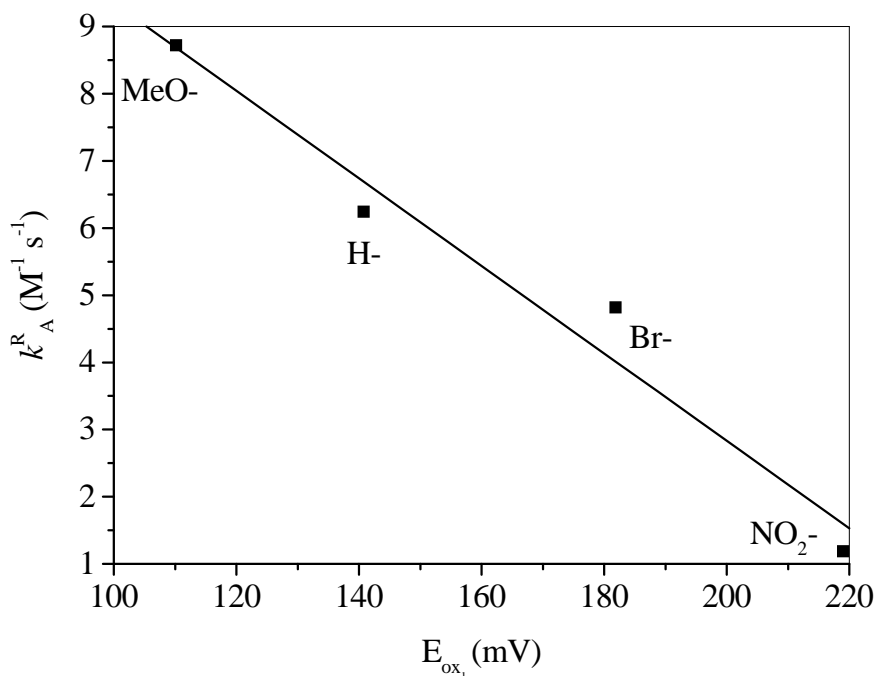
PhQuinH₂ autoxidációja során keletkező **55** gyök viszonylag nagy stabilitása alapján reverzibilis oxidáció lehetőségét valószínűsíthetjük. Emellett célszerűnek tűnt az oxidációs potenciálok és a reakciósebesség között meglévő összefüggés bizonyítására a 4'-helyettesített PhQuinH₂ származékok esetében is elvégezni a ciklikus voltametriás vizsgálatokat. A kísérleteket kétszeres feleslegben alkalmazott Bu^tOK jelenlétében, Ar atmoszférában végeztem el, referencia elektródként Ag/AgCl elektródot használtam [40]. A 20. ábrán a PhQuinH⁻ ciklikus voltamogramját mutatom be. A PhQuinH⁻ anion oxidációs potenciálja 140,8 mV. A PhQuinH• gyök nagy stabilitásának következtében az oxidáció reverzibilis, a redukciós potenciál 82,0 mV. A PhQuin²⁻ elektrokémiai oxidációja 556 mV-nál következik be, azonban ez a folyamat irreverzibilis.



20. Ábra. A PhQuinH₂ bázis jelenlétében felvett ciklikus voltamogramja. Polarizációs sebesség = 20 mV/s, [PhQuinH₂] = 7,00 × 10⁻³ M, [Bu^tOK] = 1,40 × 10⁻² M, [Bu₄NClO₄] = 0,1 M, Ar, DMF, 25 °C

A 4'-szubsztituált PhQuinH⁻ származékok esetében kapott oxidációs potenciálokat (11. táblázat) összehasonlítottam a Hammett állandó meghatározásánál mért megfelelő reakciósebességi állandókkal (9. táblázat). Az elektronküldő szubsztituenseket tartalmazó PhQuinH₂ származékok anódos oxidációs potenciálja negatívabb (kevésbé pozitív), ami azt

mutatja, hogy az elektronátmenet annál könnyebben játszódik le, minél nagyobb az elektronsűrűség a 3-as szénatomon lévő oxigénatomon. A 21. ábrán megfigyelhetjük, hogy az oxidációs potenciálok és a reakciósebességi állandók között lineáris összefüggés van. A dioxigén szuperoxiddá történő redukciójának potenciálja DMF oldószerben -620 mV [41]. A szuperoxid gyökönion tehát képes redukálni a PhQuinH• gyököt, vagyis a PhQuinH és a dioxigén irreverzibilis reakciója termodinamikailag megengedett.

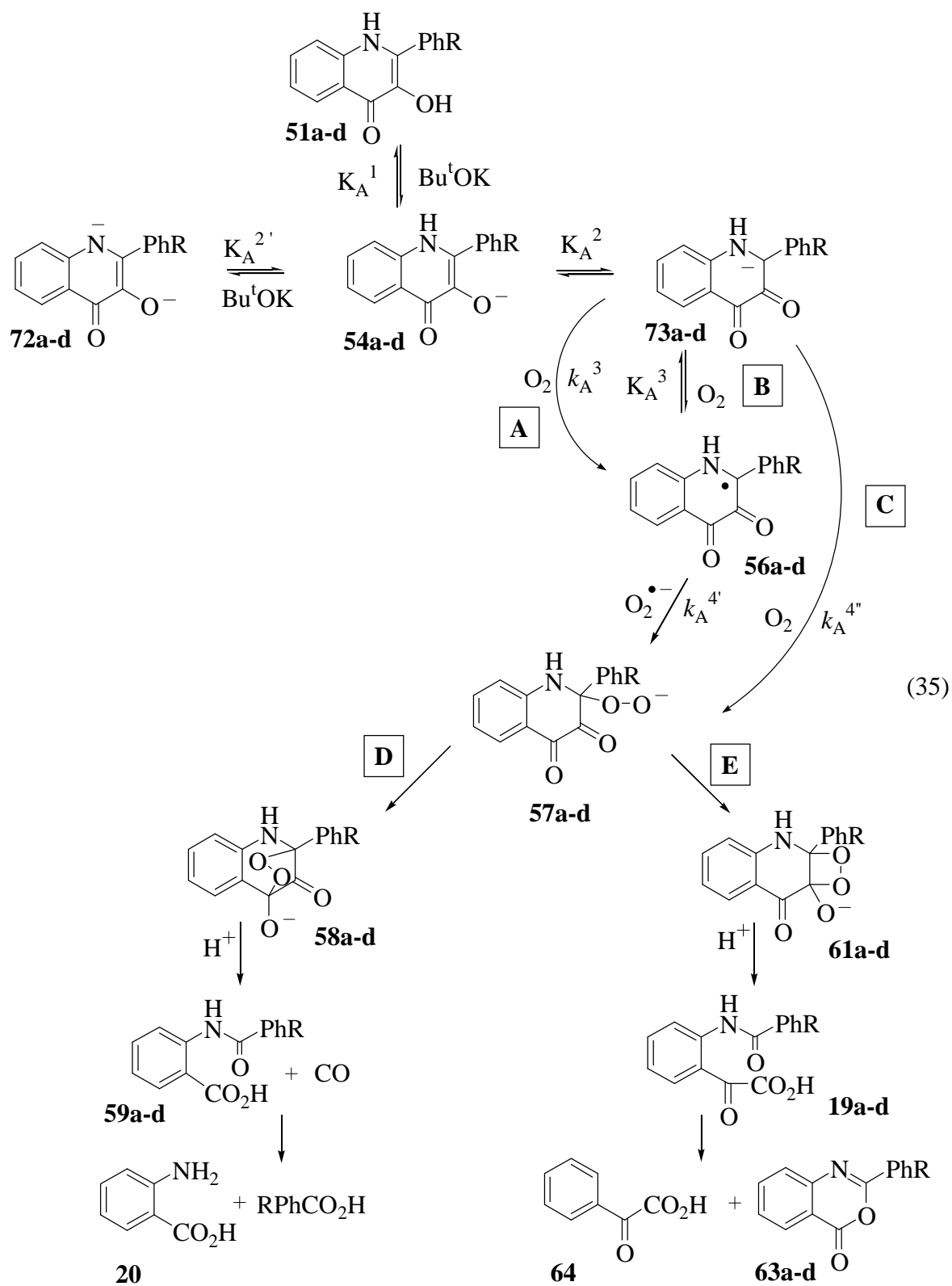


21. Ábra. A 4'-szubsztituált PhQuinH₂ származékok autoxidációjának sebességi állandója az anódos oxidációs potenciálok függvényében

11. Táblázat. 4'-Helyettesített PhQuinH₂-származékok oxidációs és redukciós potenciáljai

RPhQuinH ₂	E _{ox1} (mV)	E _{red1} (mV)	E _{ox2} (mV)
51a	141	82	556
51b	110	42	566
51c	182	89	551
51d	219	133	-

A fent felsorolt kinetikai és elektrokémiai eredmények alapján a (35) egyenletben bemutatott mechanizmus javasolható a PhQuinH₂ báziskatalizált autoxidációjára.



A kálium-*tert*-butoxid egyensúlyi reakcióban deprotonálja a PhQuinH₂-t, kialakul az **54** anion. Amennyiben a Bu^tOK nagy feleslegben van jelen, az NH-kötés is deprotonálódik és a **72** dianion keletkezik. Az **54** anion egyensúlyban van a mezomer karbanion formával (**73**),

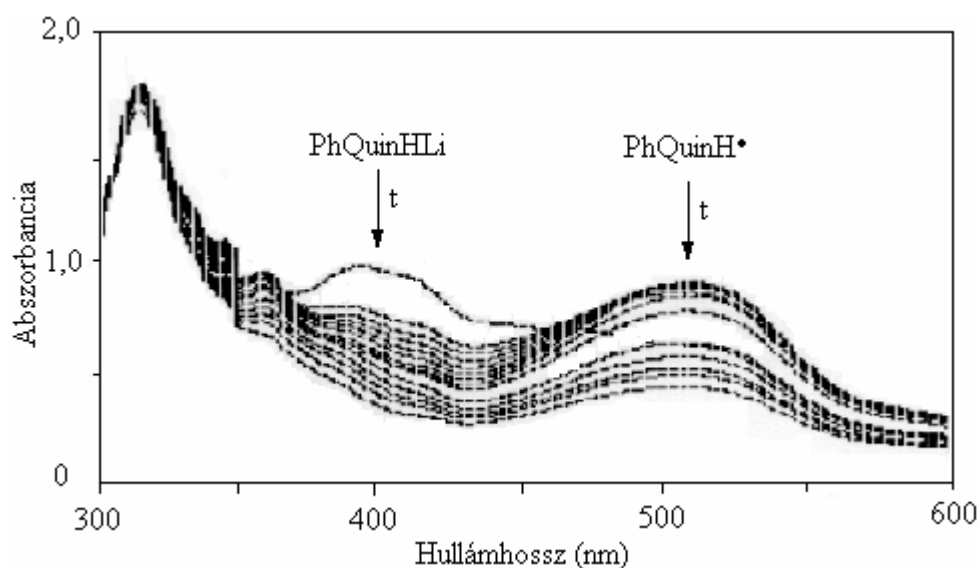
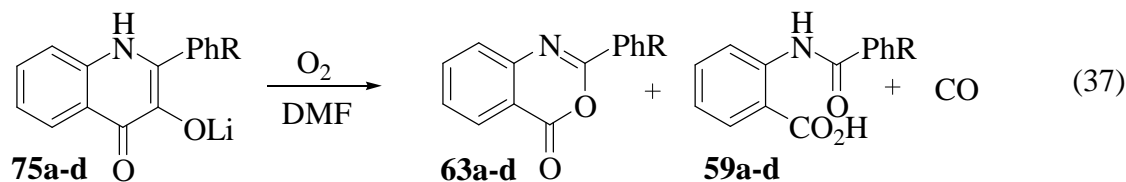
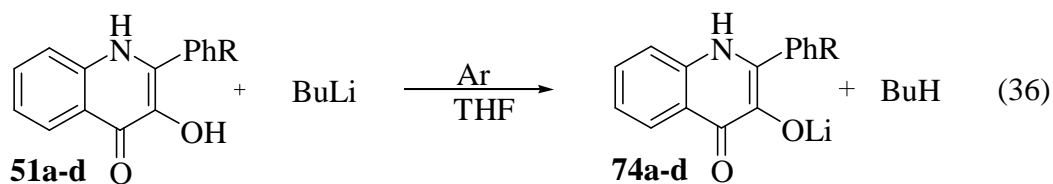
amely az **A** reakcióút szerint gyors lépésben [42] reagál a dioxigénnel, ezáltal az **56** szabad gyök és szuperoxid gyökanion keletkezik. Természetesen a dioxigén és a **73** reakciója egyensúlyra is vezethet, amit a **B** reakcióút mutat be. Végül az **56** szabad gyök és szuperoxid gyökanion reakciója az **57** hidroperoxid-aniont eredményezi az **A** és a **B** reakcióúton egyaránt. Amennyiben az **54** és a dioxigén reakciója nem vezetne egyensúlyra, akkor a deprotonált szubsztátum koncentrációja nem a 12. ábrán bemutatott görbe szerint változna az idő függvényében. Ebben az esetben a $[\text{PhQuinH}_2]$ néhány perc alatt nullára csökkenne, és csak az **56** gyök koncentrációjának csökkenését figyelhetnénk meg, vagyis az **A** reakcióutat kizárhatjuk. A **C** reakcióúton a **73** karbanion lassú, sebesség meghatározó lépésben reagál az elektrofil tulajdonságú dioxigénnel és közvetlenül az **57** hidroperoxid keletkezik. A 12. ábrából az is megállapítható, hogy az **56** szabad gyök maximális koncentrációja megközelítőleg 10 %-a PhQuinH^- kezdeti koncentrációjának. Ebből azonban nem következik, hogy az autoxidáció nagyobb mértékben a **C** reakcióúton keresztül játszódik le. A **C** reakcióút létezésére nincs közvetlen bizonyíték, azonban a (33) sebességi egyenletet ez a mechanizmus is kielégíti, ennél fogva megléte nem zárható ki. A **B** és a **C** reakcióúton keletkező **57** hidroperoxid-anion a továbbiakban az **58** endoperoxid (**D** reakcióút) vagy a **61** 1,2-dioxetán (**E** reakcióút) intermediereken keresztül lejátszódó reakciókban alakul át az egyes reakcióútra specifikus termékekké. Az **58** és a **61** vegyületekkel analóg, nagy energiájú intermedierek jelenlétét a PhQuinH_2 -al izoelektronos szubsztátumot lebontó kvercetin 2,3-dioxigenáz és aci-redukton-dioxigenáz (ARD) modellek esetében is feltételezik [32, 43]. Ezek minden bizonnyal kis stabilitással rendelkeznek, azonban ismerünk stabilis 1,2-dioxetán származékokat is, amelyekben nagy térkitöltésű csoportokat (pl. adamantil csoport) tartalmaz a molekula [44, 45].

4.2.3. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin Li-sójának előállítása és oxigénezésének kinetikai vizsgálata aprotos oldószerben

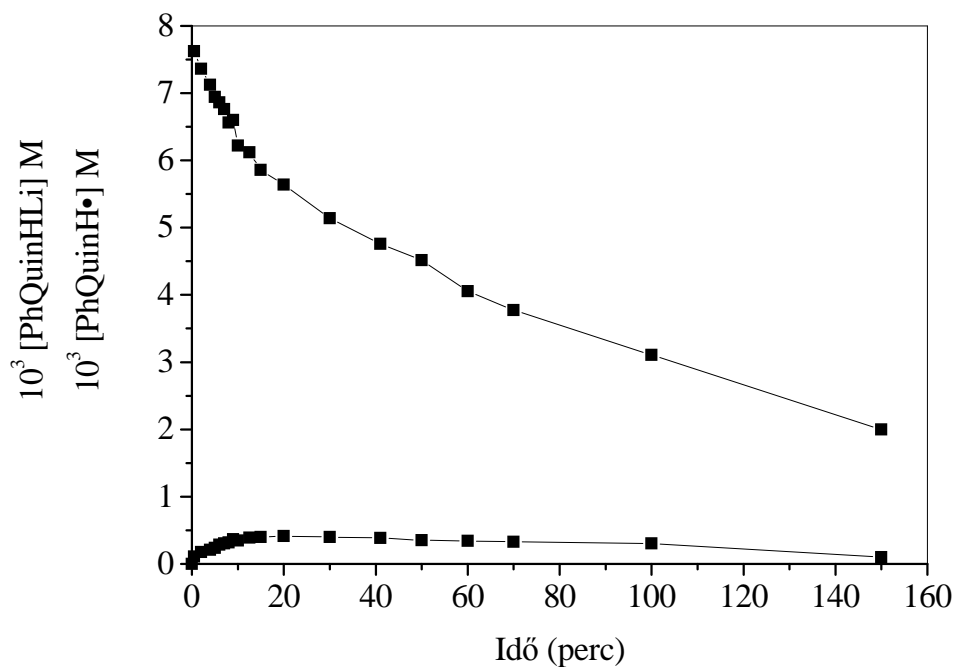
A PhQuinH₂ (**51**) báziskatalizált oxigénezésének aprotos közegben végrehajtott kinetikai vizsgálata során a PhQuinH⁻-t *in situ*, kálium-*terc*-butoxid hozzáadásával állítottam elő. A reakciósebesség báziskoncentrációtól való függésének vizsgálatakor bizonyos báziskoncentráció elérése után a Bu^tOK koncentráció további növelése gátló hatást fejtett ki a reakció sebességére (15. ábra). Mindemellett a reakciósebesség [PhQuinH₂]-tól való függésének mérésekor állandó értéken kellett tartani a [PhQuinH₂]₀ / [Bu^tOK]₀ arányt és nem célravezető csak a PhQuinH₂ koncentrációt változtatni. Két lehetőség van arra, hogy elkerüljük a kinetikai méréseket nehezítő körülményeket. Vizsgálhatjuk olyan modellvegyületek autoxidációját, amelyekben a N-atomon metil-csoport helyezkedik el, ezáltal a **72** dianion keletkezése kiküszöbölhető (ld. 4.2.4. fejezet). A másik megoldás, hogy a PhQuinH₂ előre előállított alkálifém-sójának (pl. K-só) az autoxidációját vizsgálom. Azt azonban már a 4.2.2 fejezetben említettem, hogy sem kálium-*terc*-butoxiddal, sem elemi káliummal nem tudtam szilárd állapotban előállítani a PhQuinH₂ K-sóját, ezért kísérletet tettem a Li-só (**74**) előállítására és elkülönítésére. A PhQuinHLi autoxidációja során nem szükséges bázis hozzáadása a rendszerhez és így a szubsztátum és a dioxigén rendűségének meghatározása egyszerűbbé válik. A Li-só előállítása során a hőmérsékletet -5-0 °C között tartva, argon atmoszféra alatt, abszolút THF-ben szuszpendáltam a PhQuinH₂-t (**51**). Ezután hozzáadagoltam a butil-lítium *n*-hexánban készült oldatát (36). A kezdetben narancssárga szuszpenzió 45 percig tartó kevertetés után citromsárga színű lett. A reakcióelegy feldolgozását követően az így kapott anyag inerten, hűtőben tárolva hosszabb időn át eltartható az autoxidáció lejátszódása nélkül. A KBr-ban felvett infravörös spektrum alapján a PhQuinHLi (**74**) karbonil vegyértékrezgésének hullámszáma nem változott meg jelentős mértékben a PhQuinH₂-ban mérthez képest. Ez nem mond ellent annak a tapasztalatnak, hogy a korábbiakban a PhQuinH₂-hoz (**51**) és a PhQuinH⁻-hoz (**54**) rendelhető elnyelés ugyanolyan hullámhossznál jelent meg az UV-látható spektrumban (9. ábra).

A kinetikai vizsgálatokat a (37) egyenlet szerint végeztem el. Az 50 cm³ térfogatú vízmentes DMF-et adott hőmérsékletre termosztáltam, dioxigénnel telítettem, majd a reakciókinetikai edényben hozzáadtam a PhQuinHLi-t (**74**), mire a reakcióelegy színe azonnal lilára változott.

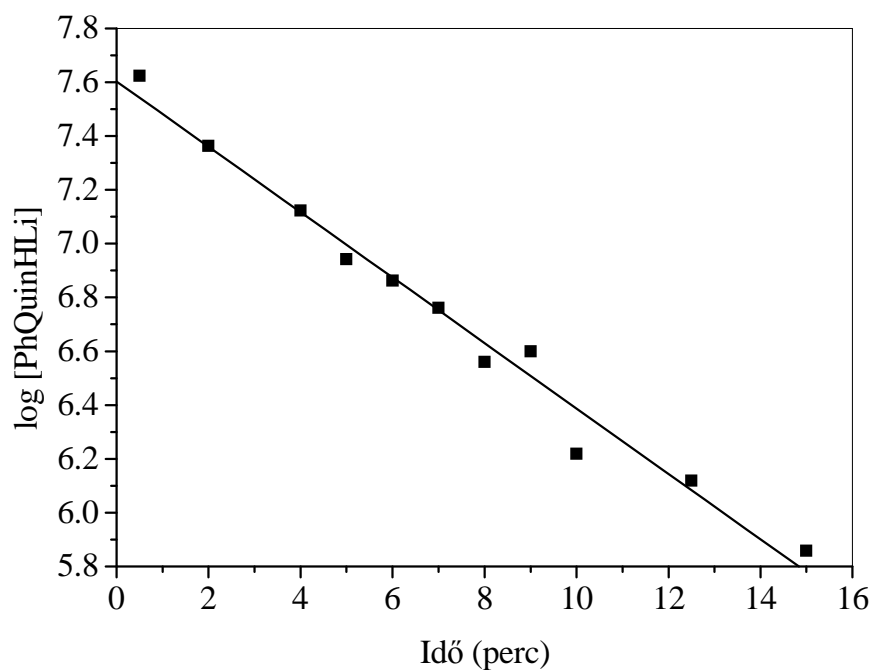
Ezek után a 374 nm-nél megjelenő **54** anion, valamint az 532 nm-nél jelentkező **55** gyök koncentrációját követtem nyomon az UV-látható spektrumban (22. ábra). A Li-só (**74**) és az abból kialakuló **55** szabad gyök koncentrációjának időbeli változását a 23. ábrán mutatom be. A **74** Li-só koncentrációjának logaritmusát az idő függvényében a 24. ábra szemlélteti.



22. Ábra. A PhQuinHLi abszorpciós spektrumának időbeli változása dioxid jelenlétében. $[\text{PhQuinHLi}]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 5,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $30 \text{ }^\circ\text{C}$



23. Ábra. A PhQuinHLi (■) és a PhQuinH• (●) koncentrációjának változása az idő függvényében. $[\text{PhQuinHLi}]_0 = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 1,26 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $60 \text{ }^\circ\text{C}$



24. Ábra. A $[\text{PhQuinHLi}]$ logaritmus az idő függvényében. $[\text{PhQuinHLi}]_0 = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 6,34 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $60 \text{ }^\circ\text{C}$

Logaritmizálás után meghatároztam az egyenesek meredekségét, amiből kiszámoltam a reakciósebességi állandókat.

Az oxigénezési reakcióra a (38) általános egyenlet írható fel:

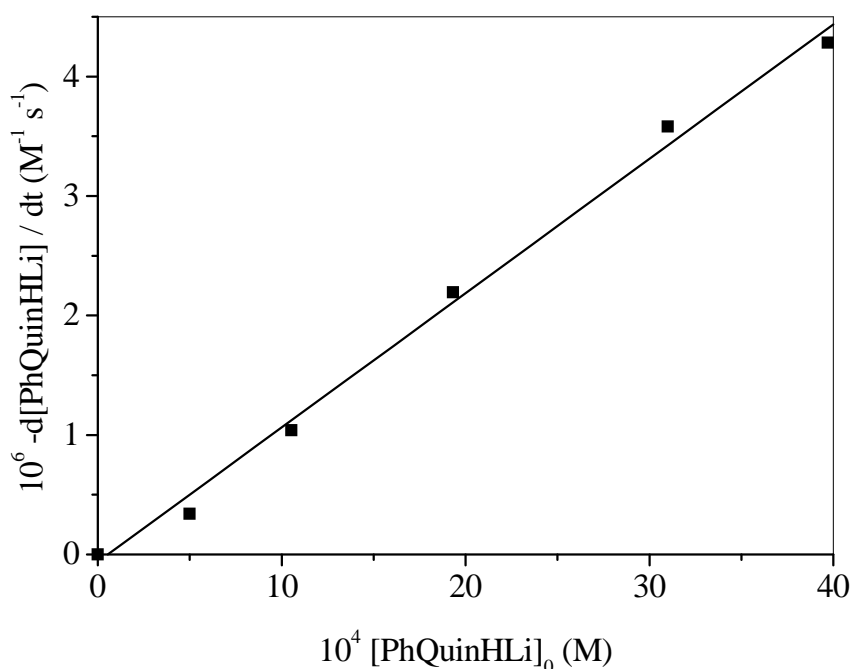
$$-d[\text{PhQuinHLi}]/dt = k_{\text{Li}} [\text{PhQuinHLi}]^x [\text{O}_2]^y \quad (38)$$

Az egyes reakciópartnerek részrendjének meghatározása céljából a méréseket különböző szubsztrátum- és különböző dioxid koncentrációk mellett végeztem el. A (38) egyenlet állandó dioxid koncentráció esetén a (40) egyenletnek megfelelő formára egyszerűsödik.

$$k_{\text{Li}} [\text{O}_2]^y = k'_{\text{Li}} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad (39)$$

$$-d[\text{PhQuinHLi}]/dt = k'_{\text{Li}} [\text{PhQuinHLi}]^x \quad (40)$$

A szubsztrátum részrendjének megállapítására a (40) egyenlet szerint ábrázoltam a reakciósebességet a PhQuinHLi koncentrációjának függvényében (25. ábra).



25. Ábra. A reakciósebesség függése a kezdeti PhQuinHLi koncentrációtól. $[\text{O}_2] = 6,34 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $60 \text{ }^\circ\text{C}$

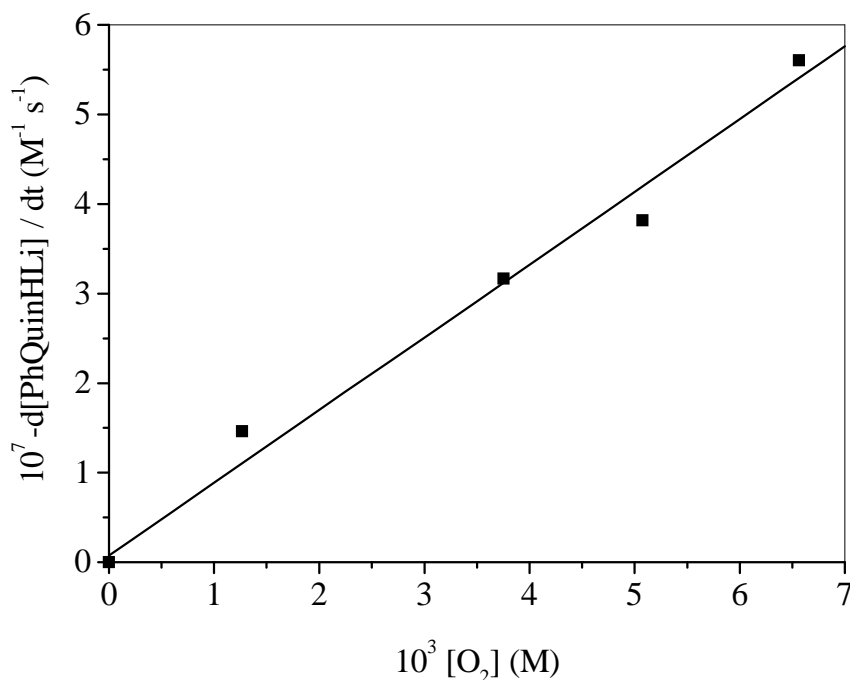
A 25. ábra jól szemlélteti, hogy ebben az esetben a reakciósebesség első rend szerint függ a PhQuinHLi (74) koncentrációjától.

A (38) általános egyenlet állandó PhQuinHLi (74) koncentráció esetén (ld. (41) egyenlet) a (42) formában írható fel.

$$k_{\text{Li}} [\text{PhQuinHLi}]^x = k''_{\text{Li}} \quad [\text{PhQuinHLi}] = \text{állandó} \quad (41)$$

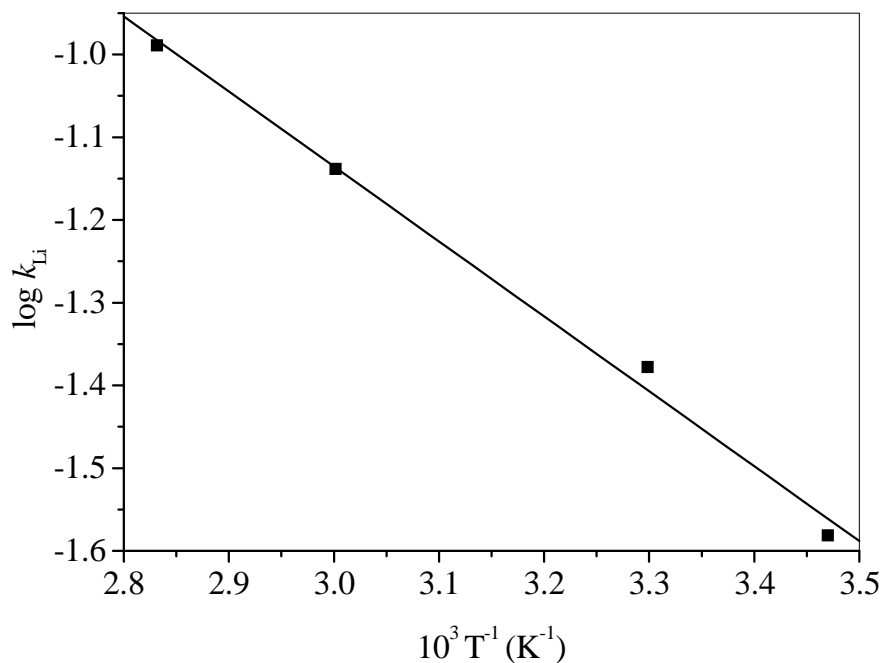
$$-d[\text{PhQuinHLi}]/dt = k''_{\text{Li}} [\text{O}_2]^y \quad (42)$$

A dioxigén részrendjének megállapítására a (42) egyenlet szerint ábrázoltam a reakció sebességét a dioxigén koncentráció függvényében (26. ábra). Az összefüggés lineáris, tehát a dioxigén részrendje egy, vagyis a (42) egyenletben $y = 1$



26. Ábra. A reakciósebesség függése a dioxigén koncentrációjától. $[\text{PhQuinHLi}]_0 = 5,00 \times 10^{-4} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $60 \text{ }^\circ\text{C}$

Az oxigénezést különböző hőmérsékleten elvégezve azt találtam, hogy az Arrhenius (27. ábra) és az Eyring diagram lineáris.



27. Ábra. A PhQuinHLi oxigénezési reakciójának Arrhenius diagramja. $[PhQuinHLi]_0 = 2,00 \times 10^{-3} M$, DMF, 50 cm^3

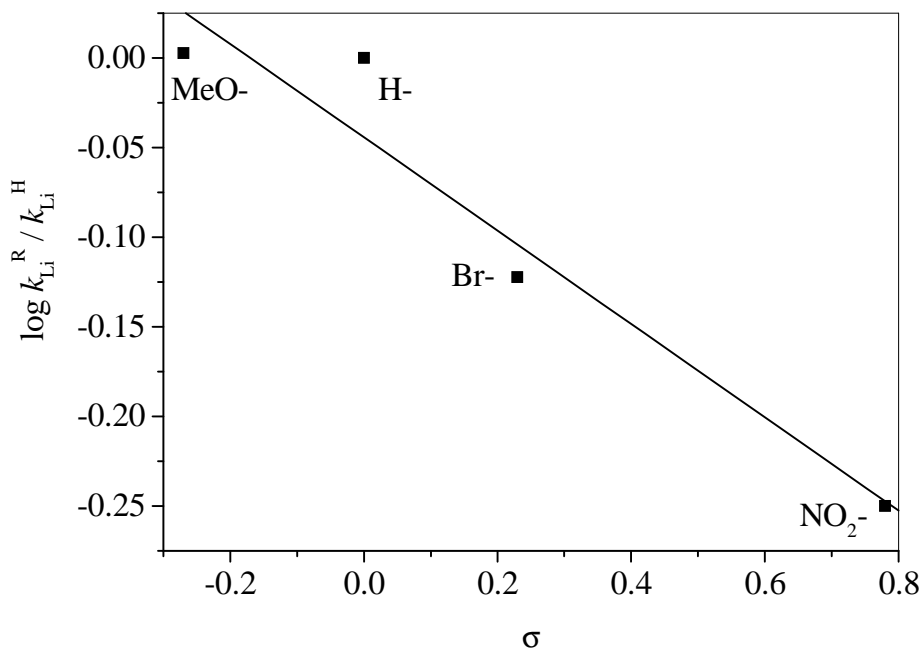
Az aktiválási paraméterek $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on a következők:

$$E_a = 17,35 \pm 0,95 \text{ kJ mol}^{-1}, \quad \Delta H^\ddagger = 14,70 \pm 0,99 \text{ kJ mol}^{-1},$$

$$\Delta S^\ddagger = -184,32 \pm 3,16 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}, \quad \Delta G^\ddagger = 70,57 \pm 1,95 \text{ kJ mol}^{-1}$$

A 4'-szubsztituált PhQuinHLi származékok oxigénezését elvégezve azt az eredményt kaptam, hogy a Hammett diagram lineáris (28. ábra), a reakcióállandó (ρ) értéke $-0,33$. Ebből arra következtettem, hogy a sebességmeghatározó lépés érzékeny a 3-as szénatom elektronsűrűségét befolyásoló tényezőkre. A Hammett egyenletben (43) szereplő ρ állandó negatív értéke pedig arra utal, hogy az elektronküldő szubsztituensek növelik a reakció sebességét. A hatás azzal magyarázható, hogy az elektronküldő szubsztituensek lecsökkentik a **74/56** redoxpotenciálját, így elősegítik az elektronátmenetet a dioxigénre. A 12. táblázatban összefoglaltam a 4'-szubsztituált PhQuinHLi származékok esetében mért reakciósebességi állandókat.

$$d \log k_{Li}^R / k_{Li}^H = \rho \sigma \quad (43)$$



28. Ábra. A PhQuinHLi oxigénezési reakciójának Hammett diagramja. [RPhQuinHLi]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 5,13 × 10⁻³ M, DMF, 50 cm³, 60 °C

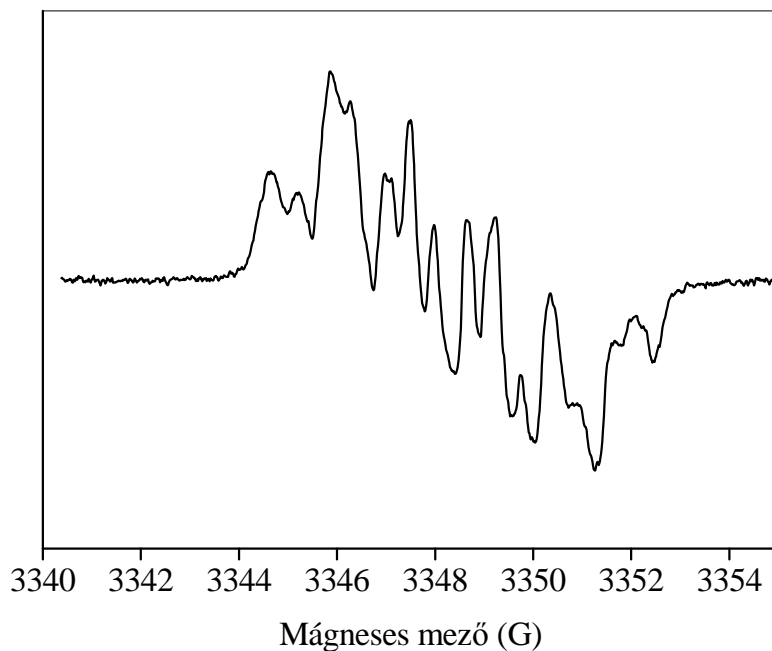
12. Táblázat. A 4'-helyettesített PhQuinHLi-származékok szubsztituens állandói és az oxigénezési reakció sebességi állandói.

R	s [37]	10² k_{Li} (M⁻¹s⁻¹)
MeO-	-0,27	12,50
H-	0,00	12,58
Br-	0,23	9,43
NO₂-	0,78	7,02

A reakcióelegyről készült ESR spektrumot a 29. ábrán mutatom be. Az ESR paraméterek: $g = 2,0044$, $a_N = 1,67$ G, $a_{Li} = 0,40$ G, $a_H = 1,30$ G, $a_{H'} = 1,13$ G.

Néhány oxigénezési kísérletet a 2,6-di-*terc*-butil-4-metil-fenol inhibitor jelenlétében is elvégeztem annak bizonyítására, hogy a (37) autoxidáció nem gyökös láncreakció. Az **56** gyök egy hidrogén gyököt von el az inhibitor molekuláról és PhQuinH₂ (**51**) képződik belőle.

Az inhibitorból 2,6-di-*terc*-butil-4-metil-fenoxil gyök keletkezik, amely a rezonancia által képes stabilizálódni és elvben nem lép reakcióba az elegyben lévő többi komponenssel. Amennyiben az **56** gyök koncentrációja megfelelően magas, feltételezhetjük, hogy irreverzibilis H• átmenet játszódik le a fenoxil gyökről az **56** gyökre és kinon-metid származék keletkezik a fenoxil gyökből [46]. A 13. táblázat 11. és 14. sorainak összehasonlításából kiderül, hogy a különbség nem jelentős az inhibitor nélkül és inhibitor jelenlétében mért reakciósebességi állandók között ($k_{Li} = 4,19 \times 10^{-1} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $k_{Li}(\text{inh}) = 3,46 \times 10^{-1} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Ezzel csak arra nyertünk bizonyítékot, hogy a (37) reakció nem gyökös láncreakció. Ellenkező esetben az inhibitor jelenlétében mért reakciósebességi állandó legalább egy nagyságrenddel csökkent volna. A reakciósebességi állandókat a PhQuinHLi koncentrációjának csökkenéséből határoztam meg. Ezért az inhibitor nélkül és az inhibitor jelenlétében mért reakciósebességi állandók értéke között nem várhatunk különbséget, amennyiben a reakció gyökök megjelenésével, de nem gyökös láncreakcióval játszódik le.



29. Ábra. A PhQuinHLi oxidációja során keletkező reakcióelegy ESR spektruma DMF-ben, 25 °C-on

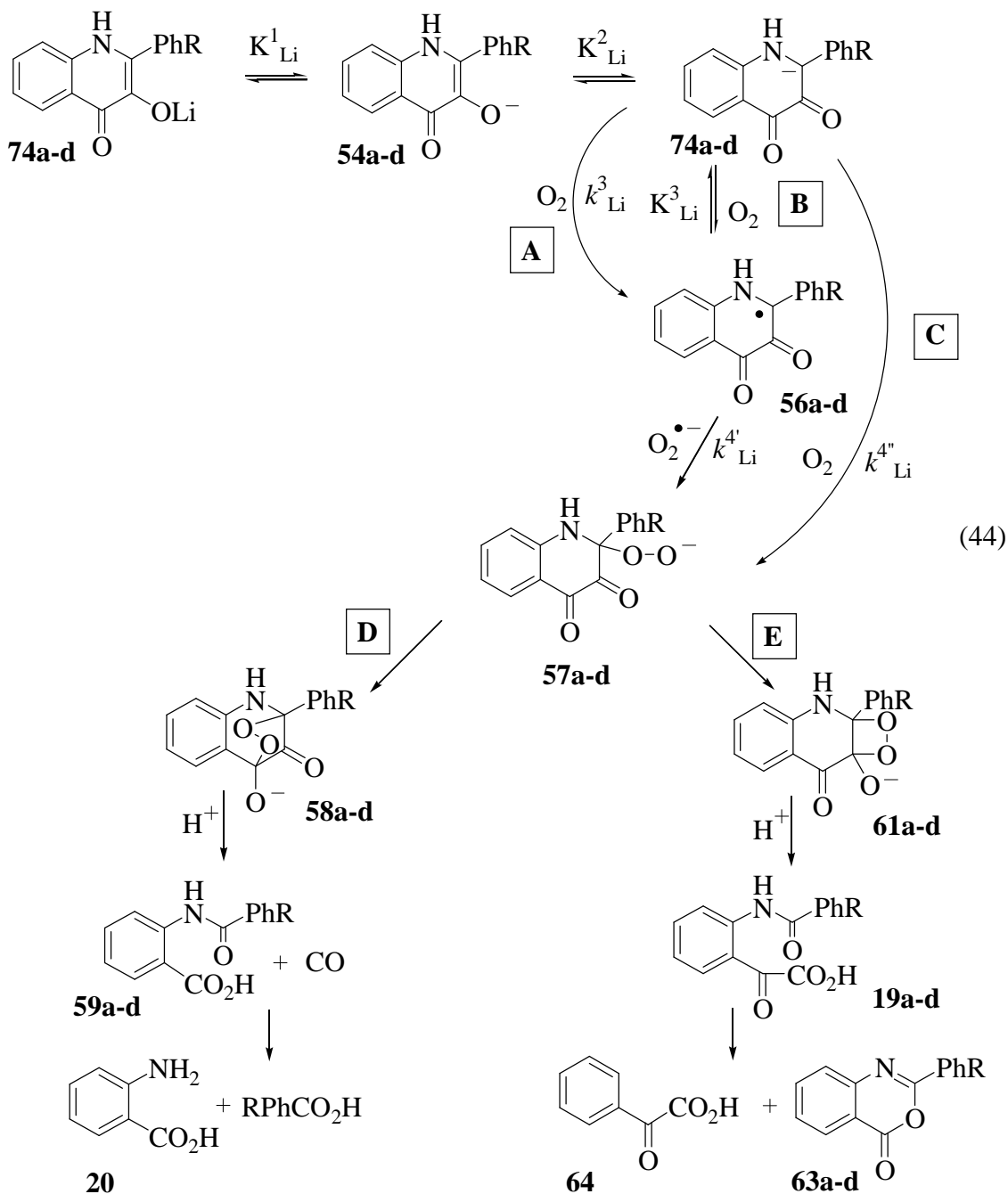
A PhQuinHLi oxidációjának kinetikai paramétereit a 13. táblázatban foglaltam össze [47].

13. Táblázat. A PhQuinHLi oxigénezésének kinetikai paramétere

Mérés száma	t (°C)	10 ³ [O ₂] (M)	10 ⁴ [75] (M)	10 ⁴ k _{Li} ' (s ⁻¹)	10 k _{Li} (M ⁻³ s ⁻¹)	10 ⁶ -d[75]/dt (M s ⁻¹)
1	60	6,34	5,00	6,79	1,07±0,09	0,34
2	60	6,34	10,52	9,86	1,56±0,12	1,04
3	60	6,34	19,32	11,36	1,79±0,07	2,20
4	60	6,34	31,00	11,55	1,82±0,07	3,58
5	60	6,34	39,71	10,79	1,70±0,09	4,28
6	60	1,27	5,00	2,92	2,30±0,31	0,15
7	60	3,75	5,00	6,33	1,69±0,08	0,32
8	60	5,07	5,00	7,64	1,51±0,05	0,38
9	60	6,57	5,00	11,21	1,71±0,03	0,56
10	15	3,69	20,00	0,97	0,26±0,05	0,19
11	30	5,13	20,00	2,15	0,42±0,01	0,43
12	60	6,34	20,00	4,61	0,73±0,12	0,92
13	80	7,15	20,00	7,33	1,03±0,01	1,47
14*	30	5,13	20,00	1,77	0,35±0,09	3,52

*[inhibítor] = 40 × 10⁻⁴ M

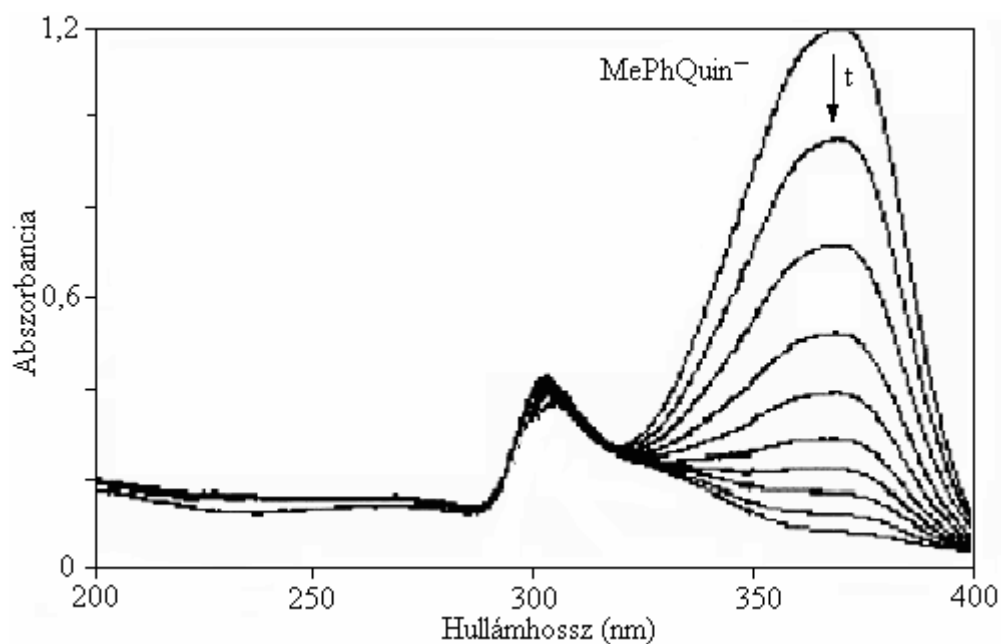
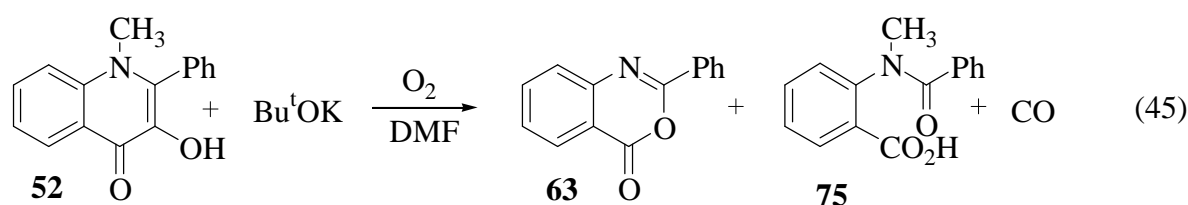
A kinetikai mérések alapján a (44) egyenlettel leírható javaslatot tettem a reakció mechanizmusára. A DMF-ben feloldott PhQuinHLi a K¹_{Li} egyensúlyi állandóval jellemezhetően disszociál az oldószerben, az egyensúly gyakorlatilag a jobb oldal irányába van eltolva. Az így kialakuló **54** anion a továbbiakban a (35) egyenletben ismertett mechanizmussal alakul át termékekké. A PhQuinHLi autoxidációjának vizsgálatával a **73** dianion zavaró hatását kiküszöbölve egyértelműen megállapítottam, hogy a (37) reakció sebessége első rend szerint függ a PhQuinHLi és a dioxigén koncentrációjától.



4.2.4. Az *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin báziskatalizált oxigénezésének kinetikai vizsgálata aprotos oldószerben

A 4.2.2. fejezetben a 16. ábrán mutattam be a PhQuinH₂ autoxidáció sebességének a Bu^tOK koncentrációtól való függését. Nagyobb, mint háromszoros bázisfelesleg alkalmazása esetén valószínűleg a **72** dianion megjelenése következtében csökkent a reakciósebesség. Amennyiben a heterociklikus gyűrű N-atomján helyettesített kinolonszármazék autoxidációját hajtottam végre, a **72** dianion képződése elkerülhető volt. Ezen kívül lehetőség nyílt annak

vizsgálatára, hogy a metil-csoport jelenléte a heterociklikus gyűrűben jelent-e változást az intermedierek stabilitásában vagy a reakció mechanizmusában. Tetrahydro-furánban szuszpendált *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin (MePhQuinH) (**52**) és butil-lítium reakciójában 95 %-os hozammal előállítottam az **52** Li-sóját. Az autoxidációs reakciót azonban nem tudtam a Li-só felhasználásával megvizsgálni, ugyanis a rendelkezésemre álló oldószerekben magasabb hőmérsékleten sem oldódott fel maradéktalanul. Ezért a MePhQuinH oxigénezési reakcióinak kinetikai vizsgálatát aprotinos közegben (vízmentes DMF) végeztem el a (45) egyenletnek megfelelően.



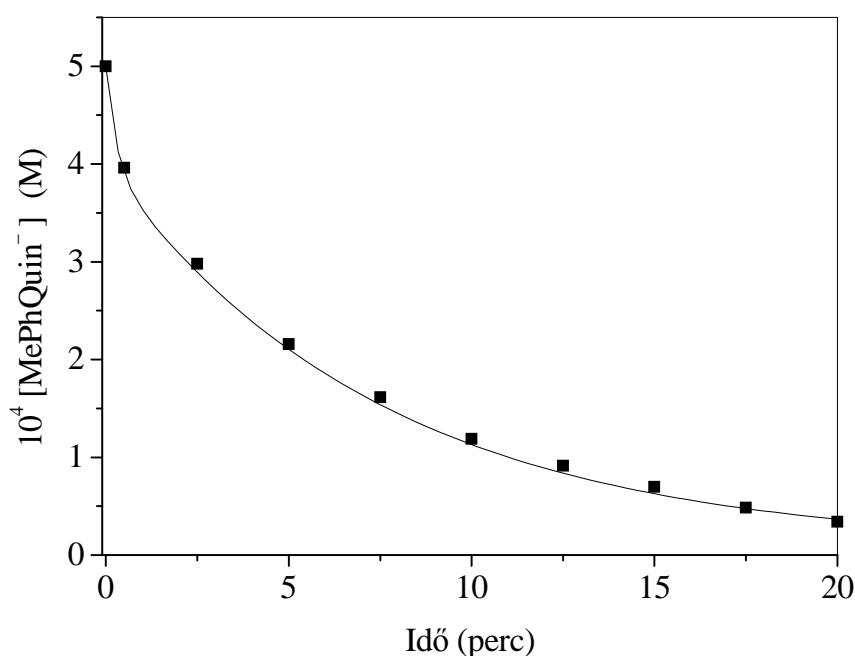
30. Ábra. A MePhQuin⁻ abszorpciós spektrumának időbeli változása bázis és dioxigén jelenlétében. $[\text{MePhQuinH}]_0 = 5,00 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 5,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $30 \text{ }^\circ\text{C}$

Először elkészítettem a szubsztrátum 50 cm^3 térfogatú ismert koncentrációjú oldatát DMF-ben, majd miután ezt adott hőfokra termosztáltam és dioxigénnel telítettem, a reakciókinetikai edényben hozzáadtam a kálium-*terc*-butoxidot. Az eredetileg sárga oldat színe szabad szemmel vizsgálva nem változott meg. A reakcióelegyről készült UV-látható

spektrumon 400 nm felett nem található jel, ezért ezt a hullámhossz tartományt nem is tüntettem fel a 30. ábrán. A MePhQuin⁻ koncentrációjának az idő függvényében történő változása jól nyomon követhető az UV-látható spektrumon 370,0 nm hullámhossznál. A MePhQuinH és a MePhQuin⁻-anion azonos hullámhossznál jelennek meg (ezt tapasztaltam a PhQuinH₂ és a belőle képződő PhQuinH⁻-anion esetében is). A termékelegy gázkromatográfiás vizsgálatának eredményét a 14. táblázatban mutatom be. A 31. ábrán a szubsztrátum koncentrációjának, a 32. ábrán pedig a koncentráció logaritmusának időbeli változása látható.

14. Táblázat. A MePhQuinH autoxidációjának termékösszetétele. 1 mmól MePhQuinH, 10 cm³ oldószer, T = 25 °C, p(O₂) = 1 bar, t = 6 h

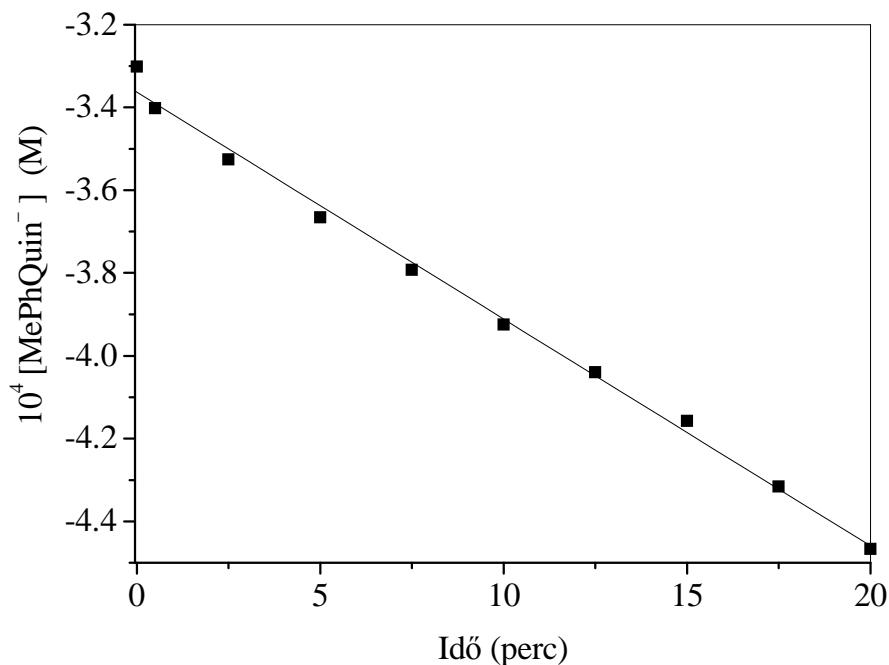
Termék	60	64	86	63
(mmól)	0,4256	0,0196	0,3147	0,3121



31. Ábra. A MePhQuin⁻ koncentrációjának változása az idő függvényében.

[MePhQuinH]₀ = 5,00 × 10⁻⁴ M, [O₂] = 5,13 × 10⁻³ M, [Bu^tOK]₀ = 7,50 × 10⁻⁴ M,
DMF, 50 cm³, 30 °C

Logaritmizálás után meghatároztam az egyenesek meredekségét, amiből kiszámoltam a reakciósebességi állandókat.



32. Ábra. A MePhQuin^- koncentráció logaritmusának változása az idő függvényében. $[\text{MePhQuinH}]_0 = 5,00 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 5,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 7,50 \times 10^{-4} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $30 \text{ }^\circ\text{C}$

Az oxidációs reakcióra a következő általános egyenlet (46) írható fel:



A (46) egyenlet állandó dioxid és báziskoncentráció (ld. (47) egyenlet) esetén a (48) formára egyszerűsödik.

$$k_{\text{Me}} [\text{Bu}^t\text{OK}]^z [\text{O}_2]^y = k'_{\text{Me}} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad [\text{Bu}^t\text{OK}] = \text{állandó} \quad (47)$$

$$-\text{d}[\text{MePhQuinH}]/\text{dt} = k'_{\text{Me}} [\text{MePhQuinH}]^x \quad (48)$$

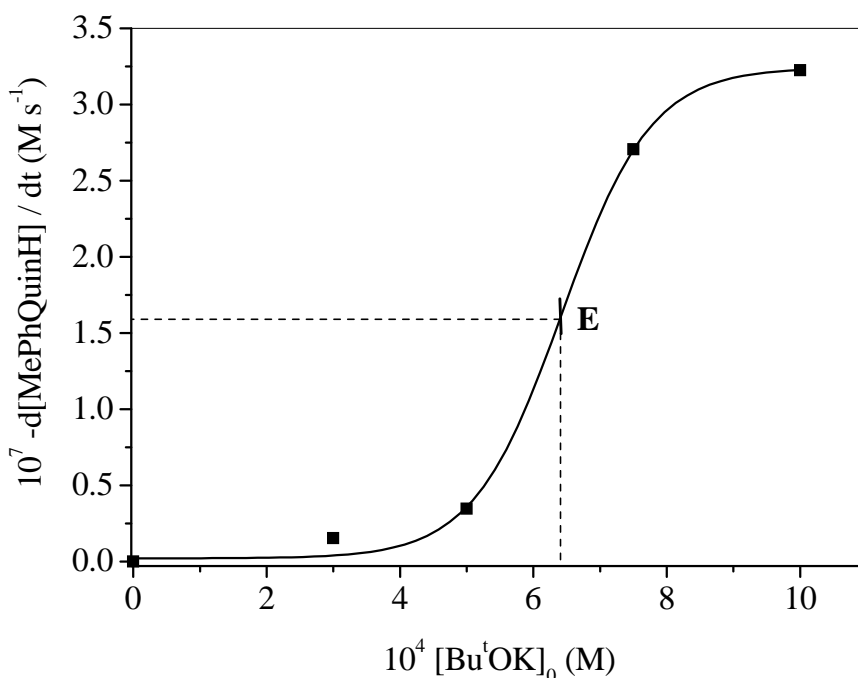
A $\log[\text{MePhQuinH}]$ -t ábrázolva az idő függvényében egyenest kaptam, ez alapján elmondható, hogy a szubsztrátum részrendje egy.

A további két reakciópartner részrendjének meghatározása céljából a méréseket különböző bázis és különböző dioxid koncentráció mellett végeztem el. A (46) egyenlet állandó dioxid- és MePhQuinH -koncentráció esetén az (50) formára egyszerűsödik. A reakciósebesség $[\text{Bu}^t\text{OK}]$ -tól való függését a 33. ábrán mutatom be.

$$k_{\text{Me}} [\text{MePhQuinH}]^x [\text{O}_2]^y = k''_{\text{Me}} \quad [\text{MePhQuinH}]_0 = \text{állandó}, \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad (49)$$

$$-d[\text{MePhQuinH}]/dt = k''_{\text{Me}} [\text{Bu}^t\text{OK}]^z \quad (50)$$

A görbe nem lineáris, titrálási görbe alakú. Mivel a MePhQuinH nem lép reakcióba a triplett dioxigénnel, ezért a reakció sebessége nyilvánvalóan a $[\text{MePhQuin}^-]$ -től függ. A $[\text{MePhQuin}^-]$ pedig a $[\text{Bu}^t\text{OK}]$ függvényében a 33. ábrán látható görbének megfelelően változik (ld. (51) egyenlet).



33. Ábra. A reakciósebesség függése a báziskoncentrációtól. $[\text{MePhQuinH}]_0 = 5,00 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 5,13 \times 10^{-3} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $30 \text{ }^\circ\text{C}$



A 33. ábráról leolvashatjuk az **E** ponthoz tartozó reakciósebesség és kiindulási Bu^tOK koncentrációkat. Az (52) egyenlet a reakciósebességet adja meg az **E** pontban, melynek felhasználásával az (51) egyensúly egyensúlyi állandójának közelítő értéke becsülhető ($K_{\text{Me}}^1 \approx 9,2 \times 10^{-5}$).

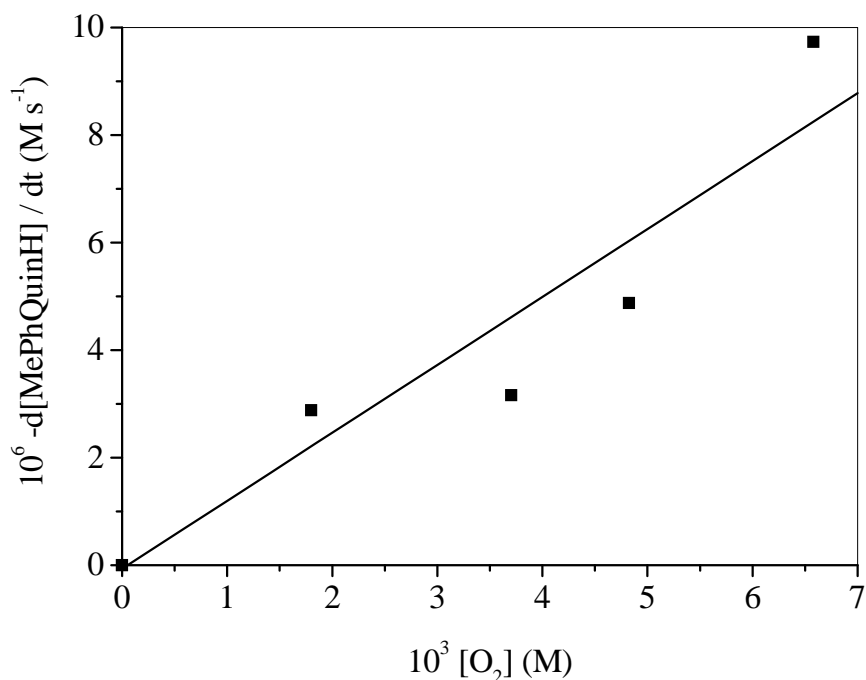
$$-d[\text{MePhQuinH}]/dt = k_{\text{Me}} \frac{K_{\text{Me}}^1 [\text{Bu}^t\text{OK}]_0}{1 + K_{\text{Me}}^1} [\text{O}_2] \quad (52)$$

A (46) általános egyenlet állandó MePhQuinH (52) és báziskoncentráció esetén az (54) formában írható fel.

$$k_{\text{Me}} [\text{MePhQuinH}]^x [\text{Bu}^t\text{OK}]^z = k''''_{\text{Me}} [\text{MePhQuinH}_2] = \text{állandó}, [\text{Bu}^t\text{OK}] = \text{állandó} \quad (53)$$

$$-d[\text{MePhQuinH}]/dt = k''''_{\text{Me}} [\text{O}_2]^y \quad (54)$$

A dioxygen részrendjének megállapítására az (53, 54) szerint ábrázoltam a reakció sebességét a dioxygen koncentráció függvényében (34. ábra). A pontok egy egyenes körül helyezkednek el, tehát a dioxygen részrendje egy, vagyis az (54) egyenletben $y = 1$.

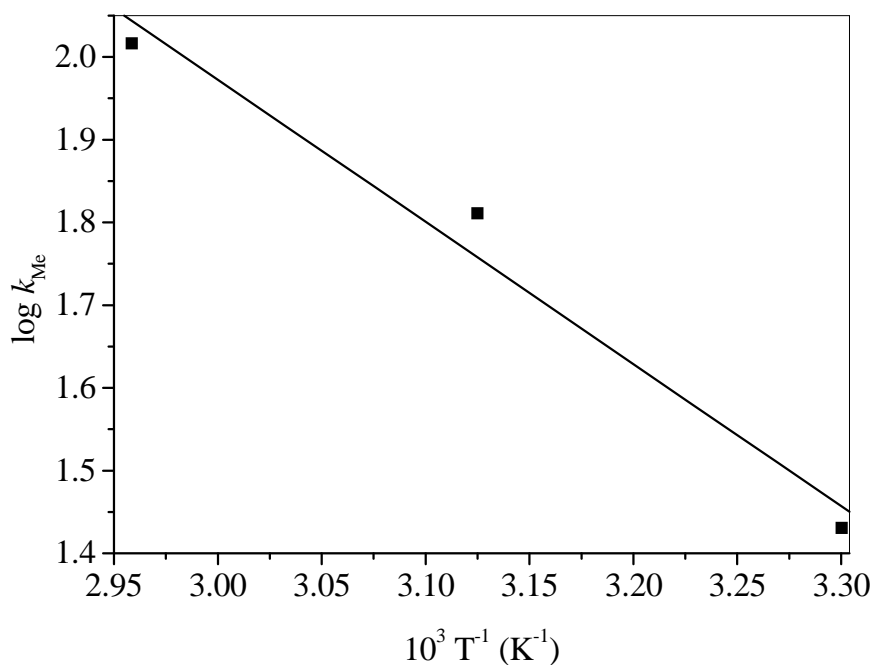


34. Ábra. A reakciósebesség függése a dioxygen koncentrációjától. $[\text{MePhQuinH}]_0 = 5,00 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{Bu}^t\text{OK}]_0 = 7,50 \times 10^{-4} \text{ M}$, DMF, 50 cm^3 , $30 \text{ }^\circ\text{C}$

Mivel a reakciósebesség a báziskoncentrációtól a 33. ábrán bemutatott módon függ, így a (46) egyenletet úgy módosítottam, hogy a szubsztrátum és báziskoncentráció helyett a $[\text{MePhQuin}^-]$ szerepeljen benne (55).

$$-d[\text{MePhQuinH}] / dt = k_{\text{Me}} [\text{MePhQuin}^-] [\text{O}_2] \quad (55)$$

Az oxigénezést különböző hőmérsékleten elvégezve azt találtam, hogy az Arrhenius (35. ábra) és az Eyring ábra lineáris. A kinetikai paramétereket a 15. táblázat tartalmazza.



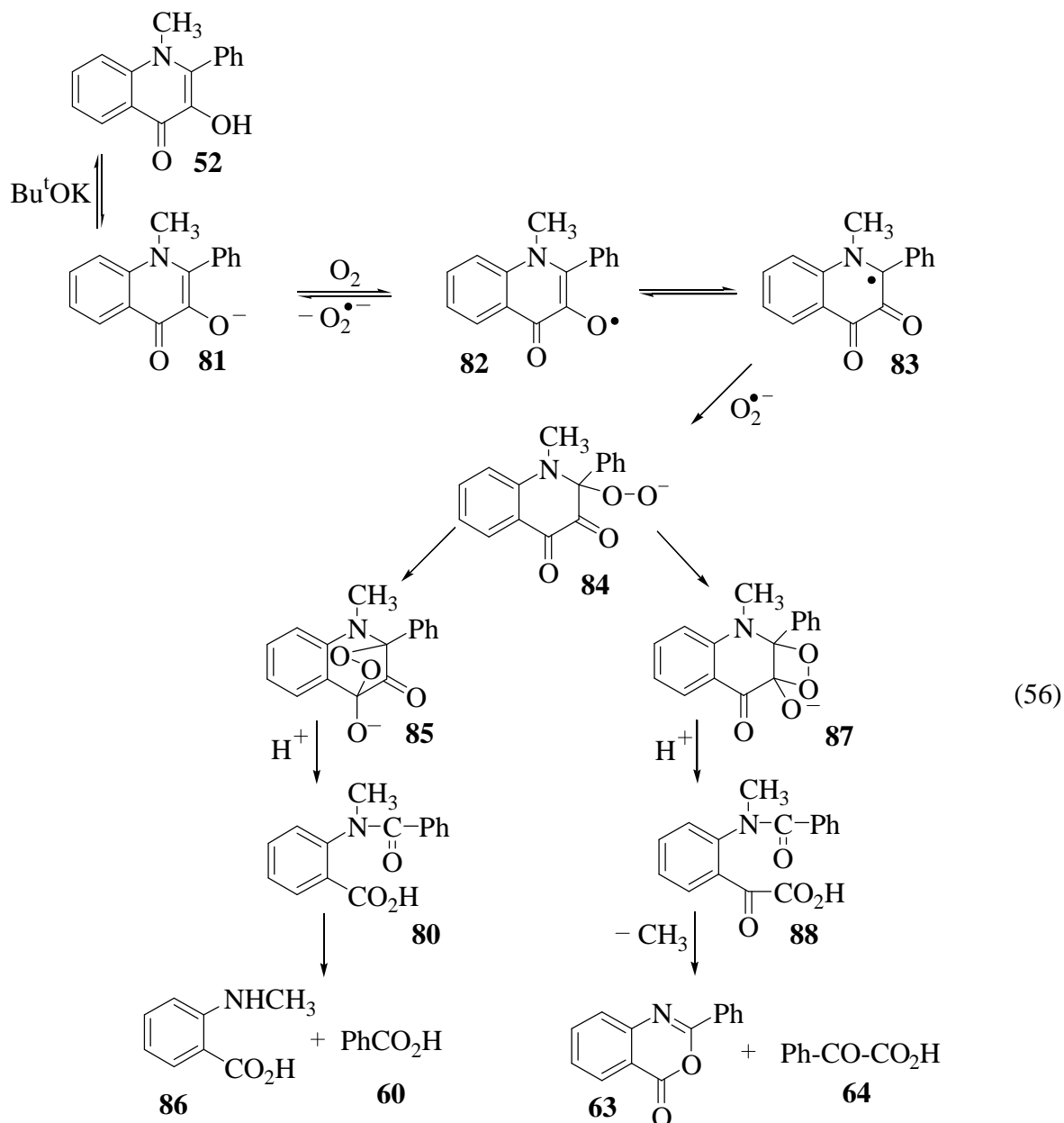
35. Ábra. A MePhQuinH oxigénezési reakciójának Arrhenius diagramja. $[MePhQuinH]_0 = 5,00 \times 10^{-4} M$, $[Bu^tOK]_0 = 5,00 \times 10^{-3} M$, DMF, $50 cm^3$

15. Táblázat. A MePhQuinH báziskatalizált oxigénezésének kinetikai paramétereit

Kísérlet szám	T (°C)	$10^3 [O_2]$ (M)	$10^4 [52]$ (M)	$10^4 [Bu^tOK]$ (M)	$10^4 k_{Me}'$ (s^{-1})	$10^2 k_{Me}$ ($M^{-2} s^{-1}$)	$10^7 -d[52]/dt$ ($M s^{-1}$)
1	30	5,13	5,00	3,00	0,31	$0,20 \pm 0,01$	0,15
2	30	5,13	5,00	5,00	0,70	$0,27 \pm 0,02$	0,35
3	30	5,13	5,00	7,50	5,41	$1,41 \pm 0,03$	2,71
4	30	5,13	5,00	10,00	6,45	$1,26 \pm 0,03$	3,22
5	15	1,80	3,13	3,13	9,21	$1,64 \pm 0,04$	28,83
6	15	3,71	3,13	3,13	10,09	$0,87 \pm 0,05$	31,59
7	15	4,83	3,13	3,13	15,58	$1,03 \pm 0,04$	48,77
8	15	6,58	3,13	3,13	31,09	$1,51 \pm 0,04$	97,31
9	47	5,81	5,00	5,00	1,88	$0,65 \pm 0,02$	0,94
10	65	6,51	5,00	5,00	3,38	$1,04 \pm 0,01$	1,69

A 30. ábrán bemutatott UV-látható spektrumon nem található szabad gyök jelenlétére utaló elnyelés, de az ESR spektroszkópia segítségével szerves gyökök mutathatók ki. Az átmenetileg keletkező szabad gyök viszonylag alacsony koncentrációjának magyarázata az lehet, hogy a MePhQuin• esetében nincs lehetőség olyan kiterjedt delokalizációra, mint a PhQuinH• esetében, mivel a N-atomon metil-csoportot tartalmaz. A reakcióelegyről készült ESR spektrum szimulációja során a következő paramétereket határoztam meg ($g_1 = 2,0059$, $a_N = 12,95$, $g_2 = 2,0058$, $a_N = 12,60$, $a_{2N} = 1,48$).

Az eddigiekben felvázolt eredmények alapján az (56) egyenlet szerinti mechanizmus javasolható az *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin (52) báziskatalizált autoxidációjára. Kálium-*tert*-butoxid hatására MePhQuinH-ból MePhQuin⁻-anion (76) keletkezik. A 76 anion gyors, egyensúlyi lépésben (SET) reagál a dioxigénnel és szuperoxid gyökkanion, valamint az oxigén atomon pár nélküli elektront tartalmazó 77 szabad gyök keletkezik. A gyök C-centrumú tautomer formája (78) reakcióba lép a szuperoxid gyökkanionnal lassú sebesség meghatározó lépésben és a 79 peroxid származékot kapjuk. Ha a 79 molekula peroxid része a 4-es szénatomot támadja belső nukleofil reakcióban, akkor a 80 endoperoxid keletkezik. Szén-monoxid kihaladása után *N*-benzoil-*N*-metil-antranilsavat (81), illetve a hidrolízis termékeket: *N*-metil-antranilsavat (81) és benzooesavat kapunk. Amennyiben a 79-ben a nukleofil támadás a 3-as szénatomra irányul, akkor a 82 1,2-dioxetán származék keletkezik, majd a heterociklusos gyűrű felbomlása után *N*-benzoil-*N*-metil-izatinsav (83). Az *N*-benzoil-*N*-metil-izatinsav (83) a metilcsoport távoztása után 3,1-benzoxazin származékká (63) alakul, amit gázkromatográfiásan kimutattam. A 83 gyűrűzáródása mellett hidrolízise is lejátszódhat, ahol fenil-glioxálsav (64) keletkezik.

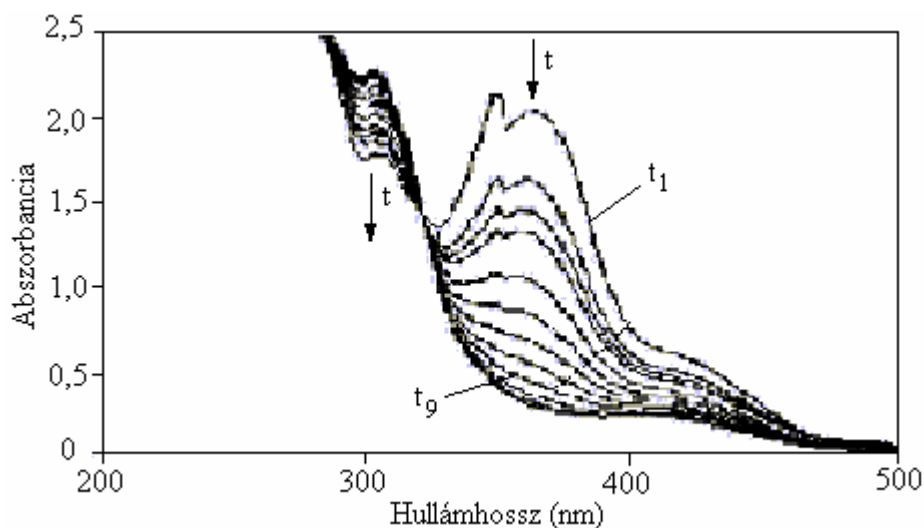
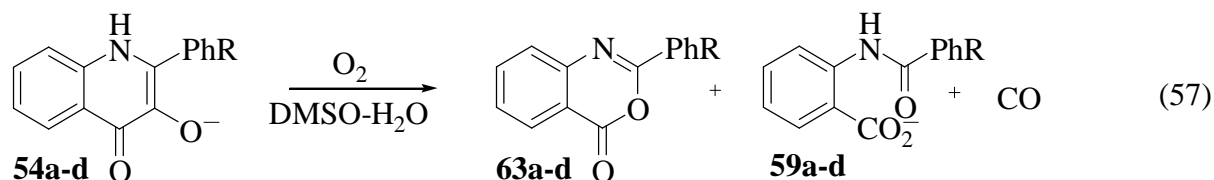


4.2.5. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin báziskatalizált oxigénezésének kinetikai vizsgálata protonos oldószerben

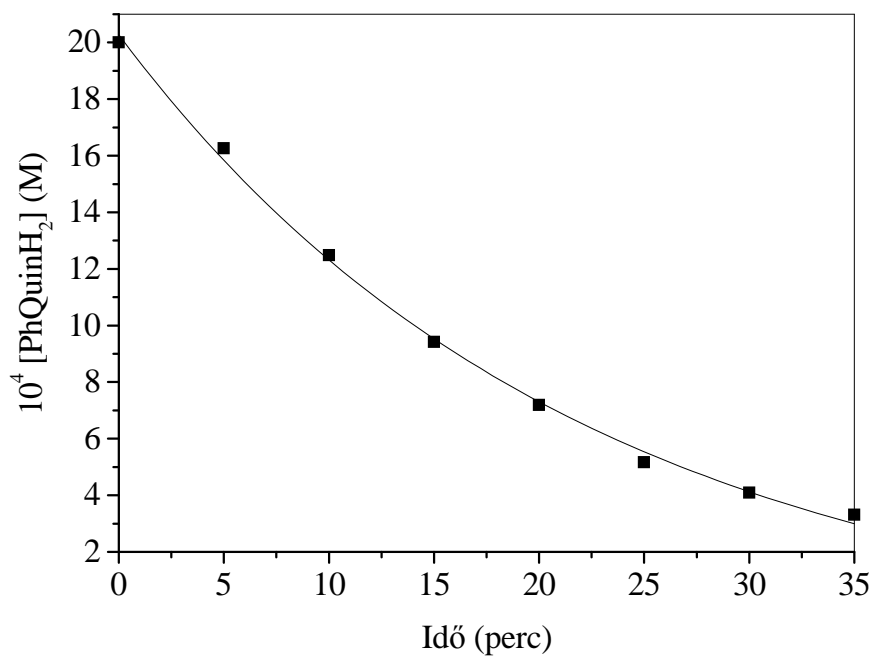
Számos példát találhatunk az irodalomban arra vonatkozólag, hogy az egyes biológiailag aktív vegyületek enzimatiskus lebontását modellező reakciókat protonos (vizes) közegben vizsgálták [48, 49, 50]. A modellek így jobban megközelítik a valóságot, mivel a biokémiai reakciók is vizes közegben játszódnak le. Ez természetesen nem zárja ki azt, hogy egy enzim aktív centruma hidrofób tulajdonságú legyen.

Az előző fejezetben bemutattam a PhQuinH₂ (**51**) és a MePhQuinH (**52**) autoxidációjának feltételezett mechanizmusát aprotinos oldószerben. A következőkben megvizsgáltam, hogyan változik meg a termékelegy összetétele és a rendszer kinetikai sajátsága, amennyiben a PhQuinH₂ oxigénezését protonos oldószerben hajtom végre.

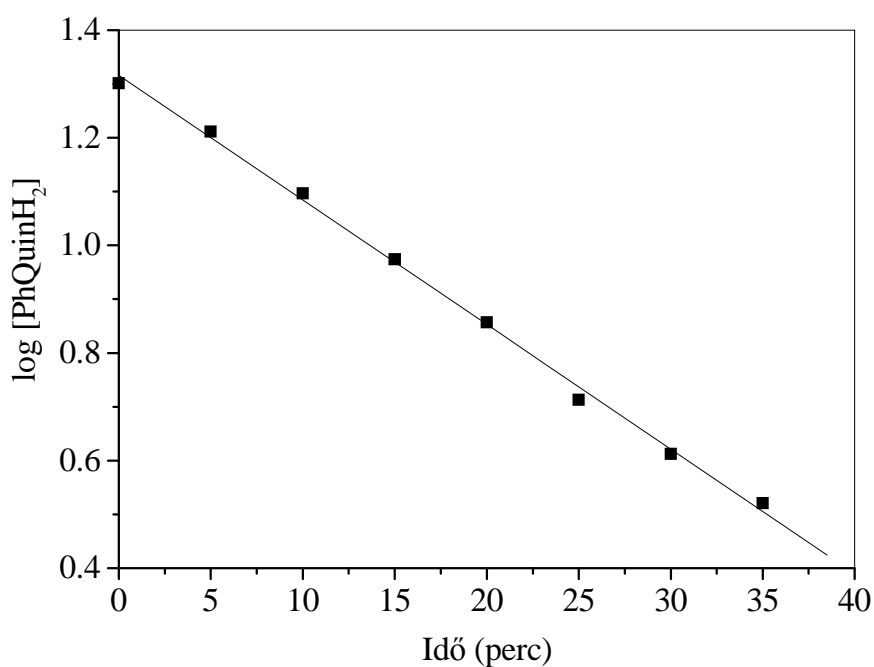
A méréseket DMSO-H₂O 50-50 %-os elegyében végeztem el az (57) egyenletnek megfelelően. A pH-t NaHCO₃-NaOH puffer alkalmazásával, az ionerősséget pedig KNO₃ hozzáadásával tartottam állandó értéken [51]. A reakció időbeli lefutásának nyomon követésére az ultraibolya-látható spektroszkópiát használtam úgy, hogy a szubsztrátum (**51**) aktuális koncentrációját a Lambert-Beer-törvény alapján számítottam ki. Az abszorbancia értékeket a PhQuinH₂ (**51**) estében 363,0 nm hullámhossznál rögzítettem. A 36. ábrán az abszorpciós spektrumnak az időbeli lefutását figyelhetjük meg dioxid jelenlétében. A t₁ jelű görbe a t = 0 időpillanathoz, míg a t₉ jelű a t = 45 perchez tartozik. A 37. ábra a PhQuinH₂ (**51**) koncentrációjának, a 38. ábra pedig a koncentráció logaritmusának időbeli változását mutatja be az oxigénezési reakció során [52].



36. Ábra. A PhQuinH₂ abszorpciós spektrumának időbeli változása bázis és dioxid jelenlétében. [PhQuinH₂]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 2,69 × 10⁻³ M, pH = 10,40, [Puffer] = 2,39 × 10⁻² M, I = 0,10 M, DMSO-H₂O, 20 °C



37. Ábra. A PhQuinH₂ koncentrációjának időbeli változása. [PhQuinH₂]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 2,69 × 10⁻³ M, pH = 10,40, [Puffer] = 2,39 × 10⁻² M, I = 0,10 M, DMSO-H₂O, 20 °C



38. Ábra. A log [PhQuinH₂] időbeli változása. [PhQuinH₂]₀ = 2,00 × 10⁻³ M, [O₂] = 2,69 × 10⁻³ M, pH = 10,40, [Puffer] = 2,39 × 10⁻² M, I = 0,10 M, DMSO-H₂O, 20 °C

A PhQuinH₂ (51) koncentrációjának logaritmusa az idő függvényében egyenest ad (38. ábra), amely alapján feltételezhető, hogy a reakció részrendje a szubsztrátumra nézve egy.

Az oxigénezési reakcióra az (58) általános egyenlet írható fel:

$$-d[\text{PhQuinH}_2]/dt = k_3 [\text{PhQuinH}_2]^x [\text{O}_2]^y [\text{OH}^-]^z \quad (58)$$

Az egyes reakciópartnerek részrendjének meghatározása céljából a méréseket különböző szubsztrátum és dioxid koncentrációk mellett végeztem el. Az (58) egyenlet állandó dioxid koncentráció és pH esetén (ld. az (59) egyenlet) a (60) egyenletnek megfelelő formára egyszerűsödik.

$$k_3 [\text{OH}^-]^z [\text{O}_2]^y = k'_3 \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad [\text{OH}^-] = \text{állandó} \quad (59)$$

$$-d[\text{PhQuinH}_2]/dt = k''_3 [\text{PhQuinH}_2]^x \quad (60)$$

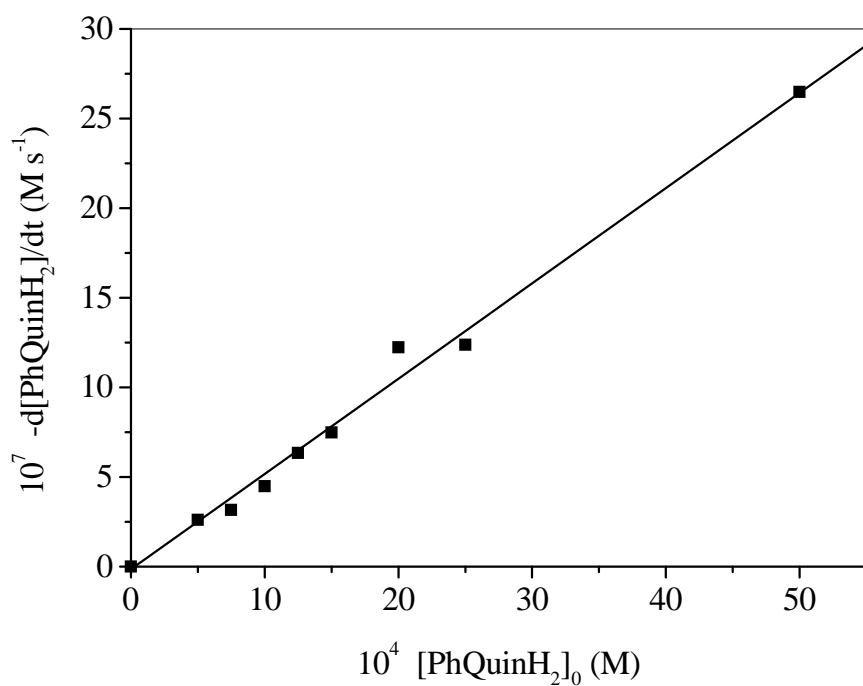
A szubsztrátum részrendjének megállapítására, illetve megerősítésére az (59, 60) egyenletek szerint ábrázoltam a reakciósebességi állandót a PhQuinH₂ kezdeti koncentrációjának függvényében (39. ábra). A kapott diagram alapján megállapítható, hogy az összefüggés lineáris, tehát a szubsztrátum részrendje egy ($x = 1$).

Az (58) általános egyenlet állandó PhQuinH₂ koncentráció és állandó pH esetén a (62) formában írható fel.

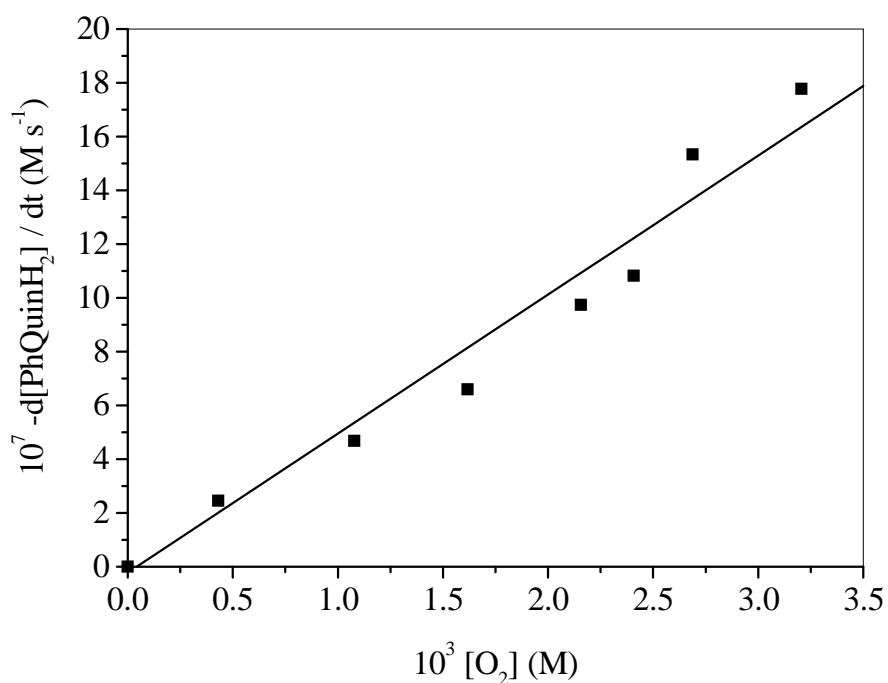
$$k_3 [\text{PhQuinH}_2]^x [\text{OH}^-]^z = k'''_3 \quad [\text{PhQuinH}_2] = \text{állandó} \quad \text{pH} = \text{állandó} \quad (61)$$

$$-d[\text{PhQuinH}_2] / dt = k'''_3 [\text{O}_2]^y \quad (62)$$

A dioxid részrendjének megállapítására a (61) egyenlet figyelembe vételével a (62) egyenlet szerint ábrázoltam a reakció sebességét a dioxid koncentrációk függvényében (40. ábra). Megállapítható, hogy az összefüggés lineáris, tehát a dioxid részrendje egy ($y = 1$).



39. Ábra. Az oxigénezési reakció sebessége a szubsztrátum koncentráció függvényében. $[\text{O}_2] = 2,09 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 10,00$, $[\text{Puffer}] = 2,39 \times 10^{-2} \text{ M}$, $I = 0,10 \text{ M}$, $\text{DMSO-H}_2\text{O}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$

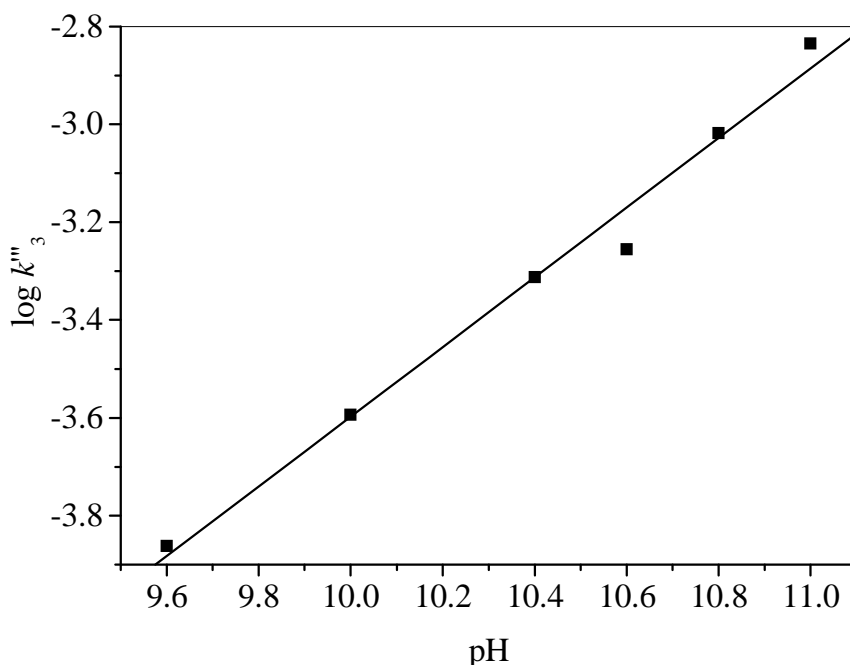


40. Ábra. Reakciósebesség vs. dioxigén koncentráció. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 10,40$, $[\text{Puffer}] = 2,39 \times 10^{-2} \text{ M}$, $I = 0,10 \text{ M}$, $\text{DMSO-H}_2\text{O}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$

Vizsgáltam továbbá azt is, hogy milyen hatással van a reakció sebességére a bázis koncentrációjának változása. Állandó szubsztrátum és dioxigén koncentráció mellett a (64) egyenletnek megfelelően ábrázoltam az észlelt reakciósebességi állandó logaritmusát a pH függvényében. A 41. ábra jól mutatja, hogy a reakciósebesség a hidroxid-ionok koncentrációjától első rend szerint függ, tehát a (64) egyenletben $z = 1$.

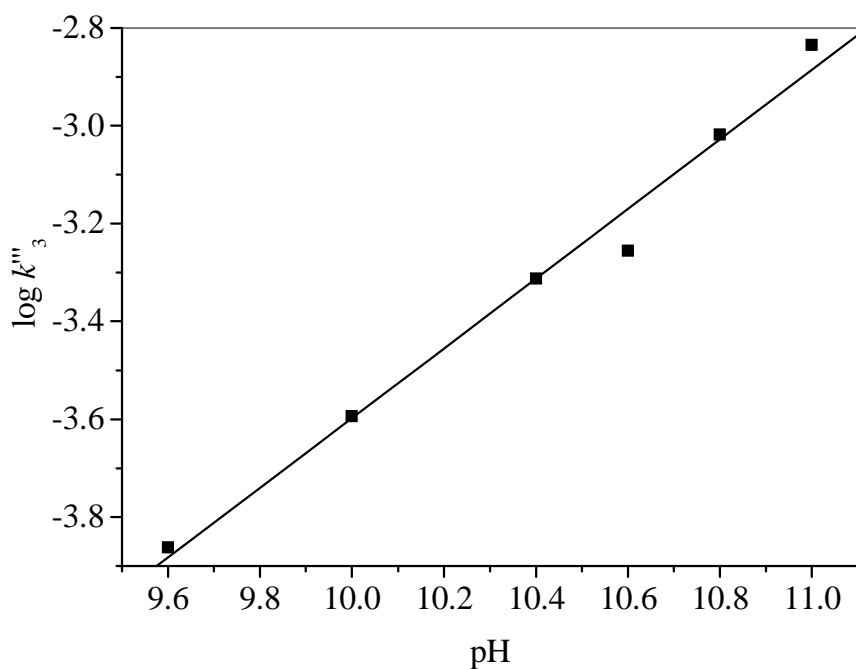
$$k_3 [\text{PhQuinH}_2]^x [\text{O}_2]^y = k'''_3 \quad [\text{PhQuinH}_2] = \text{állandó} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad (63)$$

$$-d[\text{PhQuinH}_2]/dt = k'''_3 [\text{OH}]^z \quad (64)$$

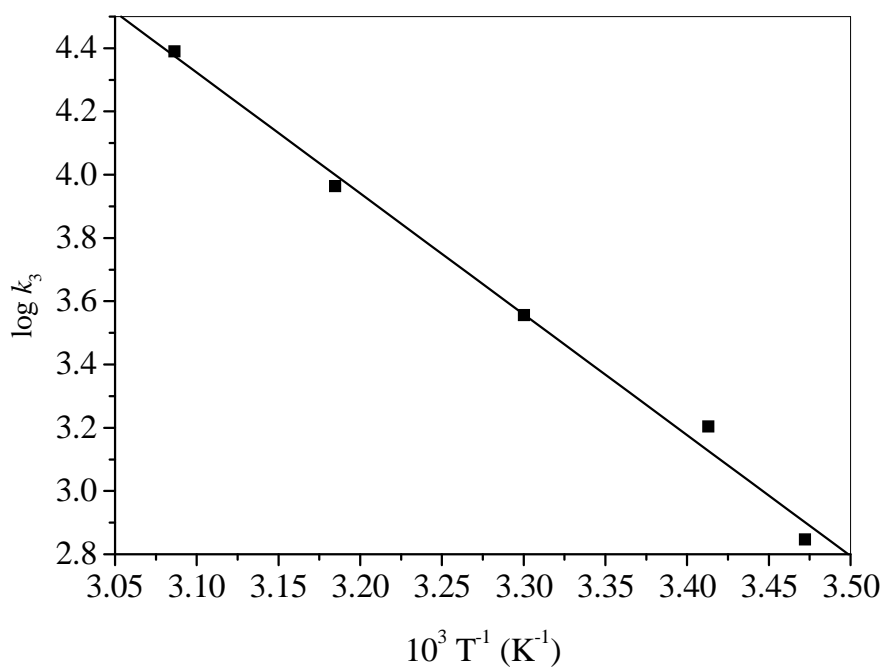


41. Ábra. Az oxigénezési reakció észlelt sebességi állandójának logaritmusa a pH függvényében. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 2,16 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 10,40$, $[\text{Puffer}] = 2,39 \times 10^{-2} \text{ M}$, $I = 0,10 \text{ M}$, $\text{DMSO-H}_2\text{O}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$

A továbbiakban meg kívántam állapítani, hogy az (57) reakció általános vagy specifikus báziskatalizált reakció-e. Ennek eldöntésére azonos hidroxid-ion koncentráció mellett különböző koncentrációjú pufferoldatokat alkalmazva mértem a reakció sebességét (17. táblázat 25-27. mérés). Mivel a reakció sebessége gyakorlatilag nem változott meg akkor sem, amikor a pufferoldat koncentrációját hatszorosára változtattam, így megállapítható, hogy a reakció specifikusan a hidroxid-ionok által katalizált (42. ábra). Az oxigénezést különböző hőmérsékleten elvégezve azt találtam, hogy az Arrhenius (43. ábra) és az Eyring összefüggés lineáris.



42. Ábra. Az oxigénezési reakció sebessége a puffer-koncentráció függvényében. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 2,16 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 10,40$, $I = 0,10 \text{ M}$, DMSO- H_2O , $20 \text{ }^\circ\text{C}$



43. Ábra. A PhQuinH₂ oxigénezési reakciójának Arrhenius diagramja. $[\text{PhQuinH}_2]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $\text{pH} = 9,60$, $[\text{Puffer}] = 2,39 \times 10^{-2} \text{ M}$, $I = 0,10 \text{ M}$, DMSO- H_2O , $20 \text{ }^\circ\text{C}$

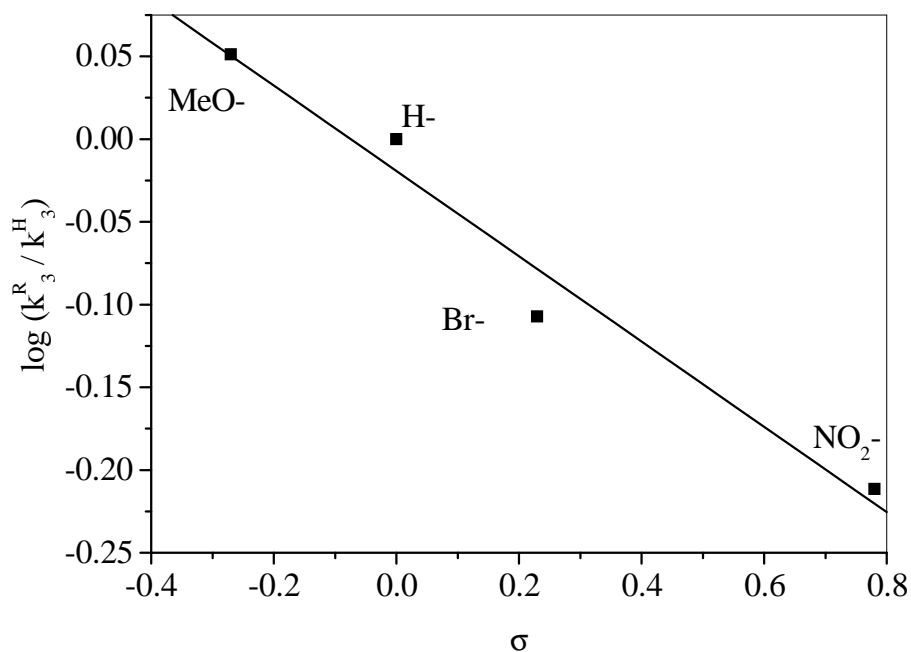
Az aktiválási paraméterek 20 °C-on a következők:

$$E_A = 73,13 \pm 4,02 \text{ kJ mol}^{-1}, \quad \Delta H^\ddagger = 70,60 \pm 4,04 \text{ kJ mol}^{-1}$$

$$\Delta S^\ddagger = -27,47 \pm 1,51 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}, \quad \Delta G^\ddagger = 78,93 \pm 4,49 \text{ kJ mol}^{-1}$$

20 °C-on meghatároztam az oxigénezési reakció sebességi állandójának értékét a 4'-helyzetben helyettesített PhQuinH₂-származékok (**51a-c**) esetében is. A kapott értékek a 16. táblázatban találhatóak. A $\log(k_3^R / k_3^H)$ -t ábrázolva a szubsztituens állandók (σ) függvényében egyenest kaptam (44. ábra), melynek meredekségéből a Hammett egyenlet (65) reakcióállandójának (ρ) értékét kiszámítottam ($\rho = -0,258$).

$$\text{dlog } k_3^R / k_3^H = \rho \sigma \quad (65)$$



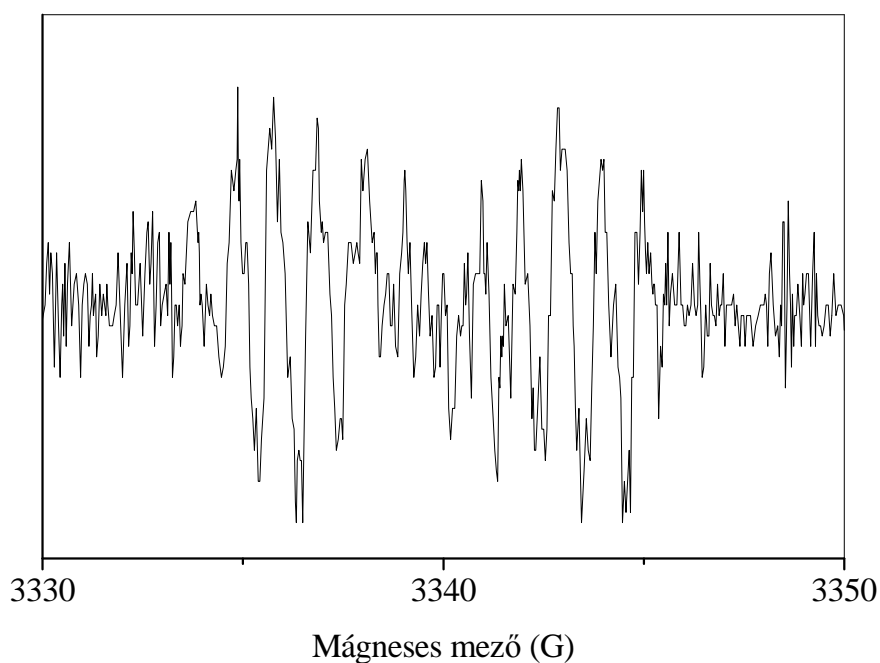
44. Ábra. A 4'-helyzetben helyettesített PhQuinH₂-származékok oxigénezési reakciójának Hammett diagramja. $[\mathbf{51a-d}]_0 = 2,00 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{O}_2] = 2,16 \times 10^{-3}$, $\text{pH} = 10,0$, $[\text{Puffer}] = 2,39 \times 10^{-2} \text{ M}$, $I = 0,10 \text{ M}$, DMSO-H₂O, 20 °C

16. Táblázat. A 4'-helyzetben helyettesített PhQuinH₂-származékok oxigénezési reakciójának sebességi állandói

R	s [37]	10⁻² k^R₃ (s⁻¹ mol⁻¹ dm³)
MeO-	-0,27	11,574
H-	0,00	10,288
Br-	0,23	8,037
NO₂-	0,78	6,321

A (65) Hammett összefüggés lineáris, ami azt mutatja, hogy a sebesség meghatározó lépés érzékeny a központi atom elektronsűrűségét befolyásoló tényezőkre. A ρ állandó negatív előjele pedig arra utal, hogy elektrondonor szubsztituensek növelik a reakció sebességét.

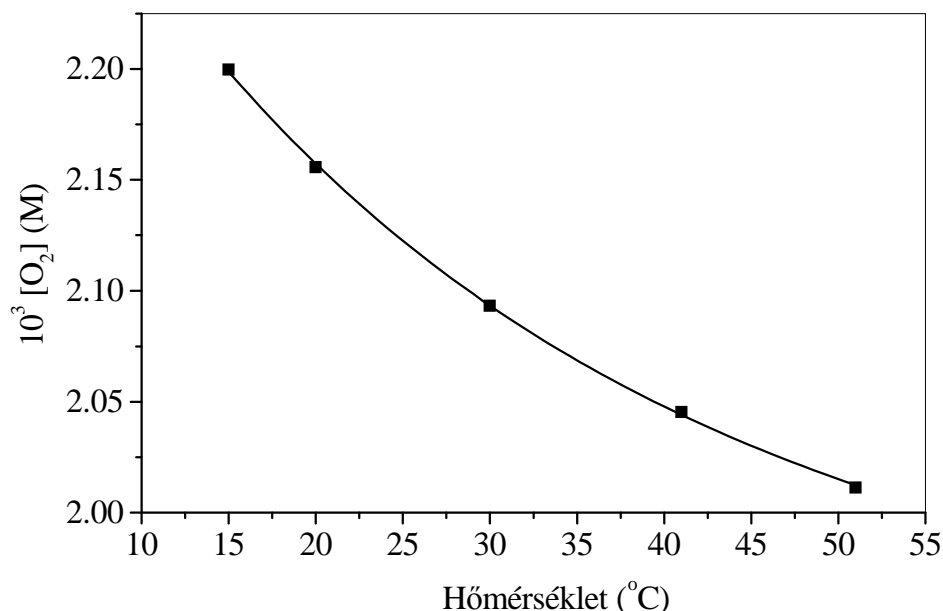
A 45. ábrán a PhQuinH₂ DMSO-H₂O oldószerben végrehajtott autoxidációjának reakcióelegyéről készült ESR spektrumot mutatom be.



45. Ábra. A reakcióelegyéről készített ESR spektrum a PhQuinH₂ báziskatalizált oxigénezésének esetében DMSO-H₂O oldószerben, 25 °C-on

A szimuláció után kapott ESR paraméterek a következők: $g = 2,0036$, $a_N = 1,03$, $a_H = 6,05$, $a_{H'} = 1,15$, $a_{H''} = 0,9$. A szabad gyökök koncentrációja alacsony volt, ezért az UV-látható spektroszkópia segítségével nem tudtam kimutatni azokat. Az alacsony koncentráció részben azzal magyarázható, hogy a DMSO-H₂O oldószerkeletben a szabad gyökök elreagálnak az oldószerrel, részben pedig azzal, hogy a reakció főként nem gyökös mechanizmussal játszódik le. Néhány *tert*-butil-fenol származék hatásos gyökfogónak bizonyult aprotinos és protonos oldószerkeletben egyaránt, ezért kétszeres feleslegben alkalmazott 2,6-di-*tert*-butil-4-metil-fenol inhibitor jelenlétében is elvégeztem az oxigénezési reakciót [46, 53]. A 17. táblázat 23. és 29. sorainak összehasonlításából kiderül, hogy az inhibitor nélkül és az inhibitor jelenlétében mért reakciósebességi állandók között nincs nagy különbség ($k_3 = 181 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $k_{3\text{inh}} = 214 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Ebből arra következtettem, hogy az (57) egyenlet szerinti reakció nem gyökös láncreakció.

A számításokhoz szükséges dioxid koncentráció adatok DMSO-H₂O oldószerkeletben irodalmi forrásból nem álltak rendelkezésre, ezért ennek meghatározása a kísérleti részben leírt módon történt. A 46. ábra a dioxid koncentrációját mutatja be a hőmérséklet függvényében.



46. Ábra. A dioxid koncentrációja a hőmérséklet függvényében, DMSO-H₂O, $p_{\text{O}_2} = 10 \text{ Hgmm}$, $\text{pH} = 10,6$, $[\text{Puffer}] = 2,39 \times 10^{-2} \text{ M}$, $I = 0,1 \text{ M}$

17. Táblázat. A PhQuinH₂ protonos oldószerben lejátszódó oxigénezési reakciójának reakciókinetikai adatai

	T (°C)	10 ³ [O ₂] (M)	10 ⁴ [51] (M)	pH	10 ² [Puffer] (M)	10 ⁴ k' _{OH⁻} (s ⁻¹)	10 ⁻³ k ₃ (M ⁻² s ⁻¹)	10 ⁻¹⁵ k _P (M ⁻¹ s ⁻¹)	10 ⁷ -d[51]/dt (M s ⁻¹)
1	30	2,09	5,0	10,0	2,39	5,20	2,489	1,87±0,08	2,60
2	30	2,09	7,5	10,0	2,39	4,22	2,020	1,51±0,07	3,17
3	30	2,09	10,0	10,0	2,39	4,49	2,149	1,61±0,06	4,49
4	30	2,09	12,5	10,0	2,39	5,08	2,429	1,82±0,09	6,35
5	30	2,09	15,0	10,0	2,39	4,99	2,387	1,79±0,08	7,49
6	30	2,09	20,0	10,0	2,39	6,12	2,927	2,19±0,09	12,24
7	30	2,09	25,0	10,0	2,39	4,95	2,369	1,78±0,12	12,38
8	30	2,09	50,0	10,0	2,39	5,30	2,534	1,90±0,09	26,49
9	20	0,43	20,0	10,4	2,39	1,23	1,135	0,85±0,02	2,46
10	20	1,08	20,0	10,4	2,39	2,34	0,864	0,65±0,01	4,68
11	20	1,62	20,0	10,4	2,39	3,30	0,813	0,61±0,01	6,60
12	20	2,16	20,0	10,4	2,39	4,87	0,898	0,67±0,01	9,74
13	20	2,41	20,0	10,4	2,39	5,41	0,896	0,67±0,01	10,82
14	20	2,69	20,0	10,4	2,39	7,52	1,135	0,85±0,01	15,33
15	20	3,21	20,0	10,4	2,39	8,89	1,103	0,83±0,02	17,77
16	15	2,20	20,0	9,6	2,39	0,61	0,702	0,53±0,01	1,23
17	20	2,16	20,0	9,6	2,39	1,37	1,600	1,20±0,09	2,75
18	30	2,09	20,0	9,6	2,39	2,99	3,594	2,69±0,05	5,99
19	40	2,05	20,0	9,6	2,39	7,49	9,196	6,90±1,16	14,97
20	50	2,01	20,0	9,6	2,39	19,65	24,554	18,40±0,77	39,31
21	20	2,16	20,0	10,0	2,39	2,55	1,182	0,89±0,02	5,10
22	20	2,16	20,0	10,4	2,39	4,87	0,900	0,67±0,01	9,74
23	20	2,16	20,0	10,6	2,39	5,55	0,647	0,49±0,02	11,11
24	20	2,16	20,0	10,8	2,39	9,60	0,705	0,53±0,04	19,19
25	20	2,16	20,0	11,0	2,39	14,63	0,678	0,51±0,04	29,26
26	20	2,16	20,0	11,0	7,12	12,24	0,568	0,43±0,01	24,49
27	20	2,16	20,0	11,0	9,54	13,75	0,638	0,48±0,01	27,50
28	20	2,16	20,0	11,0	14,31	13,75	0,638	0,48±0,01	27,49
*29	20	2,156	20,0	10,6	2,39	4,221	0,493	0,369±0,010	8,443

* [Inhibitor] = 4,0 × 10⁻³ M

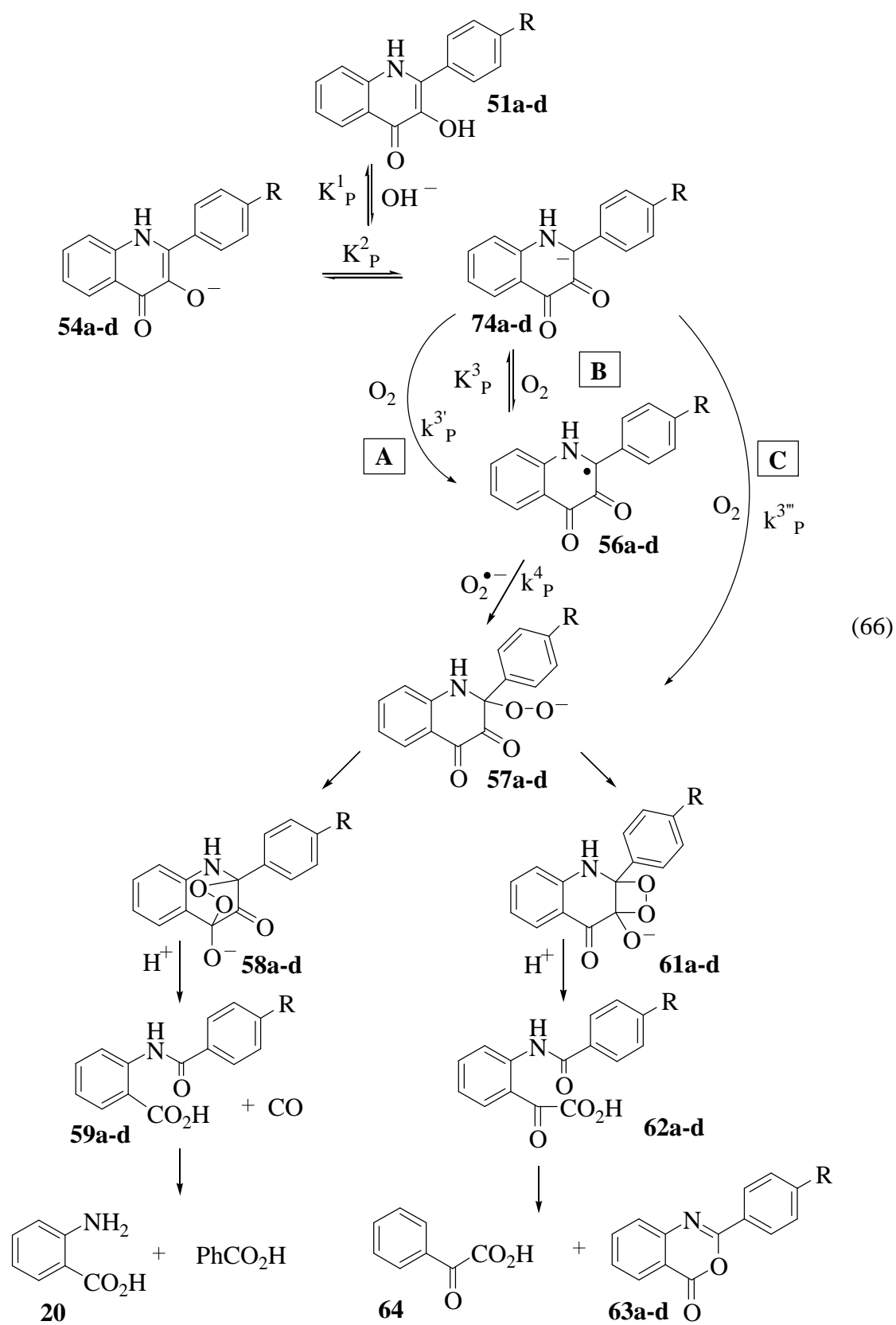
Az (57) egyenlet szerint végrehajtott kísérletek esetében szintén megmértem az endoperoxid (58) és az 1,2-dioxetán (61) köztiterméken keresztül lejátszódó reakcióutak arányát gázvolumetriás módszerrel. Az eredményeket a 18. táblázatban foglaltam össze.

18. Táblázat. Az egyes reakcióutak aránya a 4'-helyettesített PhQuinH₂-származékok oxigénezési reakciójában (0,42 mmól szubsztátum, 0,6 mmól NaOH, t = 30 °C, DMSO-H₂O)

R	Endoperoxid / 1,2-dioxetán
-OMe	26 : 74
-H	52 : 48
-Br	37 : 63
-NO₂	54 : 46

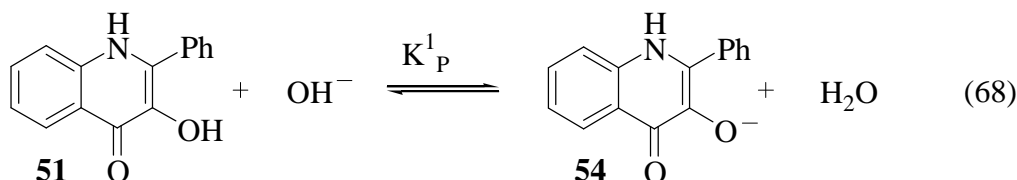
Megállapítható, hogy az endoperoxid / 1,2-dioxetán arány és a szubsztituensek σ állandói között nincs összefüggés.

A kinetikai mérések és a spektroszkópiai vizsgálatok alapján a (66) mechanizmus tételezhető fel, amely három fő reakcióutat tartalmaz [54]. Az **A** reakcióút szerint a deprotonált PhQuinH₂ mezomer formája (73) reakcióba lép a dioxigénnel egy elektron átmenettel lejátszódó lépésben (SET), amelyben az 56 szerves gyök és szuperoxid-gyökanion keletkezik. A 4.2.2. fejezetben ismertetett, aprotonos oldószerben végrehajtott kinetikai vizsgálatok alapján ez valószínűleg egy gyors lépés. Ezután a gyökök közötti reakcióban - amely a sebességet meghatározó lépés - egy deprotonált hidroperoxid intermedier (57) keletkezik. A **B** reakcióútban leírt mechanizmus szerint a SET gyors [42], egyensúlyra vezető lépés és az egyensúly a kiindulási anyagok irányába tolódik el. Ezt követi egy lassú lépés, amely teljesen azonos az **A** reakcióútban leírtakhoz. Végül a **C**-vel jelölt reakciósorban a karbanion lassú folyamatban reakcióba lép a dioxigénnel és közvetlenül az 57 hidroperoxid származékot kapjuk. A kísérleti tapasztalatok azt mutatták, hogy a szabad gyökök csak kis koncentrációban vannak jelen a reakcióelegyben, így az a legvalószínűbb, hogy a **C** reakcióút a domináns a felvázolt lehetőségek közül. Ellenkező esetben nem kapnánk jelentős mennyiségű, az enzimátikus útnak megfelelő terméket a gyököknek a vízzel lejátszódó mellékreakciója következtében. A **C** reakcióút nagyobb valószínűségét az is alátámasztja, hogy a reakciósebesség első rend szerint függ a dioxigén koncentrációjától.



Mivel a PhQuinH₂ (**51**) nem lép reakcióba a dioxigénnel csak az **54** deprotonált forma, ezért az (58) egyenlet a következőképpen módosítható (67).

$$-d[\text{PhQuinH}_2] / dt = k_p [\text{PhQuinH}^-] [\text{O}_2] \quad K_P^1 = \frac{[\text{PhQuinH}^-] [\text{H}_2\text{O}]}{[\text{PhQuinH}_2] [\text{OH}^-]} \quad (67)$$



A (68) egyenlet alapján K_P^1 egyensúlyi állandót bevezetve a reakció sebességi egyenlete a (69) formában írható fel.

$$-d[\text{PhQuinH}_2] / dt = \frac{k_p K_P^1}{[\text{H}_2\text{O}]} [\text{OH}^-] [\text{PhQuinH}_2] [\text{O}_2] \quad (69)$$

A 19. táblázatban megtaláljuk az egyes PhQuinH₂ származékokra vonatkozó egyensúlyi állandókat (K_P^1) a reakciósebességi állandó (k_p) értéke pedig 30 °C-on pH = 9,6-nál, PhQuinH₂-ra $(2,69 \pm 0,05) \times 10^{15} \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Az (58) és a (69) egyenletek összehasonlításával k_3 reakciósebességi állandó a következőképpen számítható (70).

$$k_3 = \frac{k_p K_P^1}{[\text{H}_2\text{O}]} \quad (70)$$

19. Táblázat. A 4'-szubsztituált PhQuinH₂ származékok deprotonálódási állandói (K_P^1) és azok negatív tizes alapú logaritmusai ($\text{p}K_P^1$) DMSO-H₂O oldószerben

Komponens	* $10^{11} K_P^1$	$\text{p}K_P^1$
PhC ₆ H ₄ QuinH ₂ (5a)	3,715	10,43 (1)
4BrC ₆ H ₄ QuinH ₂ (5c)	1,164	10,93 (4)
4MeOC ₆ H ₄ QuinH ₂ (5b)	2,339	10,63 (1)
4NO ₂ C ₆ H ₄ QuinH ₂ (5d)	3,381	9,47 (1)

* A víz ionszorzata $K_V = 10^{-15,41}$ DMSO-H₂O elegyben.

Feltételezve, hogy a (66) reakció a **B** reakcióúton megy végbe figyelembe kell vennünk a meglévő egyensúlyt az **54** anion és a dioxigén között, amelynek egyensúlyi állandója K_P^2 . Az **56** gyök koncentrációjára feltételezve a kvázi-stacionárius állapot elvét [37], a (71) sebességi egyenletet kaptam.

$$-d [\text{PhQuinH}_2] / dt = \frac{K_P^1}{[\text{H}_2\text{O}]} K_P^2 K_P^3 k_P^4 [\text{PhQuinH}_2] [\text{OH}^-] [\text{O}_2] \quad (71)$$

Amennyiben a **C** reakcióútnak megfelelő mechanizmust tételezem fel, a (72) sebességi egyenlet vezethető le.

$$-d [\text{PhQuinH}_2] / dt = \frac{K_P^1}{[\text{H}_2\text{O}]} K_P^2 k_P^{3''} [\text{PhQuinH}_2] [\text{OH}^-] [\text{O}_2] \quad (72)$$

A (71) és a (72) egyenletek összehasonlításából a (73) egyenlet írható fel.

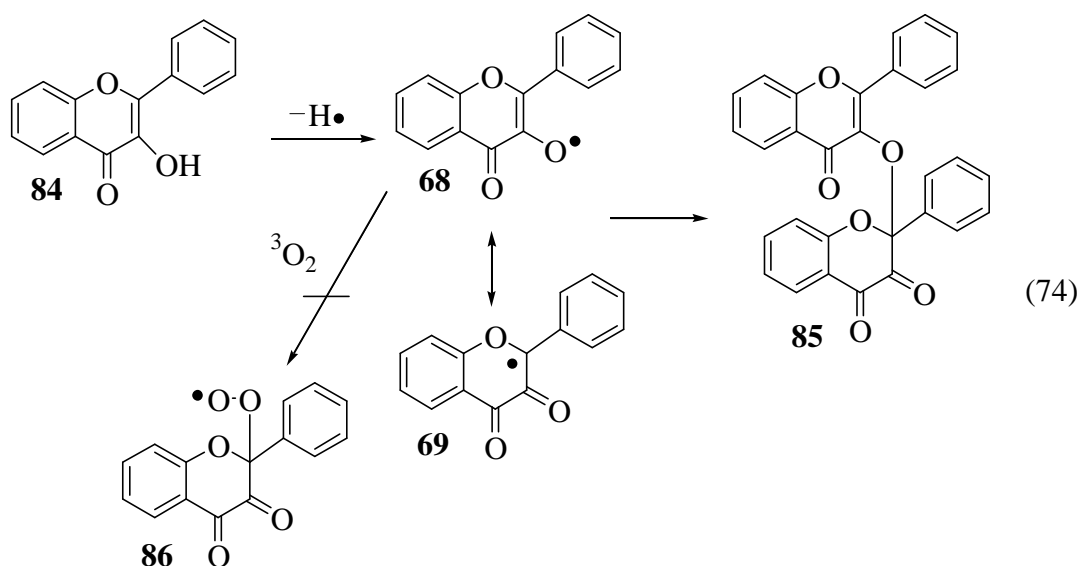
$$k_P^{3''} = K_P^3 k_P^4 \quad (73)$$

Látható, hogy függetlenül attól, hogy a **B** vagy a **C** reakcióutat tételezem fel, a (71) és a (72) sebességi egyenletek csak a K_P^3 egyensúlyi állandóban különböznek egymástól. Ebből következik, hogy az autoxidáció mindkét mechanizmussal lejátszódhat. A **B** reakcióút létezésére közvetlen bizonyíték, hogy az ESR spektroszkópia segítségével ki tudtam mutatni az **56** szabad gyököt. A **C** reakcióútra ugyan nincs közvetlen bizonyíték, de megléte ettől még nem zárható ki.

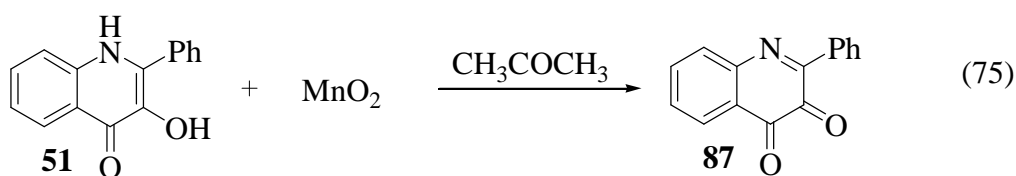
4.3. A PhQuinH₂ reakciója mangán-dioxiddal

Az eddig bemutatott eredmények alapján láthatjuk, hogy a PhQuinH₂ (**51**) autoxidációja során szabad gyök intermedierek (**55**, **56**, **67**) keletkeznek függetlenül attól, hogy aprotonos (ld. a (18) egyenlet) vagy protonos oldószert (ld. az (57) egyenlet) alkalmaztam. Arra is rámutattam, hogy az **55**, **56**, **57** szabad gyökök nagy stabilitásúak, szemben a 3-hidroxi-flavon (**84**) autoxidációja esetében [34] kimutatott instabilis gyökökkel (**68**, **69**). Matsuura és munkatársai arra keresték a választ, hogy a 3-hidroxi-flavon autoxidációja során keletkező **68** és **69** gyökök képesek-e reakcióba lépni a dioxigénnel [55].

Amennyiben igen, akkor feltételezhető lenne, hogy a kvercetin 2,3-dioxigenáz enzim által katalizált enzimatis reakcióban (6) is lejátszódik a kvercetinből keletkező szabad gyök és a dioxigén reakciója. A kísérleti eredmények azonban azt mutatták, hogy nincs különbség a termékelegy összetételében attól függően, hogy inert vagy dioxigén atmoszférában hajtották végre a reakciót. Ebből arra következtettek, hogy a **68** és a **69** gyökök nem lépnek reakcióba a dioxigénnel. Feltételezésük szerint a MnO_2 egy hidrogén gyököt von el a **84**-ből és egymással tautomer viszonyban lévő **68**, **69** gyökök képződnek, amelyekből gyök-gyök reakcióban a **85** dehidro-dimer keletkezik a (74) egyenletnek megfelelően.

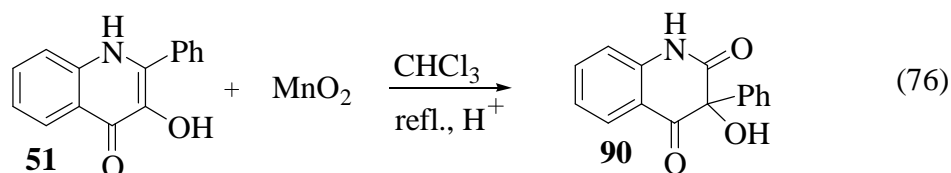


A terméket csak infravörös spektroszkópiás vizsgálattal azonosították. Az 1610 cm^{-1} -nél lévő sávot a **85** molekulában lévő flavon molekularész karbonil rezgéseként asszignálták. Az 1740 és 1695 cm^{-1} -nél jelentkező rezgéseket a 2-fenil-benzopirán-dion molekularész karbonil rezgéseinek tulajdonították. Spence arról számolt be, hogy a PhQuinH_2 -t vízmentes acetonban mangán-dioxiddal reagáltatva 2-fenil-3,4-kinolindion képződik (**87**) 60 % hozammal a (75) egyenlet szerint [56].

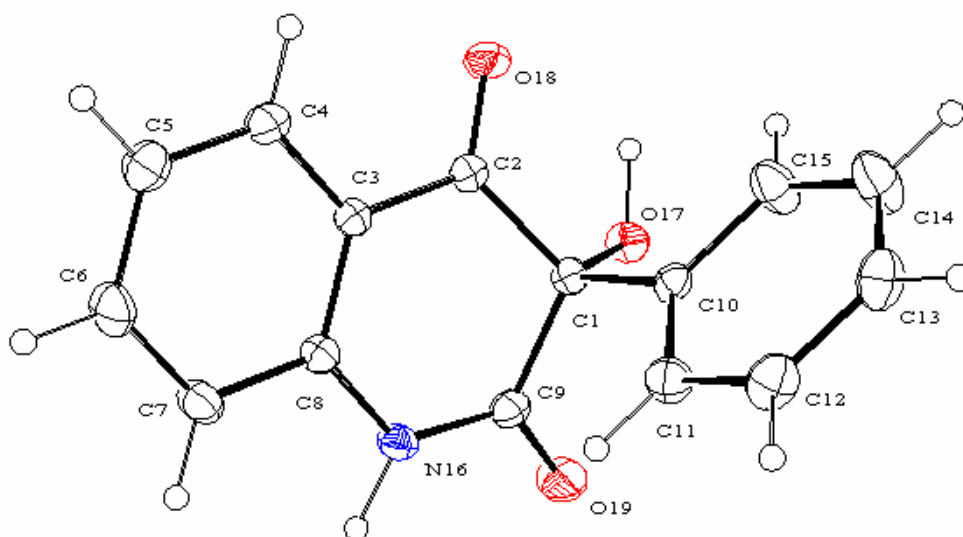


A (74) egyenlet analógiájára kísérleteket tettem az **55** és az **56** gyökök reagáltatására dioxigénnel. A PhQuinH_2 -t mangán-dioxiddal refluxáltattam kloroformban a (76) egyenletnek megfelelően. A mangán-dioxidot mangán-szulfátból és kálium-permanganátból

állítottam elő lúgos közegben [57]. A (76) egyenlet szerinti reakciót inerten és dioxigén atmoszférában is elvégeztem és ugyanazt a terméket kaptam.

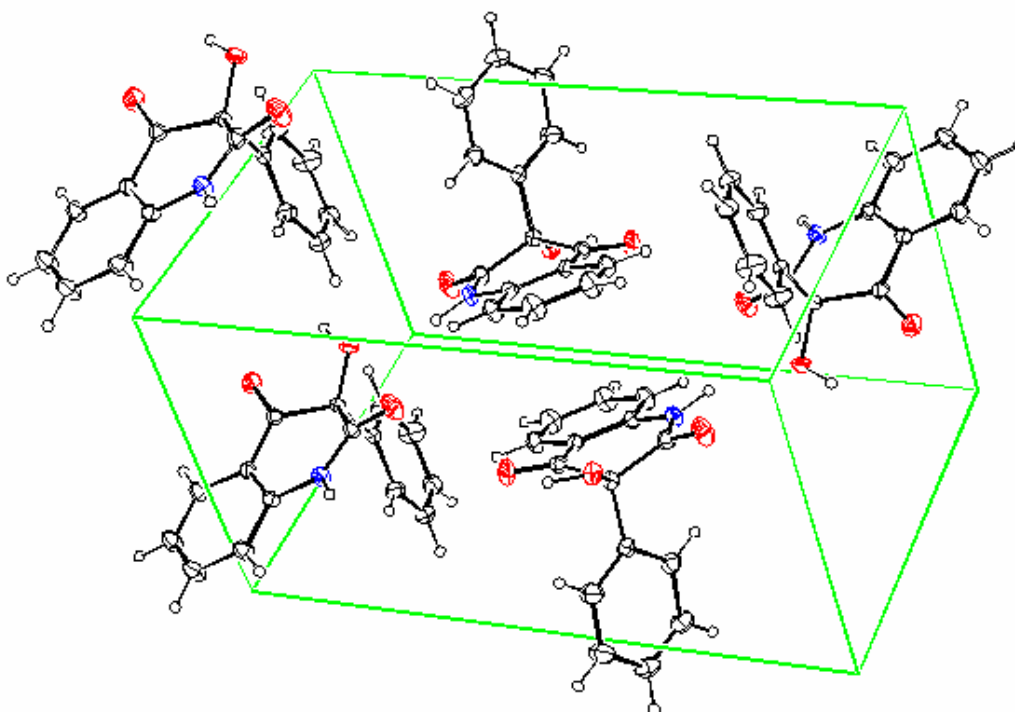


A reakcióelegy savas kezelése (MnO_2 nyomok eltávolítása) után 3-fenil-3-hidroxi-tetrahidro-kinolin-2,4-dion (**90**) keletkezett. Szembetűnő, hogy a PhQuinH₂ 2-es szénatomon lévő fenil-csoportja, a **90** molekulában a 3-as szénatomon helyezkedik el, tehát az oxidáció mellett egy átrendeződési reakció is lejátszódott. Az ESR spektroszkópia segítségével megállapítottam, hogy a (76) reakcióban nem keletkeznek szabad gyökök, így világossá vált, hogy a **90** vegyület nem gyökös mechanizmus szerint keletkezik. A 3-fenil-3-hidroxi-tetrahidro-kinolin-2,4-diont (**90**) egykristály formájában is előállítottam és szerkezetét röntgendiffrakcióval meghatároztam (47. ábra).



47. Ábra. A 3-fenil-3-hidroxi-tetrahidro-kinolin-2,4-dion (**90**) röntgenszerkezete

A **90** elemi cellájában úgy helyezkednek el a molekulák, hogy a kinolingyűrűk egymáshoz képest 180° -al elfordulnak (48. ábra). Ennek következtében a kinolingyűrűt alkotó elektrondús benzol gyűrű az elektronban szegényebb piridongyűrűvel kerül szembe. A **90** fontosabb kristályadatait a 20. táblázat mutatja be.



48. Ábra. A 3-fenil-3-hidroxi-tetrahidro-kinolin-2,4-dion (**90**) elemi cellájának felépítése

20. Táblázat. A **90** fontosabb kristályadatai

Összegképlet	C ₁₅ H ₁₁ N O	
Moláris tömeg (g mol⁻¹)	253,26	
Kristály színe, fajtája	barna, hasáb	
Kristályméret (mm)	0,35 × 0,50 × 0,70	
Kristályrendszer	monoklin	
Tér csoport	<i>P</i> 21/c 1	
Elemi cella méretei	<i>a</i> = 8,053(9) Å <i>b</i> = 9,762(2) Å <i>c</i> = 14,77(9) Å	$\alpha = 90,00^\circ$ $\beta = 96,31(8)^\circ$ $\gamma = 90,00^\circ$
Elemi cella térfogata (Å³)	1155,01	
Molekulák száma elemi cellánként	4	
Számított sűrűség (g/cm³)	2,723	

A **90**-ben található fontosabb kötéstávolságokat és kötésszögeket a 21. táblázatban foglaltam össze.

21. Táblázat. A **90** molekulában található fontosabb kötéstávolságok (Å) és kötésszögek (°)

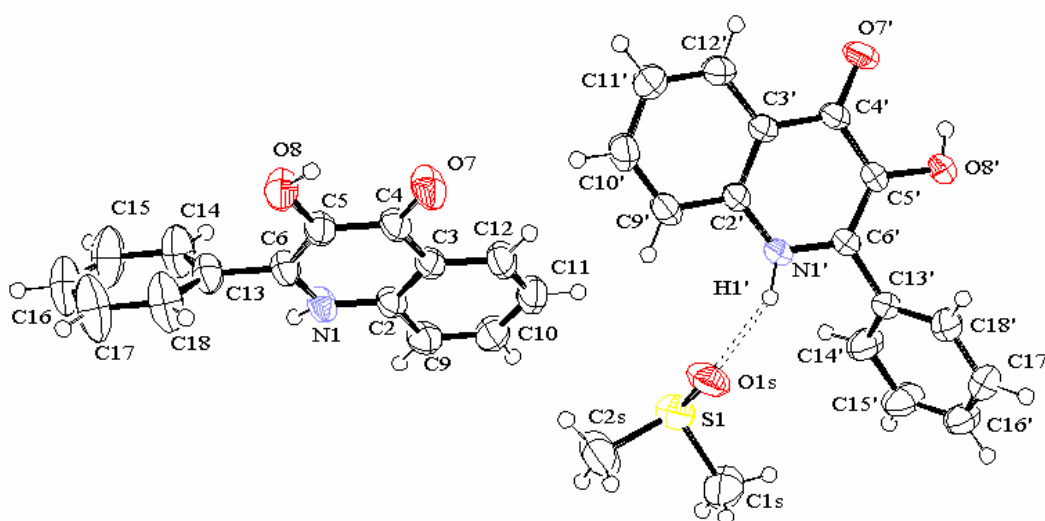
C1-C2	1,529
C9-C1	1,531
C9-O19	1,218
C1-O17	1,414
C1-C10	1,541
C2-O18	1,219
C9-N16	1,361
C8-N16	1,405

C8-N16-C9	124,38
O19-C9-C1	120,21
O17-C1-C9	105,90
O18-C2-C1	119,33
O19-C9-N16	122,33
*C11-C10-C1-C9	-87,7

* torziós szög (°)

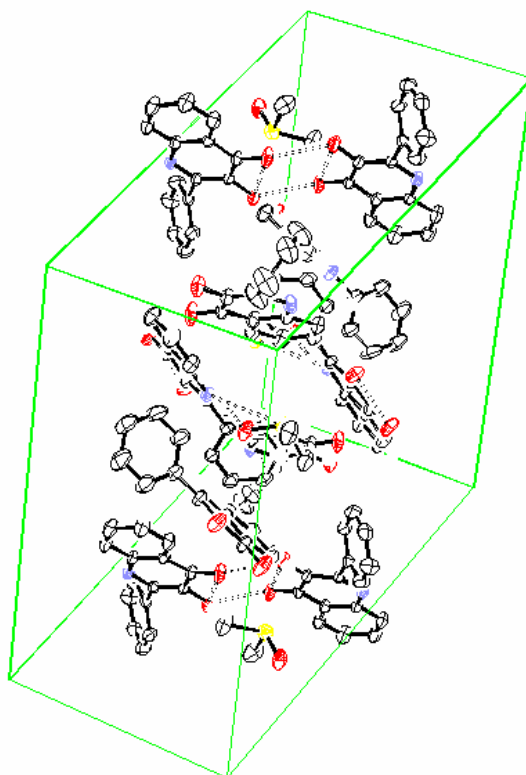
A **90** más úton történő szintézise ismert az irodalomban [58, 59], az ott közölt infravörös és ^{13}C NMR adatok egyezést mutatnak az általam mértekkel.

A PhQuinH₂-t (**51**) egykristály formájában is előállítottam (49. ábra).



49. Ábra. A PhQuinH₂ röntgenszerkezete

A könnyebb összehasonlíthatóság érdekében itt közlöm a röntgendiffrakciós vizsgálat további adatait is (22. és 23. táblázatok) [60]. A kristályban H-kötéseket találhatunk, egyrészt a PhQuinH₂ NH-kötése és a dimetil-szulfoxidból származó oxigénatom között, ezt a 49. ábrán figyelhetjük meg. Másrészt az egymás melletti rétegekben lévő PhQuinH₂ molekulák egymással szembekerülő OH- és oxocsoportjai között alakul ki H-kötés. (50. ábra)



50. Ábra. A PhQuinH₂ elemi cellájának felépítése

22. Táblázat. A PhQuinH₂ fontosabb kristályadatai

Összegképlet	C ₁₇ H ₁₇ N O ₃ S	
Moláris tömeg (g mol⁻¹)	315,39	
Kristály színe, fajtája	sárga, hasáb	
Kristályméret (mm)	0,40 × 0,55 × 0,70	
Kristályrendszer	monoklin	
Térceport	<i>P</i> 1 21/ <i>c</i> 1 (no. 14)	
Elemi cella méretei	$a = 17,817(2) \text{ \AA}$ $b = 10,953(2) \text{ \AA}$ $c = 17,884(2) \text{ \AA}$	$\alpha = 90,00^\circ$ $\beta = 114,76(1)^\circ$ $\gamma = 90,00^\circ$
Elemi cella térfogata (Å³)	3169,22(80)	
Molekulák száma elemi cellánként	8	
Számított sűrűség (g/cm³)	1,322	

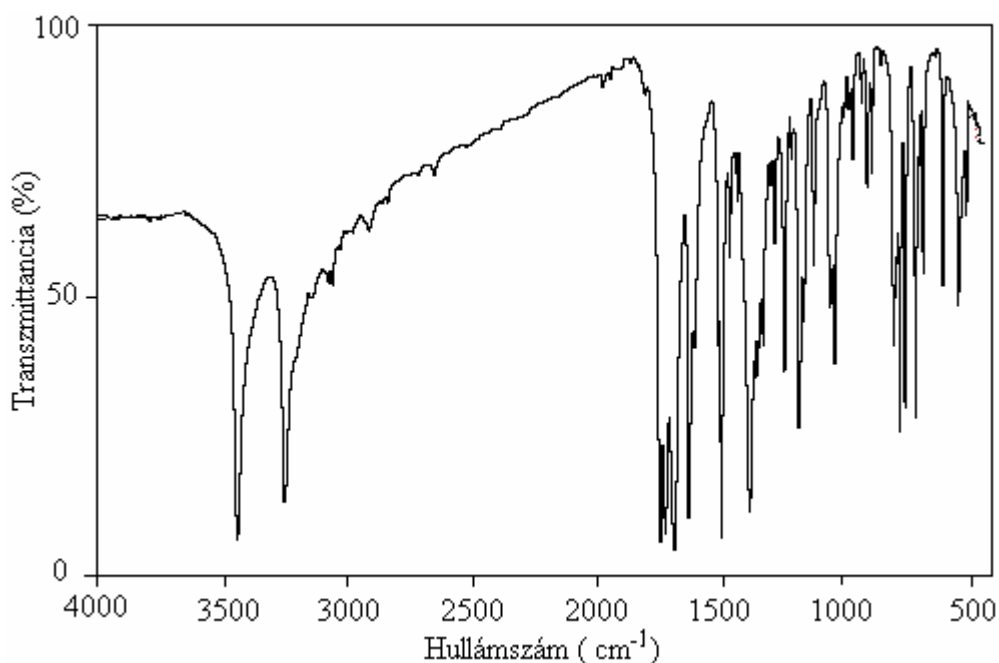
23. Táblázat. A PhQuinH₂-ban található fontosabb kötéstávolságok (Å) és kötésszögek (°)

C5-C6	1,371
C6-C13	1,491
C5-O8	1,360
C4-O7	1,256
C6-N1	1,365
S1-O1S	1,502

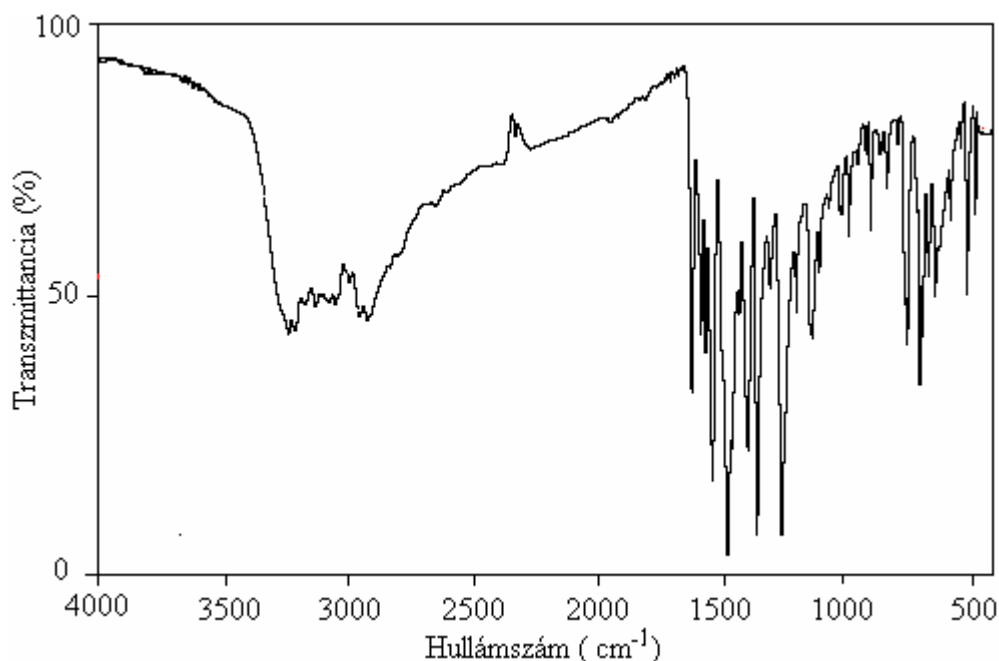
O7-C4-C5	121,15
O8-C5-C4	118,67
O8-C5-C6	119,83
C2-N1-C6	122,27
*N1-C6-C13-C14	-60,7

* torziós szög (°)

Az **51** és a **90** vegyületek infravörös spektrumát összehasonlítva az **51** esetében az NH és OH rezgések nem különíthetők el, mert a H-kötések miatt diffúz sávot alkotnak. Ezzel szemben a **90** átrendeződött termék spektrumában a $\nu(\text{N-H}) = 3251 \text{ cm}^{-1}$ és $\nu(\text{O-H}) = 3441 \text{ cm}^{-1}$ rezgések könnyen megkülönböztethetők, amennyiben összehasonlítjuk az 51. és az 52. ábrákat. A megfigyelés valószínűleg azzal magyarázható, hogy a **90** átrendeződött termék elemi cellájában (ld. 48. ábra) nem található H-kötések.

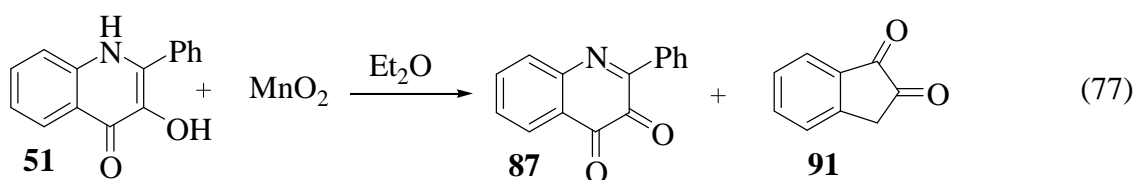


51. Ábra. A **90** infravörös spektruma KBr-ban

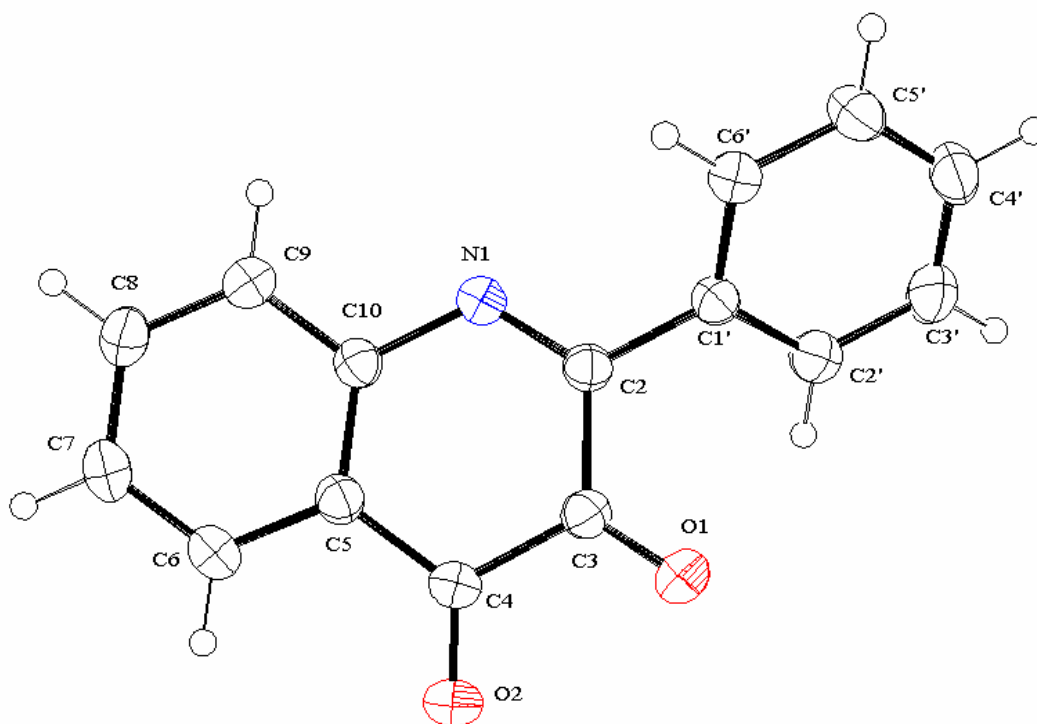


52. Ábra. Az **51** infravörös spektruma KBr-ban

Megpróbáltam az **55** és az **56** gyököket a Fluka által forgalmazott MnO_2 -al (katalógusszám: F 63548) is előállítani, mivel annak nagyobb az oxidáló képessége, mint az általam előállítottoknak [57], ugyanakkor a szűrése a szemcseméretéből adódóan egyszerűbb. Amennyiben a PhQuinH_2 és MnO_2 reakcióját dietil-éterben szobahőmérsékleten hajtottam végre és a termékeket *n*-pentánnal tisztítottam, 30 %-os hozammal tudtam elkülöníteni a 2-fenil-3,4-kinolindiont (**87**). Ezzel Spence eredményeit sikerült reprodukálni [55]. Azonban a visszamaradó anyalúg és a *n*-pentános oldat feldolgozásával a Spence által nem közölt indán-1,2-diont (**91**) különítettem el 5%-os hozammal. Valószínű, hogy az indán-1,2-dion a **87** további oxidációja során keletkezett a (77) egyenletnek megfelelően.



A **87** és a **91** vegyületeket egykristály formájában előállítottam és szerkezetüket röntgendiffrakcióval meghatároztam. A röntgenszerkezeteket az 53. és az 54. ábrákon, a krisztallográfiai adatokat a 24. és a 25. táblázatokban mutatom be. Egyéb spektroszkópai tulajdonságaik megegyeznek az irodalomban található adatokkal [56, 61].

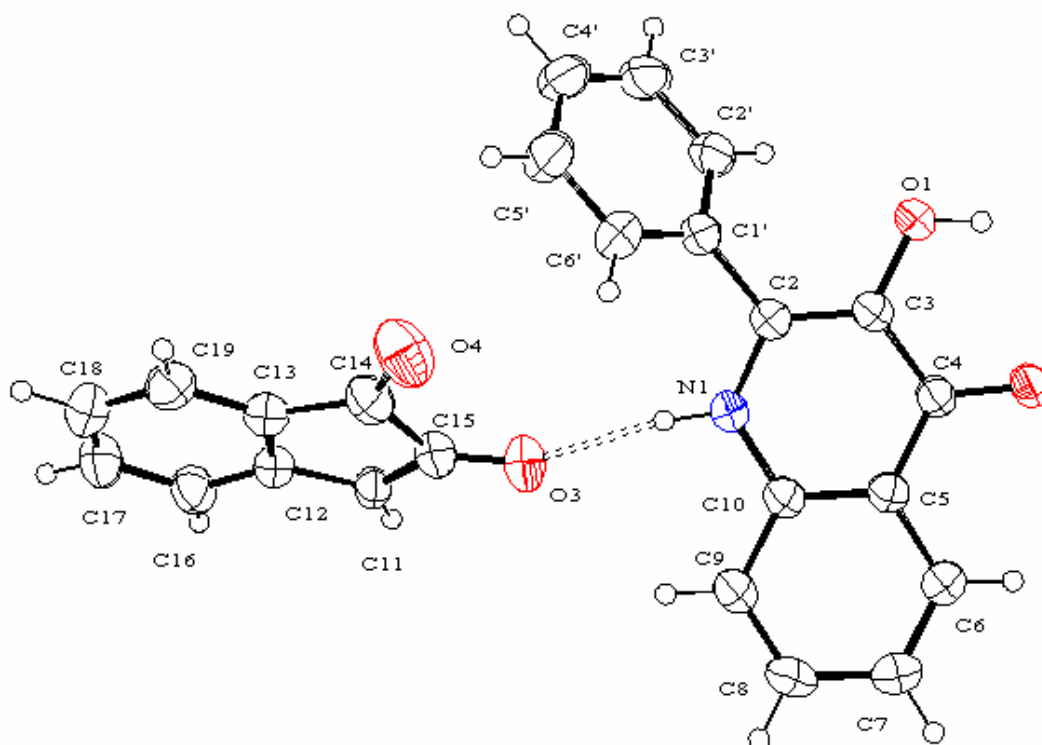


53. Ábra. A **87** röntgenszerkezete

24. Táblázat. A **87** fontosabb kristályadatai

Összegképlet	C ₁₅ H ₉ N O ₂	
Moláris tömeg (g mol⁻¹)	235,23	
Kristály színe, fajtája	vörösbarna, tű	
Kristályméret (mm)	0,50 × 0,10 × 0,05	
Kristályrendszer	triklin	
Térceport	P-1	
Elemi cella méretei	$a = 3,822 \text{ \AA}$	$\alpha = 115,26^\circ$
	$b = 12,122 \text{ \AA}$	$\beta = 91,28^\circ$
	$c = 13,149 \text{ \AA}$	$\gamma = 93,45^\circ$
Elemi cella térfogata (Å³)	551,0	
Molekulák száma elemi cellánként	2	
Számított sűrűség (g/cm³)	1,418	

A kristályosítás során **91** elegykristályt képzett a PhQuinH₂-al úgy, hogy H-kötés alakult ki az 1,2-indándion (**91**) 2-es szénatomon lévő oxocsoportja és a PhQuinH₂ nitrogénatomja között.



54. Ábra. A 91•PhQuinH₂ röntgenszerkezete

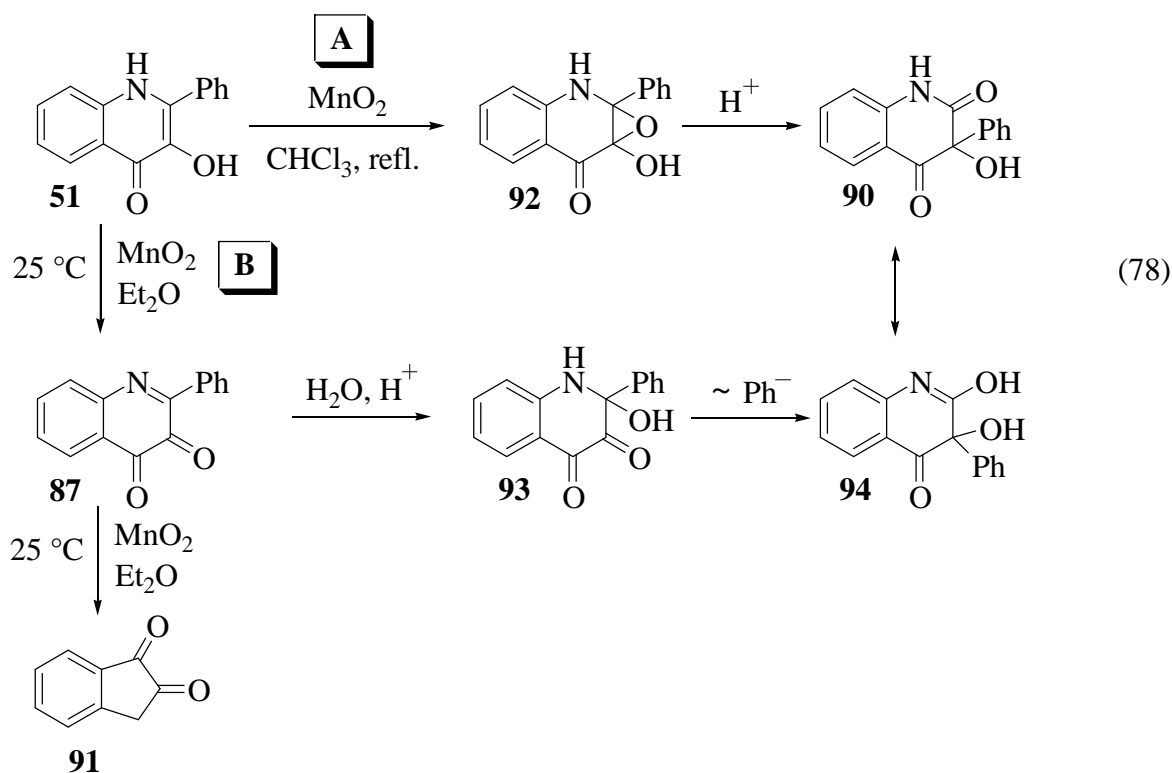
25. Táblázat. A 91•PhQuinH₂ fontosabb kristályadatai

Összegképlet	C ₂₄ H ₁₆ N O ₄	
Moláris tömeg (g mol⁻¹)	382,38	
Kristály színe, fajtája	piros, hasáb	
Kristályméret (mm)	0,60 × 0,40 × 0,40	
Kristályrendszer	triklin	
Tércsoport	P-1	
Elemi cella méretei	$a = 9,550(1) \text{ \AA}$	$\alpha = 108,60(1)^\circ$
	$b = 10,244(1) \text{ \AA}$	$\beta = 101,92(1)^\circ$
	$c = 11,230(1) \text{ \AA}$	$\gamma = 109,07(1)^\circ$
Elemi cella térfogata (Å³)	922,99(2)	
Molekulák száma elemi cellánként	2	
Számított sűrűség (g/cm³)	1,376	

Megállapítható tehát, hogy PhQuinH₂-ből mangán-dioxid hatására nem keletkeznek szabad gyökök, így sem dioxigénnel való reakciójuk, sem dimer termékek előállítására nem lehetséges ezzel a módszerrel. Kísérleteim megerősítették azt az irodalomból korábban már ismert reakciót, amelyben a PhQuinH₂-ből vízmentes közegben 2-fenil-3,4-kinolindiont (**87**)

lehet előállítani MnO_2 segítségével [56]. Emellett a reakcióelegyből elkülönítettem 5%-os hozammal az 1,2-indándiont (**91**). A PhQuinH₂ és mangán-dioxid reakciójában, kloroformban 3-fenil-3-hidroxi-1,2,3,4-tetrahidro-3,4-kinolindion (**90**) átrendeződött terméket állítottam elő. A **87**, **90**, **91** termékek és az **51** kiindulási anyag szerkezetét spektroszkópai- és röntgendiffrakciós módszerekkel meghatároztam.

A **90** átrendeződött termék, valamint a **87** és a **91** termékek keletkezésére a (72) egyenletben bemutatott mechanizmus tétélezhető fel. Az **A** reakcióút szerint a PhQuinH₂ és a MnO_2 reakciójában a **92** epoxid intermedier keletkezik, ami a savas kezelés hatására a **90** termékévé rendeződik át, fenil-anion vándorlással [62, 63]. Feltételezhetjük, hogy a **B** reakcióútnak megfelelően 2-fenil-3,4-kinolindion (**87**) keletkezik átmeneti termékként. Ismert, hogy a telítetlen dionok savas közegben vízáddícióra képesek. A 2-fenil-3,4-kinolindion (**87**) vízáddíciójával keletkező 2-fenil-2-hidroxi-3,4-kinolindion (**93**) átrendeződésével 3-fenil-2,3-dihidroxi-4-kinolont (**94**) kapunk. A **94** viszont keto-enol tautomer viszonyban van a **90** vegyülettel. A felvázolt reakcióutak létezésének bizonyítása nem tartozott a disszertációm eredeti célkitűzései közé, ezért a mechanizmus tisztázása későbbi kutatómunka tárgyát képezi.



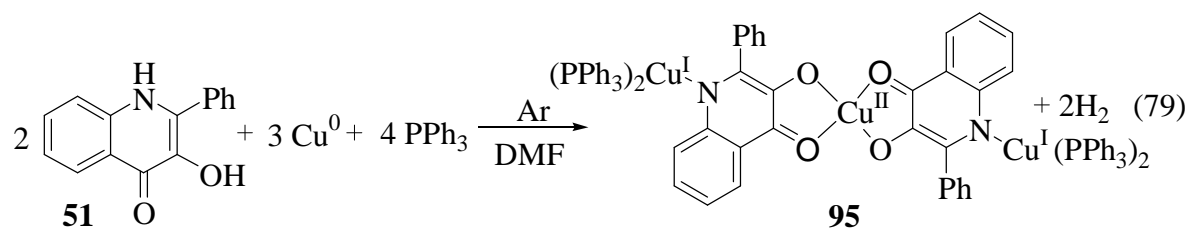
4.4. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin réztartalmú komplexeinek előállítására és szerkezetük meghatározása

A 4.2. fejezetben szó esett arról, hogy a kvercetin 2,3-dioxigenáz enzim réz(II)-iont tartalmaz az aktív centrumában. Az MeQDO enzim átmenetifém-iont nem tartalmaz, holott a szubsztrátumaik izoelektronos molekulák. A kvercetin 2,3-dioxigenáz enzim szerkezeti és működési modelljeként jól alkalmazhatók a Cu(I) és Cu(II) központi iont tartalmazó 3-hidroxi-flavonolátok származékai komplexei, például a $[\text{Cu}(\text{fla})(\text{PPh}_3)_2]$ [35, 64, 65], és a $[\text{Cu}(\text{fla})_2]$ [66]. Ebben a fejezetben kísérleteket tettem 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolinátó réz(I) és réz(II) komplexek előállítására nitrogén és foszfor donoratomot tartalmazó ligandumok alkalmazásával.

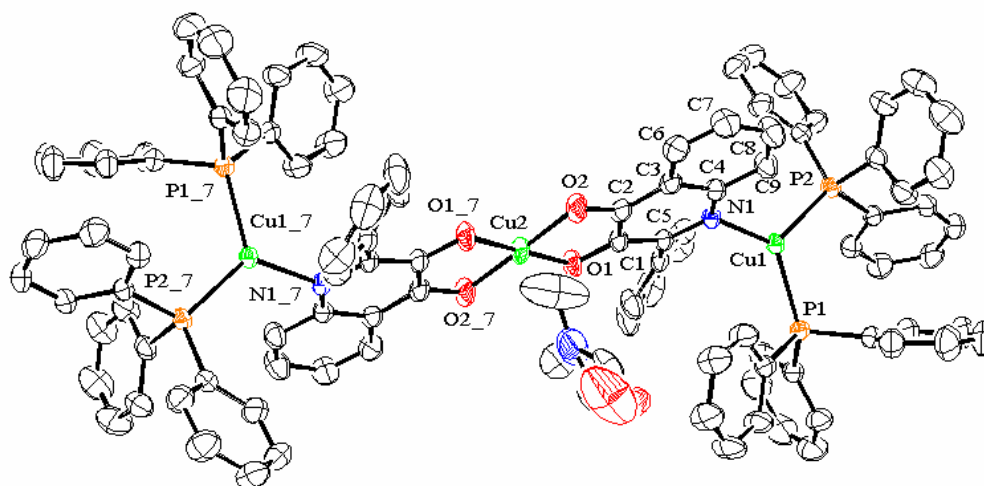
4.4.1. PhQuinH₂ reakciója fémrézrel trifenil-foszfín jelenlétében

Mivel a réz(I)-ion a Pearson-féle sav-bázis elmélet szerint „lágyszav”, így minden bizonnyal „lágyszav” bázisokkal képez stabilis komplexeket. Éppen ezért trifenil-foszfint használtam ligandumként, ami a következőképpen indokolható: A trifenil-foszfín a σ -kötés kialakítására képes magános elektronpáron kívül alacsonyabb energiájú és megfelelő orientációjú üres π -orbitálokat tartalmaz. Az üres π -orbitálok a réz betöltött nemkötő π -orbitáljaival π -szimmetriájú kötések kialakításával elektront vesznek fel, és ezáltal a magános pár által létrehozott σ -szimmetriájú kötést erősítik. Ennek következtében az alacsony oxidációs fokú központi atomon felhalmozódott negatív töltés a ligandumokra jut, így $d_{\pi}-p_{\pi}$ elektronlocalizáció következik be, amit viszontkoordinációnak nevezünk.

Speier és munkatársai Na-flavonolát, réz(I)-klorid és trifenil-foszfín reakciójában állították elő a $[\text{Cu}(\text{fla})(\text{PPh}_3)_2]$ komplexet [35]. Jelen esetben a komplexek előállítása során nem követtem a $[\text{Cu}(\text{fla})(\text{PPh}_3)_2]$ előállításánál alkalmazott módszert, mivel a PhQuinH₂ (**51**) K-sójának szintézise sikertelen volt, ahogy arról már a 4.2.2. fejezetben beszámoltam. A **95** komplexet ezért a (79) egyenletben leírt módon állítottam elő. A PhQuinH₂-t trifenil-foszfín jelenlétében 60 °C-on elemi rézzel reagáltatva, inert körülmények között, DMF oldószerben [(dimetil-formamid) 2κN-bisz(2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolinátó 2κ²O³,O⁴, 1κN, 3κN)-tetrakis(trifenil-foszfín)-1κ²P, 3κ²P)-diréz(I)-réz(II)] (**95**) összetételű komplexhez jutottam. A **95** komplex szerkezetét röntgendiffrakciós vizsgálattal állapítottam meg.



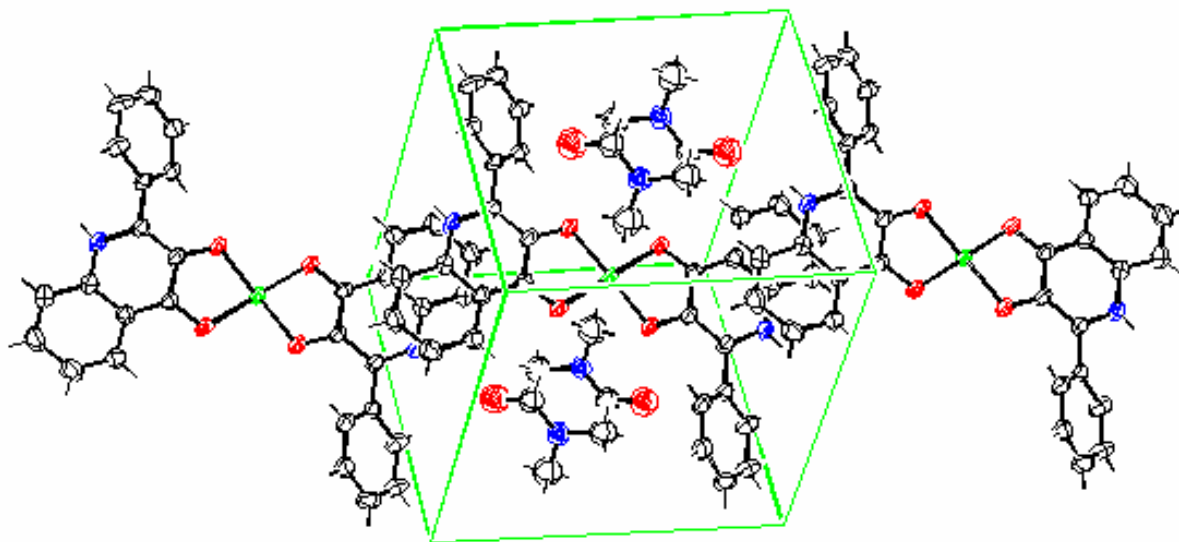
A $[\text{Cu}_3(\text{DMF})(\text{PhQuin})_2(\text{PPh}_3)_4]$ szerkezetét az 55. és az 56. ábrákon láthatjuk, a fontosabb kristályadatokat a 26. és a 27. táblázatokban mutatom be.



55. Ábra. A $95 \cdot \text{DMF}$ komplex röntgenszerkezete

26. Táblázat. A 95 komplex fontosabb kristályadatai

Összegképlet	C ₅₄ H ₄₆ Cu _{1,50} N ₂ O ₃ P ₂	
Moláris tömeg (g mol⁻¹)	928,18	
Kristály színe, fajtája	vörösbarna, hasáb	
Kristályméret (mm)	0,30 × 0,30 × 0,35	
Kristályrendszer	monoklin	
Tércepoport	C 1 2/c 1 (no. 15)	
Elemi cella méretei	$a = 40,058(4) \text{ \AA}$ $b = 10,251(2) \text{ \AA}$ $c = 27,769(4) \text{ \AA}$	$\alpha = 90,00^\circ$ $\beta = 125,64(1)^\circ$ $\gamma = 90,00^\circ$
Elemi cella térfogata (Å³)	9267,08(2)	
Molekulák száma elemi cellánként	8	
Számított sűrűség (g/cm³)	1,330	



56. Ábra. A **95**·DMF komplex elemi cellája

27. Táblázat. A **95** komplexben található fontosabb kötéstávolságok (Å) és kötésszögek (°)

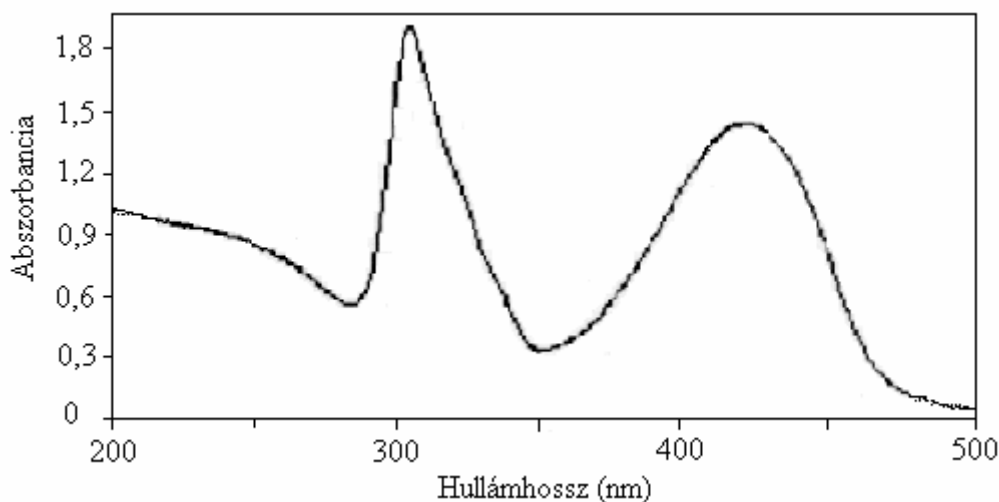
Cu2-O1	1,918
Cu2-O1'	1,918
Cu2-O2	1,929
Cu2-O2'	1,929
Cu1-P1	2,279
Cu1-P2	2,256
Cu1-N1	2,018
C1-O1	1,330
C2-O2	1,311
C1-C5	1,409
C1-C2	1,403
C5-C10	1,477

O1-Cu2-O2	86,30
O1'-Cu2-O2'	86,30
O1-Cu2-O2'	93,70
O2-Cu-O1'	93,70
O1-Cu2-O1'	180,0
O2-Cu2-O2'	180,0
P1-Cu1-P2	119,1
N1-Cu1-P2	121,5
N1-Cu1-P1	117,8
N1-C6-C13-C14	144,9

A **95** molekulában két réz(I)-iont találhatunk, amelyek koordinációs száma három. Két koordinációs helyet a trifenil-foszfin ligandumok foglalnak el, a fennmaradó helyen pedig egy

PhQuin²⁻ ligandumot találhatunk. Ez a szerkezet úgy alakult ki, hogy a PhQuinH₂ molekulában nemcsak a hidroxil-csoport deprotonálódott, hanem a szekunder amino-csoport is. A réz(I)-ionokat hídhelyzetű PhQuin²⁻ ligandumok kötik össze a réz(II)-ionnal, amelyhez így négy oxigén atom, továbbá a DMF-ből származó N atom koordinálódik. A PhQuin²⁻ rézhez való koordinációja következtében a C1-O1 (1,330 Å) és a C5-C10 (1,477 Å) kötéstávolság kisebb, a C2-O2 kötéstávolság (1,311 Å) viszont nagyobb, mint a szabad ligandumban (1,360 Å, 1,491 Å, 1,256 Å) [60]. A kiterjedt delokalizáció hatása megfigyelhető a piridongyűrűben is: a C1-C5 (1,409 Å) kötéstávolság nagyobb, a C1-C2 (1,403 Å) ezzel szemben kisebb, mint a PhQuinH₂ molekulában mért megfelelő értékek (1,371 Å, 1,436 Å). A C5-N1 kötéstávolság (1,363 Å) viszont elhanyagolható mértékben változott meg a szabad ligandum esetében talált értékhez (1,365 Å) képest, ami azzal magyarázható, hogy a delokalizáció a nitrogénatomra már nem terjed ki (23. és 27. táblázatok).

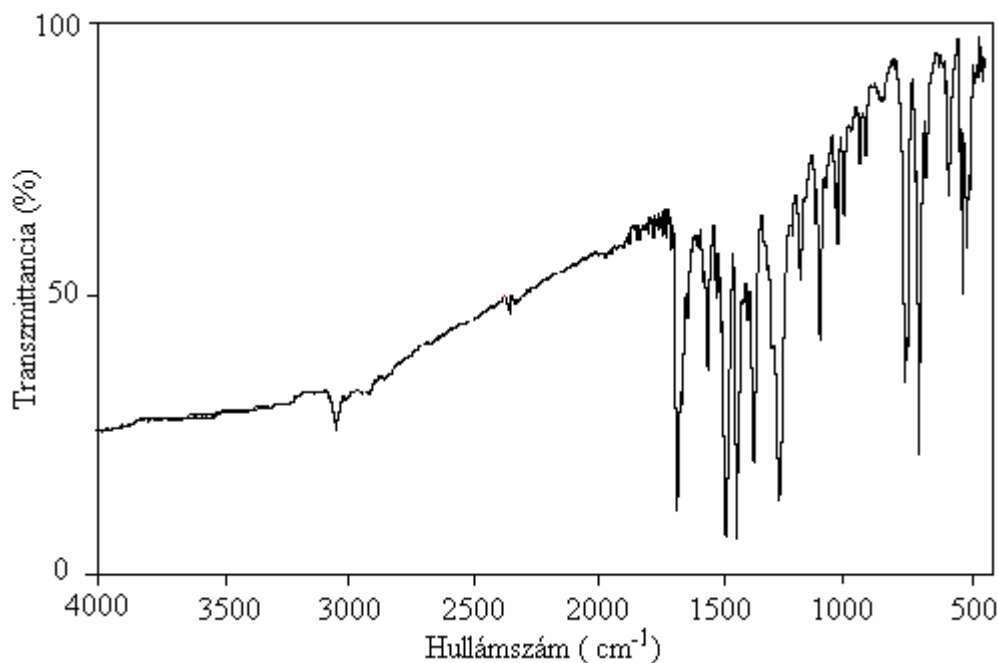
Az 57. ábrán a **95** komplex DMF oldószerben felvett UV-látható spektrumát tüntetem fel.



57. Ábra. A **95** komplex UV-látható spektruma DMF oldószerben.
[**95**] = $3,95 \times 10^{-4}$ M

A PhQuinH⁻ koordinációjához rendelhető π - π^* töltésátviteli sáv 418 nm hullámhossznál jelenik meg, ezen kívül 305 nm-nél figyelhetünk meg egy másik intenzív elnyelést. Az ultraviolet-látható spektrumon a ligandum koordinációjának lejátszódását a szabad ligandum 374 nm-nél jelentkező abszorpciós sávjának eltűnése és a batokróm eltolódás következtében megjelenő új sáv (418 nm) jelzi. A röntgendiffrakcióval

megállapított szerkezetet alátámasztja az infravörös spektroszkópiás szerkezetvizsgálat eredménye is. A karbonil vegyértékrezgést 1675 cm^{-1} -nél figyelhetjük meg, ami a PhQuinH_2 esetében tapasztalt értékhez képest 41 cm^{-1} növekedést jelent. A NH vegyértékrezgések tartományában nem találtam jeleket, ami az NH kötés hiányával magyarázható (58. ábra). A **95** komplex adatait a 28. táblázatban foglaltam össze.



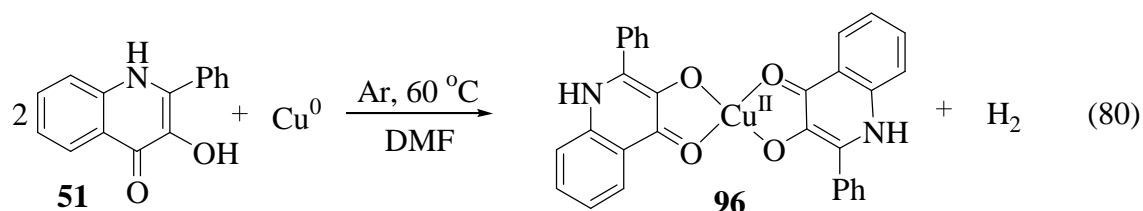
58. Ábra. A **95** komplex infravörös spektruma KBr-ban

28. Táblázat. A **95** komplex adatai

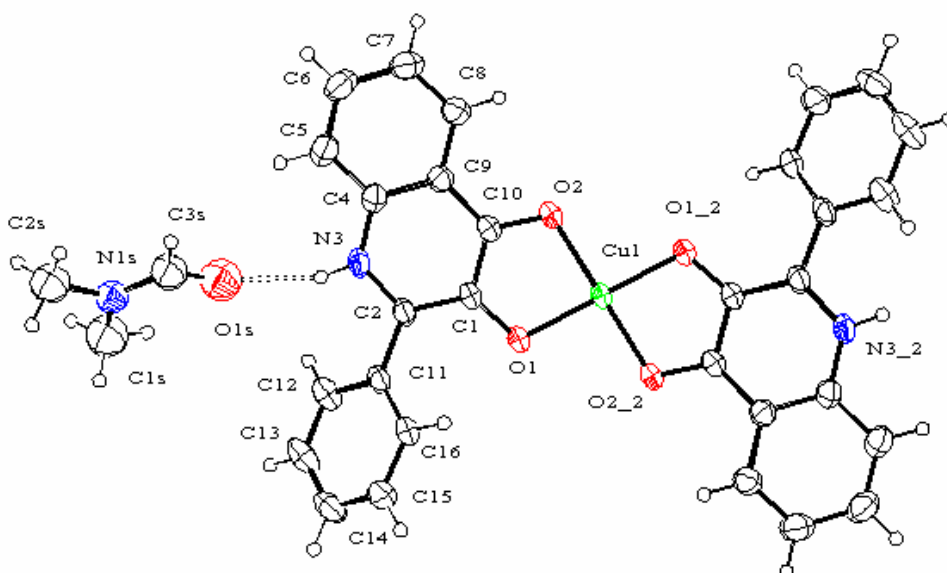
UV-látható spektrum (DMF)	421,0 nm (4,25)	
l (nm) (log e)	303,5 nm (4,38)	
IR spektrum	3051 cm^{-1} $\nu(\text{CH}_{\text{Ar}})$ 1673 cm^{-1} $\nu(\text{CO})$	
ESR spektrum (DMF-ben)	$g = 2,116$ $A = 71,1\text{ G}$	
Mágneses szuszceptibilitás	$\mu_{\text{eff}} = 1,64\text{ BM}$	
Elemanalízis	Talált:	Számított:
	Cu: 11,37 %	Cu: 11,15 %
	N: 1,73 %	N: 1,64 %
	C: 71,12%	C: 71,57 %
	H: 4,77 %	H: 4,56 %
Olvadáspont	225 °C	

4.4.2. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin reakciója fémrézzel inert körülmények között

2-Fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolint (**51**) és fémrezt reagáltattam egymással 2:1 arányban, inert körülmények között, dimetil-formamidban 60 °C hőmérsékleten 30 órán keresztül a (80) egyenletnek megfelelően.



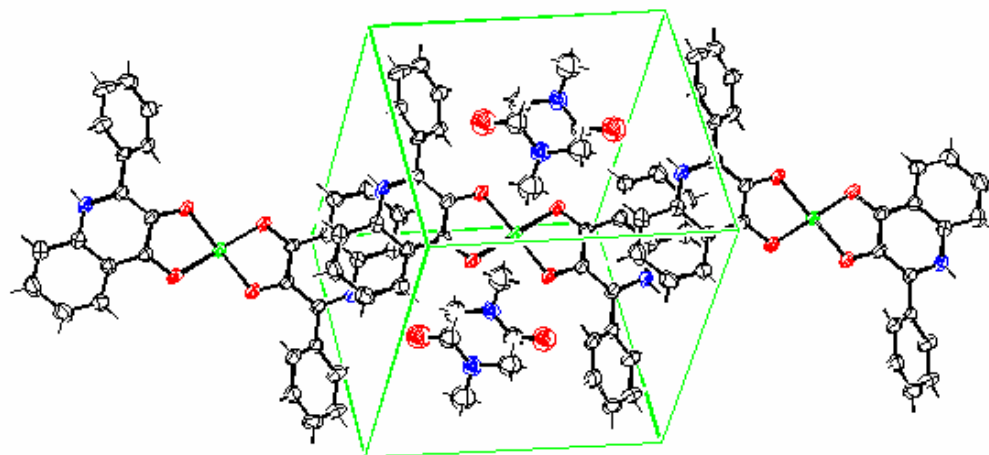
A reakcióban a kiindulási elegy színe a sárgáról folyamatosan vörösbarnára változott. A leszűrt reakcióelegyből sötétbarna termék (**96**•2DMF) vált ki 33 %-os hozammal. Röntgendiffrakciós vizsgálatra alkalmas egykristályokat DMF-ből történő átkristályosítással nyertem. A [bisz(2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolináto $\kappa O^3, O^4$)-réz(II)]•2DMF (**96**•2DMF) szerkezetét az 59. és a 60. ábrákon, a fontosabb kristályadatokat a 29. és a 30. táblázatokban mutatom be.



59. Ábra. A **96**•2DMF komplex röntgenszerkezete

29. Táblázat. A **96** komplex fontosabb kristályadatai

Összegképlet	C ₃₆ H ₃₄ Cu N ₄ O ₆	
Moláris tömeg (g mol⁻¹)	682,21	
Kristály színe, fajtája	vörösarna, hasáb	
Kristályméret (mm)	0,40 × 0,20 × 0,15	
Kristályrendszer	P-1	
Térceport	triklin	
Elemi cella méretei	$a = 9,340(2) \text{ \AA}$ $b = 9,626(3) \text{ \AA}$ $c = 10,52(2) \text{ \AA}$	$\alpha = 101,86(0)^\circ$ $\beta = 108,49(2)^\circ$ $\gamma = 107,73(2)^\circ$
Elemi cella térfogata (Å³)	805,3(3)	
Molekulák száma elemi cellánként	1	
Számított sűrűség (g/cm³)	1,407	


60. Ábra. A **96** elemi cellájának felépítése

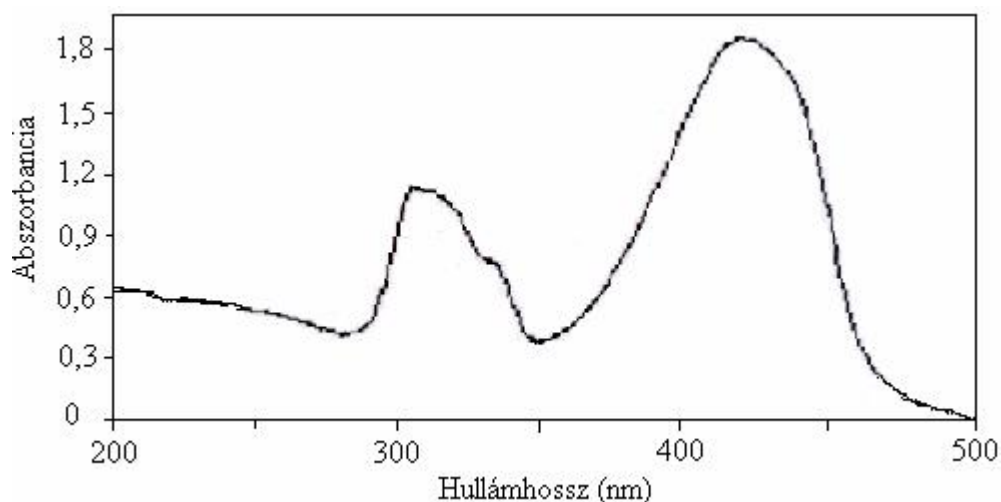
A réz(II)-ionok körül két PhQuinH⁻ ligandum helyezkedik el, mégpedig úgy, hogy a deprotonált hidroxil-csoport és a karbonil-csoport oxigénatomján keresztül kapcsolódnak, kialakítva így két öttagú kelátgyűrűt. A delokalizációt a komplexben mérhető kötéstávolságok is jól magyarázzák: A C1-O1 távolság (1,319 Å) kisebb, mint a szabad ligandumban (1,360 Å), ezzel szemben a C10-O2 távolság (1,291 Å) viszont nagyobb (1,256 Å). A C1-C2 távolság (1,394 Å) szintén nagyobb a PhQuinH₂-ban mért megfelelő távolságnál (1,371 Å) (ld. 30. táblázat) [60].

30. Táblázat. A **96** komplexben található fontosabb kötéstávolságok (Å) és kötésszögek (°)

Cu1-O1	1,907
Cu1-O2	1,931
C1-O1	1,319
C10-O2	1,291
C1-C10	1,425
C1-C2	1,394
C2-N3	1,385
C2-C11	1,475
C2-C11	1,475
O1-Cu1-O2	94,27
O1-Cu1-O1_2	180,01
N3-C2-C11-C16	-141,07

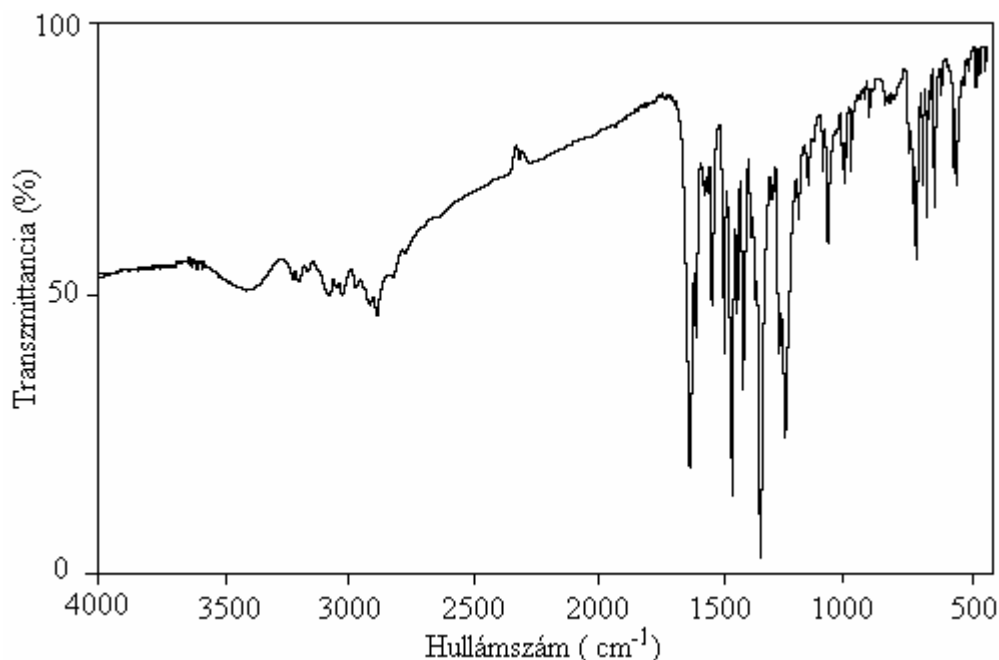
Továbbá az is kiderült, hogy hidrogénkötés alakult ki a két PhQuinH-ion nitrogénatomja és két dimetil-formamid oxigénatomja között. Ha összehasonlítjuk a **96** szerkezetét a **95** szerkezetével, megállapítható, hogy jelen esetben az OH kötést sikerült szelektíven aktiválni. Az NH kötés annak ellenére nem deprotonálódott, hogy a (79) és a (80) egyenletekkel leírható reakciók körülményei a hőmérsékletet és az oldószert tekintve azonosak voltak. A különbség az volt, hogy a **96** komplex esetében a trifenil-foszfin képes stabilizálni a réz (I)-ionokat és az NH kötés deprotonálódását követően réz–nitrogén kötés alakul ki.

Az UV-látható spektrumon (61. ábra) 418 nm-nél megfigyelhető a PhQuin²⁻ koordinációjára jellemző π - π^* töltésátviteli sáv, hasonlóképpen a **95** komplexhez.

**61. Ábra.** A **96** komplex UV-látható spektruma DMF oldószerben. $[96] = 4,11 \times 10^{-4}$ M

Ebben az esetben is teljesen eltűnt a kiindulási anyag jellemző sávja 375 nm-nél.

A **96** komplex infravörös spektrumában a karbonil vegyértékrezgés 1654 cm^{-1} -nél figyelhető meg, tehát ez 20 cm^{-1} eltolódást jelent a PhQuinH_2 estében jelentkező jelhez képest (62. ábra).

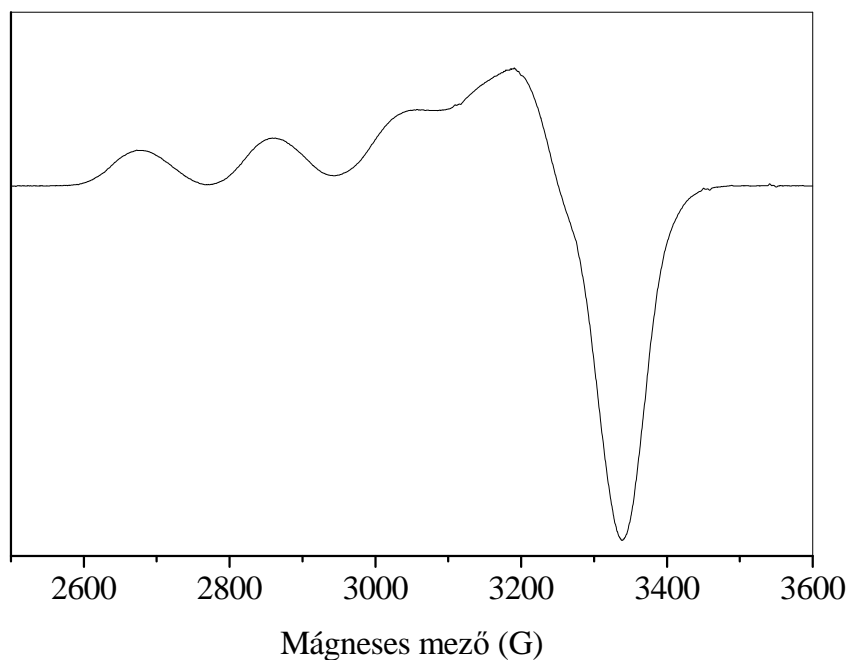


62. Ábra. A **96** komplex infravörös spektruma KBr-ban

A 3200 cm^{-1} feletti tartományban megjelennek az NH vegyértékrezgések 3264 és 3236 cm^{-1} -nél, ami összhangban van azzal, hogy ez esetben nem játszódott le az NH kötés aktiválódása.

A komplex mágneses szuszceptibilitásából számolt effektív mágneses momentum értéke megfelel a réz(II)-ionra jellemző $1,8\text{-}2,2$ irodalmi értéknek. Az effektív mágneses momentum érték ($\mu_{\text{eff}} = 1,97\text{ BM}$) alapján a komplexben a paramágneses réz(II)-ionok között sem ferromágneses, sem antiferromágneses kölcsönhatás nem feltételezhető.

Dimetil-formamidban a **96** komplexről a réz(II)-ionokat tartalmazó komplexekre jellemző négyvonalas ESR spektrumot kaptam (63. ábra).



63. Ábra. A **96** komplex ESR spektruma DMF-ben, 25 °C-on

A **96** komplex spektroszkópai- és mágneses adatait, valamint az elemanalízis eredményeit a 31. táblázatban foglaltam össze.

31. Táblázat. A **96** komplex adatai

UV-látható spektrum (DMF)	418,0 (4,34)	
l (nm) (loge)	305,0 nm (3,96)	
IR spektrum	3051 cm ⁻¹ ν (CH _{Ar}) 1654 cm ⁻¹ ν (CO)	
ESR spektrum (DMF-ben)	g = 2,128 A = 71,8 G	
Mágneses szuszceptibilitás	$\mu_{\text{eff}} = 1,97$ BM	
Elemanalízis	Talált:	Számított:
	Cu: 9,26 %	Cu: 9,32 %
	N: 8,49 %	N: 8,22 %
	C: 63,97 %	C: 63,40 %
	H: 4,91 %	H: 4,99%
Olvadáspont	110 °C (bomlik)	

5. KÍSÉRLETI RÉSZ

A műszeres vizsgálatokhoz használt műszerek

Shimadzu UV-160A UV-látható Spektrofotométer
Specord M80 (Carl Zeiss, Jena) infravörös spekrométer
ENRAF-NONIUS CAD4 diffraktométer
JEOL JES- FE/3X ESR spekrtométer
Carlo Erba 1108 CHNS-O elemanalizátor
UNITY 300 NMR
Hewlett Packard 4890D gázkromatográf
Beckman Fieldlab Oxygen Analyzer

Az oxigénre, illetve a nedvességre érzékeny anyagok előállítását oxigénmentesített és szárított argonatmoszférában végeztem [67, 68].

A kinetikai vizsgálatok során a reakciók követése UV-látható spektróméterrel történt, az aktuális koncentrációk megállapítását a megfelelő λ_{\max} értékeknél végeztem. A Lambert-Beer törvény érvényességét minden esetben igazoltam.

5.1. Acetonitril [68]

Felhasználás előtt, visszacsepegés közben foszfor-pentoxiddal refluxáltattam mindaddig, amíg az acetonitril szintelen nem lett. Ezután ledesztilláltam, majd kalcium-hidridről ismét ledesztilláltam.

5.2. Dietiléter [68]

Kálium-nátrium ötvözetéről frissen desztillált abszolút étert használtam.

5.3. Metanol [69]

1 liter metanolhoz 5 g magnézium forgácsot adtam, a reakció végbemenetele után 2-3 órán át visszacsepegés közben forraltam, majd desztilláltam (a kiindulási metanol víztartalma 1 %-nál kisebb volt).

5.4. THF [68]

A THF-et kálium-hidroxid felett tároltam, majd apró nátrium darabkák és benzofenon jelenlétében az intenzív kék szín állandósulásáig refluxáltattam argon alatt. Az átdestillált THF-et frissen használtam fel.

5.5. Nitrozo-metil-karbamid előállítása [69]

101 g (1,5 mól) metil-amin-hidrokloridot és 300 g (5 mól) karbamidot 400 cm^3 vízben oldottam és visszacsepegő hűtő alkalmazása mellett 3 órán keresztül forraltam. 110 g (1,6 mól) nátrium-nitrit hozzáadása után a $-10\text{ }^\circ\text{C}$ -ra hűtött oldatot 600 g jég és 110 g tömény kénsav jég-konyhasó keverékével hűtött elegyéhez kevertetés közben lassan hozzáfolyattam. A leváló nitrozovegyületet leszűrtem és jeges vízzel mostam. A terméket 80 %-os hozammal különítettem el.

5.6. Diazo-metán előállítása [69]

Erlenmeyer lombikba az edény állandó rázása közben 100 cm^3 éterhez 10,3 g (0,1 mól) nitrozo-metil-karbamidot adagoltam kis részletekben. Az éter alá 35 cm^3 hűtött 40 %-os kálium-hidroxid oldatot rétegeztem. A hőmérséklet nem emelkedhet $+5\text{ }^\circ\text{C}$ fölé. 10 perccel az utolsó hozzátét után az éteres diazo-metán oldatot leöntöttem és 3 órán át kevés szilárd kálium-hidroxid felett szárítottam.

5.7. Fenacil-bromid szintézise [70]

50 g (0,42 mól) acetofenont felodottam 50 cm^3 vízmentesített éterben, majd állandó kevertetés és jeges-vizes hűtés közben hozzáadagoltam 0,5 g vízmentes alumínium-kloridot. Ezután 1 cm^3 / perc sebességgel 21,5 g (0,42 mól) brómot csepegtettem hozzá. Az étert vákuum alatt gyorsan eltávolítottam, majd a szilárd fenacil-bromidot 10 cm^3 vízzel, majd 10 cm^3 petroléterrel mostam. További szintézishez átkristályosítás nélkül felhasználható. Hozam: 74 g (88 %). Op. : $45\text{-}48\text{ }^\circ\text{C}$.

5.8. p-Bróm-acetofenon szintézise [71]

Egy 5 l-es háromnyakú gömblombikba 392 g (2,5 mól) bróm-benzolt oldottam 1000 cm³ szén-diszulfidban. Hozzáadtam 750 g (5,6 mól) vízmentes alumínium-kloridot és olajfürdőn addig melegítettem, amíg enyhén refluxálni kezdett. Ekkor 204 g (2 mól) ecetsavanhidridet adtam hozzá, lassan, adagolótölcséren keresztül 1 óra alatt. A beadagolás végeztével még további egy órán keresztül enyhén refluxáltattam. A szén-diszulfidot kidesztilláltam, majd a reakcióelegyet hagytam 40 °C- ra hűlni és lassan, kevergetés közben sósavas jégre öntöttem. Kétszer 250 cm³ éterrel extraháltam, az egyesített extraktumot kétszer vízzel, majd egyszer 10 %-os nátrium-hidroxid oldattal mostam, végül kétszer vízzel. Az extraktumot egy óráig 30 g kalcium-kloriddal szárítottam, majd az oldószert eltávolítottam. A maradékot rövid kolonnán, vákuumban desztilláltam. Az első frakcióban szennyező komponensek távoztak, majd a termék víztiszta cseppekben. A cseppek 50 °C-on megszilárdultak. Hozam: 350 g (70 %). Az ismételt desztilláció során a termék forráspontja 117 °C volt 7 Hgmm nyomáson.

5.9. p-Bróm-fenacil-bromid szintézise [72]

Egy 500 cm³-es gömblombikba 50 g (0,25 mól) p-bróm-acetofenont mértem be, amit 100 cm³ jégecetben feloldottam. Az oldat hőmérsékletét 20 °C alatt tartva erőteljes keverés közben 40 g (0,25 mól) brómot adtam hozzá cseppenként, aminek hatására a termék túszerű kristályok formájában lassan kivált. A reakcióelegyet jeges vízzel lehűtöttem, majd szűrtem és 50 %-os etanollal addig mostam, amíg a szilárd anyag színtelen lett. Hozam: 60 g. Op.: 106-108 °C. A nyersterméket 400 cm³ 95 %-os etanolból kell átkristályosítani. Hozam: 50 g (72 %). Op.: 108-109 °C.

5.10. p-Nitro-fenacil-bromid előállítása [73]

Egy 500 cm³-es gömblombikban 66 g (0,4 mól) p-nitro-acetofenont oldottam fel, 280 cm³ jégecetben. Az oldat hőmérsékletét hidegvizes fürdőben 20 °C-on tartva 30 perc alatt hozzácsepegtettem 31,8 g (0,4 mól) bróm és 10 cm³ jégecet elegyét. A kapott vörösbarna oldatot ezután szobahőfokon addig kevertettem, amíg halványsárga szilárd anyag vált ki. Szűrtem, jeges vízzel mostam és levegőn szárítottam. Hozam: 52 g (53,3 %). Op.: 98 °C.

5.11. Fenacil-antranilátok előállítása [29]

23,5 g (0,28 mól) nátrium-hidrogén-karbonátot adtam 32,9 g (0,24 mól) antranilsav 350 cm³ dimetil-formamidban készült oldatához, majd a reakcióelegyet 90-100 °C-on tartottam mindaddig, amíg gázfejlődést tapasztaltam. Ezután 20 °C-ra hűtöttem és hozzáadtam 0,2 mól 4'-szubsztituált fenacil-bromidot, amelynek hatására a hőmérséklet 25-28 °C-ra emelkedett. Szobahőmérsékleten 1 órát kevertetem, majd 20 g nátrium-karbonát és 1,5 kg jég keverékéhez öntöttem, így a szilárd csapadék kivált. Szűrtem, vízzel mostam, szárítószekrényben 60 °C-on szárítottam, majd 2,5 g aktív szénnel történő derítés után forró etanolból átkristályosítottam.

5.12. 4'-Szubsztituált-2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-oxokinolinok előállítása [29]

0,1 mól fenacil-antranilátot megolvastottam és fokozatosan 230 °C-ra melegítettem. 170-190 °C között folyamatosan gőz távozott el a rendszerből. Amikor a 230 °C-ot elérte a hőmérséklet, spontán 250 °C-ra melegedett a reakcióelegy és néhány perc múlva szilárd anyaggá állt össze. Miután szobahőmérsékletre hűlt, 75 cm³ etil-acetáttal refluxáltattam 30 percig, 0°C-ra hűtöttem, a szilárd anyagot leszűrtem, hideg etil-acetáttal mostam, majd szárítottam. A terméket etanolból kristályosítottam át.

5.13. 2-Metil-3-hidroxi-4(1H)-oxokinolin előállítása [30]

5 g (0,031 mól) 2-metil-4-kinolont feloldottam 8 g kálium-hidroxid 40 cm³ vízben készült oldatában, amihez egyszerre hozzáadtam 8,5 g (0,031 mól) kálium-peroxo-diszulfátot (K₂S₂O₈) és 24 órát kevertetem szobahőmérsékleten. Ezután a pH-t jégecetsav adagolásával 5 körüli értékre állítottam be, így az elreagálatlan anyag csapadék formájában kivált és jól szűrhető volt. A szűrlethez 8 cm³ koncentrált sósavat adtam, és 1 órát refluxáltattam. Hűtés után kivált kis mennyiségű anyagot leszűrtem, a szűrletet jeges vízzel lehűtöttem, majd a pH-ját nátrium-hidrogén-karbonát hozzáadásával 6 körüli értékre állítottam. A keletkező fekete gumiszerű anyagot szűrővel azonnal eltávolítottam. A szűrletből 0,5 g nyers termék vált ki hűtés hatására. Az anyalúg térfogatát bepárlással felére csökkentettem, így további 0,5 g nyers terméket kaptam. A gumiszerű anyagot 95 %-os etanolban feloldottam, majd étert adagoltam hozzá és így ismét 0,5 g szilárd anyag vált ki. A teljes kitermelés 1,5 g (27 %). A nyers terméket acetonból átkristályosítva szintelen kristályokat nyertem.

5.14. *N*-acetil-antranilsav előállítása [74]

13,7 g (0,1 mól) antranilsavat 30 °C-on feloldottam 180 cm³ benzolban, majd intenzív kevertetés mellett 10,5 g (0,103 mól) ecetsavanhidridet adtam hozzá. 10 perc elteltével a reakcióelegy fehér szilárd anyaggá állt össze, amelyet ezek után 96 %-os ecetsavból átkristályosítottam, majd a piszkosfehér kristályokat jeges vízzel savmentesre mostam.

5.15. *N*-benzoil-antranilsav előállítása [75]

27,41 g (0,2 mól) antranilsavat 1000 cm³ 0,2 M-os nátrium-hidroxid oldatban feloldottam, és a reakcióelegyet jeges-vizes fürdőben 0°C-ra hűtöttem, majd intenzív kevertetés közben, hozzáadagoltam 23,2 cm³ (0,2 mól) benzoil-kloridot és négyszer akkora térfogatáramban 100 cm³ 2 M-os nátrium-hidroxid oldatot. 1 óra kevertetés után az átlátszó oldathoz 5 M-os sósavoldatot adtam mindaddig, amíg fehér szilárd anyag kezdett el kiválni. A szuszpenziót felforraltam, majd cseppenként hozzáadagoltam 40 cm³ 5 M-os sósavoldatot, ezután jeges vízzel lehűtöttem, szűrtem, 1000 cm³ jeges vízzel mostam és szárítottam. Hozam: 46,24 g (95,9 %). Op.: 181-182 °C (bomlik). További tisztításhoz az elméletileg szükséges mennyiségű 0,1 M-os nátrium-hidroxid oldatban feloldottam, aktív szénnel kezeltem és szűrtem. A színtelen oldathoz 0,5 M-os sósavoldatot adtam, amíg a szilárd anyag kivált, amit szűrtem és jeges vízzel savmentesre mostam.

5.18. A PhQuinH₂ és a MePhQuinH autoxidációjának kinetikai vizsgálata aprotinos oldószerben

Termosztált kinetikai edénybe bemértem 50 cm³ adott koncentrációjú PhQuinH₂ / (MePhQuinH) DMF-ben készült oldatát, dioxigénnel telítettem, majd egy csiszolatos bemérőkanálból hozzáadtam a kálium-*terc*-butoxidot, amelynek hatására intenzív piros szín jelent meg. A reakció lejátszódását UV-látható spektroszkópia segítségével követtem nyomon $\lambda_1 = 363,0$ nm és $\lambda_2 = 532,0$ nm ($\lambda = 370,0$ nm) hullámhosszaknál.

5.19. PhQuinHLi előállítás

A reakció során argon atmoszférában, a hőmérsékletet $-5-0\text{ }^{\circ}\text{C}$ között tartva, 65 cm^3 abszolút THF-ben szuszpendáltam $1,71\text{ g}$ ($7,2\text{ mmol}$) PhQuinH₂-t, majd hozzáadagoltam $5,0\text{ cm}^3$ ($8,0\text{ mmol}$) butil-lítium *n*-hexánban készült oldatát. A kezdetben narancssárga szuszpenzió 45 percig tartó kevertetés után citromsárga színű lett. A szuszpenziót szűrtem, éterrel mostam, majd szárítottam. Az így kapott anyag inerten, hűtőben tárolva hosszabb időn át eltartható oxidáció lejátszódása nélkül. Hozam: $1,61\text{ g}$ (92%). Op.: $240\text{ }^{\circ}\text{C}$. IR (KBr) / cm^{-1} : 3389, 3263, 3056, 1623, 1579, 1558, 1538, 1494, 1438, 1366, 1296, 1270, 1217, 1121, 1036, 996, 912, 842, 753, 732, 697, 657, 655. UV-Vis (DMF): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log\epsilon$): 374,0 (3,66), 312,0 (3,35). Elemanalízis (%): Számított: C, 74,08; H, 4,14; N, 5,76. Talált: C, 73,78; H, 4,07; N, 5,59.

5.20. A PhQuinHLi autoxidációjának kinetikai vizsgálata aprotinos oldószerben

Termosztált kinetikai edénybe bemértem 50 cm^3 DMF-ot, majd dioxigénnel telítettem. Ezután egy csiszolatos bemérőkanál segítségével hozzáadtam adott tömegű PhQuinHLi-ot. A reakció lejátszódásának mértékét a $\lambda_1 = 374,0\text{ nm}$ és $\lambda_2 = 532,0\text{ nm}$ hullámhosszaknál jelentkező sávok abszorbanciájának mérésével határoztam meg.

5.21. Pufferoldat előállítása (pH = 9,6) [51]

Egy 100 cm^3 -es mérőlombikba 50 cm^3 $0,1\text{ M}$ -os nátrium-hidrogén-karbonát-oldatot mértem, majd hozzáadtam 5 cm^3 $0,2\text{ M}$ -os nátrium-hidroxid-oldatot és $2,22\text{ g}$ kálium-nitrátot, végül kétszer desztillált vízzel jelig töltöttem.

5.22. PhQuinH₂ autoxidációjának kinetikai vizsgálata protonos oldószerben

Egy 50 cm^3 -es mérőlombikba bemértem 20 cm^3 M -os DMSO-ban készült PhQuinH₂-oldatot, majd hozzáadtam 25 cm^3 , az előzőekben ismertetett módon elkészített pufferoldatot, végül DMSO-H₂O 50:50 arányú elegyével jelig töltöttem. Az így kapott homogén oldatot termosztált kinetikai edényben dioxigénnel telítettem, majd a reakció lejátszódását UV-látható spektroszkópia segítségével követtem nyomon $\lambda = 363,0\text{ nm}$ hullámhossznál.

5.23. A dioxigénkoncentráció meghatározása a hőmérséklet és a dioxigénnyomás függvényében

A készüléket (Beckmann Fieldlab Oxygen Analyzer) 18 °C-on levegővel, toluol oldószerben kalibráltam. A dioxigén koncentrációt ppm egységben a következő összefüggés felhasználásával határoztam meg [76]:

$$\text{ppm (w/w)} = \frac{\alpha \text{ MW}(\text{O}_2) f(\text{O}_2) 10^3}{22,4 \text{ d}} \times \frac{P_m}{760}$$

Ahol:

α :	abszorpciós koefficiens (0,168)
$\text{MW}(\text{O}_2)$:	a dioxigén moláris tömege (32 g mol^{-1})
$f(\text{O}_2)$:	a dioxigén térfogattörtje a gázban (0,21)
d :	az oldószer sűrűsége ($0,864 \text{ g cm}^{-1}$)
P_m :	gáznyomás (Hgmm)

9 cm^3 DMSO-hoz hozzáadtam 10 cm^3 pH = 10,6 pufferoldatot, majd az így kapott elegyet különböző hőmérsékleten és nyomáson dioxigénnel telítettem. A mért pontok alapján meghatároztam a hőmérséklet-koncentráció összefüggést ($[\text{O}_2] = -0,154 \ln(t) + 2,617$).

5.24. Aktív MnO_2 előállítása [57]

$31,6 \text{ g}$ ($3,2 \text{ mól}$) KMnO_4 -ot feloldottam 20 cm^3 vízben, az oldatot 80 °C -ra melegítettem, ehhez adagoltam állandó kevertetés közben $24,7 \text{ g}$ ($0,16 \text{ mól}$) MnSO_4 50 cm^3 vízben készült oldatát. Hozzáadtam 40 cm^3 40 (m/m)%-os NaOH oldatot kis részletekben 1 óra alatt. Ezután a melegítést megszüntetve még egy órán keresztül kevertetem a reakcióelegyet. A szuszpenziót szűrtem és KMnO_4 mentesre mostam, szárítottam és Ar atmoszféra alatt tároltam. Hozam: $11,55 \text{ g}$ (83 %).

5.25. 3-Fenil-3-hidroxi-2,4-kinolindion előállítása MnO_2 -dal

$0,2373 \text{ g}$ ($1,0 \text{ mmól}$) 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolint és $0,87 \text{ g}$ (10 mmól) általam előállított MnO_2 -ot [57] szuszpendáltam 5 cm^3 kloroformban, majd Ar atmoszféra alatt 11 órán át refluxáltattam. Szűrés után a finom eloszlású MnO_2 -ot tömény sósavas kezeléssel

maradéktaianul eltávolítottam. Az oldatot Na_2SO_4 -al, szárítottam, az oldószert vákuum segítségével eltávolítottam, a terméket petroléterrel tisztítottam. Hozam: 0,079 g (31 %). Op.: 230 °C. ^{13}C NMR (DMSO- d_6), $\delta(\text{ppm})$: 173,8; 82,7. IR (KBr) / cm^{-1} : 3441, 3251, 1713, 1677. MS: m/z (%) 253(M^+ , 45), 148 (20), 105 (100), 77 (35).

5.26. 2-Fenil-kinolin-3,4-dion előállítása MnO_2 -dal

0,001 mól (0,2373 g) 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolinont feloldottam 5 cm^3 dietiléterben és 0,002 mól (0,174 g) a kereskedelemben megvásárolható MnO_2 -ot (Fluka F63548) mértem hozzá, majd Ar atmoszféra alatt 10 órán át szobahőmérsékleten kevertetem. Ezután a reakcióelegyből a MnO_2 -ot maradéktaianul eltávolítottam, az oldószert vákuum segítségével leszívattam, a terméket *n*-pentánnal tisztítottam. A szilárd maradékot kevés éterben feloldottam, majd mélyhűtőbe tettem. A kivált barna tűkristályokat szűrtem. Hozam: 0,089 g (38 %). Op.: 103-105 °C. ^{13}C NMR (DMSO- d_6), $\delta(\text{ppm})$: 175,9; 172,5; 160,7; 145,4; 135,7; 134,5; 130,2; 129,9; 129,2; 128,7; 127,6; 127,3. IR (KBr) / cm^{-1} : 1703, 1686. UV-Vis (DMF): λ_{max} / nm ($\log \epsilon$): 374,5 (3,52), MS: m/z (%) 235 (M^+ , 20), 207 (45), 179 (100), 152 (10), 104 (12), 77 (30).

5.27. Indán-1,2-dion előállítása

A 2-fenil-kinolin-3,4-dion előállítása során visszamaradt pentános oldatot szárazra pároltam és egyesítettem az éteres anyalúggal. Néhány nap múlva piros kristályok váltak ki belőle. Hozam: 0,0073 g (5 %). Op.: 114-115 °C. ^1H NMR (CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 3,58; 7,46-7,53; 7,60-7,63; 7,75-7,81, ^{13}C NMR (CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$: 36,6; 127,5; 127,5; 128,7; 136,7; 137,6; 146,5; 187,1; 199,7, IR (KBr) / cm^{-1} : 1763, 1707, FABMS: 146 (M^+).

5.28. PhQuinH₂-reakciója fémrézzel trifenil-foszfín jelenlétében

Schlenk-edényben összemértem 0,1186 g (0,5 mmól) PhQuinH₂-t, 1,8157 g (28,57 mmól) rézforgácsot és 0,2623 g (1,0 mmól) trifenil-foszfint, inert atmoszférába helyeztem, majd hozzáadtam 10 cm^3 oxigénmentesített DMF-et. Néhány perces kevertetés elteltével a kiindulási anyagok a rézforgács kivételével maradéktaianul feloldódtak. A reakcióelegyet inerten, 40 °C-on 120 órán keresztül kevertetem, majd a rézforgácsot visszamérve a konverzió 90 %-nak adódott. Az oldatot hagytam 20 °C-ra hűlni, így másnapra sárga porszerű anyag vált ki. Szűrés után ötször abszolút éterrel mostam, szárítottam. Hozam: 0,128 g (30

%). Op.: 225 °C. ^{31}P NMR (DMF- d_3), $\delta(\text{ppm})$: 29,30. IR (KBr) / cm^{-1} : 3055, 1675, 1549, 1475, 1434, 1364, 1260, 1094, 750, 741, 695, 667, 572, 527, 518, 504. UV-Vis (DMF): $\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$ ($\log\epsilon$): 421,0 (4,25), 303,5 (4,38). Elemanalízis (%): Számított: C, 71,57; H, 4,56; N, 1,64; Cu, 11,15. Talált: C, 71,12; H, 4,77; N, 1,73; Cu, 11,37.

5.29. PhQuinH₂-reakciója fémrézzel

Schlenk-edényben 0,1186 g (0,5 mmól) PhQuinH₂-t, 0,159 g (0,25 mmól) rézport szuszpendáltam, hozzáadtam 10 cm^3 oxigénmentesített DMF-ben inert körülmények között, majd 60 °C-on 30 órát kevertetem. A reakcióidő elteltével a rézpor elreagált, az oldatot szűrtem, majd szobahőmérsékleten állni hagytam. Egy hét múlva a kivált barna szilárd anyagot szűrtem, éterrel mostam, majd vákuumban szárítottam. Hozam: 0,056 g (33 %). Op.: 110 °C (bomlik). IR (KBr) / cm^{-1} : 3264, 3236, 1653, 1629, 1564, 1518, 1483, 1462, 1439, 1370, 1291, 1268, 1093, 739, 695, 663, 589, 574. UV-Vis (DMF): $\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$ ($\log\epsilon$): 418,0 (4,34), 305,0 (3,96). Elemanalízis (%): Számított: C, 63,40; H, 4,99; N, 8,22; Cu, 9,32. Talált: C, 63,97; H, 4,91; N, 8,49; Cu, 9,26.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám célja a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxikinolin 2,3-dioxigenáz enzim (MeQDO) szerepének magyarázata volt a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin oxidatív gyűrűbontási reakciójában. Ennek érdekében működési modelleket dolgoztam ki, majd vizsgáltam az autoxidációs folyamatokban kapott termékelemek összetételét és a modellek kinetikai sajátosságait. Ezen kívül feladatom volt korábban kidolgozott kvercetin 2,3-dioxigenáz modellek alkalmazása az MeQDO enzim esetében: MnO₂ segítségével előállítandó szabad gyökök reakciója dioxigénnel, valamint réztartalmú komplexek előállítása és szerkezetvizsgálata.

1. Megvizsgáltam a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxikinolin autoxidációs reakcióját különböző aprotos oldószerekben (acetonitril, THF, DMF, DMSO) és gázkromatográffal összekapcsolt tömegspektrométerrel azonosítottam a termékeket. A termékek mennyiségét gázkromatográfiásan határoztam meg. Megállapítottam, hogy az enzimikus reakcióban nem keletkező 2-fenil-3,1-benzoxazin-4-on, valamint a 2-fenil-glioxálsav is kimutatható az autoxidációs reakció termékei között. A 2-fenil-3,1-benzoxazin-4-on az *N*-benzoil-izatinsav gyűrűzáródása során, a fenil-glioxálsav pedig az *N*-benzoil-izatinsav savas közegben lejátszódó bomlása során keletkezett. Bizonyítottam, hogy a reakció termékeinek mennyiségéből következtetni lehet az endoperoxid- és az 1,2-dioxetán-származékokon keresztül lejátszódó reakcióutak arányára. A reakcióutak aránya változik az oldószer anyagi minőségével, azonban közvetlen összefüggés nem figyelhető meg az oldószer valamely fizikai állandója (pl. dipólusmomentum) és az egyik reakcióút nagyobb aránya között. A gázvolumetriás mérésekből az is világossá vált, hogy kálium-*terc*-butoxid jelenlétében acetonitril és THF oldószerek alkalmazásakor a dioxigén az oldószerekkel is reakcióba lépett.

2. Az ESR spektroszkópia segítségével bizonyítottam, hogy a 4'-helyettesített 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin származékok autoxidációs reakciójában szabad gyökök keletkeznek, amelyek viszonylag stabilisak. Kimutattam az egyéb 4-piridonszármazékok (2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin, *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin, 1,2-dimetil-3-hidroxi-4-piridon) autoxidációja során keletkező szabad gyököket is.

3. Elvégeztem a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin autoxidációs reakciójának kinetikai vizsgálatát DMF oldószerben. A szubsztrátum és a 2-fenil-3-oxil-4(1*H*)-oxokinolin gyök koncentrációját az UV-látható spektroszkópia segítségével követtem nyomon. A reakció sebessége első renden függ a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin, a dioxigén és a kálium-*tert*-butoxid koncentrációjától egyaránt. A reakciósebesség hőmérsékletfüggéséből kiszámítottam az aktiválási szabadentropiát ($\Delta S^\ddagger = -165,0 \pm 15,8 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), melynek negatív értéke valószínűsíti, hogy a leglassúbb részfolyamat asszociatív bimolekuláris lépés. A Hammett-egyenletben szereplő ρ állandó negatív értéke ($\rho = -0,84$) arra utal, hogy az elektronküldő szubsztituensek növelik a reakció sebességét. A SET lépés ugyanis annál könnyebben játszódik le, minél nagyobb az elektronsűrűség a heterociklikus gyűrűben. A ciklikus voltamertriás vizsgálatok reverzibilis oxidációs hullámokat mutattak ki a 4'-helyettesített 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin-származékoknál, amiből a szabad gyök viszonylag nagy stabilitására következtethetünk. Továbbá lineáris összefüggés állapítható meg az első oxidációs potenciál és az adott származék esetében mérhető reakciósebességi állandó között. Inhibíciós kísérletek elvégzésével megállapítottam, hogy az autoxidáció nem gyökös láncreakcióval megy végbe.

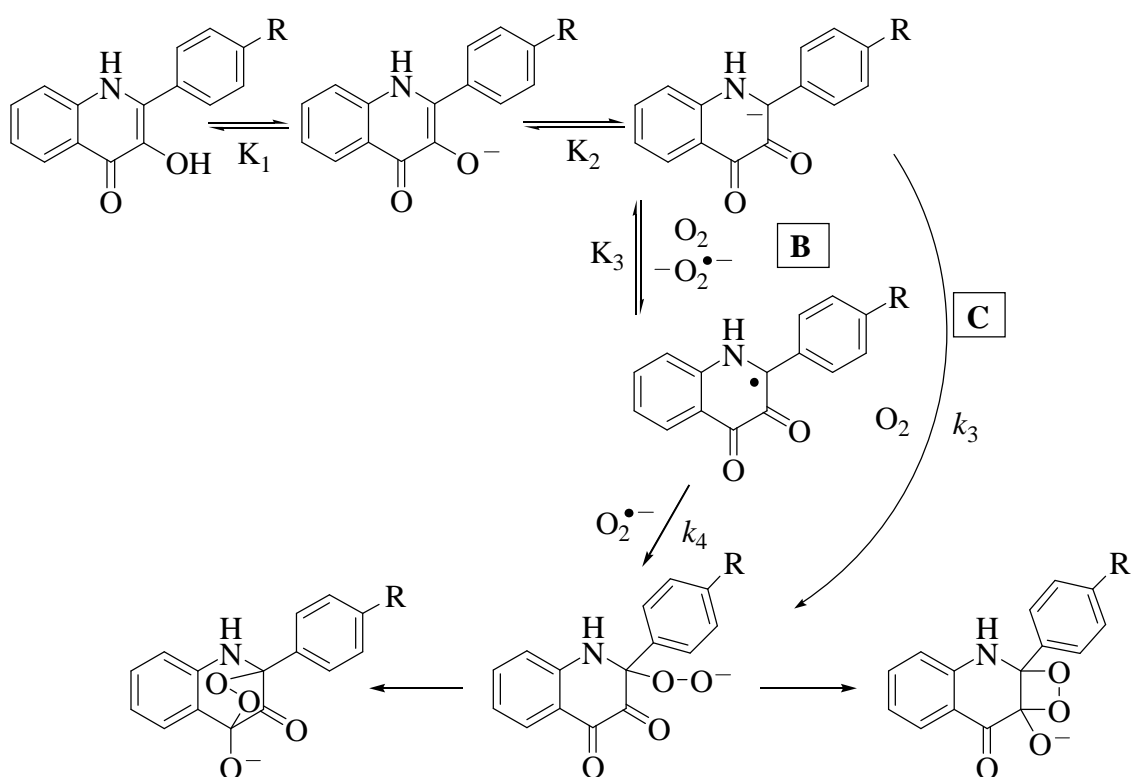
4. 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin Li-sójának oxigénezését DMF oldószerben hajtottam végre. A reakciósebesség első rend szerint függ a Li-só és a dioxigén koncentrációjától. Szabad gyökök jelenléte ebben az esetben is kimutatható, azonban az inhibíciós kísérletek alapján a gyökös láncreakcióval lejátszódó mechanizmus kizárható.

5. Az *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin autoxidációját DMF oldószerben kálium-*tert*-butoxid jelenlétében vizsgáltam. A reakció termékei között ebben az esetben is kimutattam a 2-fenil-3,1-benzoxazin-4-ont. Megállapítottam, hogy a reakciósebesség első rend szerint függ az *N*-metil-2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin-anion, valamint a dioxigén koncentrációjától. Az ESR vizsgálatok bizonyították, hogy az autoxidációs reakció szabad gyök intermediereken keresztül játszódik le.

6. 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin DMSO-H₂O oldószerben végrehajtott autoxidációja alapvetően ugyanolyan mechanizmussal játszódik le, mint aprotos oldószerben. Azonban a szabad gyökök intenzitása alacsonyabb, ami a gyök és az oldószer között lejátszódó mellékreakcióval magyarázható. Megállapítottam, hogy a reakciósebesség első rend szerint függ a szubsztrátum, a hidroxid-ionok, valamint a dioxigén

koncentrációjától. A reakció specifikusan báziskatalizált. Inhibítor jelenlétében nem csökkent jelentős mértékben a reakciósebesség, így az autoxidáció nem gyökös láncmechanizmussal játszódik le. A Hammett-egyenletben a reakcióállandó negatív értéke jelzi, hogy a reakciósebesség érzékeny a kinolingyűrű elektronsűrűségére, az elektronküldő szubsztituensek növelik a reakciósebességet.

7. A protonos és aprotos közegben végrehajtott kinetika vizsgálatok eredménye képpen javaslatot tettem a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin autoxidációjának mechanizmusára.



A szubsztrátumból bázis hatására az első egyensúlyi lépésben (K₁) kialakul a megfelelő anion. Az anion K₂ egyensúlyi állandóval jellemezhető lépésben egyensúlyba kerül a karbanion formájával. A karbanion reakcióba lép a dioxigénnel és egyensúlyi lépésben (K₃) átmenetileg szabad gyök és szuperoxid gyökönion keletkezik (B reakcióút). A szabad gyökből és a szuperoxid gyökönionból lassú lépésben peroxidszármazék keletkezik, amely a továbbiakban endoperoxid- vagy 1,2-dioxetán intermediereken keresztül alakul át termékekké. A C reakcióúton a karbanion és a dioxigén lassú lépésben, szabad gyökök keletkezése nélkül alakul át peroxid intermedierré. Protonos oldószerek alkalmazása esetében

a **B** reakcióúton kis mértékben játszódik le a reakció, aprotónos oldószerekben azonban megnő a jelentősége.

8. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolint és mangán-dioxidot dietil-éterben szobahőmérsékleten reagáltatva megkaptam az irodalomból ismert 2-fenil-3,4-kinolindiont, mint főterméket. Azonban új eredményként megállapítottam, hogy 1,2-indándion keletkezik melléktermékként. A 2-fenil-3,4-kinolindionból, valamint az 1,2-indándionból röntgendiffrakcióra alkalmas egykristályokat állítottam elő és szerkezetüket meghatároztam. Amennyiben a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolint és mangán-dioxidot kloroformban refluxáltattam 3-fenil-3-hidroxi-tetrahidro-kinolin-2,4-diont kaptam, ami a fenil-csoport 2-es szénatomról a 3-as szénatomra történő vándorlásával alakult ki. Az ESR spektroszkópia segítségével kimutattam, hogy mangán-dioxid és 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin reakciójában nem keletkeznek szabad gyökök, ennél fogva dimer termékeket nem tudtam előállítani.

9. 2-Fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolinból elemi réz és trifenil-foszfin jelenlétében előállítottam a [(dimetil-formamid) $2\kappa N$ -bisz(2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolináto $2\kappa^2 O^3, O^4$, $1\kappa N$, $3\kappa N$)-tetrakisz(trifenil-foszfin)- $1\kappa^2 P$, $3\kappa^2 P$)-diréz(I)-réz(II)] komplexet, amelynek szerkezetét spektroszkópiái és röntgendiffrakciós módszerrel határoztam meg. A hárommagvú komplex kialakulása során a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin NH- és OH-kötései egyaránt aktiválódtak. A réz(I)-ion körül síkháromszög geometriával rendeződik el a két trifenil-foszfin és a PhQuin²⁻-ből származó N-atom. A PhQuin²⁻-ionok hídhelyzetű ligandumok, a réz(II)-ion körül két PhQuin²⁻ ligandum helyezkedik el síknégyszegesen.

10. Abban az esetben, ha a 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolint elemi rézzel reagáltattam, akkor csak az OH-kötés aktiválódott és [bisz(2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolináto $\kappa O^3, O^4$)-réz(II)]•2DMF összetételű komplexet kaptam, melynek egykristály röntgendiffrakciós vizsgálatát elvégeztem. A réz(II)-ion körül síknégyszeges geometriával rendeződik el a két 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolináto ligandum. A 2-fenil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolinból egykristályokat állítottam elő és a szerkezet röntgendiffrakciós meghatározása után lehetőség nyílt a szabad ligandum és a koordinált ligandum kötéstávolságainak összehasonlítására. Megállapítható, hogy mindkét rézkomplex esetében az öttagú kelátgyűrűkben kiterjedt elektrondelokalizáció alakult ki.

11. Tudjuk, hogy a kvercetin 2,3-dioxigenáz réz(II)-ionokat tartalmazó enzim, a MeQDO viszont nem tartalmaz átmeneti fémet, annak ellenére, hogy a szubsztrátumaik izoelektronos molekulák. Mindkét szubsztrátum gyűrűnyitó oxigénezési folyamatában szabad gyök intermedierek keletkeznek. A 3. pontban megállapítottam, hogy a 2-fenil-3-oxil-4(1*H*)-oxokinolin gyök viszonylag nagy stabilitással rendelkezik, a flavonoxil gyök azonban nagyon instabilis. Valószínűleg ezért tartalmaz a kvercetin 2,3-dioxigenáz redoxaktív fémet az aktív centrumában, hogy a $\text{Cu}^{\text{I}} / \text{Cu}^{\text{II}}$ vegyértékizomerizáción keresztül képes legyen stabilizálódni a szabad gyök.

Az 1-10. pontokban bemutatott eredmények alapján megállapítható, hogy a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin 2,3-dioxigenáz enzim legfontosabb szerepe a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-oxokinolin oxidatív gyűrűbontási reakciójában a szubsztrátum deprotonálása.

7. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] S. Fetzner, B. Tshisuaka, F. Lingens, R. Krappf, J. Hüttermann, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1998, **37**, 576.
- [2] H. K. Hund, A. de Beyer, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1990, **371**, 1005.
- [3] G. Bott, M. Schmidt, T. O. Rommel, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1990, **371**, 999.
- [4] R. W. Hay, *Bio-Inorganic Chemistry*, Ellis Harwood Ltd., Chichester, 1984.
- [5] Kőrös E. *Bioszervetlen kémia*, Gondolat, Budapest, 1980.
- [6] R. A. Sheldon, J. K. Kochi, *Metalcatalyzed Oxidations of Organic Compounds*, Academic Press, New York, 1981.
- [7] B. G. Malmström, *New Trends in Bio-inorganic Chemistry*, (Eds. R. J. P. Williams, I. R. R. F. Da Silva), Academic Press, London, 1978.
- [8] E. C. Niederhaffer, J. H. Timmons, A. E. Martell, *Chem. Rev.*, 1984, **84**, 137.
- [9] A. L. Feig, S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, 1994, **94**, 759.
- [10] F. O. Brady, *Bioinorg. Chem.*, 1975, **5**, 167.
- [11] T. Matsuura, *Tetrahedron*, 1977, **33**, 2869.
- [12] I. Bauer, N. Max, S. Fetzner, F. Lingens, *Eur. J. Biochem.*, 1996, **240**, 576.
- [13] Y. Dai, T. C. Pochapsky, R. H. Abeles, *Biochem.*, 2001, **40**, 6379.
- [14] J. Farjanel, Mc. Ronziere, A. Frey, *J. Biochimie.*, 1976, **58(3)**, 333.

- [15] T. Kido, K. Soda, T. Suzuki, K. Asada, *J. Biol. Chem.*, 1976, **251**, 6994.
- [16] M. Noziaki, *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, (Ed. O. Hayaishi), Academic Press, New York, 1974.
- [17] P. Feigelson, F. O. Brady, *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, (Ed. O. Hayaishi), Academic Press, New York, 1974.
- [18] W. H. Vanneste, A. Zuberbühler, *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, (Ed. O. Hayaishi), Academic Press, New York, 1974.
- [19] W. Adam, *Chem. Ztg.*, 1975, **99**, 142.
- [20] K. D. Karlin, A. D. Zuberbühler, *Bioinorganic Catalysis*, (2nd ed.), (ed.) E. B. J. Reedijk, Marcel Dekker, Inc., New York, 1999, pp. 469-534.
- [21] I. E. Markó, P.R. Giles, M. Tsukazaki, S. M. Brown, C. J. Urch, *Science*, 1996, **274**, 2044.
- [22] S. Schach, G. Schwarz, S. Fetzner, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1993, **374**, 175.
- [23] A. Rüger, G. Schwarz, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1993, **374**, 479.
- [24] G. Schwarz, R. Bauder, M. Speer, T. O. Rommel, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 1989, **370**, 1183.
- [25] O. P. Shukla, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, **59**, 47.
- [26] F. Fischer, S. Fetzner, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, **190**, 21.
- [27] F. Fischer, S. Künne, S. Fetzner, *J. Bacteriol.*, 1999, **181**, 5725.

- [28] R. A. Greenwald, *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, CRC Press: Boca Raton, 1984; pp 123-128.
- [29] P. Hradil, J. Jirman, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1995, **60**, 1357.
- [30] E. J. Behrman, R. L. Kiser, W. F. Garas, E. C. Behrman, B. M. Pitt, *J. Chem. Res. (M)*, 1995, 1051.
- [31] P. Hradil, J. Hlaváč, K. Lemr, *J. Heterocyclic Chem.*, 1999, **36**, 141.
- [32] A. Nishinaga, T. Tojo, H. Tomita, T. Matsuura, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.*, 1979, 2511.
- [33] M. Czaun, G. Speier, *Tetrahedron Lett.*, 2002, **43**, 5961.
- [34] L. Barhács, J. Kaizer, G. Speier, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 3449.
- [35] É. Balogh-Hergovich, J. Kaizer, G. Speier, V. Fülöp, L. Párkányi, *Inorg. Chem.*, 1999, **38**, 3787.
- [36] F. Antonini, M. Brunori, *Hemoglobin and Myoglobin and Their Reactions with Ligands*, North Holland, Amsterdam, 1971.
- [37] K. Schwetlick, *Reakciómechanizmusok kinetikai vizsgálata*, Műszaki Tankönyvkiadó, Budapest, 1978.
- [38] A. Kruis, *Landolt-Börnstein*, IV/4, (6), Spinger-Verlag, Berlin, 1976.
- [39] S. Ohe, *Computer Aided Data Book for Vapor Pressure*, Data Book Publishing Company, Tokyo, 1989.
- [40] C. C. Leznoff, A. B. P. Lever, *Phthalocyanines*, Vol. 3, p. 8, VCH Publishers, New York, 1993.

- [41] D. T. Sawyer, *Oxygen Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, 1991, p. 34.
- [42] T. Konishi, M. Fujitsuka, O. Ito, *Chem. Lett.*, 2000, **2**, 202.
- [43] Y. Dai, P. C. Wensink, R. H. Abeles, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 1193.
- [44] J. Bronstein, B. Edwards, J. C. Voyta, *J. Bioluminescence and Chemiluminescence*, 1989, **4**, 99.
- [45] S. Beck, H. Koster, *Anal. Chem.* 1990, **62**, 2258.
- [46] E. G. Janzen, A. L. Wilcox, V. Manoharan, *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 3597.
- [47] M. Czaun, G. Speier, *Polyphenols Communications 1*, 2002, 41.
- [48] C. G. Nordstrom, C. Majani, *Suomen Chem.*, 1965, **338**, 239.
- [49] C. G. Nordstrom, C. Majani, *Suomen Chem.*, 1968, **341**, 351.
- [50] G. Speier, Z. Tyeklár, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II.*, 1981, 1176.
- [51] J. A. Dean, *Lange's Handbook of Chemistry*, McGraw-Hill Book Company, New York, 1973, p. V.74-77.
- [52] M. Czaun, G. Speier, *J. Inorg. Biochem.*, 2001, **86**, 193.
- [53] É. Balogh-Hergovich, G. Speier, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 7974.
- [54] M. Czaun, E. Farkas, G. Speier, *J. Org. Chem.*, (közlésre elküldve).
- [55] T. Matsuura, H. Matsushima, R. Nakashima, *Tetrahedron*, 1970, **26**, 435.
- [56] T. W. M. Spence, G. Tennant, *J. Chem. Soc. (C)*, 1971, 3712.

- [57] J. Attenburrow, A. F. B. Cameron, J. H. Chapman, R. M. Evans, B. A. Hems, A. B. A. Jansen, T. Walker, *J. Chem. Soc.*, 1952, 1049.
- [58] W. Stadlbauer, T. Kappe, *Z. Naturforsch.*, 1982, **37b**, 1196.
- [59] W. Neuenhaus, H. Budzikiewicz, H. Korth, G. Pulverer, *Z. Naturforsch.*, 1979, **34b**, 313.
- [60] M. Czaun, I. Ganszky, G. Speier, L. Párkányi, *Z. Kristallogr. NCS*, 2002, **217**, 379.
- [61] O. Petrovskaia, B. M. Taylor, D. B. Hauze, P. J. Carrol, M. M. Joullié, *J. Org. Chem.*, 2001, **66**, 7666.
- [62] B. C. Ranu, *Eur. J. Org. Chem.*, 2000, 2347.
- [63] F. Martínez, C. del Campo, E. F. Llama, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I.*, 2000, 1749.
- [64] G. Speier, V. Fülöp, L. Párkányi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1990, 512.
- [65] É. Balogh-Hergovich, G. Speier, Gy. Argay, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 551.
- [66] Lippai István, *Diplomadolgozat*, Veszprémi Egyetem, 1991.
- [67] D. F. Shriver, M. A. Drezdson, *The Manipulation of Air-sensitive Compounds*, John Wiley&Sons, New York, 1990.
- [68] D. D. Perrin, W. L. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, (2nd ed.), Pergamon, New York, 1990.
- [69] *Organikum*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest 1967.
- [70] R. M. Cowper, L. H. Davidson, *Org. Synth.*, Vol. II, p. 480, Wiley, New York, 1943.
- [71] R. M. Cowper, L. H. Davidson, *Org. Synth.*, Vol. I, p. 109, Wiley, New York, 1943.

- [72] R. M. Cowper, L. H. Davidson, *Org. Synth.*, Wiley, New York, 1943, Vol. I, p. 127.
- [73] C. Engler, O. Zielke, *Ber.*, 1889, **22**, 203.
- [74] L. Marchetti, A. Andreani, *Ann. Chim.*, 1973, **63**, 681-690.
- [75] R. E. Steiger, *J. Org. Chem.*, 1944, **9**, 396-700.
- [76] A. Seidell, W. F. Linke, *Solubilities of Inorganic and Organic Compounds*, D. Van Nostrad Co., New York, 1952.