

VESZPRÉMI EGYETEM



**PIROKATECHIN SZÁRMAZÉKOK BIOUTÁNZÓ
OXIDÁCIÓS REAKCIÓINAK VIZSGÁLATA**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Készítette:

KUPÁN ÁDÁM ISTVÁN

okleveles vegyész

Témavezető:

Dr. SPEIER GÁBOR

egyetemi tanár

Veszprémi Egyetem Kémia Doktori Iskola

Szerves Kémia Program

Szerves Kémia Tanszék

Veszprém

2004

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	3
2.1. AROMÁS VEGYÜLETEK MIKROBIOLÓGIAI LEBONTÁSA.....	3
2.2. AZ ENZIMEKRŐL	3
2.2.1. <i>Metalloenzimek</i>	6
2.2.2. <i>Oxigenáz és oxidáz enzimek</i>	7
2.2.2.1. Pirokatechin-dioxigenáz enzimek.....	10
2.2.2.2. A pirokatechin-oxidáz enzim	12
2.3. MODELLVEGYÜLETEK	17
2.3.1. <i>A pirokatechinek autooxidációs reakciói</i>	18
2.3.2. <i>Pirokatechinát-komplexek</i>	21
2.3.3. <i>Pirokatechin-oxidáz enzimmodellek</i>	23
3. CÉLKITŰZÉSEK	27
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	29
4.1. PIROKATECHINEK OXIDATÍV GYŰRŰBONTÁSI REAKCIÓJA APROTONOS KÖZEGBEN	29
4.1.1. <i>3,5-Di-terc-butil-pirokatechin alkálifém-sóinak oxidációs folyamatai</i>	29
4.1.1.1. Kálium-3,5-di-terc-butil-pirokatechinát oxigénezési reakciójának részletes kinetikai vizsgálata	32
4.1.2. <i>2,3-Dihidroxi-naftalin alkálifém-sóinak oxidációs reakciói</i>	41
4.1.3. <i>9,10-Dihidroxi-fenantrén alkálifém-sóinak oxigénezési reakciói</i>	42
4.2. PIROKATECHIN OXIDÁZ ENZIMMODELLEK VIZSGÁLATA	45
4.2.1. <i>3,5-Di-terc-butil-pirokatechin oxidációs reakciói Cu(I)-komplexek jelenlétében</i>	45
4.2.1.1. Egyfogú N-donor ligandumok előállítása	45
4.2.1.2. $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ komplex előállítása és jellemzése	47
4.2.1.3. 3,5-Di-terc-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ komplex jelenlétében.....	49
4.2.1.3.1. Reakciókinetikai vizsgálatok.....	50
4.2.1.4. $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}](\text{ClO}_4)$ és $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}](\text{ClO}_4)$ komplexek előállítása és jellemzése	57
4.2.1.5. 3,5-Di-terc-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}](\text{ClO}_4)$ és $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}](\text{ClO}_4)$ komplexek jelenlétében	59
4.2.1.5.1. Reakciókinetikai vizsgálatok.....	60
4.2.2. <i>3,5-Di-terc-butil-pirokatechin oxidációs reakciói Cu(II)-komplexek jelenlétében</i>	67
4.2.2.1. Szubsztrátumot tartalmazó modellvegyületek előállítása.....	67
4.2.2.1.1. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})]$ komplex előállítása és jellemzése	68
4.2.2.1.2. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})]$ komplex előállítása és jellemzése.....	70
4.2.2.1.3. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{R}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBCat})]$ komplexek előállítása és jellemzése	72
4.2.2.1.3. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{R}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]$ komplexek előállítása és jellemzése	74
4.2.2.2. 3,5-Di-terc-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel szubsztrátumot tartalmazó modellvegyületek jelenlétében	76
4.2.2.2.1. 3,5-Di-terc-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})]$ komplex jelenlétében – Reakciókinetikai vizsgálatok	77
4.2.2.2.2. 3,5-Di-terc-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})]$ komplex jelenlétében – Reakciókinetikai vizsgálatok	85

4.2.2.3. A DBCatH ₂ reakciója dioxigénnel [Cu ^{II} (HB {ph ₂ pz} ₃)(DBSQ)] komplex jelenlétében - Reakciókinetikai vizsgálatok	91
4.2.2.3. 3,5-Di- <i>terc</i> -butil-pirokatechin oxidációs reakciói kétmagvú réz(II)-komplex jelenlétében.....	99
4.2.2.3.1. Az alkalmazott ligandum előállítása.....	99
4.2.2.3.2. Komplexképzés és jellemzés	100
4.2.2.3.3. 3,5-Di- <i>terc</i> -butil-pirokatechin oxidációs reakciói a 75 komplex jelenlétében.....	101
5. KÍSÉRLETI RÉSZ.....	110
6. ÖSSZEFOGLALÁS	126
6.1. PIROKATECHINEK AUTOOXIDÁCIÓS REAKCIÓI APROTONOS OLDÓSZEREKBE.....	126
6.2. RÉZTARTALMÚ ENZIMMODELLEK VIZSGÁLATA	127
7. IRODALOMJEGYZÉK	134

1. BEVEZETÉS

A XX. század folyamán végbement technológiai forradalomnak köszönhetően, napjaink emberének rendelkezésére állnak olyan módszerek, melyek segítségével számos fontos vegyület szintézise nagyipari mennyiségekben kivitelezhető. Sokáig azonban a különböző eljárások kidolgozásának fő szempontjai a befektetett anyagiak megtérülése, illetve az előállított termékekből származó profit maximalizálása voltak. Ennek következtében, számos olyan ipari eljárást alkalmaztunk, melyekkel sok hasztalan melléktermék is keletkezett. Ezek az anyagok jobb esetben ártalmatlan ballasztanyagok, rosszabb esetben súlyosan mérgező molekulák voltak, melyek a környezetbe kerülve jelentős környezetszennyezést okoztak.

Napjaink egyre súlyosbodó környezeti problémáinak következtében olyan új, környezetbarát ipari technológiák kidolgozását célozták meg a szakemberek, melyek jó kemo-, regio- és sztereoszelektivitással bíró reakciókon alapulnak.

A kémiának egy új koncepción alapuló ága jött létre, az ún. *zöld kémia*, melynek alapelve: „tanuljunk a környezetünktől”. A természetben és magában az emberi szervezetben is, számos olyan reakció játszódik le, melyeknek szelektivitása és határfoka kiemelkedően jó. Ezen reakciók voltaképpen katalitikus reakciók melyeket biokatalizátorok, Kuhne elnevezésével élve *enzimek* tesznek lehetővé. Az enzimek működése alapján véve kémiai reakciónak tekinthető, ily módon a kémia mint önálló tudományág törvényszerűségeivel leírható. Az enzim-katalizált reakciók vizsgálatával így nem csak a biológiai ismereteinket bővíthetjük, de a szerzett információkat a kémia „nyelvére” lefordítva új preparatív eljárásokat dolgozhatunk ki, valamint a homogén katalízis jobb megértésére fordíthatjuk.

Az enzimek funkciójának ismerete más szempontokból is elengedhetetlen, rendellenes működésük olyan súlyos betegségek kialakulásához vezethet mint például a Tay-Sachs szindróma. Érthető tehát, hogy az enzimkémia hatalmas fejlődésen ment keresztül az elmúlt években, különösen a mérés- és műszertechnika rohamos fejlődésének köszönhetően.

Egy enzim szerkezetének és működésének pontos megismerését legjobban természetesen magának az enzimnek a tanulmányozásával érhetjük el, ez viszont számos esetben nem kivitelezhető. Nagy molekulatömegük miatt tisztításuk gyakran nehézkes, a szerkezet pontos felderítése röntgendiffrakciós eljárásokkal pedig csak nagyon szerencsés esetekben kivitelezhető. Oldatvizsgálatokat is gyakorlatilag csak a fémtartalmú -

metalloenzimek - esetében alkalmazhatunk, de a műszer- és mérés technika gyors fejlődésének köszönhetően az aktív centrum szerkezete egyre több esetben feltérképezhető.

Amennyiben az enzim nem nyerhető ki tiszta formában, következésképpen magán az enzimen nem végezhető elemzések, bioutánzó rendszerek kidolgozásával és vizsgálatával kerülhetünk közelebb az enzimkatalizált reakciók mechanizmusának és ezáltal a vizsgált enzim működésének megismeréséhez, megértéséhez.

Az ismert enzimeknek egy fontos csoportját alkotják az ún. oxigenáz- és oxidáz enzimek, melyek szerves szubsztátumok és dioxigén reakcióját katalizálják. Ebbe a csoportba tartoznak, az aromás vegyületek mikrobiológiai lebontása során keletkező közös köztitermék, a pirokatechin oxidációját katalizáló, pirokatechin-oxidáz és -oxigenáz enzimek. Ezen enzimek működését még nem ismerjük teljes egészében, így ez a kérdés jelenleg is tudományos vita tárgyát képezi.

Értekezésemben a pirokatechin-1,2-dioxigenáz és a pirokatechin-oxidáz enzimek működésének megismerését szolgáló funkcionális és szerkezeti modellek vizsgálata során elért eredményeim kerülnek bemutatásra.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Aromás vegyületek mikrobiológiai lebontása

A növényvédőszeres, rovarirtók, gyomirtók vagy ipari szennyvizek formájában a természetbe kijuttatott aromás vegyületek teszik ki az antropogén környezeti szennyezések jelentős részét.

Az aromás gyűrű nagy delokalizációs energiája miatt ezen vegyületek igen stabilak, lebontásukhoz erélyes körülményekre van szükség. A természetben e vegyületek lebontása mégis enyhe reakciókörülmények mellett valósul meg, mikrobiológiai úton. Ezek a degradációs folyamatok aerob vagy anaerob úton mehetnek végbe.

Általánosan elfogadott tény, hogy a lebontási folyamatok első lépésében az aromás gyűrűk dihidroxileződése történik meg, amit gyűrűfelhasadás követ. A kapott alifás intermedierek a terminális ciklusban bomlanak le értékes energiadús végtermékeket szolgáltatva. Elmondható tehát, hogy az aromás vegyületek lebontásának egyik fontos közös köztiterméke lesz a pirokatechin. Ezen intermedier a legtöbb aromás vegyület (benzol, fenol, naftalin, antracén, fenantrén, szalicilsav, *o*-krezol, mandulasav, benzoésav, stb.) lebontásánál kimutatható.

Munkám során az aromás vegyületek lebontásával foglalkoztam, ezen belül az aerob úton történő metabolikus folyamatokat vizsgáltam.

2.2. Az enzimekről

Életünk tökéletesen összehangolt kémiai és fizikai folyamatok sorozataként valósul meg, mely reakciók nagy része közönséges körülmények mellett nem, vagy csak nagyon kis sebességgel játszódik le. A természet különleges tulajdonságokkal bíró molekulákat alkotott, melyek az ilyen reakciókat gyorsítják, ezek a biokatalizátorok az *enzimek* vagy más néven fermentumok.

Az enzimek nagy molekulatömegű ($1,20 \times 10^4$ – $5,00 \times 10^5$ Dalton) fehérje molekulák, melyek specifikusan egy adott reakciót katalizálnak, jól definiált reakciókörülmények (hőmérséklet, pH stb.) mellett.

Azon molekulákat, melyek átalakulásában az enzimek katalitikus szerepet töltenek be, *szubsztrátumnak* nevezzük. A szubsztrátum molekula általában kisebb molekulatömeggel rendelkezik ($M < 10^3$ Dalton) mint maga az enzim.¹

Minden enzimre jellemző a hatás- és szubsztrátumspecifitás. Előbbi alatt azt értjük, hogy egy adott enzim, a szubsztrátum számos kémiai és termodinamikailag lehetséges reakciója közül, csak egy adott, jól definiált reakciót katalizál. A szubsztrátumspecifitás azt jelenti, hogy egy adott enzim egyetlen (néha kémiai hasonló egyéb) szubsztrátum átalakítására képes.

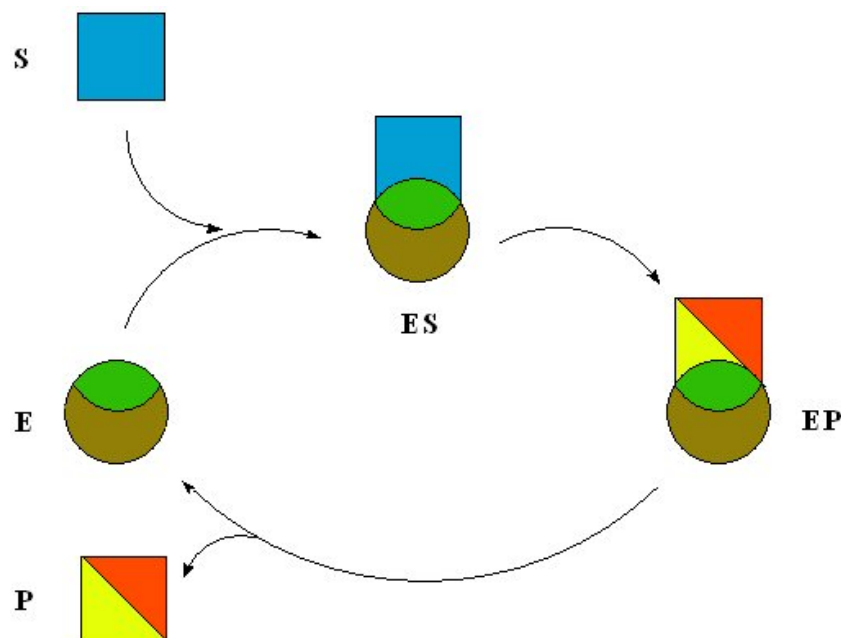
Az enzimek által bontott, vagy létrehozott kémiai kötések természete alapján az alábbi hat enzimesoportot különböztetjük meg:²

- 1.) *Oxidoreduktázok*: A sejtekben lejátszódó redoxireakciókat katalizáló enzimek csoportja. Ezen reakciókban egy vagy több elektron, esetleg hidrogén atom átvitele történik meg a reagáló molekulák között.
- 2.) *Hidrolázok*: A fehérjék, poliszacharidok, zsírok, foszfátok víz hatására történő átalakulását (hidrolízisét) katalizálják, azaz hasítják a peptid kötést, a glikozidos kötést, valamint az észterkötést. A reakciók során a nagyobb molekulákból kisebbek keletkeznek.
- 3.) *Transzferázok*: Ezek az enzimek különböző funkciós csoportok (-R, -NH₂, -CHO, -CH₂OH, -COOH, -PO₄) átvitelét katalizálják egyik molekuláról egy másikra.
- 4.) *Izomerázok*: Az ebbe a csoportba tartozó enzimek molekulán belüli, intramolekuláris átrendeződéseket katalizálnak.
- 5.) *Liázok*: Ezen enzimek nem hidrolitikus reakcióval a szubsztrátum molekulák -C-C-, -C-S-, -C-O- kötéseit bontják fel, vagy hozzák létre. Abban az esetben, ha a reakciók a szintézis irányába játszódnak le, akkor ezeket az enzimeket *szintetázoknak* nevezzük.
- 6.) *Ligázok*: Az ebbe a csoportba tartozó enzimek két molekula összekapcsolódását katalizálják. Ismertek C-C, C-N és C-O kötés kialakítását katalizáló enzimek.

A katalizált folyamat aktiválási energiájának csökkentése, valamint az ezzel együtt járó reakciósebesség-növekedés az enzimhatás körfolyamatán alapszik, melyet elsőként Emil Fischer írt le (1. ábra). A folyamat első lépéseként az enzim (E) a szubsztrátummal (S) egy ún. enzim-szubsztrátum komplexet (ES) alkot, aminek hatására a szubsztrátum molekula aktiválódik. A szubsztrátum az enzim jól definiált részén, az ún. *aktív*

*centrum*ban kötődik meg, ahol a fehérje kavitást tartalmaz. Az aktív centrum alakja - a benne lévő töltések, reaktív fehérjeszekvenciák és fém-kofaktorok egy különös mintázata - felelős az enzimek nagyfokú specifikusságáért. A mintázat csakis speciális struktúrákat képes megkötni, így választva ki a megfelelő szubsztrátumot. Ez a kavitás azonban nem egy merev mintaként képzelendő el, mint azt Emil Fischer feltételezte, hanem sokkal inkább flexibilis szerkezetként, mely a szubsztrátum hatására bizonyos mértékben deformálódhat. A reaktív csoportok ezt követően ismerik fel, hogy az aktív centrumhoz kapcsolódó molekula az átalakítani kívánt szubsztrátum-e vagy sem. Az ES komplexben az egyes alkotók közötti kapcsolatot javarészt másodlagos kötőerők alakítják ki (hidrogénkötés, dipólus-dipólus kölcsönhatás) amit a viszonylag kis kötési energia értékek (12-50 kJ/mól) támasztanak alá.

Az enzim-szubsztrátum komplex kialakulását a szubsztrátum molekula átalakulása, azaz a tényleges enzimkatalízis követi. A reakció során kialakuló termék (P) az enzimhez kötött állapotban egy enzim-termék komplex (EP) formájában keletkezik, majd a katalitikus ciklus végén a komplex bomlásával kapjuk meg a terméket és az enzimet. A szabad enzim újabb szubsztrátum-molekula átalakítására lesz képes, egy következő ciklusban.



1. ábra. Az enzimkatalízis körfolyamata.

2.2.1. Metalloenzimek

A napjainkban ismert, igen nagy számú enzimek közel egyharmada tartalmaz valamilyen fémiont, melyek szerepe az enzimműködésben igen különböző lehet. A könnyebb áttekinthetőség kedvéért két nagy csoportot különböztetünk meg egymástól a képződési állandóikban jelentkező különbség alapján:

- 1.) *Metalloenzimek*: képződési állandójuk $\geq 10^8 \text{ M}^{-1}$
- 2.) *Fémion által aktivált enzimek*: képződési állandójuk $\leq 10^8 \text{ M}^{-1}$

A *metalloenzimek*ben a fémion a molekulába beépült alkotórész, sztöchiometrikus aránya jól definiált érték, helyileg általában az enzim aktív centrumában található. A fémion elengedhetetlen és szükségszerű építőegysége a metalloenzimnek, amennyiben a fémion valamilyen oknál fogva kihal a szerkezetből az enzimaktivitás megszűnését vonja maga után. Mint már említettem, az enzimek igen specifikus körülmények között működnek és ez a sajátosság a metalloenzimek esetében a fémre is igaz, mivel az adott fémiont valamilyen más fémre kicserélve, kevés kivételtől eltekintve, az enzim inaktívvá válik.

A fémionok szerepe igen változatos lehet, egyes enzimek a fém redoxaktivitását kihasználva fém-ligandum elektronátmenet révén aktiválják a szubsztrátumot, így fejtvé ki katalitikus hatásukat. Ebbe a csoportba tartoznak a rezet, mangánt, hemes-vasat, vagy nemhemes-vasat tartalmazó enzimek. Másrészt Lewis savként, a Lewis bázis szubsztrátumot megkötve ionos formában vesznek részt a katalízisben. Ide tartoznak a magnézium-, kalcium-, illetve cinktartalmú metalloenzimek.

A fém rendszerint az enzim fehérje részéhez kötődik különböző aminosavakkal hozva létre koordinatív kötéseket. Ezekben a koordinatív kötésekben a leggyakrabban előforduló aminosavak a: hisztidin, tirozin, cisztein, metionin és aszparaginsav.

A metalloenzimek másik nagy csoportjába a *fémionok által aktivált enzimek* tartoznak. Ezek az aktiváló fémionok leggyakrabban a cink, magnézium, mangán, kalcium, nátrium és kálium. Az ilyen enzimekben, a fémionok csak gyenge kölcsönhatások révén kapcsolódnak a fehérjéhez, de a teljes enzimaktivitáshoz szükség van rájuk. Ezen csoport enzimeiben a fémionokat könnyen el lehet választani a fehérje résztől különböző kémiai módszerekkel anélkül, hogy a teljes enzimaktivitás megszűnne. A fémion aktivált enzimekre, a fémion specifikusságnál sokkal inkább jellemző a fehérjespecifikusság.²

2.2.2. Oxigenáz és oxidáz enzimek

Az oxigenáz és oxidáz enzimek kulcsfontosságú szerepet töltenek be a növényi és állati szervezetek számára mérgező anyagok, valamint esszenciális vegyületek - mint a különböző aminosavak, cukrok, zsírsavak, vitaminok, lipidek, szteroidok - aerob körülmények között lejátszódó lebontási folyamataiban, illetve bioszintézisében. A degradációs folyamatok „reakcióhőjét” a sejt energiaforrásként, a keletkező termékeket pedig szénforrásként hasznosítja. A természetben szinte valamennyi élőlényben megtalálható valamely képviselőjük (1.táblázat).

1.táblázat. Az oxigenáz és oxidáz enzimek fontosabb képviselői.

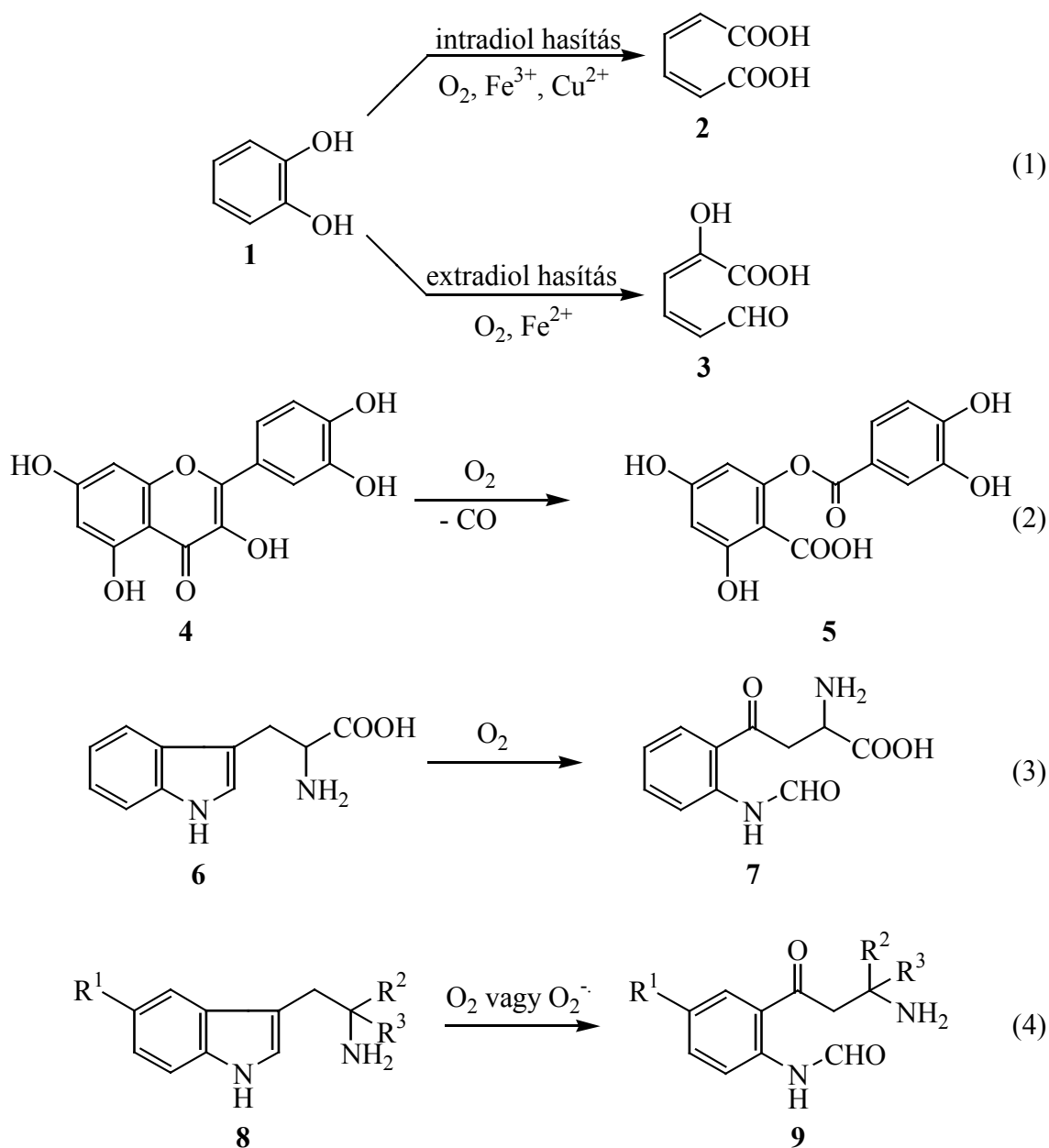
	Hem Fe	Nem hem Fe	Cu	Mn
Monooxigenázok				
$S + O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow SO + H_2O$	Citokróm P-450 monooxigenáz Másodlagos amin m. NO szintáz	Oldható MMO Pterin-függő hidroxiláz	Tirozináz Dopamin β -hidroxiláz Partikuláris MMO	
Dioxygenázok				
$S + O_2 \rightarrow SO_2$ $S + S' + O_2 \rightarrow SO + S'O$	Indolamin 2,3-dioxygenáz Tryptofán 2,3-dioxygenáz	Lipoxigenáz Pirokatechin dioxygenázok Arén dioxygenázok	Kvercetináz Pirokatechin dioxygenáz	Pirokatechin dioxygenáz (Mn)
Oxidázok				
$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$ $SH_2 + O_2 \rightarrow S + H_2O_2$	Citokróm c oxidáz	Ribonukleotid reduktáz	Citokróm C oxidáz Aszkorbát oxidáz Galaktóz oxidáz Amin oxidáz Tirozináz Pirokatechin oxidáz	Ribonukleotid reduktáz (Mn)

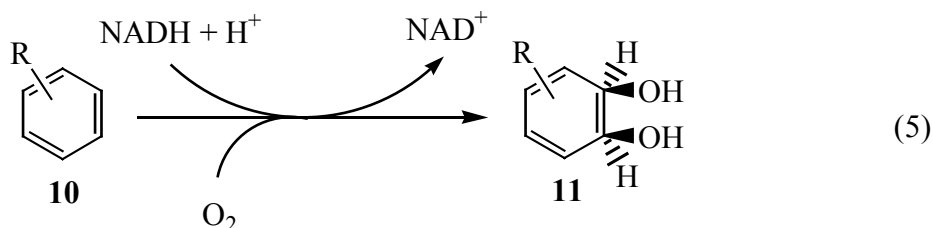
Az *oxigenáz* enzimek általában átmeneti fémeket (Cu, Fe, V, Mn, stb.) tartalmaznak aktív centrumukban, és a dioxigén molekula egy, vagy két oxigén atomjának beépülését katalizálják a szerves szubsztrátumba. Hayaishi ezek alapján két fő csoportot különböztetett meg, a *monooxigenázok* egy, míg a *dioxygenázok* két oxigén atom beépülését katalizálják.³

A monooxigenáz enzimek által katalizált reakciókban, az O_2 molekula egyik oxigén atomja beépül a szubsztrátumba, míg a másik vízzé redukálódik.

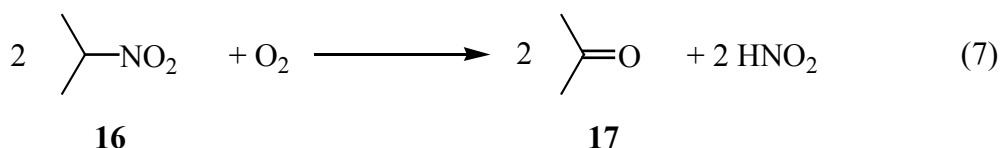
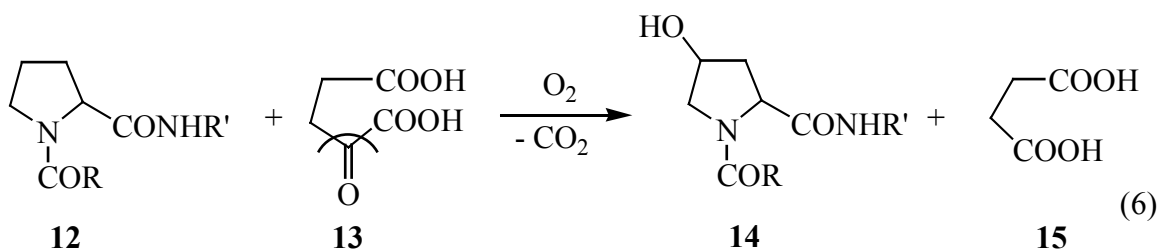
Dioxigenázok esetében további két csoportot különböztethetünk meg, az *intra-* illetve az *intermolekuláris* dioxigenázokat. Előbbiek esetében a dioxigén molekula mindkét O atomja ugyanazon szubsztrátumba épül be, míg utóbbiak két különböző szubsztrátum molekulába építik be az oxigén atomokat.

Az intramolekuláris dioxigenázok fontosabb képviselői a pirokatechindioxigenázok,⁴ a kvercetin-2,3-dioxigenáz,⁵ a triptofán-2,3-dioxigenáz,⁶ az indolamin-2,3-dioxigenáz,⁷ valamint az arén-dioxigenáz⁸ enzimek. A felsorolt enzimek által katalizált reakciók sorrendben az (1), (2), (3), (4), (5) reakcióegyenletekkel írhatók le.





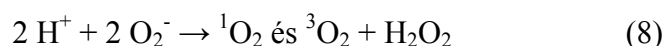
A (6), (7) reakcióegyenletekben az intermolekuláris dioxigenázok csoportjába tartozó prolin-hidroxiláz,⁹ illetve 2-nitropropán-dioxigenáz¹⁰ enzimek által katalizált reakciókat mutatom be.



A fent említett enzimek közös jellemzője, hogy aktív centrumukban vasat, rezet, esetleg mindkettőt tartalmazó meatalloenzimek.^{11,12,13}

Az *oxidáz* enzimek is aerob körülmények között fejtik ki hatásukat, de nem építenek be oxigén atomokat a szubsztrátumba, hanem azok oxidatív dehidrogéneződéséért felelősek. A reakcióban másodlagos termékként víz vagy hidrogén-peroxid keletkezik (1.táblázat).

Az enzimatis oxidigénezési reakciók során keletkező aktivált dioxigén állapotok szerkezete, illetve maga a keletkezésük folyamata sem teljesen tisztázott. A szubsztrátum (szingulett spin állapotú) reakciója molekuláris (triplett spin állapotú) dioxigénnel csak abban az esetben játszódhat le, ha vagy a szubsztrátum, vagy a dioxigén, esetleg mindkettő aktiválódik. A triplett alapállapotú dioxigén molekula két páratlan elektronnal rendelkezik, melyek a π^* orbitálokra helyezkednek el. Stabilis, kis energiájú, kis reaktivitású molekula, élettartama mind folyadék, mind gáz fázisban végtelen. A lényegesen nagyobb energia tartalmú, instabilis szingulett állapotú dioxigén molekula már jóval reakcióképesebb. Redoxi- és elektrociklusos reakciókban (olefinekkel, Diles-Alder reakció) vesz részt. Keletkezését a biológiai rendszerekben a (8) egyenlet írja le.^{10,14}



A fentiek értelmében, enzimatis - különösen dioxigenáz-katalizált - folyamatok esetében azt feltételezik, hogy a triplett dioxigén aktiválása elsősorban szingulett dioxigén formájában történik és ez a species fog reagálni a megfelelő szubsztrátummal.^{15,16}

A dioxigén elektronállapotait és tulajdonságait a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat. A dioxigén molekula elektronállapotai és tulajdonságai.

Elektronállapot	HOMO		Relatív energia (kJ)	Élettartam (s)		Szerkezet
				gáz	folyadék	
${}^1\Sigma$	↑	↓	154,80	7,12	10^{-9}	↑O – O↓
${}^1\Delta$	↑↓	-	92,00	3000	10^{-3}	O = O
${}^3\Sigma$	↑	↑	0,00	∞	∞	↑O - O↑
	π_x^*	π_y^*				

A továbbiakban csak a dolgozatban bemutatásra kerülő eredményekkel szorosan összefüggő, az oxidoreduktázok csoportjába tartozó, pirokatechin-dioxigenáz és -oxidáz enzimek bemutatására térek ki részletesen.

2.2.2.1. Pirokatechin-dioxigenáz enzimek

A pirokatechin-dioxigenáz enzimek a pirokatechin valamint a szubsztituált pirokatechinek oxidatív gyűrűnyitási reakcióját katalizálják, mely folyamat kulcslépése az aromás vegyületek mikrobiológiai lebontásának.^{17,18}

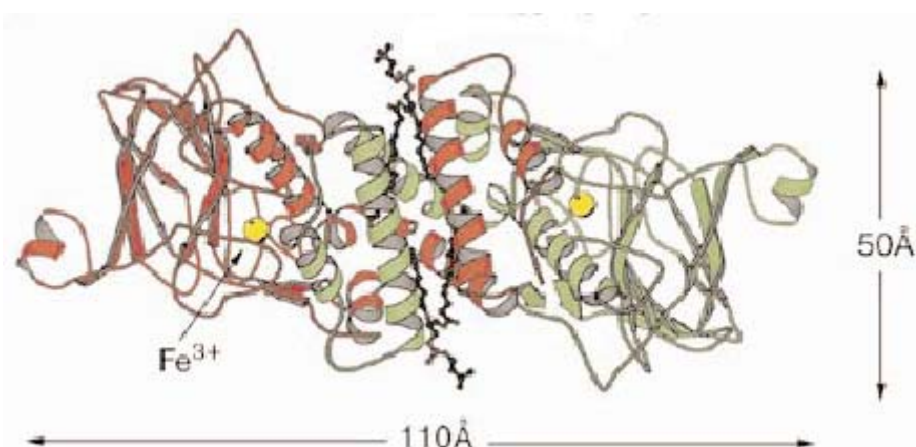
Hayaishi két különböző enzimescsoportot fedezett fel, melyek más - más mechanizmus szerint végzik a gyűrűbontást. A pirokatechin-1,2-dioxigenáz vagy más néven pirokatecház, az ún. *intradiol* hasítást katalizálja, mely reakcióban két szubsztituált szénatom közötti kötés hasad fel (1), termékként mukonsavat (2) eredményezve. Ezen enzimek leggyakrabban Fe(III) vagy Cu(II) kofaktort tartalmaznak.^{19,20} A réz-központtal rendelkező pirokatechin-1,2-dioxigenázokról keveset tudunk, az enzimszerkezetről és a hatásmechanizmusról is kevés információ van birtokunkban, modellkísérletekkel csak ritkán találkozunk.²¹ A másik csoportba tartozik a pirokatechin-2,3-dioxigenáz (metapirokatecház) mely enzim az *extradiol* gyűrűbontásért felelős. Ebben a reakcióban a

hiroxil-csoportok melletti C-C kötés bomlik fel, α -hidroximukonsav-szemialdehid (**3**) keletkezik termékként. A pirokatechin-2,3-dioxigenáz enzim főként Fe(II) kofaktort tartalmaz,^{22,23} de ismeretesek Mn(II)^{24,25,26,27} és Mg(II)²⁸ központú formái is. A fémionok eltávolítása után a visszamaradó protein nem mutatott aktivitást egyik enzim esetében sem, ami arra utal, hogy a fémionnak jelentős szerepe van a katalitikus hatásban.

Számos mikroorganizmusnál azt találták, hogy a pirokatechin bomlása során keletkező mukonsav laktonizáló enzimek keletkezését generálta, így metabolikus végtermékként a mukonsavak megfelelő laktonjai keletkeztek.^{29,30}

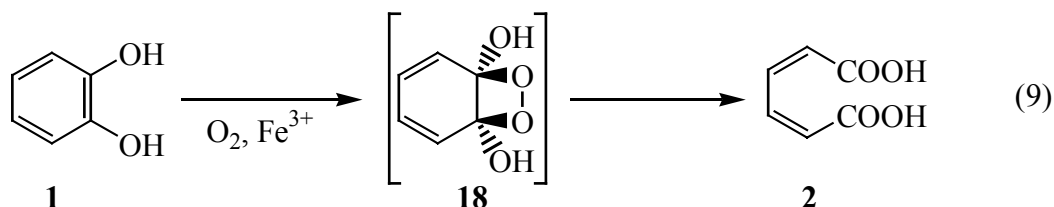
Intradiol gyűrűbontásért felelős enzimeket már az 1950-es években izoláltak különböző baktériumokból és más mikroorganizmusokból, de az első pontos szerkezetre 1988-ig kellett várni, ekkor sikerült Ohlendorf kutatócsoportjának röntgendiffrakciós módszerrel meghatározniuk a *pseudomonas putida*-ból izolált protocatechuát-3,4-dioxigenáz (3,4-PCD) szerkezetét.³¹ Az enzim aktív centrumában nemhemes vas(III)-t tartalmaz, mely fém koordinációs övezetében négy aminosav - két hisztidin és két tirozin - ötödik ligandumként pedig egy víz molekula található trigonális bipiramisos koordinációs geometriát kialakítva.

Az *acinetobacter* sp. ADP1-ben található pirokatechin-1,2-dioxigenáz (1,2-CTD) röntgendiffrakciós szerkezetét (2. ábra) szintén Ohlendorf és munkatársai határozták meg 2000-ben.³² Az enzim két alegységből épül fel, alegységként egy-egy Fe(III)-tartalmú aktív centrummal. A vas koordinációs övezete igen hasonló a 3,4-PCD-nél találtakkal, axiális helyzetben egy tirozin és egy hisztidin aminosav helyezkedik el, míg ekvatoriális ligandumként további egy hisztidin és tirozin, valamint egy víz molekula koordinálódik.



2. ábra. A pirokatechin-1,2-dioxigenáz enzim szerkezete.

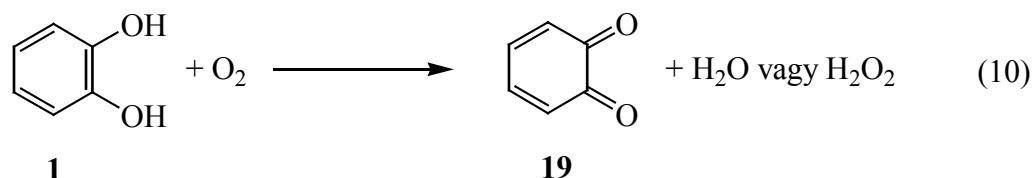
Az enzimkatalizált reakció mechanizmusát vizsgálva azt feltételezték,¹⁹ hogy a dioxigén molekula oxigén atomjainak beépülését követően, a szerves szubsztrátumban egy négytagú dioxetán gyűrű (18) keletkezik, melyből az O-O kötés homolitikus felhasadásával vezethető le a mukonsav (2) keletkezése (9).



2.2.2.2. A pirokatechin-oxidáz enzim

A pirokatechin-oxidáz az oxidoreduktázok csoportjába tartozó kétmagvú rézcentrummal rendelkező metalloenzim. A réztartalmú enzimeknek alapvetően három különböző csoportját szokás megkülönböztetni:³³ az első csoportot az aktív centrumukban egy rézatomot tartalmazó, ún. „kék rézcentrumú”, vagy „1-típusú” réz(II)-iont tartalmazó enzimek alkotják, funkciójukat tekintve elektron-transzfer reakciókat katalizálnak. A második csoportba soroljuk a „nem kék rézcentrumú” vagy „2-típusú” réz(II)-iont tartalmazó enzimeket, melyek szintén egy rézatomot tartalmaznak aktív centrumukban, de a réz mellett más fématom is jelen lehet a szerkezetben, ilyen például a Cu és Zn tartalmú szuperoxid-dizmutáz. Általában oxidáz és oxigenáz hatással rendelkező enzimek. Az utolsó csoportot a „3-típusú” réz(II)-iont tartalmazó enzimek alkotják, melyek kétmagvú rézcentrummal rendelkeznek. Általában oxigenáz/oxidáz aktivitással rendelkeznek, de dioxigénvivő szerepet is betölthetnek.³⁴ Az utolsó csoport három legfontosabb képviselője a hemocianin, a tirozináz és a pirokatechin-oxidáz enzimek.

A pirokatechin-oxidáz, a pirokatechinek (*o*-difenolok) oxidatív dehidrogéneződését katalizálja *o*-kinonokká, melléktermékként vizet, vagy hidrogén-peroxidot szolgáltatva (10). A fent említett reakciónak fontos szerepe van az orvosi diagnosztikában az adrenalin, noradrenalin, valamint a dopa kimutatásában.³⁵ A pirokatechin-oxidáz növényi szövetekben, rovarokban valamint egyes rákfélékben fordul elő. Az enzimkatalizált reakció termékeként képződő reaktív kinonok polimerizációjának következtében, barna színű melanin származékok keletkeznek, melyek a sérült növények barnás elszíneződését okozzák, így tartva távol a kártevőket a sérült részekről.³⁶



A pirokatechin-oxidázokat 1937-es első elkülönítésük óta³⁷ számos növényből és gyümölcsből (burgonya, spenót, alma, szőlő, licsi) sikerült kinyerni. A kivont enzim tisztasága az izoenzimek nagy száma miatt nem volt minden esetben kielégítő. Krebs és munkatársainak sikerült a burgonyából kivont enzim röntgendiffrakciós szerkezetét elsőként meghatározniuk (3. ábra).³⁸

A réz-centrum spektroszkópiai sajátosságai

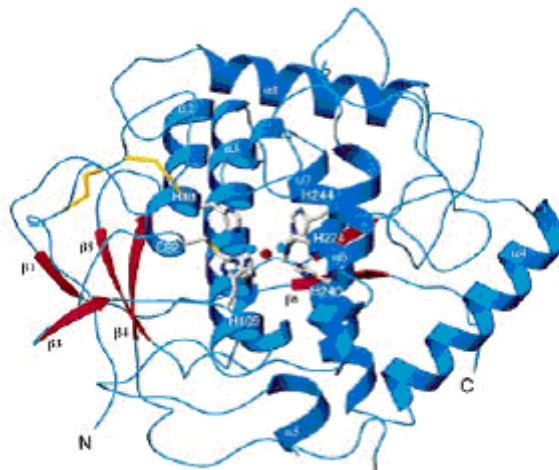
Alapállapotban (*met*-forma) az aktív centrumban található {Cu(II)-Cu(II)} fémionok közötti kis távolság (2,90 Å) következményeként antiferromágneses kölcsönhatás alakul ki a rézcentrumban ($-2J > 600 \text{ cm}^{-1}$) ami ESR inaktivitást eredményez ($S = 0$). UV-Vis spektrumukban 290 és 690 nm-nél találtak jellemző abszorpciós sávokat, utóbbi a Cu(II)-ion d-d átmeneteihez rendelhető.

A kék színű *oxi*-forma {Cu(II)-O₂²⁻-Cu(II)} dioxygen vagy hidrogén-peroxid megkötődésével alakul ki a *met*-formából. Az *oxi*-forma látható-ultraibolya spektroszkópiás vizsgálatok két jellegzetes elnyelési sávot találtak egy intenzív sávot 343 ($\epsilon = 6500 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) és egy gyengébb intenzitásút 580 nm-nél ($\epsilon = 450 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$).³⁹ Az előbbi O₂²⁻ (π_{σ}^*) → Cu(II) töltésátviteli sávhoz, míg az utóbbi a O₂²⁻ (π_{ν}^*) → Cu(II) átmenethez rendelhető. A pirokatechin-oxidáz enzim *oxi*-formájának Raman-spektrumában 749 cm⁻¹-nél jelentkező sáv a peroxo-csoport $\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$ hídligandumként történő koordinációjára utal.

Az enzim röntgenszerkezete

Az enzim *met*-formájának molekulatömege 39 kDa, ellipszoid alakú, mérete hozzávetőlegesen 55 x 45 x 45 Å. A fehérje másodlagos szerkezetét hat α -hélix építi fel, amelyek által kialakított kavitásban helyezkedik el az aktív centrum (3. ábra). Az aktív centrumban található Cu(II)-ionok mindegyikéhez három hisztidin molekula koordinálódik nitrogén donoratomokkal mint ahogy az az EXAFS mérések alapján várható volt. A szerkezet különlegessége, hogy kovalens tioéter-kötéssel kapcsolódik egy cisztein

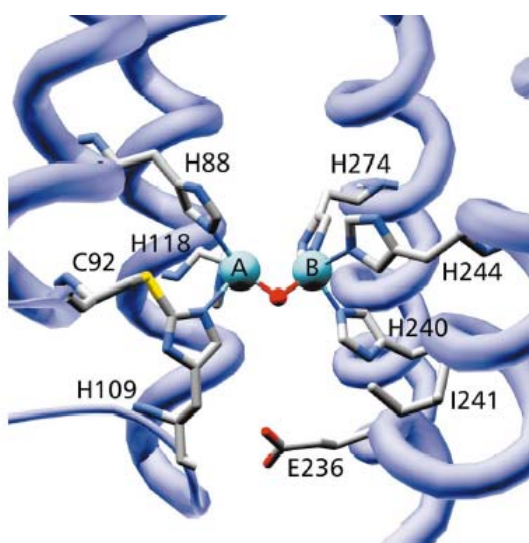
molekula (Cys92) az egyik réz koordinációs övezetében található hisztidin molekulához (His109). Hasonló jelenséget más oxidáz enzim-szerkezetekben is találtak (hemocianin, tirozináz),^{40,41,42} de ez idáig nem sikerült ennek a kötésnek a szerepét tisztázni, feltehetőleg a katalitikus aktivitásban nincsen komoly szerepe.



3. ábra. A pirokatechin-oxidáz enzim röntgenszerkezete.

A *met*-forma jellemzése

Az enzim alapállapotában a két réz(II)-ion 2,90 Å távolságra van egymástól, koordinációs övezetükben egyenként három hisztidin molekula koordinálódik, a két réz(II)-iont hídligandumként egy hidroxil-csoport kapcsolja össze (4. ábra). Így módon mindegyik réz körül trigonális bipiramisos koordinációs övezet alakul ki.



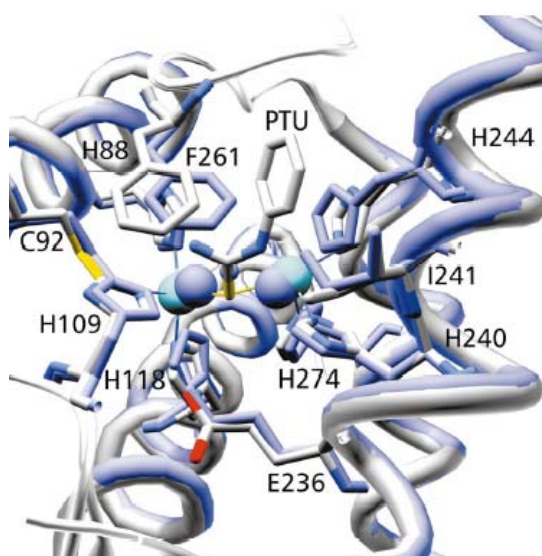
4. ábra. A *met*-forma aktív centrumában kialakuló koordinációs övezet.

A *deoxi*-forma jellemzése

A *deoxi*-forma az enzim redukciójának következtében alakul ki, mindkét rézion +1-es oxidációs állapotban van. A Cu(I)-ionok koordinációs szférája a *met*-formához viszonyítva megváltozik, a réz-ionok közötti távolság megnő (4,40 Å) és megváltozik a koordinációs szám is. Az egyik réz (Cu_A) körül három hisztidin és egy víz molekula található torzult trigonális piramisos koordinációs szférát kialakítva, míg a másik réz(I)-ionhoz (Cu_B) három hisztidin molekula kapcsolódik síknégyzetes geometriát teremtve.

Inhibitor komplex

Az enzim-szubsztrátum komplex kialakulásának modellezése érdekében Krebsék az enzim *oxi*-formáját fenil-tiokarbaziddal (PTU) reagáltatták, majd vizsgálták a kialakult komplex szerkezetét.



5. ábra. Az aktív centrum konformációváltozása PTU hatására.

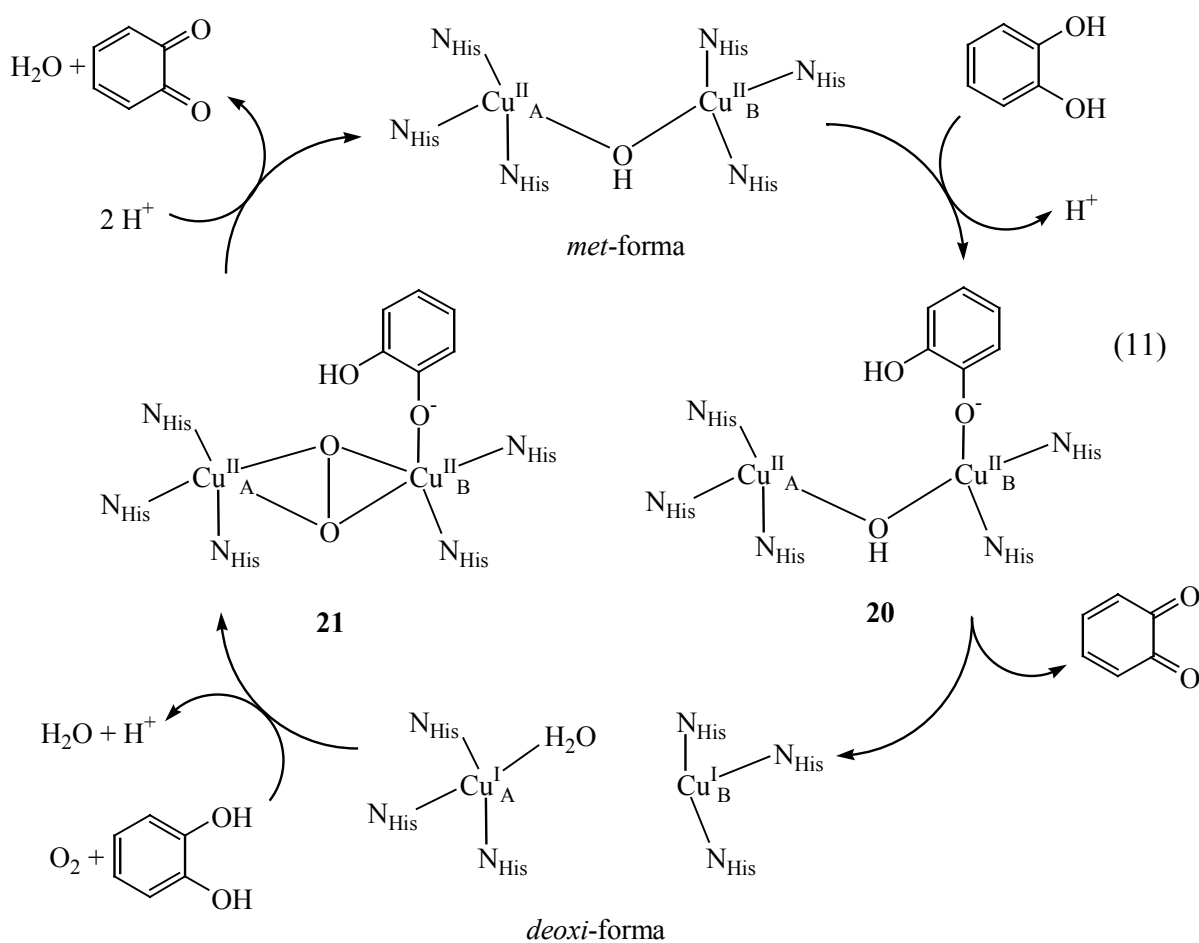
Az aktív centrumban jelentős változások mentek végbe. A koordinálódó PTU hatására, a *met*-forma hidroxó-hídligandumja kicserélődött a PTU kénatomjával aminek következtében a Cu(II)-Cu(II) távolság 4,20 Å-re növekedett meg. A rézionok koordinációs szférájában nem történt változás az alapállapothoz viszonyítva, de az aktív centrum konformációs változásokon ment keresztül. Úgy tűnik, hogy a szubsztrátum aktív centrumhoz való hozzáférését, az itt elhelyezkedő F261 (fenil-alanin) aminosav aromás gyűrűjének elfordulása teszi lehetővé. A PTU koordinálódása során a F261 fenilgyűrűje és

a H244 (hisztidin) imidazolgyűrűje elfordul, így kölcsönhatás alakulhat ki az aminosavak és az inhibitor aromás gyűrűi között (5. ábra).

Az enzimkatalízis feltételezett mechanizmusa⁴⁰

A katalitikus reakció a szubsztrátum molekula és az oxidált *met*-forma közötti reakcióval indul. A keletkező enzim-szubsztrátum komplexben a pirokatechin molekula egyszeresen deprotonált formában kapcsolódik egyfogú ligandumként a Cu_B(II)-ionhoz (20).

Egy ezt követő redoxi lépésben a szubsztrátum kinonná oxidálódik, míg az enzim rézcentruma redukálódik (*deoxi*-forma). A katalitikus ciklus ezen lépését az támasztja alá, hogy a vizsgálatok során kinon keletkezése abban az esetben is kimutatható volt, ha a folyamatokat anaerob körülmények mellett vizsgálták, másfelől az enzim *oxi*-formáját csak H₂O₂ hozzáadására sikerült előállítani a *met*-formából és stabilitása sem volt nagy.

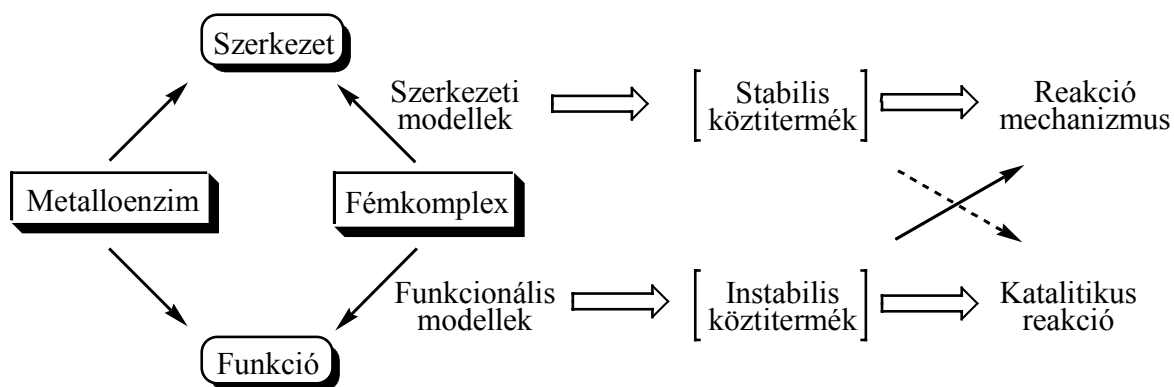


A PTU-val végzett kísérletek, valamint más modelleken elvégzett spektroszkópiás vizsgálatok alapján,³⁵ a dioxigén és a szubsztrátum egyidejű kötődését a rézcentrumhoz a *deoxi*-formából vezethetjük le. Az *oxi*-forma Raman spektroszkópiás vizsgálatai alapján valószínűsíthető, hogy a komplexben a dioxigén μ - η^2 - η^2 hídligandumként koordinálódik a rézionokhoz. A kialakuló terner komplexben (21) a szubsztrátum két elektront ad át a peroxidnak, megtörténik az O-O kötés felhasadása és végtermékként víz és *o*-benzokinon keletkeznek. A második szubsztrátum molekula ily módon bekövetkező oxidációját és a víz kihasadását követően a rézcentrum visszaalakul a *met*-formába, így újabb szubsztrátum átalakítására lesz képes egy következő katalitikus ciklusban (11).

2.3. Modellvegyületek

A különböző metalloenzimek által katalizált reakciók mechanizmusának megismerése régóta és sokat kutatott területe mind a kémiának, mind a biológiának. A vizsgált enzim kinyerése az élő szervezetből bonyolult, nehéz eljárás, valamint a kivont enzim tisztasága sem minden esetben kielégítő. Az aktív centrumban lévő fémionok spektroszkópiái és katalitikus viselkedésének vizsgálatát pedig megnehezíti, hogy az enzimek nagy molekula tömeggel rendelkeznek, fémtartalmuk kicsi és az aktív centrum szerkezete csak kevés esetben ismert. Ezen problémák kiküszöbölésének egy jól bevált módszere a modellezés folyamata. Biutánzó rendszerek tanulmányozásával közelebb kerülhetünk az aktív centrumban lévő fém szerepének, koordinációs övezetének, elektromos állapotának, valamint az enzimkatalízis folyamatának megismeréséhez. Az enzimmodelleknek alapvetően két csoportját különböztethetjük meg: vannak szerkezeti és működési (funkcionális) modellek (6. ábra).

A szerkezeti modellek esetében az aktív centrum térbeli felépítésének modellezése a fő szempont. Ilyen esetekben az előállított vegyületek és az enzim spektrális tulajdonságainak összehasonlításával kerülhetünk közelebb a tényleges szerkezet megismeréséhez. Mivel az alkalmazható ligandumok tárháza szinte kimeríthetetlen, így felhasználásukkal egyre jobban megközelíthetjük a vizsgált enzim aktív centrumának térbeli felépítését, de katalitikus aktivitását nem minden esetben tudjuk reprodukálni a modellvegyületek szerkezeti merevségéből, illetve a vegyületek stabilitásából adódóan.



6. ábra. A metalloenzimek szerkezeti és működési modelljei.

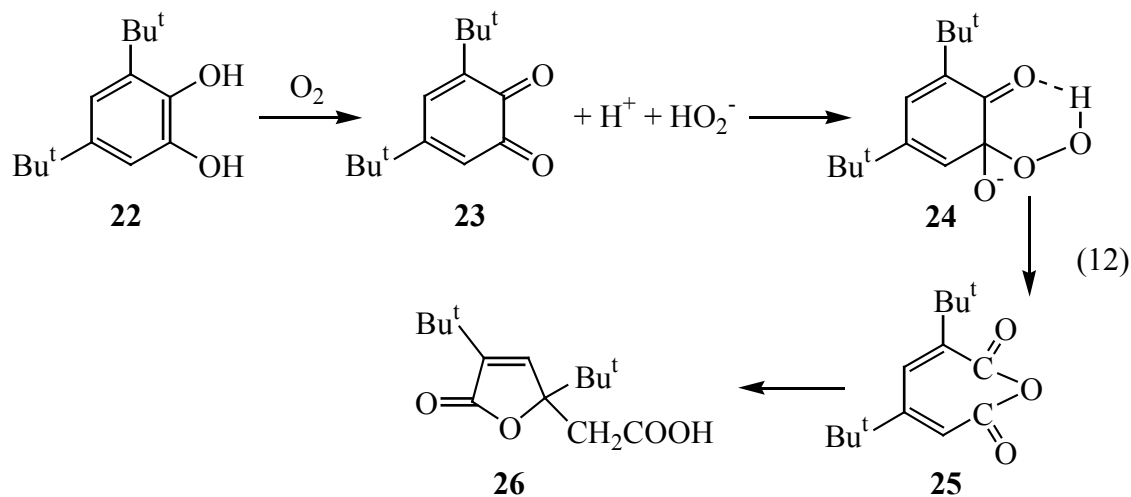
Funkcionális modellek előállításakor nem az aktív centrum felépítésével való hasonlóság a fő szempont hanem az, hogy segítse az enzimműködés mechanizmusának megértését és ezek alapján mesterséges katalitikus reakcióutak kidolgozását tegye lehetővé. A funkcionális enzimmodellek azonban csak ritkán érik el a vizsgált enzim szelektivitását és aktivitását, hiszen lényegesen eltérő környezetben fejtik ki hatásukat, mint maga az enzim. A modellek tökéletesítésével azonban nem elképzelhetetlen, hogy megközelítsük, esetleg meg is haladjuk az enzimek ezen sajátosságait, így alkotva olyan mesterséges enzimeket, melyek ipari mennyiségben is alkalmazhatóak lesznek, például víztisztítási folyamatokban.

Az általunk tanulmányozott oxigenáz és oxidáz enzimek működésének megismerésére számos szerkezeti és funkcionális modell született. Az irodalomban található modellek javarészt a dioxygen és/vagy a szubsztrátum aktiválásának mechanizmusát vizsgálják átmenetifém-dioxygen, illetve átmenetifém-szubsztrátum komplexek előállításán és modellreakcióinak tanulmányozásán keresztül.

2.3.1. A pirokatechinek autooxidációs reakciói

Az enzimmodellek tanulmányozásánál nem ritka, hogy az enzimen kívül a szubsztrátumot is modellvegyületekkel helyettesítik. Pirokatechinek oxigénezési és oxidációs reakcióinak vizsgálatakor szubsztrátumként nem pirokatechint, hanem annak szubsztituált származékait, leggyakrabban a 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechint (DBCatH₂), vagy 4-nitro-pirokatechint⁴³ használják. Ennek fő oka, hogy a pirokatechin oxidációja során képződő *o*-benzokinon nem stabilis, Diels-Alder-reakcióban dimerizálódik.⁴⁴

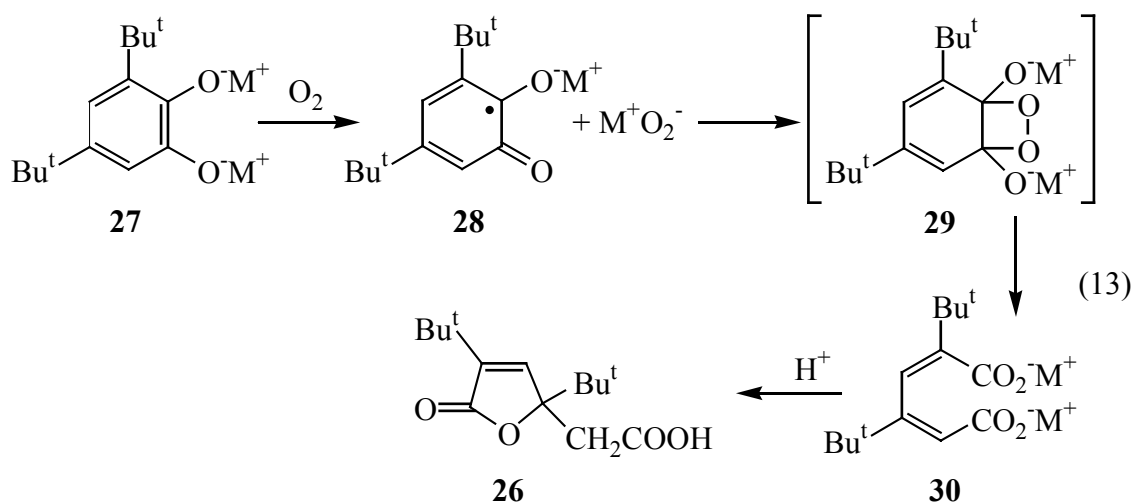
A DBCatH₂ (**22**) báziskatalizált oxigénezési reakcióját elsőként Tyson és Martell vizsgálták. Az oxigézés során 3,5-di-*tert*-butil-*o*-benzokinon (DBQ) (**23**) és hidrogén-peroxid keletkeztek, melyek konszekutív reakciói szolgáltatták a megfelelő mukonsavszármazékokat.^{45,46} A reakció mechanizmusát Speier és Tyeklár vizsgálták részletesebben és kinetikai eredményeik alapján a következő mechanizmust (12) javasolták⁴⁷: a reakció első lépésében 3,5-di-*tert*-butil-*o*-szemikinon (DBSQ) illetve annak protonált formája, valamint HO₂⁻ ion keletkeznek. A hidroperoxid ion gyors reakcióban reagál a DBCatH₂-el, a DBSQ gyökánionnal, valamint dizmutál. A reakciók eredményeképpen keletkező DBQ, illetve a HO₂⁻ tovább reagálnak egymással mukonsavszármazékokat eredményezve termékként. Kinetikai vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy a sebességhatározó lépésben nem a hidrogén-peroxid, hanem a jelenlevő bázis hatására deprotonált formája, azaz a HO₂⁻ hidroperoxid anion támadja meg a DBQ egyik karbonil-csoportját báziskatalizált A_N reakcióban. Ennek következtében egy hidroperoxid vegyület (**24**) keletkezik, ami Bayer-Villiger típusú reakcióban rendeződik át 2,4-di-*tert*-butil-*cisz-cisz*-mukonsavanhidriddé (**25**). A kapott anhidrid szolvólízise enyhén savas vagy enyhén lúgos közegben, stabilis 5-(karboxi-metil)-3,5-di-*tert*-butil-2-furanon (**26**) kialakulásához vezet.



Pirokatechinek enzimatiskus oxigénezése során sok esetben azt tapasztalták,^{48,49} hogy *o*-kinon köztitermék nem keletkezett. Ez a tény vezette el a kutatókat olyan reakcióutak megtervezéséhez, melyek nem mutattak kinon köztitermék. Ily módon került sor a reakciók aprotomos oldószerben való végrehajtására, mivel ilyen körülmények között kivédhető volt a nemkívánatos *o*-kinon intermedier keletkezése. Ez az elgondolás elsőre eretneknek tűnt ugyan, de bebizonyosodott számos metalloenzimről, hogy aktív

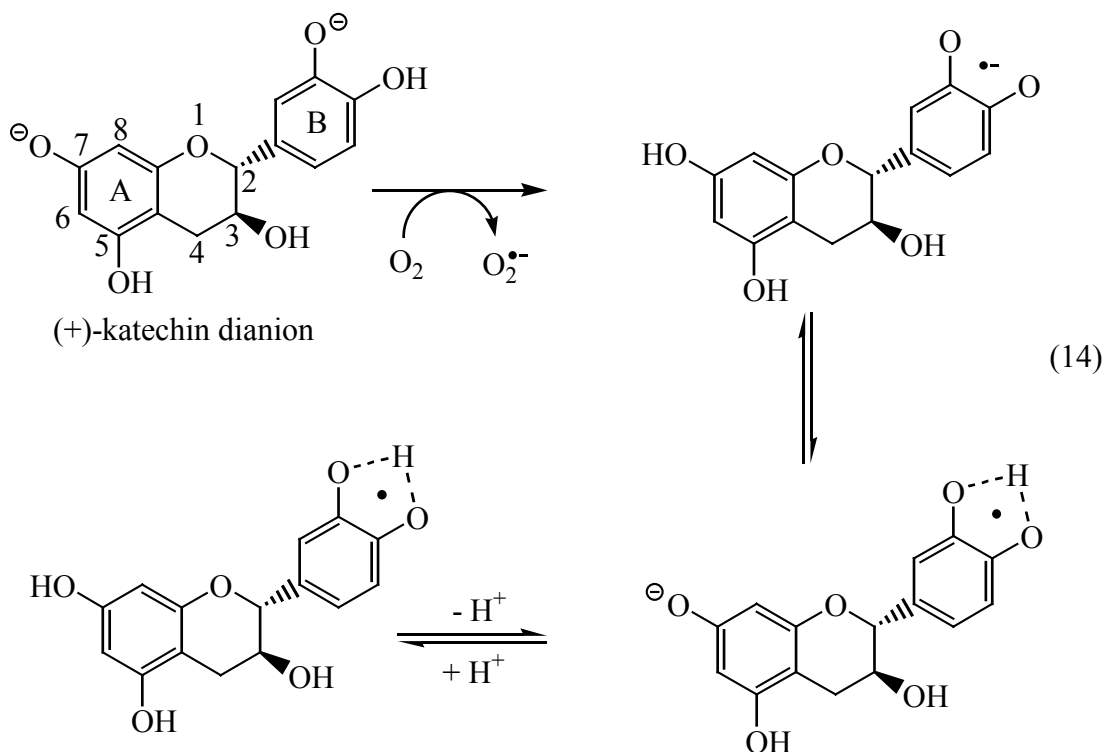
centrumukban hidrofób körülmények uralkodnak.⁵⁰

A DBCatH₂ aprotos oldószerben történő autooxidációjának részletes mechanizmusát egyelőre nem ismerjük. Speier és Tyeklár vizsgálták a folyamatot,⁵¹ és megállapították, hogy aprotos oldószerben az oxigénezési folyamatok végtermékei ugyan megegyeznek a protonos oldószer esetében kapottakkal, de a reakció mechanizmusa minden bizonnyal eltérő. A DBCatH₂ alkálifémsóinak (**27**) oxigénezési folyamatait vizsgálva azt tapasztalták, hogy a reakció egy gyors elektronátmenettel indul a dianionról a dioxigénre, aminek következtében szemikinon- (**28**) és szuperoxid gyökanionok keletkeznek majd lassú gyök-gyök reakcióban reagálnak egymással peroxovegyületet eredményezve. Intermedierként A_N reakcióban 1,2-dioxetán származék (**29**) keletkezik, mely termikus bomlással fénykibocsátás mellett 2,4-di-*tert*-butil-*cis*-*cis*-mukonsav sóját (**30**) eredményezi (13). A kapott mukonsav sójának savas kezelésével megkapjuk a protonos közeg esetében is keletkező laktont (**26**).



Látható, hogy a közegnek jelentős hatása van a reakció mechanizmusára. Protonos oldószerben a keletkező gyökök protonált (reaktív) formában vannak jelen, formálisan kételektronos oxidáció játszódik le, az egyelektronos részlépések nem különülnek el egymástól határozottan az intermedier gyökök gyors reakciója és dizmutációja következtében. Aprotos közegben ugyanezen gyökök deprotonált formái stabilisak, nem dizmutálnak, lassú reakcióban reagálnak egymással. A szuperoxid gyökanion erősen negatív redoxpotenciálja (-1,80 V)^{52,53} miatt nem képes a szemikinon gyökaniont oxidálni, így nem keletkezhet *o*-kinon köztitermék, a gyűrűbontás a két gyökanion közvetlen reakciójának lesz az eredménye.

Hasonló reakciót írtak le a katechindianion oxidációjánál is. A reakció itt is egy elektronátmenettel indul a dianoinról a dioxigén felé, a SET-reakció sebessége viszont nagyságrendekkel kisebb ($k_{\text{et}}^{\text{katechin}} = 5,80 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)⁵⁴ mint az a pirokatechin esetében tapasztalható. A „lassú” reakciót azzal magyarázták, hogy a reakció endoterm, valamint egy csatolt intramolekuláris proton-vándorlás történik a vegyület A-gyűrűjének 7-OH csoportjáról a B-gyűrű oxigén atomjai felé (14).



2.3.2. Pirokatechinát-komplexek

Oxidoreduktáz modellvegyületek kidolgozását alapvetően két irányzat határozza meg. Az egyik szerint az enzimek aktív centrumában található fém szerepe a dioxigén aktiválása oxofém intermediereken keresztül. A keletkező komplexek erős nukleofil erejük révén reagálnak a szubsztrátummal. A másik irányzat szerint a fémcentrumban nem a dioxigén, hanem a szubsztrátum kötődik meg és aktiválódik. Ez utóbbi stratégiát követve a modellrendszerek kidolgozásakor pirokatechináto-komplexeket állítanak elő és vizsgálják reakciójukat dioxigénnel.

Az irodalomban számos példát találunk változatos összetételű, különböző fémcentrumot tartalmazó pirokatechinát-komplexekre. 1979-ben Funabiki és munkatársai

azt tapasztalták, hogy azon pirokatechinát-komplexek amelyek nitrogén-donor ligandumokat is tartalmaznak jó dioxigenáz aktivitással rendelkeznek.⁵⁵ Ezt követően megállapítást nyert az is, hogy vastartalmú modellvegyületek esetében a katalitikus aktivitás a nitrogén-donorok számával jobban növelhető mint az oxigén-donoratomokéval.^{56,57} Power és Shoner többmagvú pirokatechinát-komplexeket állítottak elő- $[\text{Fe}_2(\text{DBCat})_2(\text{py})_4]$, $[\text{Fe}_2(\text{DBCat})_2(\text{py})_6]$, $[\text{Fe}_4(\text{DBCat})_4(\text{py})_6]$ - melyekben a fématomokat a DBCat^{2-} ligandumok fenolát csoportjai hidligandumként kapcsolta össze.⁵⁸ Funabiki mellett Que munkássága meghatározó a vastartalmú modellvegyületek vizsgálatának területén. Csoportjában számos $[\text{Fe}(\text{DBCat})(\text{L})]$ összetételű komplexet állítottak elő a legváltozatosabb ligandumokkal (L = triaza-ciklononán, SALEN, nitrilo-triacetát, N,N-bisz(2-piridil)-glicin, {metil-(2-piridil)}-diacetyl-amin, trisz[(2-piridil)-metil]-amin, stb.).^{59,60,61} A fent említett modellek jó pirokatechin-dioxigenáz aktivitással rendelkeztek és a katalitikus reakciókban termékként az előző fejezetben ismertetett **26** laktont, vagy egyéb gyűrűnyitási folyamatból származó terméket eredményeztek. Ezek a tanulmányok nagyban hozzájárultak a vastartalmú dioxigenázok működésének és szerkezetének megismeréséhez.

A vas mellett más központi atomot tartalmazó pirokatechinát-komplexeket is találunk az irodalomban szép számmal. Power és munkatársai a már említett vastartalmú komplexek mangán analógjait is előállították ($[\text{Mn}_2(\text{DBCat})_2(\text{py})_6]$, $[\text{Mn}_3(\text{DBCat})_4(\text{py})_4]$, $[\text{Mn}_4(\text{DBCat})_4(\text{py})_6]$).⁵⁰ Bianchini csoportja számos Co(III), Rh(III) és Ir(III) pirokatechinát-komplexet állított elő ($[\text{M}(\text{triphos})(\text{DBCat})]^+$ ahol M = Co, Rh, Ir; triphos = $\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{PPh}_2)_3$). A DBCatH_2 dioxigénnel való katalitikus reakcióját vizsgálva a fenti komplexek jelenlétében azt tapasztalták, hogy a ruténiumtartalmú komplex esetében kimutathatók voltak a gyűrűnyitási reakció termékei is, a főtermék kinon mellett, míg Ir(III) esetében szelektíven csak a szubsztrátum oxidatív dehidrogéneződése játszódtott le.^{62,63,64}

A tudományos publikációk sorában jónéhány réztartalmú pirokatechinát-komplexszel is találkozunk. Elemi rézet *o*-benzokinonnal reagáltatva szemikinonát-komplexhez jutunk, míg DBCatH_2 és fém-réz reakciójában dimer felépítésű $[\text{Cu}(\text{DBSQ})_2]_2$ komplex keletkezik.⁶⁵ Brown volt az, aki az első $[\text{Cu}(\text{DBCat})(\text{L})]$ összetételű komplexeket előállította ($[\text{Cu}(\text{DBCat})(\text{py})_2]_2$, $[\text{Cu}(\text{DBCat})(\text{bpy})_2]_2$).⁶⁶ Speier és munkatársai $[\text{Cu}(\text{DBCat})(\text{idpa})]_2$ (idpa = 3,3'-imino-bisz(N,N-dimetil-propil-amin) összetételű komplexet állítottak elő és vizsgálták mind magát a komplexet, mind katalitikus sajátságait pirokatechinek oxidációs reakcióiban.⁶⁷ A komplexben a két fémiont a koordinálódó

pirokatechinát-ligandumok kapcsolják össze, valamint a réz koordinációs szférájában helyezkednek el az idpa N-donor atomjai is. A komplex szelektíven pirokatechin oxidáz aktivitást mutat, termékként 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzokinon és hidrogén-peroxid keletkeztek.

Tolman és csoportja számolt be réztartalmú pirokatechinát- illetve szemikinonát-komplexek nem szokványos szintéziséről.⁶⁸ Dioxid adduktumokat, $[\{\text{Cu}(\text{TCN}^{\text{Bz}}_3)\}_2(\mu\text{-O})_2](\text{SbF}_6)_2$ -t vagy $[\{\text{Cu}(\text{TCN}^{\text{iPr}}_3)\}_2(\mu\text{-}\eta^2:\eta^2\text{-O}_2)](\text{O}_3\text{SCF}_3)_2$ -t ($\text{TCN}^{\text{Bz}}_3 = 1,4,7$ -tribenzil-1,4,7-triaza-ciklo-nonán, $\text{TCN}^{\text{iPr}}_3 = 1,4,7$ -tri-izopropil-1,4,7-triaza-ciklo-nonán) reagáltatva -80°C -on DBCatH_2 -el és 3,4,5,6-tetra-kloro-pirokatechinrel (Cl_4CatH_2), szemikinonát-komplexek keletkeztek jó hozammal ($[\text{Cu}(\text{TCN}^{\text{Bz}}_3)(\text{SQ})]\text{SbF}_6$; $[\text{Cu}(\text{TCN}^{\text{iPr}}_3)(\text{SQ})]\text{O}_3\text{SCF}_3$ ahol SQ = 3,5-di-*terc*-benzo-szemikinon vagy 3,4,5,6-tetra-kloro-benzo-szemikinon).

2.3.3. Pirokatechin-oxidáz enzimmodellek

A pirokatechin-oxidáz enzim működésének megismerésére és megértésére irányuló tudományos közlemények egy része az enzim szerkezetét, mások pedig hatásmechanizmusát vizsgálják. Számos szintetikus úton előállított bioutánzó rendszer ismeretes, melyek voltaképp egy- vagy többmagvú réz-komplexek a legváltozatosabb tulajdonságokkal bíró ligandumokkal.

Egymagvú réz(II)-komplexeket vizsgálva Nishida megállapította, hogy összefüggés van a réz körüli koordinációs övezet és a komplex katalitikus aktivitása között.⁶⁹ Síknégyszetes térbeli elrendeződés esetén ugyanis a rézkomplexek nem mutattak katalitikus aktivitást pirokatechinek oxidációs reakcióiban, míg azoknál a komplexeknél ahol a réz körül kialakuló koordinációs poliédernek van térbeli kiterjedése, a katalitikus aktivitás jelentős volt.

Kétmagvú rézcentrummal rendelkező komplexek szintén hatásos katalizátornak bizonyultak ezekben a reakciókban. A komplex szerkezete ebben az esetben is drasztikusan befolyásolta a katalitikus aktivitást. Azok a komplexek ahol a két rézion közötti távolság kisebb mint 5 \AA katalitikusan aktívak, míg az ennél nagyobb Cu-Cu távolsággal rendelkezők inaktívak. Feltehetőleg szterikus okok állnak a háttérben, nevezetesen a két rézionnak olyan távolságban kell lennie egymástól ami lehetővé teszi a szubsztrátum koordinálódását az elektronátmenet előtt.⁷⁰ Ezt a feltételezést támasztja alá az a tapasztalat is, hogy a kétmagvú komplexek általában jobb katalitikus sajátságokkal

rendelkeznek mint egymagvú analógjaik.⁷¹ Nem állapítható meg viszont egyértelmű összefüggés a komplexek redoxipotenciálja és a reakciók sebessége között. Jóllehet bizonyos szerkezet-aktivitásbeli összefüggés fennáll, az oxidációs folyamatok gyakran nem teljesen tisztázottak még a szerkezetileg jól körülírt komplexek estében sem.

A pirokatechin oxidáz modellek között találunk olyanokat, amelyek működési és szerkezeti modellként is megállják a helyüket. Általánosságban elmondható, hogy a komplexek megtervezésekor leginkább nitrogén- és oxigén-donor atomot tartalmazó ligandumok használatosak.

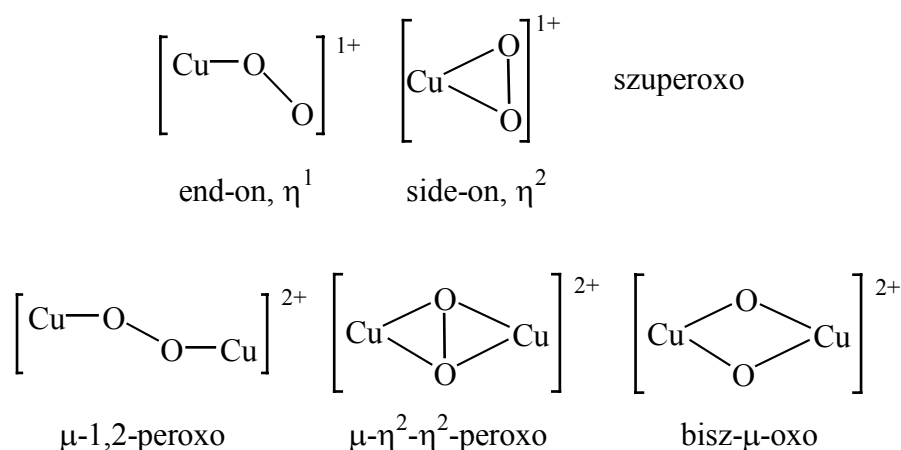
Krebs és munkatársai vizsgálták a komplexek szerkezete és aktivitása közötti összefüggéseket az alkoxo-hidas, kétmagvú $[\text{Cu}_2(\text{bbp})_2](\text{ClO}_4)_2 \times 2 \text{CH}_3\text{OH}$ valamint $[\text{Cu}_2(\text{bbpen})_2](\text{ClO}_4)_2 \times 3 \text{CH}_3\text{OH}$ (ahol Hbbp = 1,3-bisz-(2-benzimidazol)-2-propanol és Hbbpen = 1,5-bisz-(2-benzimidazol)-3-pentanol) komplexek esetében.⁷² A komplexekben a Cu-Cu kötéstávolságok 3 Å körüli értékek voltak. Azt tapasztalták, hogy a Hbbp ligandumot tartalmazó komplex egyáltalán nem mutat katalitikus aktivitást a DBCatH₂ oxidációs reakciójában, míg a Hbbpen ligandummal előállított komplex jó katalitikus sajátságokkal bír. A magyarázat minden bizonnyal a két komplex szerkezetbeli különbségében keresendő. Az inaktív komplexben htagú kelátgyűrű kialakulására van lehetőség, ami túlzott szerkezetbeli stabilitást okoz, az aktív komplex ezzel szemben labilisabb a ligandum hosszabb alkilláncának köszönhetően.

Az pirokatechin-oxidáz enzim *met*-formájának modellvegyületei között számos N₄O,⁷³ N₃O₂,⁷⁴ N₂O₂-donor⁷⁵ ligandumokkal felépített kétmagvú rézkomplexekkel találkozhatunk melyekben a Cu-Cu kötéstávolság a korábban említett kritikus 5 Å-nál kisebb és a két rézcentrum között a ligandumok alkoxihidjain kívül exogén μ -oxo, μ -hidroxo, μ -metanoláto stb. hidak is találhatóak. A komplexek vizsgálatakor megállapították, hogy a katalitikus aktivitásnak egy másik fontos kritériuma, hogy a komplex rendelkezzen szabad koordinációs hellyel, ahol a szubsztrátum megkötődhet az oxidációs folyamat során. Nyilvánvalóan a μ -hidroxo vagy μ -alkoxo hidas szerkezetek sokkal stabilisabbak mintha pirokatechin alkotna hidat a két rézcentrum között, emiatt az ilyen komplexek esetében akkor tapasztalunk aktivitást, ha a rézcentrumok körül erősen torzult koordinációs szféra alakul ki. Ilyen esetekben a feszített szerkezetű komplex affinitása nagyobb lesz a rendszerben jelenlévő alternatív híd-ligandumhoz (esetünkben DBCatH₂) mivel így a μ -oxo híd felnyílásával egy sokkal lazítottabb szerkezet alakulhat ki.⁷⁶

Réz-dioxid adduktumok

Mint már korábban említettem az enzimmodellek kidolgozásánál lényegében két koncepciót szokás alapul venni, egyfelől a szubsztrátum, másfelől a dioxid aktiválását. Az utóbbi esetben oxofém intermedierek keletkeznek az enzimkatalízis első lépésben és ezen köztitermékek lépnek reakcióba a szubsztrátummal.

Az átmenetifémionok dioxigénnel alkotott adduktumainak négy fő csoportját különböztethetjük meg (7. ábra).



7. ábra. A réz-dioxid adduktumok lehetséges szerkezetei.

A legtöbb réz-dioxid adduktumot oldat formájában, aprotonos oldószerekben, alacsony hőmérsékleten sikerült csak jellemezni, mivel termodinamikai stabilitásuk igen kicsi volt.^{77,78,79} Karlin és munkatársai állították elő az első nagyobb stabilitással bíró μ -1,2-peroxo típusú rézkomplexet és meghatározták szerkezetét röntgendiffrakciós méréssel.⁸⁰ A komplexben a két rézcentrum távolsága 4,36 Å, míg az őket összekapcsoló O-O kötés hossza 1,43 Å volt. Kitajima μ - η^2 - η^2 -peroxo-réz-dioxid adduktumokat állított elő. A $[\{\text{Cu}(\text{TPA})\}_2(\text{O}_2)](\text{PF}_6)_2$ (TPA = trisz-[(2-piridil)-metil]-amin),⁸¹ illetve $[\{\text{Cu}(\text{HB}(\text{iPr}_2\text{pz})_3)\}_2(\text{O}_2)]$ ($[\text{HB}(\text{iPr}_2\text{pz})_3]$ = hidridotrisz-3,5-(di-izopropil-pirrazolil)-borát)⁸² komplexeket N-donor ligandumok segítségével állították elő. A komplexek stabilitása kicsi volt. Szobahőmérsékleten is stabilis μ - η^2 - η^2 -peroxo komplexet Koderának sikerült elsőként előállítania 1,2-bisz-[2-bisz(6-metil-2-piridil)-metil]-6-piridil-etán ligandum alkalmazásával.⁸³

A hidrido-trisz-(pirrazolil)borát ligandumok más oxokomplexek előállítására is alkalmasnak bizonyultak, hidridotrisz(3-*tert*-butil-5-izopropil)-pirrazolil-borát ligandumot alkalmazva állították elő az első η^2 -peroxo komplexet is.⁸⁴

Tolman és munkatársai triaza-ciklo-nonán származékokat ($\text{TCN}^{\text{iPr}}_3$ és TCN^{Bz}_3) használva ligandumként egymagvú Cu(I)-komplexeket állítottak elő, majd vizsgálták reakciójukat dioxigénnel.⁸⁵ Megállapították, hogy a ligandum sajátságai nagymértékben meghatározzák a dioxigén rézhez való koordinációját; $\text{TCN}^{\text{iPr}}_3$ esetében ugyanis μ - η^2 - η^2 -peroxo, míg TCN^{Bz}_3 esetében bisz- μ -oxo koordináció valósul meg.

További bisz- μ -oxo komplexeket állítottak elő a TPA 6-metil-piridil származékával Kitagawa és munkatársai.⁸⁶ A bisz- μ -oxo-[Cu(III)]₂ szerkezettel leírható $[\text{Cu}_2(\text{O})_2(\text{Me}_2\text{-TPA})_2](\text{PF}_6)_2 \times (\text{CH}_3)_2\text{CO}$ komplex kialakulásáért feltehetően a ligandum metilcsoportjainak szterikus hatása a felelős.

Egy szokatlanul nagy stabilitással bíró peroxoréz komplexet sikerült Krebs csoportjának előállítania.⁸⁷ A szintézis során 2,6-bisz(pirrolidino-metil)-4-metil-fenolt réz(II)-perkloráttal reagáltattak, trietil-amin és DBCatH₂ (vagy H₂O₂) jelenlétében. A keletkezett komplex egy négymagvú réz- μ_4 -(η^1)₄-peroxo komplex volt. A reakcióban a dioxigén réz által katalizált redukciója játszódik le. A DBCatH₂-nak elektrondonor szerepe van saját maga kinonná oxidálódik a folyamatban. Abban az esetben ha a reakciót DBCatH₂ (vagy H₂O₂) nélkül végezték el termékként réz- μ_4 -O²⁻-oxo komplexhez jutottak. Oldatfázisú vizsgálatokkal kimutatták, hogy az oxokomplex át tud alakulni a peroxo-komplexszé, ha a rendszerbe DBCatH₂-t (vagy H₂O₂-t) juttatnak.

A fent említett dioxigén adduktumok közül a μ -1,2-peroxo- és μ - η^2 - η^2 -peroxo-komplexek katalitikus sajátságait vizsgálták pirokatechinek oxidációs reakcióiban. Általánosságban elmondható, hogy μ - η^2 - η^2 -peroxo koordináció esetén a dioxigén két hidrogént von el a szubsztrátumtól, ebben az esetben tirozináz modellekről beszélünk, míg μ -1,2-peroxo koordinációnál reverzibilis kötés alakul ki, ezek a hemocianin modellek.

A bemutatott példákön láthattuk, hogy a komplexekben a rézcentrumok Cu-Cu kötéstávolsága határozza meg a dioxigén megkötődésének módját. A komplexben ezt a távolságot a ligandumok szterikus és elektronikus sajátságai határozzák meg, így a megfelelő ligandum kiválasztásával lehetséges az adott enzim modelljének megtervezése, előállítása.

3. CÉLKITŰZÉSEK

A szerves szubsztrátumok oxidációs folyamatainak vizsgálata enyhe reakciókörülmények között dioxidigén primer oxidálószerrel, jelenleg is intenzíven kutatott területe a kémiának mivel egyfelől szintetikus kémiai, másfelől környezetvédelmi jelentőséggel bíró témakör.

A természet saját stratégiát alkotott ezen reakciók kivitelezésére, nevezetesen enzimek segítségével aktiválja a triplett állapotú inert dioxidigén molekulát. Az enzimekémiai ismereteket kihasználva biotranszformációs rendszerek kidolgozásával és vizsgálatával új, hatékony katalizátorokat állíthatunk elő, melyeket különböző ipari és környezetvédelmi eljárásokban alkalmazhatunk.

A pirokatechin oxigenáz és oxidáz enzimekkel, illetve azok modellvegyületeivel, nagyszámú tudományos munka foglalkozik különböző szempontokból közelítve meg e témakört. Noha számos eredmény született az elmúlt évek során, melyek közelebb hoztak bennünket ezen enzimek szerkezetének és működésének megismeréséhez, vannak még tisztázatlan kérdések.

Mint az előző fejezetben láthattuk, a pirokatechinek oxidációs reakcióinak mechanizmusa, nagyban függ a közeg minőségétől. A reakció mechanizmusát protonos oldásokban tisztázták, de aprotos közegben még nem történtek meg a teljes körű mechanisztikus vizsgálatok. Ezt a hiányosságot szerettük volna munkánk során bepótolni, így elsődleges célkitűzésünk a pirokatechin és többgyűrűs aromás dihidroxil-vegyületek dioxidigénnel lejátszódó reakciójának mechanisztikus vizsgálata tökéletes aprotos közegben, valamint a képződő intermedierek kimutatása volt.

Vaidyanathan csoportja azt találta, hogy a pirokatechin dioxidigénáz enzimnek létezik réztartalmú változata is. Találkozhatunk az irodalomban réztartalmú pirokatechin dioxidigénáz enzimmodellekkel, de ezek száma csekély. A pirokatechin oxidáz enzimről viszont bizonyosan tudjuk, hogy kétmagvú rézcentrumot tartalmaz és modellvegyületeinek a száma is nagyobb.

Speier és munkatársai megállapították, hogy bizonyos egyszerű (pirokatechináto)réz(II) komplexek mind oxidáz mind oxigenáz aktivitással bírnak. A reakció szelektivitását a ligandumok tulajdonságainak változtatásával tudták befolyásolni. Ezek alapján célul tűztük ki egyszerű réztartalmú modellvegyületek előállítását és vizsgálatát pirokatechinek oxidációs reakcióiban, különös tekintettel arra, hogy milyen

tényezők befolyásolják azt, hogy az adott komplex oxigenáz és/vagy oxidáz aktivitást mutat.

A célkitűzéseket alapul véve a kutatómunka fontosabb lépéseit az alábbiakban határoztam meg:

- 1.) 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin, 2,3-di-hidroxi-naftalin és 9,10-di-hidroxi-fenantrén alkálifém sóinak előállítása és jellemzése, majd dioxigénnel való reakcióiknak vizsgálata aprotomos oldószerekben. A keletkezett intermedierek kimutatása és a reakciómechanizmus feltárása részletes kinetikai mérésekkel.
- 2.) Új nitrogén-donoratomokat tartalmazó ligandumok szintézise és egyszerű rézkomplexeinek előállítása. A komplexek katalitikus aktivitásának vizsgálata pirokatechinek oxidációs reakcióiban.
- 3.) Szubsztrátumot tartalmazó rézkomplexek előállítása háromfogú, nitrogén-donorokat tartalmazó ligandumok segítségével. A kapott komplexek jellemzése és katalitikus sajátságainak vizsgálata DBCatH₂ oxidációs folyamataiban, különös tekintettel az oxigenáz aktivitást befolyásoló tényezőkre.
- 4.) Kétmagvú rézkomplexek szintézise újonnan előállított ligandum segítségével; új szerkezeti és működési pirokatechin oxidáz enzimmodellek előállítása és jellemzése. A modellvegyületek katalitikus aktivitásának vizsgálata 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin oxidációs folyamataiban.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

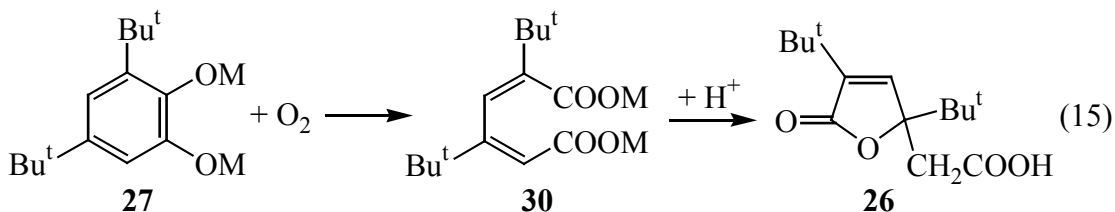
4.1. Pirokatechinek oxidatív gyűrűbontási reakciója aprotos közegben

Számos metalloenzim aktív centrumában, ahol a tényleges katalízis megtörténik hidrofób körülmények uralkodók.⁵⁰ Feltehetőleg a vasat vagy rezet tartalmazó pirokatechin-1,2-dioxigenáz enzim esetében sincs ez másként, ennek ellenére a szubsztrátum tökéletes aprotos közegben történő oxigénezésének mechanizmusa mindeddig nem lett feltérképezve. Munkám első részében ezen a téren elért eredményeimről szeretnék beszámolni.

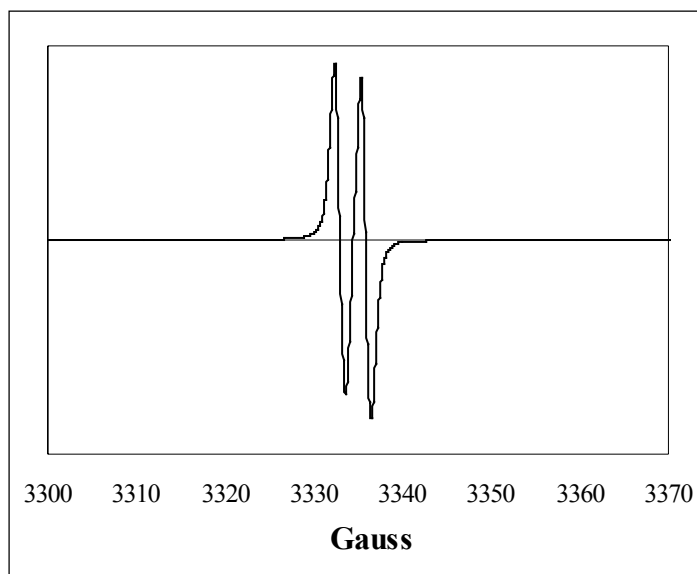
4.1.1. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin alkálifém-sóinak oxidációs folyamatai

A tökéletes aprotos közeg biztosítása érdekében előállítottuk a 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin (DBCatH₂) dikálium- (DBCatK₂) és dinátrium-sóit (DBCatNa₂), majd víz és dioxigén mentesített aprotos oldószerekben (acetonitril, dietil-éter, DMF, DMSO, THF) vizsgáltuk az oxigénezési reakcióikat. A folyamatok részletes vizsgálatára a DMF bizonyult a legjobb oldószernek mivel ebben a közegben nem merültek fel oldhatósági problémák, valamint a reakciósebességek is megfelelőek voltak. Abban az esetben, ha oldószerként dietil-étert alkalmaztunk, a reakcióidő akár napokra is megnövekedhetett egy nagy stabilitású éter-gyök komplexek keletkezése miatt.⁸⁸

A reakció sztöchiometriájának megállapítása céljából az oxigénezési reakció időbeli lefutását gázvolumetrikus módszert alkalmazva, a dioxigén fogyasztásán keresztül követtük. Azt tapasztaltuk, hogy egy mól DBCatM₂ (**27**) (M = K vagy Na) egy mól dioxigénnel reagál a (15) egyenlet értelmében és megfelelő 2,4-di-*terc*-butil-mukonátok (**30**) keletkeznek, amit az IR spektrumban megjelenő intenzív ν_{COO} rezgési sávok (1500 – 1600 cm⁻¹) támasztanak alá. A reakcióelegy feldolgozása során a terméket savval kezelve a természetben is gyakori laktonizációs mellékreakció^{29,30} játszódott le 3,5-di-*terc*-butil-5-karboximetil-2-futanont (**26**) eredményezve.



A reakció köztitermékeinek kimutatása érdekében további vizsgálatokat végeztünk, melyek értékes információkkal szolgáltak a reakciómechanizmus pontosabb megismerése szempontjából. ESR spektroszkópiás méréseket alkalmazva megállapítható volt, hogy a reakció első lépésében egy gyors elektronátadás történik a pirokatechinát dianionról a dioxigénre, melynek eredményeként 3,5-di-*terc*-butil-szemikinon (DBSQM **28**) és szuperoxid ion keletkeznek. A szemikinonyök jelenlétét ESR-spektroszkópiás vizsgálat mellett UV-Vis spektrofotometriával is igazoltuk a gyök jellemző elnyelési sávja ($\lambda_{\max} = 685 \text{ nm}$; $\varepsilon = 680 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$)⁸⁹ alapján (8. ábra). A szuperoxid gyökanion jelenlétét már nehezebb feladat volt igazolnunk, mivel mind ESR, mind UV-VIS spektroszkópiás vizsgálatát ellehetetleníti az a tény, hogy más, a rendszerben jelenlevő komponensekkel egy helyen ad jelet. Ezen probléma kiküszöbölésére végeztük el az ún. nitro-tetrazolium (NBT) próbát.⁹⁰ Ez egy speciális szabad szuperoxid-gyökanion kimutatására alkalmas eljárás, ami azon alapul, hogy az oldat szabad szuperoxid tartalma a nitroblue-tetrazoliumot intenzív kék színű formazan származékká redukálja, 500-550 nm között új abszorpciós sávot eredményezve az ultraibolya-látható spektrumban.

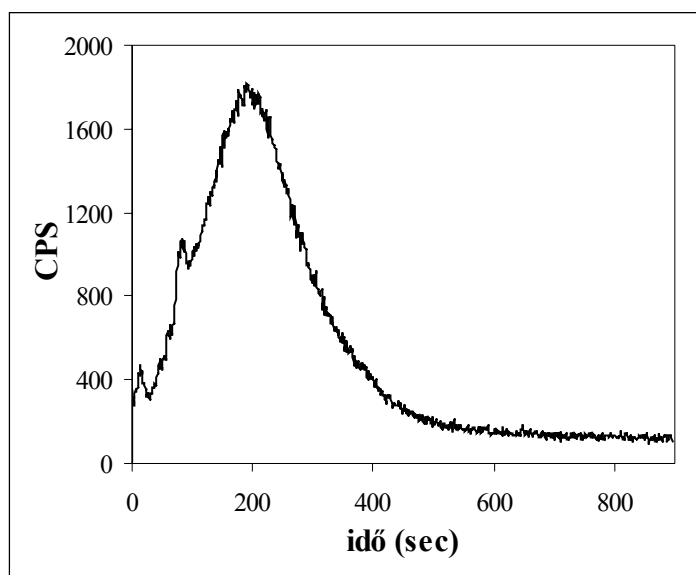


8.ábra. A DBSQK ESR-spektruma THF-ban szobahőmérsékleten.

$$g = 2,005; a_{\text{H}} = 2,84 \text{ G}$$

Dioxigenáz enzimek vizsgálatokor több ízben feltételezték, hogy a C-C kötés hasításakor, a beépülő dioxigén hatására 1,2-dioxetán intermedierek keletkeznek.¹⁹ A homolitikus kötésfelhasadás során mód van gerjesztett állapotú végtermékek kialakulására, melyek energia többletüket sugárzási energia formájában bocsájtják ki. Az ilyen sugárzási folyamatokat kemilumineszcenciának nevezzük. Vizsgálataink során mi is feltételeztük

1,2-dioxetán típusú köztitermék kialakulását. Az intermedier megjelenésének kísérleti igazolására a gyűrűbontási reakciót egy speciálisan kialakított reakcióedényben vizsgáltuk, ami gázbevezető csővel, mágneses keverővel és fotoelektronsokszorozóval volt összekapcsolva. Méréseink során a reakcióelegyben fényemissziót észleltünk, melynek intenzitása kezdetben meredeken emelkedett, majd a maximum elérése után hosszan lecsengő szakasz következett. Mivel a keletkező dikarboxilát gerjesztett- és alapállapota közötti energiakülönbség kicsi, csak kis intenzitású és rossz jel/zaj arányú felvételt sikerült rögzítenünk. A felvétel minőségének javítása érdekében a rendszerbe luminol (Lum) jelerősítőt vittünk⁹¹ (9. ábra).



9. ábra. A gyűrűnyitási reakció kemilumineszcencia spektruma.

$[\text{DBCatK}_2] = 3,88 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{Lum}] = 6,70 \times 10^{-4} \text{ M}$; DMF; $T = 25^\circ\text{C}$

Bizonyosságot nyert tehát az 1,2-dioxetán köztitermék jelenléte, ami előrevetítette, hogy lényeges különbség van a pirokatechinek autooxidációjának mechanizmusában a közeg minőségétől függően. Protonos oldószerekben formálisan kételektronos oxidáció észlelhető – az egyelektronos lépések nem válnak határozottan szét – az intermedier gyökök gyors reakciója és dizmutációja következtében.^{45,46} A protonos közegben viszont az említett gyökök deprotonált formái vannak jelen, stabilitásuk nagymértékben megnő és lassabb reakcióban reagálnak egymással. Másrészt a szuperoxid-gyökönion erősen negatív redoxipotenciálja ($-1,80 \text{ V}$)^{52,53} miatt nem képes a szemikinont oxidálni, ily módon kinon köztitermék nem keletkezhet és a gyűrűbontást a két gyökönion konszekutív reakciója eredményezi.

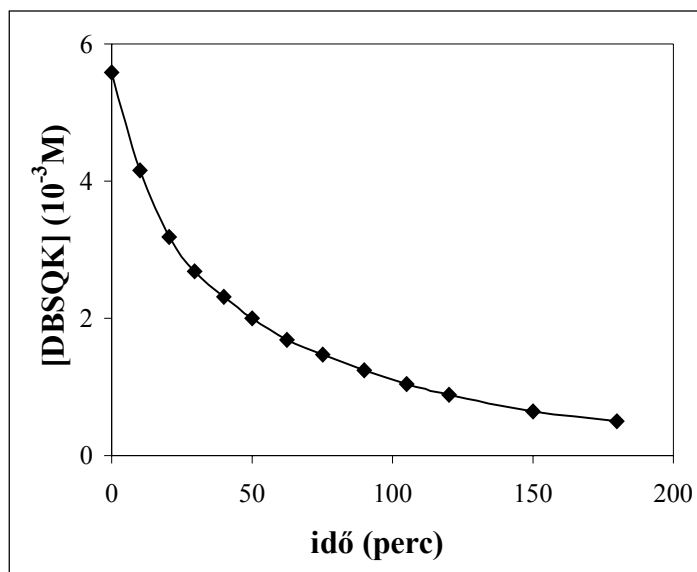
Állításaink igazolására elengedhetetlen volt a reakció részletes kinetikai vizsgálata.

4.1.1.1. Kálium-3,5-di-*tert*-butil-pirokatechinát oxigénezési reakciójának részletes kinetikai vizsgálata

A pontos reakciómechanizmus megismerése érdekében, elvégeztük a DBCatK₂ oxidatív gyűrűnyitási reakciójának részletes kinetikai vizsgálatát DMF oldószerben 24, 30, 34, 38 és 42°C-on. A reakció lefutásának nyomonkövetésére optikai módszert, UV-Vis spektrofotometriát használtunk, a DBSQK abszorpciós sávjának intenzitásváltozását mértük. A mérési hullámhossz $\lambda_{\max} = 685 \text{ nm}$ volt, a gyök moláris abszorpciós koefficiense $\varepsilon = 608 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$.⁸⁹

Méréseinket egy termosztálható kinetikai edényben végeztük. A káliumsó inert atmoszférában készített ismert koncentrációjú törzsoldatából 50 ml-t mértünk be az edénybe, beállítottuk a kívánt hőfokot, majd az argon atmoszférát dioxigénre cseréltük. Az eredetileg színtelen oldat azonnal intenzív kék színűre változott jelezvén a DBSQK gyök megjelenését, majd a reakció folyamán a kék szín halványodott, végül az oldat színe sárgára változott.

A folyamat első lépése, az elektronátadás a dianionról a dioxigénre, pillanatszerűen következett be, gyakorlatilag a só teljes mennyisége átalakult és szemikínon formában volt jelen. Ezt támasztja alá az a kísérleti tény, hogy az általunk alkalmazott reakciókörülmények között a gyök elnyelési sávjának csak a csökkenését tudtuk mérni, a gyök keletkezése nem volt detektálható. A 10. ábrán egy tipikus oxigénezési görbét mutatok be, amely a DBSQK koncentrációjának változását ábrázolja az idő függvényében.



10. ábra. A DBSQK koncentrációjának változása az idő függvényében.

[DBCatK₂] = $5,48 \times 10^{-3} \text{ M}$; [O₂] = $5,34 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; T = 24°C

Az oxigénezési reakcióra a következő általános (16, 17) sebességi egyenletek írhatóak fel:



Figyelembe véve, hogy a K_1 állandó értéke nagyon nagy, a (16) egyenletben leírt egyensúly erősen a felső nyíl irányába tolódik el, így $[\text{DBCatK}_2]_0 = [\text{DBSQK}]_0$ egyszerűsítéssel élhetünk (19):

$$K_1 = [\text{DBSQK}] [\text{KO}_2] [\text{DBCatK}_2]^{-1} [\text{O}_2]^{-1} \quad (18)$$

$$-d[\text{DBSQK}]/dt = k_2 K_1 [\text{DBSQK}]^x [\text{O}_2]^y \quad (19)$$

A reakciópartnerek részrendjének meghatározása érdekében pszeudó első rend feltételei mellett vizsgáltuk a folyamatot, mértük a különböző reakciópartnerek koncentrációjának hatását a reakciósebességre.

A DBSQK részrendjének megállapítása céljából a méréseket állandó dioxigén koncentráció, de különböző kiindulási DBCatK₂ koncentrációk mellett végeztük el. Ilyen feltételekkel a sebességi egyenlet tovább egyszerűsödik a (21) egyenletben bemutatott formára.

$$k' = k_2 K_1 [\text{O}_2]^y \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad (20)$$

$$-d[\text{DBSQK}]/dt = k' [\text{DBSQK}]^x \quad (21)$$

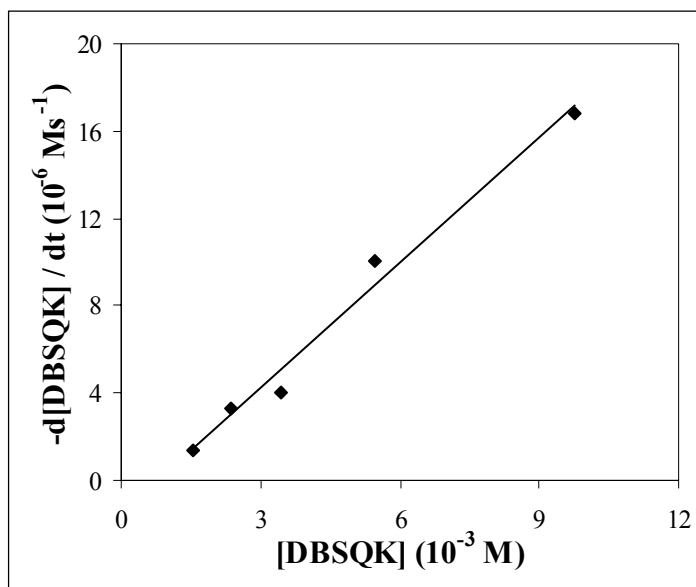
A reakciósebesség értékeit ábrázolva a különböző kiindulási DBSQK koncentrációk függvényében (11. ábra) lineáris összefüggéshez jutottunk (meredekség = $1,91 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $R = 98,47\%$) ami alapján elmondható, hogy a gyök részrendje egy ($x = 1$).

A dioxigén részrendjének megállapítására a méréseket különböző O₂ koncentrációk mellett végeztük el, állandó értéken tartva a kiindulási sókoncentrációt.

A (19) sebességi egyenlet állandó DBSQK koncentráció mellett a következő formában írható fel (23):

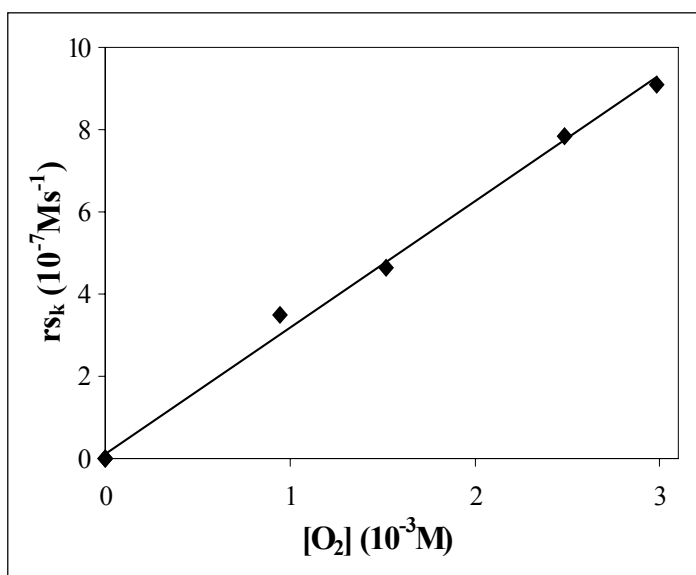
$$k'' = k_2 K_1 [\text{DBSQK}]^x \quad [\text{DBSQK}] = \text{állandó} \quad (22)$$

$$-d[\text{DBSQK}]/dt = k'' [\text{O}_2]^y \quad (23)$$



11. ábra. Az oxigénezési reakció sebessége a kiindulási DBSQK koncentráció függvényében. $[O_2] = 5,34 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 24^\circ\text{C}$

Ábrázoltuk a kezdeti reakciósebesség értékeit az oxigénkoncentráció függvényében (12. ábra). Megállapítható, hogy az összefüggés lineáris (meredekség = $3,08 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $R = 99,63\%$), azaz az O_2 részrendje egy ($y = 1$).

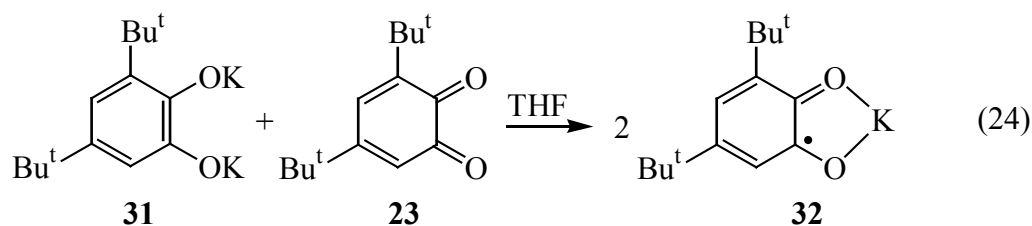


12. ábra. Az oxigénezési reakció kezdeti sebessége az O_2 koncentráció függvényében. $[DBSQK] = 7,22 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 24^\circ\text{C}$

A dioxigénre kapott első rend meglepő, hiszen kísérleti eredményeink alapján, amelyek azt mutatják, hogy az oxigénezési reakció egy gyors SET mechanizmusú lépéssel

indul, azaz a DBCatK₂ teljes mennyisége átalakul szemikinon- és szuperoxid-gyökökké, az O₂ nullad rendjét vetítené elő. A kapott anomália tisztázása további vizsgálatokat igényelt. Annak érdekében, hogy megállapítsuk vajon a reakció lejátszódik-e dioxigén nélkül is, csupán a két gyök konszekutív reakciójában, elvégeztük a DBSQK és KO₂ reakciójának vizsgálatait argon atmoszférában az eredeti kísérleti körülmények megtartása mellett.

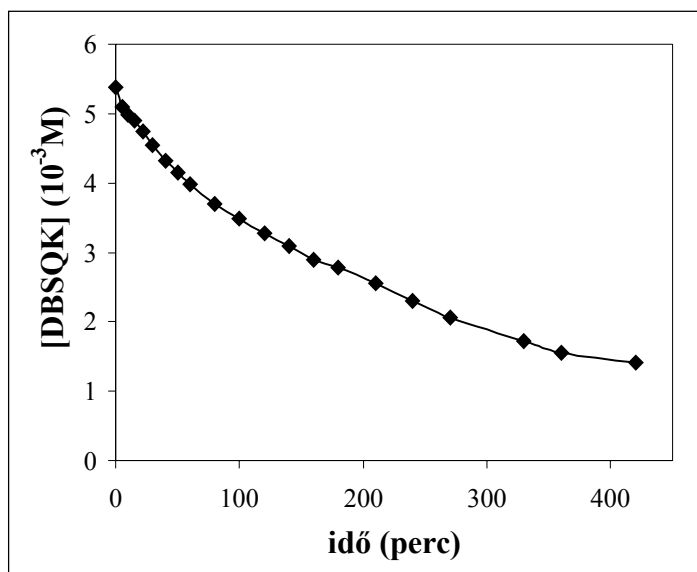
A DBSQK (**32**) szilárd alakban igen stabilisnak mutatkozott. Előállítását a (24) egyenlet értelmében DBCatK₂ (**31**) és 3,5-di-*tert*-butil-*o*-benzokinon (DBQ **23**) THF-ban, inert körülmények melletti reakciójával történt. Jellemzésére spektroszkópiás és ESR méréseket alkalmaztunk.



A DBSQK reakcióját KO₂-al argon atmoszférában, DMF oldószerben kíséreltük meg. A folyamat vizsgálata problémákba ütközött mivel a KO₂ oldhatatlannak bizonyult DMF-ban, koronaéter jelenlétében is. Más kísérleti eljárást kellett kidolgoznunk a reakció nyomkövetésére.

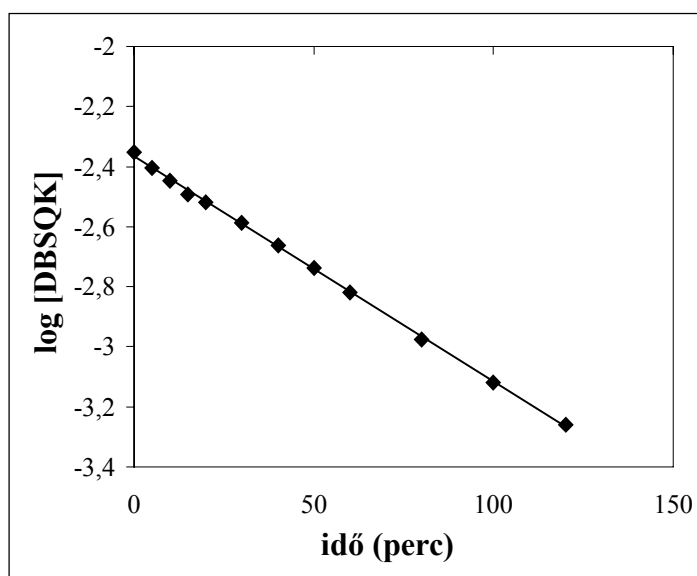
A gyökök generálása érdekében a káliumsót DMF-ban, dioxigén atmoszférában kevertettük két percig, majd Ar-t buborékolatva át a rendszeren teremtettünk inert atmoszférát. Ezt követően mértük a **32** gyök átalakulását UV-Vis spektroszkópiás módszerrel. A 13. ábrán a DBSQK koncentrációjának változása látható az idő függvényében.

A reakcióelegy feldolgozását követően a végtermék ez esetben is a **26** furanon volt. Ily módon bizonyítást nyert, hogy valóban a gyökök reakciójáról van szó, a dioxigén szerepe csupán a gyökök képzése. Ez azonban még nem ad magyarázatot a dioxigénre kapott első rendre. Vizsgáltuk a DBSQK reakcióját dioxigénnel a már korábban leírt kísérleti körülmények mellett. Azt tapasztaltuk, hogy a két molekula reagál egymással, megtörténik az O₂ beékelődése amit a gyűrű felhasadása követ és termékként az ismert vegyületek keletkeznek. Ábrázolva a gyök koncentrációváltozását az idő függvényében itt is exponenciális lefutású görbét kaptunk, logaritmizálva egyeneshez jutunk (meredekség = $7,51 \times 10^{-3}$ perc⁻¹; R = 99,94%) (14. ábra).



13. ábra. A DBSQK gyök koncentrációjának változása az idő függvényében.

$[\text{DBCatK}_2]_0 = 7,22 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KO}_2]_0 = 7,22 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 38^\circ\text{C}$

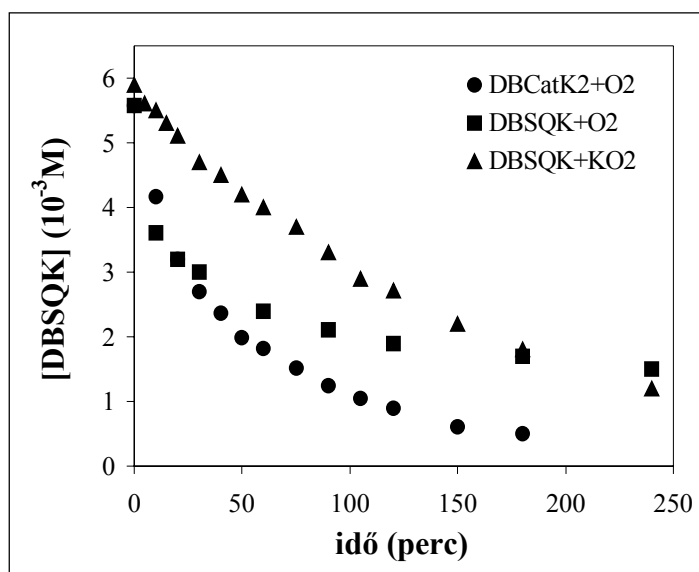


14. ábra. A DBSQK koncentrációjának logaritmusa az idő függvényében.

$[\text{DBSQK}]_0 = 7,22 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{O}_2] = 5,19 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 38^\circ\text{C}$

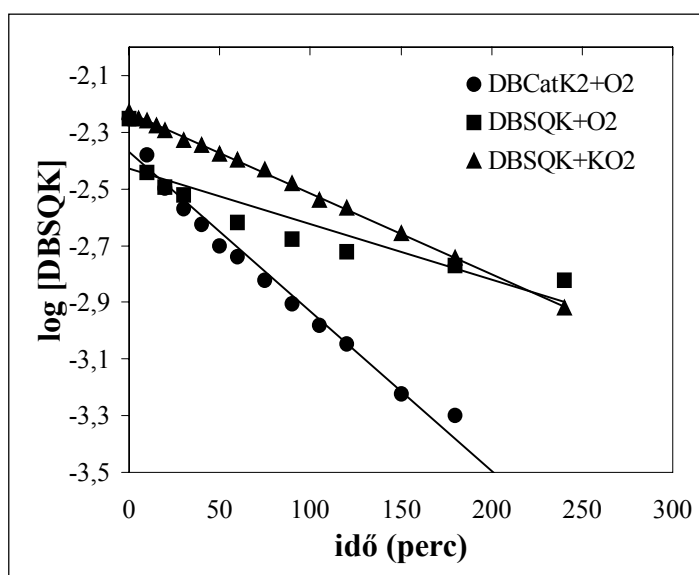
Eredményeink tehát azt mutatják, hogy a DBCatK_2 oxidatív gyűrűnyitási reakciójában két párhuzamos reakció verseng egymással. A gyors elektronátmenetben keletkező szemikininon gyök nem csak a kialakuló szuperoxiddal, de a nagy koncentrációban jelen levő dioxigénnel is reagál. Ha összehasonlítjuk a bruttó és a részreakciókra kapott eredményeket látható, hogy azok jól kiegészítik egymást.

A 15. és 16. ábrákon a három reakcióban mért oxigénezési görbék, valamint a koncentrációk logaritmusának időbeli változását mutatom be egymással összehasonlítva.



15. ábra. A DBSQK koncentrációjának változása az egyes reakciók során.

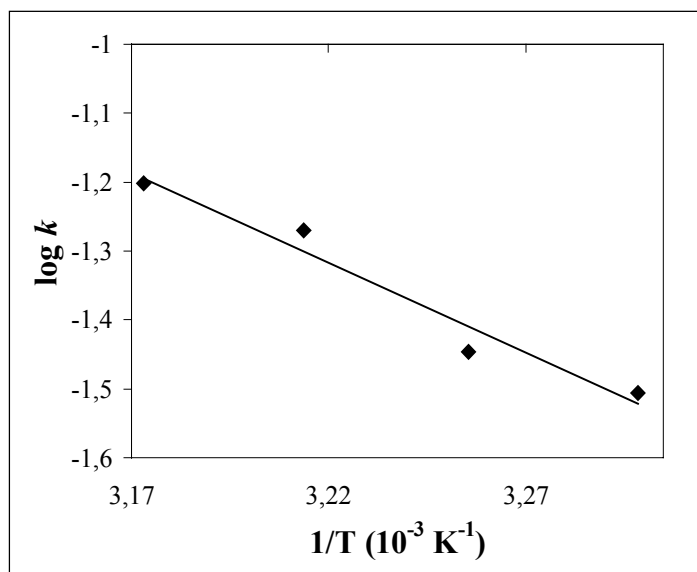
$$[\text{DBSQK}]_0 = 7,22 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{O}_2] = 5,19 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 38^\circ\text{C}$$



16. ábra. A DBSQK koncentrációjának logaritmusának idő függvényében.

$$[\text{DBSQK}]_0 = 7,22 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{O}_2] = 5,19 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 38^\circ\text{C}$$

Az aktiválási paraméterek meghatározása céljából, a reakciókat 24, 30, 34, 38 és 42°C-on is elvégeztük. Ábrázoltuk az Arrhenius és az Eyring diagrammokat; mindkét összefüggés lineárisnak adódott (17. ábra).



17. ábra. A DBSQK és KO₂ reakciójának Arrhenius diagrammja.

Az aktiválási paramétereket a (25), (26), (27) és (28) egyenletek értelmében határoztuk meg.⁹²

$$E_A = 2.303R \frac{d(\log k)}{d(1/T)} \quad (25)$$

$$\Delta H^\ddagger = 2.303R \frac{d[\log(k/T)]}{d(1/T)} \quad (26)$$

$$\Delta S^\ddagger = 2.303R \log\left(\frac{k}{T}\right) - 205.9 + \frac{E_A}{T} \quad (27)$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad (28)$$

A kapott aktiválási paramétereket a 3. táblázatban foglaltam össze. A számolt értékek alapján elmondható, hogy az aktiválási entrópia (ΔS^\ddagger) negatív előjele, valamint nagysága asszociatív mechanizmusú bimolekulás reakcióra utal.

A kinetikai mérések körülményeit és eredményeit a 4. táblázat összegzi.

3. táblázat. Az egyes reakciókra meghatározott aktiválási paraméterek.

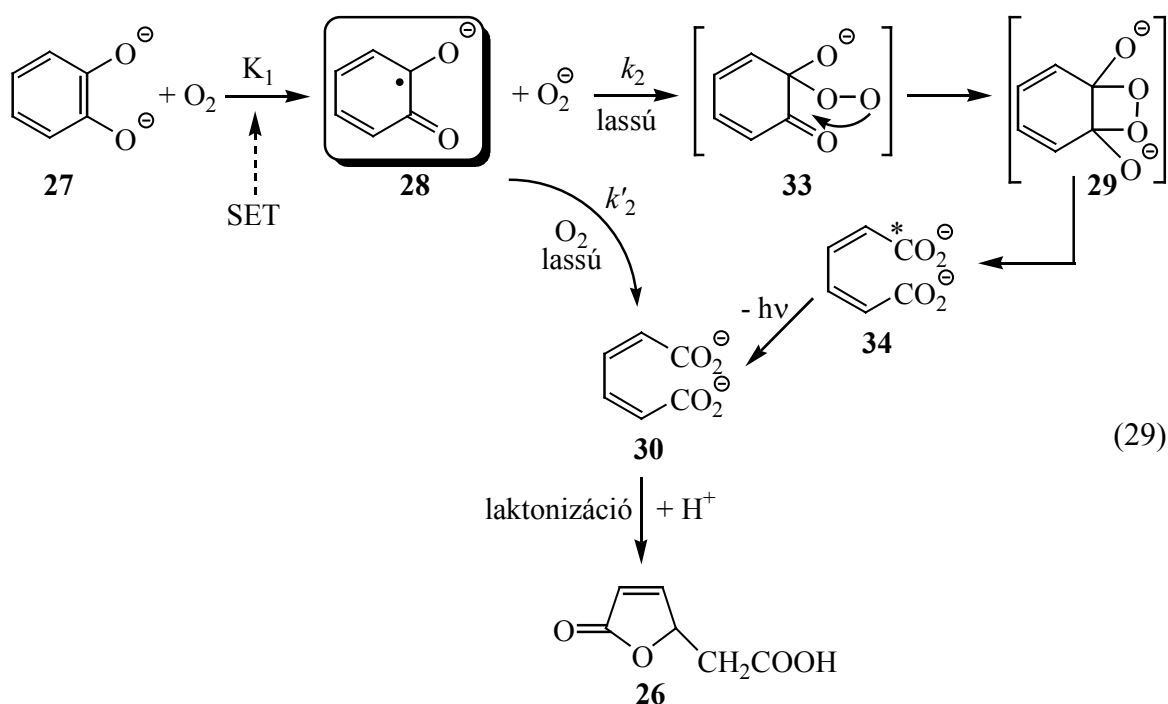
Reakció	E_A kJ mol ⁻¹	ΔH^\ddagger kJ mol ⁻¹	ΔS^\ddagger J mol ⁻¹ K ⁻¹	ΔG^\ddagger kJ mol ⁻¹
DBCatK ₂ +O ₂	77,46	74,89	-18,89	80,72
DBSQK+O ₂	49,84	47,27	-114,34	82,61
DBSQK+KO ₂	82,19	79,62	-17,74	85,10

4. táblázat. A DBCatK₂ oxigénezésének reakciókinetikai adatai.

Mérés száma	T (K)	[DBSQK] (10 ⁻³ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	<i>k'</i> (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	<i>k</i> (10 ⁻² M ⁻¹ s ⁻¹)	rs (10 ⁻⁴ M s ⁻¹)
DBCatK ₂ + O ₂						
1	297	9,77	5,34	2,40 ± 0,24	4,50 ± 0,25	4,39
2	297	5,48	5,34	2,02 ± 0,35	3,78 ± 0,19	2,07
3	297	3,42	5,34	2,66 ± 0,32	4,98 ± 0,11	1,70
4	297	2,37	5,34	2,61 ± 0,55	4,89 ± 0,13	1,16
5	297	1,56	5,34	2,43 ± 0,06	4,55 ± 0,09	0,71
						rs _k ^a
6	297	7,22	2,98			0,91
7	297	7,22	2,25			0,79
8	297	7,22	1,52			0,46
9	297	7,22	0,95			0,34
10	303	7,22	5,02	2,54 ± 0,35	5,06 ± 0,25	3,65
11	307	7,22	5,11	4,47 ± 0,40	8,75 ± 0,29	6,32
12	311	7,22	5,19	6,62 ± 1,02	12,76 ± 0,74	9,21
13	315	7,22	5,42	7,66 ± 0,93	14,13 ± 0,67	10,20
DBSQK + O ₂						
14	303	7,22	5,02	1,56 ± 0,08	3,11 ± 0,06	2,24
15	307	7,22	5,11	1,82 ± 0,07	3,56 ± 0,05	2,57
16	311	7,22	5,19	2,78 ± 0,14	5,36 ± 0,10	3,87
17	315	7,22	5,42	3,41 ± 0,11	6,29 ± 0,08	4,54
DBSQK + O ₂ ⁻						
			[KO ₂]			
18	303	7,22	7,22	0,38 ± 0,03	0,53 ± 0,02	0,38
19	307	7,22	7,22	0,50 ± 0,44	0,69 ± 0,32	0,50
20	311	7,22	7,22	0,68 ± 0,16	0,94 ± 0,12	0,68
21	315	7,22	7,22	1,12 ± 0,26	1,55 ± 0,19	1,12

^a kezdeti reakciósebesség.

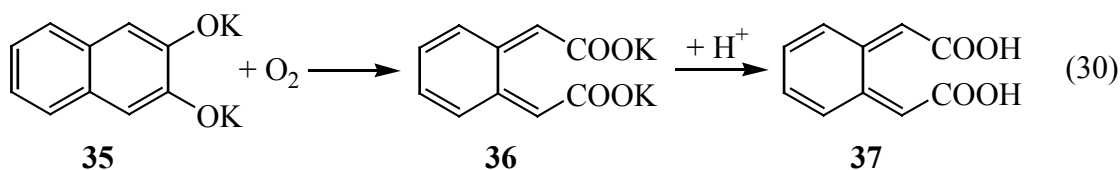
A kinetikai mérések eredményei alapján a reakcióra a következő mechanizmust javasoltuk (29). A reakció kezdeti, gyors lépésében a dianion (27) egy elektront ad át a tripllett állapotú dioxigénnek (SET – reakció), aminek eredményeként szemikininon (28) és szuperoxid gyökianionok keletkeznek. A rendszerben jelenlévő O_2 és O_2^- versengenek a szemikininon gyökért, így a továbbiakban két párhuzamos folyamat játszódik le. Egyfelől a dioxigén és a DBSQK reagálnak egymással feltehetőleg több, egymást követő reakcióban mukonsav-származékot (30) eredményezve. Párhuzamos reakcióban a DBSQK kálium-szuperoxiddal lép reakcióba a sebességmeghatározó lépésben. A két gyök reakciójának eredményeként egy deprotonált keto-hidroperoxid intermedier (33) keletkezik, ami intramolekuláris elektronátadást és gyűrűzáródást követően 1,2-dioxetán (29) köztiterméké alakul át. Az 1,2-dioxetán intermedier homolitikus kötésfelhasadásával kapjuk meg a gerjesztett állapotú 2,4-di-*terc*-butil-mukonsav (34) dikálium sóját, mely vegyület energiátöbbletét kemilumiscencia formájában kisugározza. A végtermék savas hidrolízise, a protonos közegben is keletkező laktont, az 5-karboximetil-2-furanont (26) eredményezi.



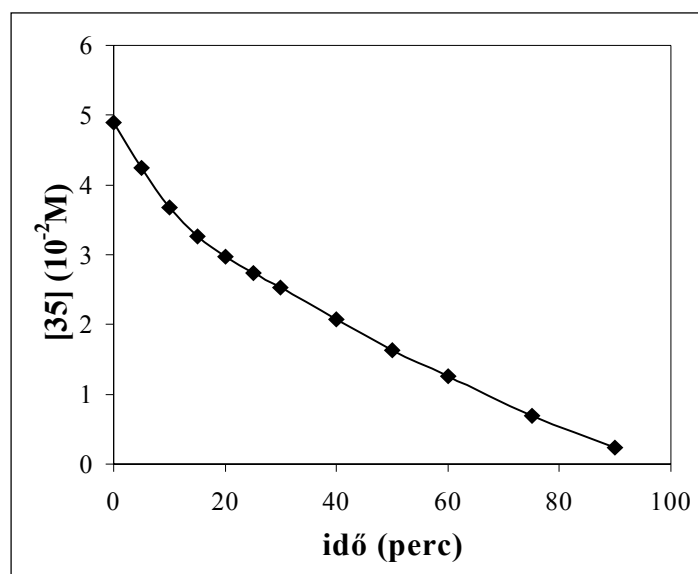
4.1.2. 2,3-Dihidroxi-naftalin alkálifém-sóinak oxidációs reakciói

A pirokatechin mellett érdekesnek találtuk megvizsgálni többgyűrűs aromás dihidroxivegyületek oxigénezési reakcióit is. Ezen törekvések keretében vizsgáltuk a kétgyűrűs 2,3-dihidroxi-naftalin, valamint a háromgyűrűs 9,10-dihidroxi-fenantrén oxigénezési reakcióit aprotonos közegben.

Abszolutizált THF-ban, inert körülmények mellett reagáltatva 2,3-dihidroxi-naftalint fémkáliummal, jó hozammal sikerült előállítanunk az alkálifémsót (**35**).



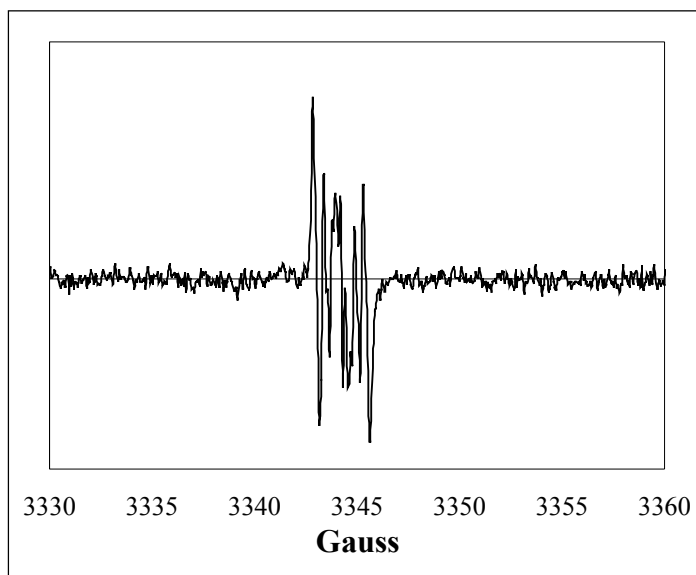
Az oxigénezési reakciókat DMF-ban, 25°C-on végeztük. A reakció nyomonkövetésére volumetrikus módszert használtunk, mértük a dioxigén felvételt (18. ábra). Megállapítottuk, hogy a reakció sztöchiometriája 1:1, azaz egy mól só egy mól dioxigénnel reagál a (30) egyenlet értelmében. A dioxigén molekula beépülését a szubsztrátumba gyűrűnyitás követi, termékként ciklohexa-1,3-dién-5,6-diakrilát-dikálium só (**36**) keletkezik. A sót elhidrolizálva jó hozammal (80%) állítottuk elő a megfelelő **37** dikarboxil vegyületet. Feltehetőleg a többgyűrűs rendszerben kiterjedt delokalizáció következtében megnövekedett stabilitás eredményeként nem tapasztaltunk laktonizációs mellékreakciót, mint a pirokatechin esetében.



18. ábra. Naph(OK)₂ oxigénfelvétele az idő függvényében.

[Naph(OK)₂] = 4,90 × 10⁻² M; [O₂] = 5,35 × 10⁻³ M; DMF; T = 25°C

A reakcióban keletkező közttermékek detektálására ESR és UV-Vis spektroszkópiás méréseket végeztünk. Kimutattuk, hogy a reakció ebben az esetben is egy gyors elektronátadással indul, aminek eredményeként nafto-szemikion és szuperoxid gyökök keletkeznek. A nafto-szemikion-gyökiont (NaphSQK) ESR (19. ábra) és UV-Vis spektroszkópiás módszerekkel mutattuk ki, a szuperoxid gyök jelenlétét pedig NTB próbával igazoltuk.



19. ábra. A NaphSQK-gyök ESR spektruma THF-ban szobahőmérsékleten.

$$g = 2,005; a_{2H} = 2,03 \text{ G}; a_H = 0,54 \text{ G}$$

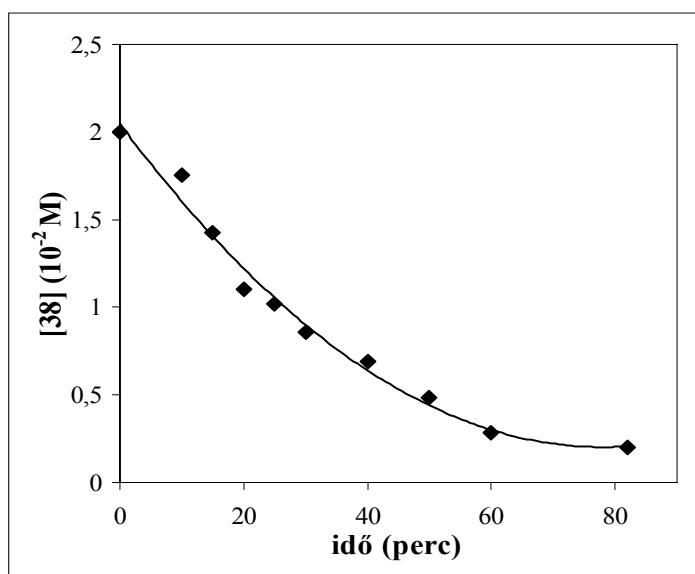
Az oxigénezési reakció - mechanizmusát tekintve - nagy valószínűséggel hasonlóan játszódik le mint azt a DBCatK₂ esetében láttuk (29) ezt a reakció során megjelenő gyökös intermedierek, valamint a termékként keletkező analóg dikarbonsav is alátámasztják.

4.1.3. 9,10-Dihidroxi-fenantrén alkálifém-sóinak oxigénezési reakciói

A háromgyűrűs dihidroxi vegyület, a 9,10-dihidroxi-fenantrén esetében, az alkálifémsó előállításához már erélyesebb körülményeket kellett alkalmaznunk. Fém káliummal történő előállítási kísérleteink nem vezettek eredményre, mivel a reakcióban képződő fenantrén-szemikion-kálium gyök (PhenSQK **39**) nagy stabilitása miatt a reakció megáll a monoszubsztituált termékénél ugyanúgy, mint a pirokatechin esetében is. Erélyesebb redukáló ágenszt, kálium-amalgámot használtunk a szintézishez. Inert

atmoszférában, nem túl jó hozammal (24%), de nagy tisztaságban sikerült előállítani a dikálium-sót (Phen(OK)₂ **38**). A só rendkívüli dioxigén és nedvesség érzékenységet mutatott. Infravörös spektrumában OH-csoporthoz rendelhető sávot nem találtunk, valamint a kinonra jellemző ν_{CO} sávok is eltolódtak a fémhez való koordinálódás jeleként.

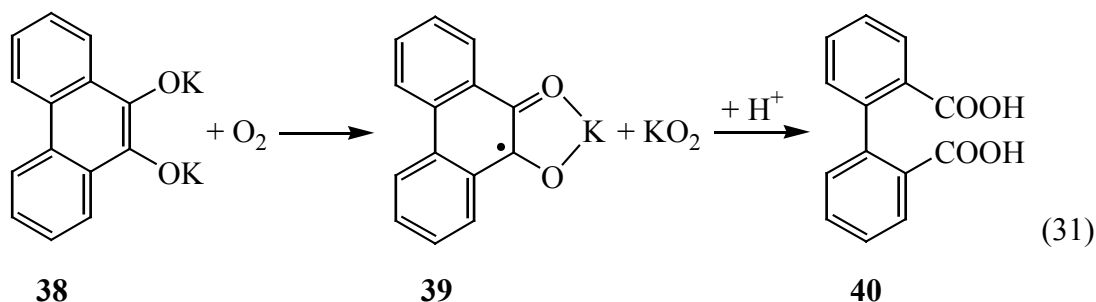
Az oxigénezési reakció vizsgálatát DMF-ban, 25°C-on végeztük. A reakció időbeli lefutásának vizsgálata gázvolumetrikus módszerrel, a dioxigén fogyasztásának mérésével történt. A reakció sztöchiometriája ez esetben is 1:1-nek adódott. A 20. ábrán a dioxigén felvételt mutatom be az idő függvényében.

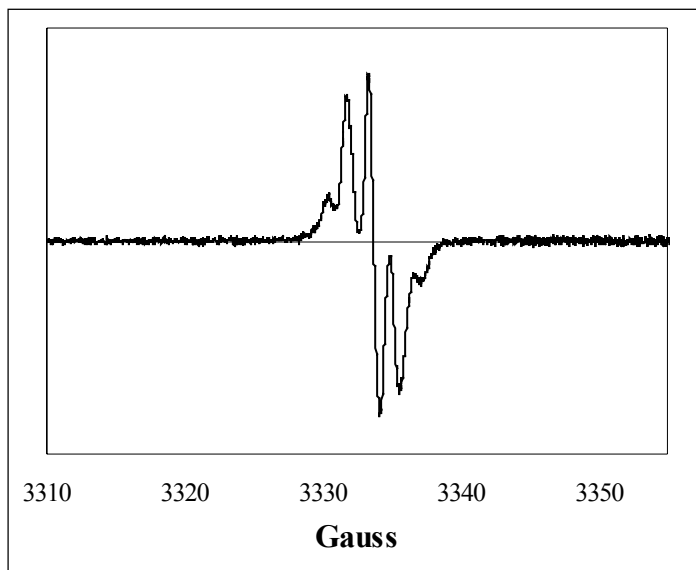


20. ábra. Phen(OK)₂ dioxigénfelvétele az idő függvényében.

[Phen(OK)₂] = 2,00 × 10⁻² M; [O₂] = 5,35 × 10⁻³ M; DMF; T = 25°C

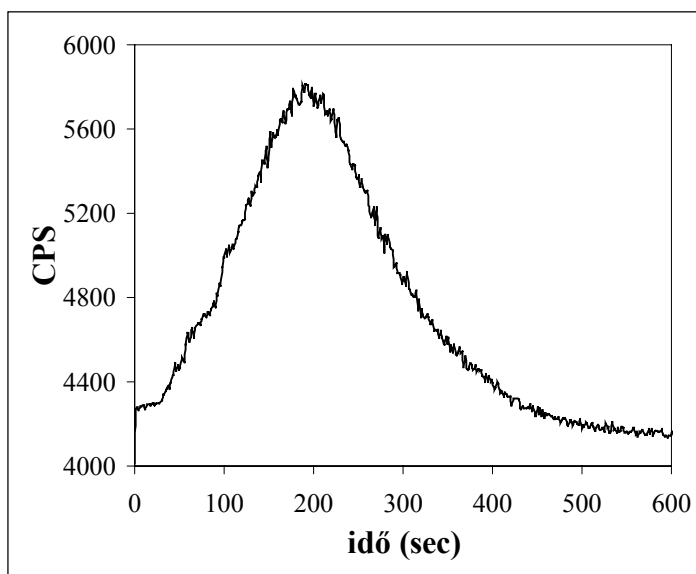
A reakció az analóg vegyületek vizsgálatánál megismert SET-reakcióval indul, melynek során egy elektron átkerül a Phen(OK)₂-ről az O₂-re gyökös intermediereket szolgáltatva. A PhenSQK (**39**) jelenlétét UV-Vis ($\lambda_{\text{max}} = 516 \text{ nm}$; $\epsilon = 3385 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) és ESR spektroszkópiával (21. ábra), míg a szuperoxid jelenlétét NBT-teszttel igazoltuk.





21. ábra. A PhenSQK gyök ESR spektruma THF-ban szobahőmérsékleten.
 $g = 2,005$; $a_{4H} = 1,44$ G

A reakcióelegyet az oxigénezési reakció végén feldolgoztuk. Vákuumban szárazra pároltuk, a maradékot vízben felvettük, híg HCl oldattal megsavanyítottuk, éterrel extraháltuk, az éteres fázist Na_2SO_4 -on szárítottuk majd az oldószert ledesztilláltuk. A végtermék difénsav (**40**) volt. Laktont vagy más mellékterméket, csakúgy mint a naftalin esetében, itt sem találtunk. A reakció többszöri megismétlése során a difénsav hozama 90% körül alakult.



22. ábra. Az oxigénezési reakciót kísérő kemilumineszcencia spektruma.
 $[\text{Phen}(\text{OK})_2] = 5,00 \times 10^{-3}$ M; $[\text{Lum}] = 6,70 \times 10^{-4}$ M; DMF; $T = 25^\circ\text{C}$

A gyökös intermedierek A_N reakciójában képződő 1,2-dioxetán köztitermék jelenlétét az emittált fény detektálásával ellenőriztük. Az emittált fény intenzitása, feltehetőleg a pirokatechinhez viszonyított kevesebb lehetséges mellékreakció miatt jóval nagyobb volt (22. ábra).

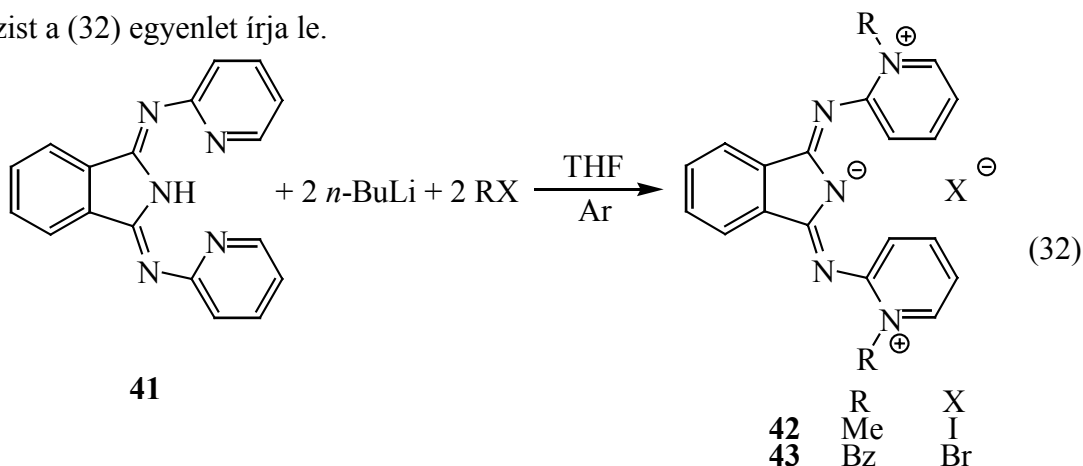
4.2. Pirokatechin oxidáz enzimmodellek vizsgálata

4.2.1. 3,5-Di-*tert*-butil-pirokatechin oxidációs reakciói Cu(I)-komplexek jelenlétében

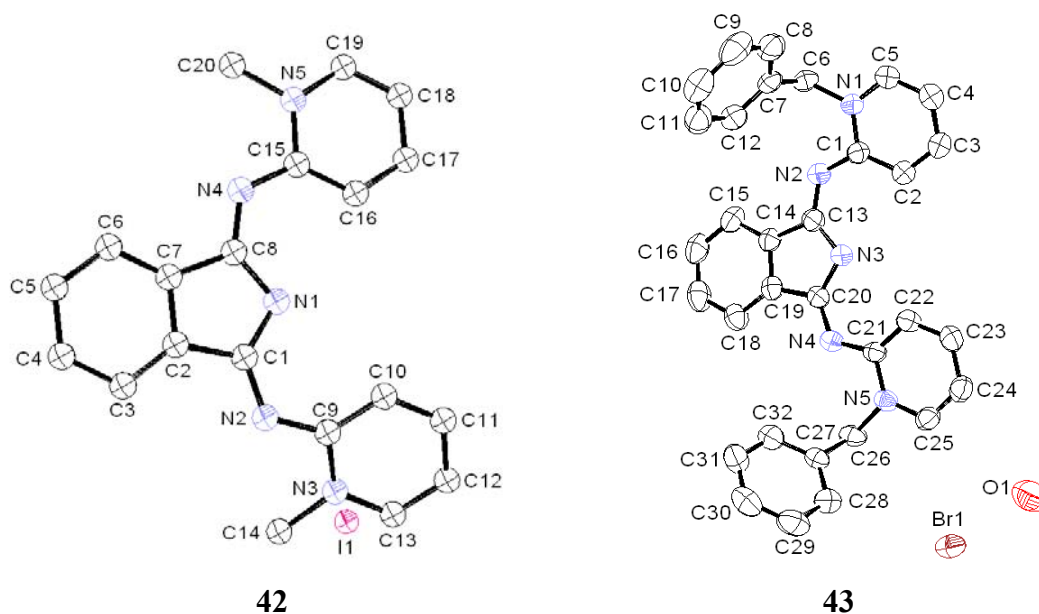
4.2.1.1. Egyfogú N-donor ligandumok előállítása

Az 1,3-bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin (indH **41**) ligandum egyes réz,⁹³ ruténium,⁹⁴ és kobalt⁹⁵ komplexeit hatásos katalizátorként alkalmazták különböző oxidációs folyamatokban. Ezen irodalmi háttérrel kihasználva mi is törekedtünk az indH ligandum különböző származékainak segítségével, hasonló aktivitású bioutánzó rendszerek kidolgozására pirokatechinek oxidációs folyamataihoz.

Az indH nukleofil szubsztitúciós alkilezési reakcióinak vizsgálata során érdekes eredményeket kaptunk. Eredeti koncepciónk az volt, hogy kihasználva a vegyület pirrolgyűrűjében lévő N-H kötés savasságát, N-alkil származékokat állítsunk elő, új kétfogú ligandumokat szintetizálva. A reakció kezdeti lépéseként az indLi-sót kívántuk előállítani *n*-BuLi segítségével, majd ezt reagáltatva a megfelelő alkil-halogeniddel vártuk az N-alkil származékok keletkezését. Ezzel ellentétben termékként egészen más, érdekes szerkezetű vegyületek keletkeztek. A reakció végtermékei kvaterner, ikerionos amóniumsók voltak. A szintézist a (32) egyenlet írja le.



Alkil-halogenidként metil-jodidot alkalmazva, 1,3-bisz(N-metil-2'-piridil-imino)izoidolin-jodidot ([Me₂ind]I **42**), míg benzil-bromid esetében 1,3-bisz(N-benzil-2'-piridil-imino)izoidolin-bromidot ([Bz₂ind]Br **43**) kaptunk. Mindkét vegyületet standard módszerekkel jellemeztük (NMR, IR, UV-Vis, elemanalízis), illetve sikerült mindkét esetben a röntgendiffrakciós szerkezetet is meghatározni, kloroformból (**42**) illetve DMSO-ból (**43**) növesztett egykristályok segítségével (23. ábra).



23. ábra. A [Me₂ind]I és [Bz₂ind]Br vegyületek röntgenszerkezete.

5. táblázat. A [Me₂ind]I és [Bz₂ind]Br fontosabb fizikai és spektroszkópai adatai.

Vegyület	Szín	Op. (°C)	IR (cm ⁻¹) (KBr)	UV-Vis (H ₂ O) λ _{max} (nm)(logε)
[Me ₂ ind]I	vörös	253	1625(v _{CN}), 1477(v _{CC}), 779(v _{py}), 724(v _{py})	229(4,58); 322(4,23); 403(4,18)
[Bz ₂ ind]Br	narancssárga	212	1619(v _{CN}); 1471(v _{CC}); 750(v _{py}); 698(v _{py})	230(4,37); 323(4,18); 408(4,12)

Kihasználva a vegyületek kvaternersó jellegét elképzelhető, hogy alkalmas katalizátorai lennének különböző fázis-transzfer reakcióknak. Mivel ezen reakciók vizsgálatai kívül esnek jelen dolgozat témáján, ilyen jellegű mérések nem történtek, csupán arra voltunk kíváncsiak, hogy az előállított vegyületek a szerves oldószerben tapasztalt

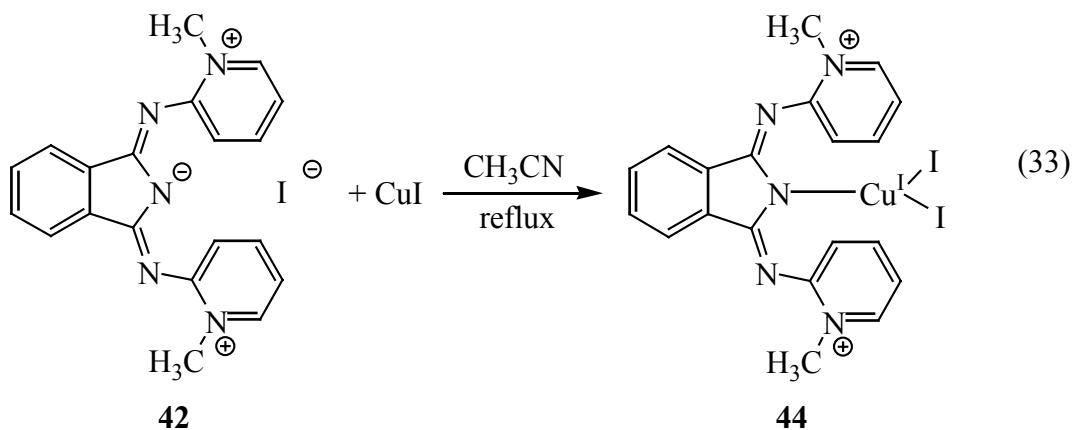
kiváló oldhatóságuk mellett, milyen mértékben oldódnak vízben. A vízoldhatóságot UV-Vis spektrofotometriás mérésekkel határoztuk meg, a jellemző sávok intenzitásának mérésével ([Me₂ind]I: $\lambda_{\max} = 322$ nm; [Bz₂ind]Br: $\lambda_{\max} = 323$ nm). A kapott oldhatósági eredmények 25°C-ra a következők: - [Me₂ind]I: $1,80 \times 10^{-2}$ mol/L

- [Bz₂ind]Br: $5,38 \times 10^{-4}$ mol/L

4.2.1.2 [Cu^I(Me₂ind)I₂] komplex előállítása és jellemzése

Mivel a réz(I)-ion a Pearson-féle sav-bázis elmélet értelmében „lágú” sav, stabilis komplexet „lágú” bázissal képez. Az általunk előállított [Me₂ind]I egyfogú ligandum pirrol-nitrogénje lágú, bázikus sajátságokkal rendelkezik, egy elektront képes átadni a réz központi atomnak. A ligandum piridil csoportjai képesek N-C_{py} kötés mentén elfordulni, ily módon jó árnyékoló hatást kifejteni a Cu^I koordinációs övezete körül.

Acetonitrilben, inert körülmények mellett reagáltatva CuI-ot [Me₂ind]I-al a (33) egyenlet értelmében, jó hozammal és nagy tisztaságban sikerült előállítanunk a [Cu^I(Me₂ind)I₂] (44) komplexet (Op. 300°C, hozam:78%).



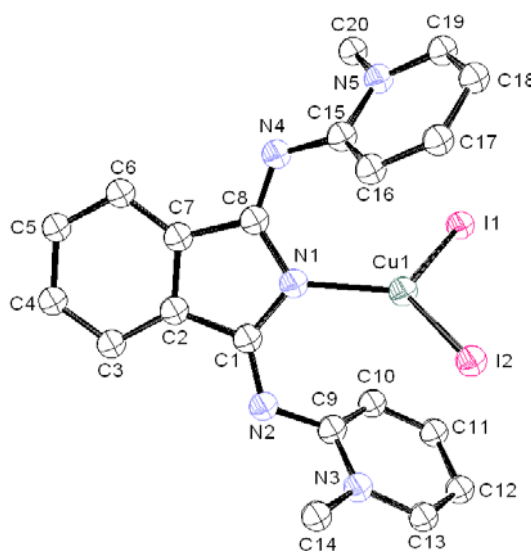
A komplex összetételét elemanalízissel, szerkezetét IR, UV-Vis, ESR, mágneses szuszceptibilitás és röntgendiffrakciós mérésekkel igazoltuk (24. ábra).

A spektroszkópai adatok alapján a rézhez való koordináció egyértelműen megállapítható. Az infravörös spektrumban a ligandum jellemző sávjai, a szabad ligandumhoz képest alacsonyabb hullámszám értékek irányába eltolódva megtalálhatóak ($\Delta\nu = 117\text{-}7$ cm⁻¹). Az abszorpciós spektrumban is jellemző változás történik, megtaláljuk

a ligandumra jellemző π - π^* töltésátviteli sávokat ($\lambda_{\max} = 270, 346, 360, 450$ nm), nagyobb hullámhossz azaz kisebb energia-értékeknél, a koordináció jeleként.

A réz központi atom egyes oxidációs fokára több evidencia is szolgál. Egyfelől az abszorpciós spektrumban nem található elnyelés a 600 - 700 nm-es tartományban, ami a réz(II)-ionra jellemző d-d átmenet jele lenne, másfelől a komplex ESR-inaktívnak bizonyult mind szobahőfokon, mind 100 K-en. A mágneses szuszceptibilitás-mérések eredményei is a diamágneses Cu(I) oxidációs állapotot támasztják alá.

A $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ komplex CH_2Cl_2 -os oldatából -20°C -on, éterdiffúziós eljárással sikerült röntgendiffrakciós mérésre alkalmas egykristályt növesztenünk. A komplex röntgenszerkezete a 24. ábrán, a hozzá tartozó adatok a 6. táblázatban találhatóak.



44

24. ábra. A $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ komplex röntgenszerkezete.

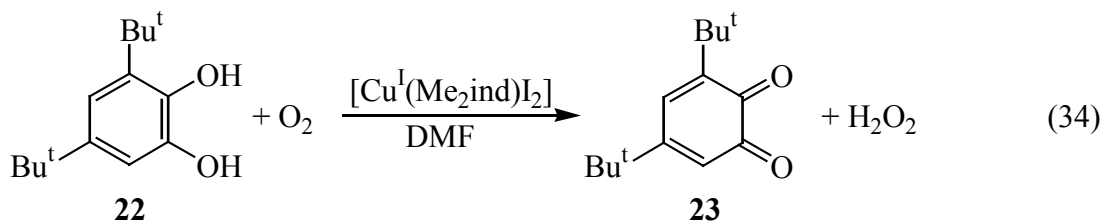
6. táblázat. A $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ (44) komplex fontosabb kötéshosszai (Å) és kötésszögei ($^\circ$).

Kötéshossz (Å)		Kötésszög ($^\circ$)		Kötésszög ($^\circ$)		
Cu1	I1	2,564	N1 Cu1 I1	112,72	C1 N1 Cu1	125,91
Cu1	I2	2,511	N1 Cu1 I2	121,01	C8 N1 Cu1	125,85
Cu1	N1	2,013	I1 Cu1 I2	126,17		

A komplex triklin kristályrendszerben kristályosodik, tércsoportja P1. Az elemi cella paraméterei a következők: $a = 10,6800(9) \text{ \AA}$, $b = 11,0080(9) \text{ \AA}$, $c = 11,7200(7) \text{ \AA}$, $\alpha = 75,720(5)^\circ$, $\beta = 70,582(5)^\circ$, $\gamma = 81,301(4)^\circ$, $V = 1255,72(17) \text{ \AA}^3$. A 16. ábrán látható szerkezetről megállapítható, hogy a Cu(I)-ion síkháromszöges geometriával rendelkezik. A háromszög síkjának középpontjában helyezkedik el a réz(I)-ion, míg a csúcspontokon a pirrolos nitrogén (N1) és a két jodid-ion találhatóak. A kötésszögek eltérést mutatnak az irodalmi 120° -tól és a kötéshosszok sem a szabályos szerkezetnek felelnek meg, a Cu1 – N1 kötés rövidebb a Cu1 – I1, Cu1 – I2 kötésekénél, a jodid-ionok nagyobb méretének következtében. A ligandum 2'-piridil csoportjainak síkja és a rézhez koordinálódó atomok síkja szinte párhuzamos egymással, ily módon a ligandumon található alacsony energiájú π -orbitálok képesek a fém betöltött nemkötő π állapotaival π szimmetriájú kötés kialakítására. A kialakuló viszontkoordináció stabilizálja az alacsonyabb oxidációs fokú állapotot, azaz a réz(I)-ion jelenlétét.

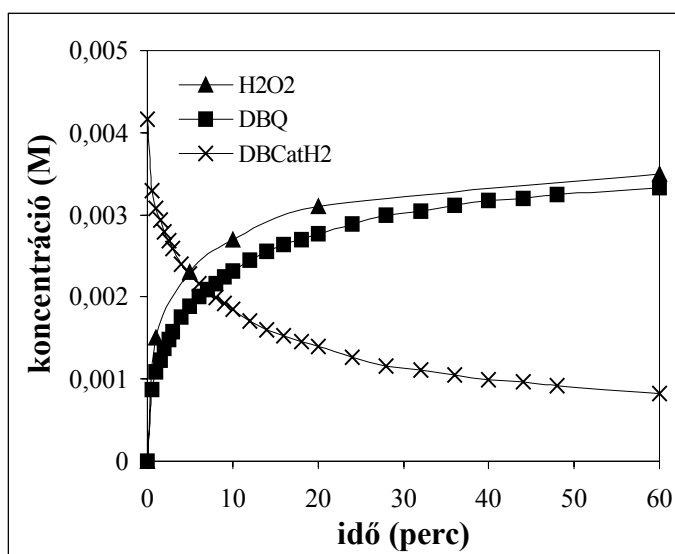
4.2.1.3. 3,5-Di-*tert*-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ komplex jelenlétében

A DBCatH₂ már szobahőmérsékleten is reakcióba lép molekuláris oxigénnel $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ katalizátor jelenlétében és a (34) egyenlet értelmében 3,5-di-*tert*-butil-*o*-benzokinon (DBQ) és hidrogénperoxid keletkezik végtermékként. A reakcióelegy feldolgozása során nem sikerült gyűrűnyitott termékeket kimutatnunk, tehát a komplex szelektíven pirokatechin oxidáz modellként alkalmazható, oxigenáz aktivitást nem mutat.



Gázvolumetrikus módszerrel mérve a dioxigénfelvételt megállapítottuk, hogy a szubsztrátum 1:1-es sztöchiometria szerint reagál a O₂-nel. A reakcióelegyet a teljes dioxigénfelvétel után hexánnal extraháltuk és a kivált kristályokat olvadáspontjuk (Op.(DBQ) = 113-115°C) és infravörös spektrumuk alapján azonosítottuk. A reakcióelegy H₂O₂ tartalmát jodometriás titrálással, valamint gázkromatográfiával határoztuk meg (25).

ábra). A reakcióelegyből vett mintához inert körülmények mellett trifenil-foszfint adva, a jelenlévő peroxid hatására trifenil-foszfín-oxid keletkezik, ami gázkromatográfiásan kimutatható.



25. ábra. A DBCatH₂ oxidációja [Cu^I(Me₂ind)I₂] komplex jelenlétében.

[DBCatH₂] = 4,25 × 10⁻³ M; [44] = 1,50 × 10⁻⁴ M; [O₂] = 6,30 × 10⁻³ M; DMF; T = 60°C

4.2.1.3.1. Reakciókinetikai vizsgálatok

A katalitikus reakció mechanizmusának megismerése céljából, részletes kinetikai vizsgálatokat végeztünk. A méréseket vízmentes DMF oldószerben 40, 50, 60, 70 és 80°C-on végeztük. UV-Vis spektroszkópiával követtük a DBQ keletkezését a termék jellemző elnyelési sávjánál $\lambda_{\max} = 400$ nm-en ($\epsilon = 1688 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$), majd a kapott eredményekből a Lambert-Beer törvényt alkalmazva számoltuk a szubsztrátum aktuális koncentrációját.

A DBCatH₂ 44 komplex jelenlétében lejátszódó oxidációjára a következő sebességi egyenlet írható fel (35):

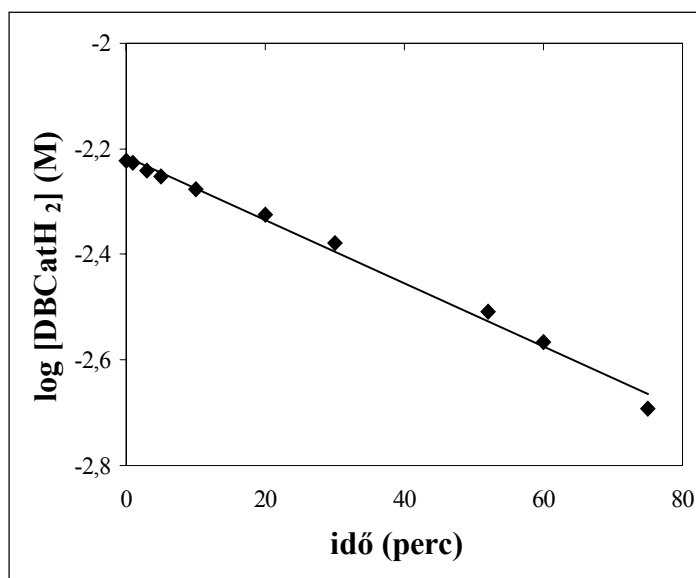
$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k [\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}]^n [\text{O}_2]^q \quad (35)$$

Az egyes komponensek részrendjének meghatározása céljából a reakciókat különböző szubsztrátum-, katalizátor-, illetve dioxigénkoncentrációk mellett végeztük el. Feltéve, hogy a katalizátor és a dioxigén koncentrációja az egyes reakciók folyamán, az idő előrehaladtával nem változik, a sebességi egyenlet a (37) formára egyszerűsödik:

$$[\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}] = \text{állandó}; [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k' = k [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}]^n [\text{O}_2]^q \quad (36)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k' [\text{DBCatH}_2]^m \quad (37)$$

A 26. ábrán egy tipikus oxidációs görbét láthatunk, ahol a szubsztrátum aktuális koncentrációjának logaritmusát tüntettük fel az idő függvényében.



26. ábra. A DBCatH₂ aktuális koncentrációjának logaritmusának az idő függvényében.

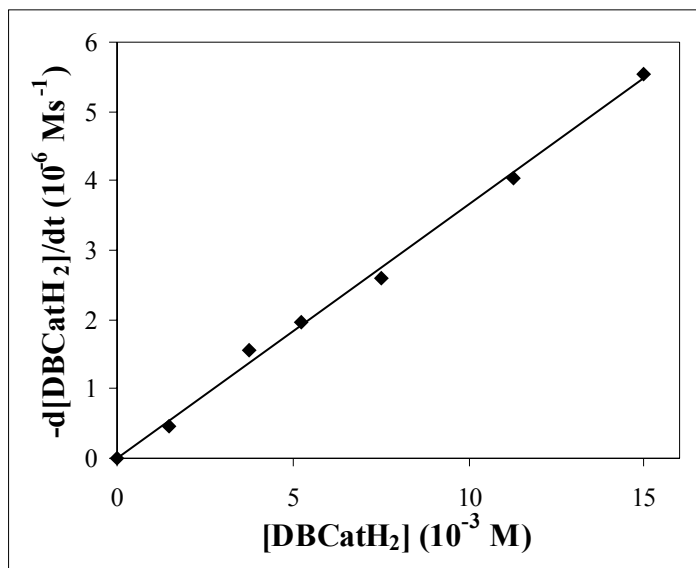
$$[\text{DBCatH}_2] = 6,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\mathbf{44}] = 6,00 \times 10^{-5} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,30 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 60^\circ\text{C}$$

A kapott pontokra jó regressziójú egyenes illeszthető (meredekség = $5,97 \times 10^{-3} \text{ perc}^{-1}$; $R = 99,28\%$) ami azt mutatja, hogy a DBCatH₂ részrendje egy. Ennek alátámasztására ábrázoltuk a különböző kiindulási szubsztrátumkoncentrációk függvényében a mért reakciósebesség értékeket (27. ábra); ezen összefüggés is lineárisnak adódott (meredekség = $3,65 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $R = 99,71\%$) így elmondható, hogy a DBCatH₂ egyes részrenddel vesz részt a reakcióban ($m = 1$).

A katalizátor részrendjének megállapítása céljából a reakciókat különböző katalizátorkoncentrációknál, de azonos szubsztrátum- és dioxigénkoncentrációk mellett is nyomon követtük. Ezeket a feltételeket kihasználva a (35) általános sebességi egyenletben bizonyos egyszerűsítésekkel élhetünk (38, 39).

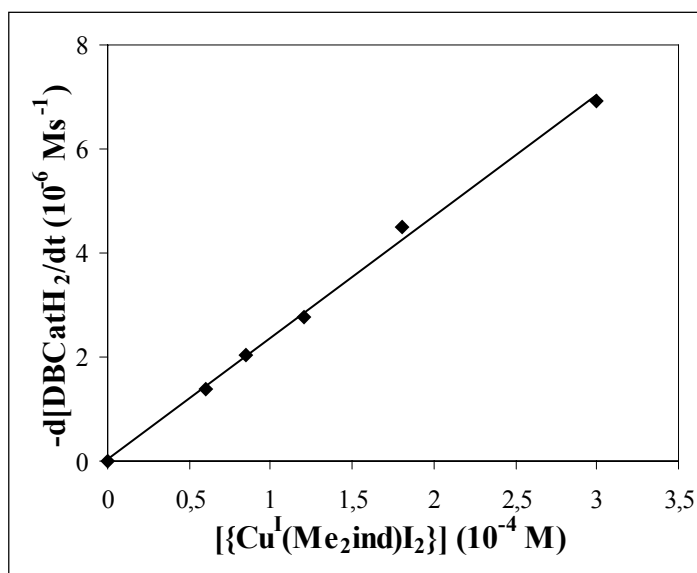
$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó}; [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k'' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{O}_2]^q \quad (38)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k'' [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}]^n \quad (39)$$



27. ábra. A reakciósebesség változása a szubsztrátum kiindulási koncentrációjának függvényében. [44] = $1,50 \times 10^{-4}$ M; [O₂] = $6,30 \times 10^{-3}$ M; DMF; T = 60°C

Ábrázolva a kapott reakciósebesség értékeket a komplexkoncentrációk függvényében (28. ábra) lineáris összefüggéshez jutunk (meredekség = $2,33 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$; R = 99,68%), ez alapján megállapítható, hogy a katalizátor részrendje egy ($n = 1$).



28. ábra. A reakciósebesség változása a komplexkoncentráció függvényében.

[DBCatH₂] = $6,00 \times 10^{-3}$ M; [O₂] = $6,30 \times 10^{-3}$ M; DMF; T = 60°C

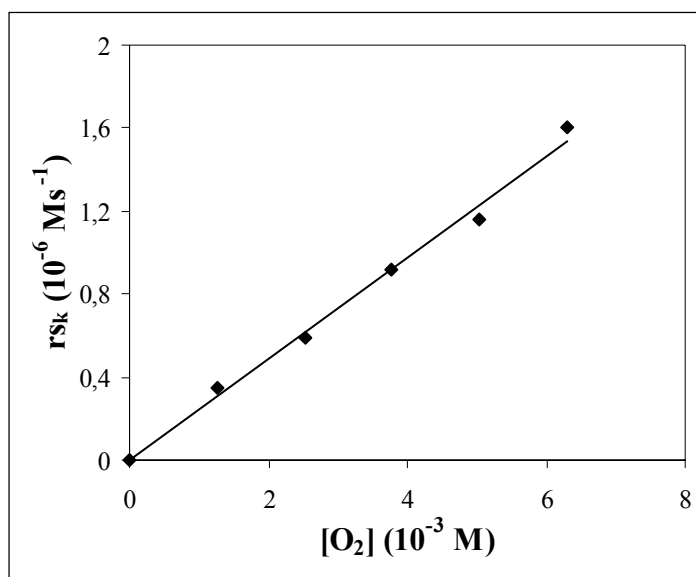
A dioxid részrendjének megállapítása érdekében különböző O₂ koncentrációknál mértük a reakció kezdeti sebességét. A különböző koncentrációk beállítása dioxid és

argon gázok megfelelő arányú keverésével történt. Állandó kiindulási szubsztrátum- és katalizátorkoncentráció mellett a sebességi egyenlet a (41) egyenlet szerint adható meg.

$$[\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}], [\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad k''' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}]^n \quad (40)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k''' [\text{O}_2]^q \quad (41)$$

A kapott eredmények a dioxigén egyes részrendjét támasztják alá ($q = 1$), mivel a koncentráció vs. kezdeti reakciósebesség (r_{sk}) függvény lineáris (29. ábra, meredekség = $2,44 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $R = 99,35\%$).



29. ábra. A kezdeti reakciósebesség alakulása a dioxigénkoncentráció függvényében.

$$[\mathbf{44}] = 2,40 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{DBCatH}_2] = 6,00 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 60^\circ\text{C}$$

A különböző hőmérsékleteken kapott reakciósebességi állandók alapján megszerkesztettük az Arrhenius és Eyring diagrammokat, mely összefüggések lineárisak voltak (30. ábra).

Az aktiválási paramétereket a (25), (26), (27) és (28) egyenletek alapján határoztuk meg, értékeik 60°C-ra a következők:

$$E_{\text{A}} = 73,28 \pm 4,33 \text{ kJmol}^{-1}$$

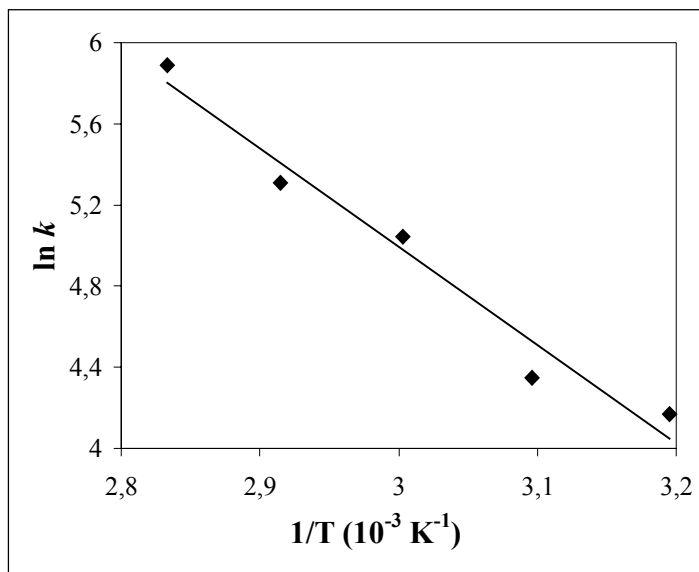
$$\Delta H^{\ddagger} = 68,26 \pm 4,03 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^{\ddagger} = 62,63 \pm 3,70 \text{ kJmol}^{-1}$$

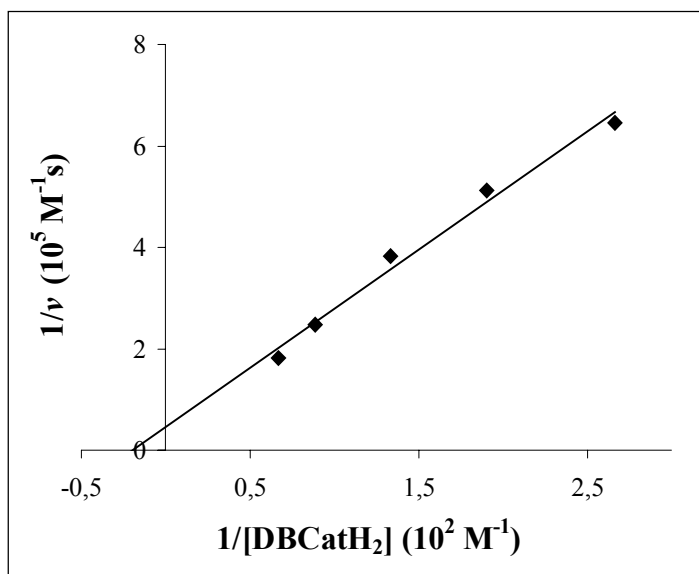
$$\Delta S^{\ddagger} = 16,91 \pm 0,99 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$$

Bár a reakció nem a klasszikus Michaelis – Menten kinetikát mutatja, mégis fontosnak tartottuk meghatározni a katalizátorra jellemző Michaelis állandót, hisz az általunk kidolgozott rendszer egy enzim funkcionális modelljének tekintendő. Ennek

érdekében, ábrázoltuk a Lineweaver–Burk egyenest - a reakciósebességek (v) reciprokát a szubsztrátumkoncentráció reciprokának függvényében (31. ábra).



30.ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Arrhenius diagrammja.



31. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Lineweaver-Burk egyenese.

$$[44] = 1,50 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,30 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 60^\circ\text{C}$$

Figyelembe véve, hogy az abszcissa metszéspontja a Michaelis állandó (K_M) reciprokát, míg az ordinátáé a maximális sebesség (V_{\max}) reciprokértékét adja meg, az állandók értékei az alábbiak szerint alakulnak:

$$K_M = 5,01 \times 10^{-2} \text{ M} \quad V_{\max} = 2,15 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1} \quad k_{\text{cat}} = 1,43 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$$

A Michaelis állandó azt a szubsztrátumkoncentrációt adja meg, amelynél a reakció sebessége a maximális érték felét éri el. Nagyságrendjét tekintve általában $10^{-2} - 10^{-5}$ M között változik. Látható, hogy az általunk vizsgált reakcióban ez az állandó viszonylag magas értéket vesz fel, ami azt jelenti, hogy a féltelítettség eléréséhez nagy szubsztrátumkoncentrációra van szükség. Feltételezhető tehát, hogy az általunk alkalmazott reakciókörülmények mellett a klasszikus Michaelis-Menten féle telítési jellegű kinetikai görbének első, még lineáris szakaszán mozogtunk a K_M relatíve nagy értéke miatt.

A kinetikai vizsgálatok körülményeit és eredményeit a 7. táblázatban foglaltam össze.

Az elvégzett reakciókinetikai mérések alapján javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára (43). A DBCatH₂ dioxigénnel szemben inaktív molekula, oldatban [Cu^I(Me₂ind)I₂] komplex jelenlétében, katalitikus körülmények között aktiválódik és reakcióba lép a dioxigénnel, termékként DBQ-t és hidrogén-peroxidot eredményezve. A reakció kinetikai vizsgálatai alapján trimolekuláris sebességi egyenlet írható fel (42) melyben mind a szubsztrátum, mind a dioxigén, mind a katalizátor egyes részrenddel szerepel.

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k [\text{DBCatH}_2] [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2\}] [\text{O}_2] \quad (42)$$

Feltételezésünk szerint a reakció első lépésben a katalizátor- és a szubsztrátummolekula gyors előegyensúlyi lépésben reagál egymással, aminek eredményeként egy (pirokatechináto)Cu(I)-komplex (45) keletkezik. Az alapállapotú (triplett) dioxigén, ezzel a komplexszel lép reakcióba oxidatív addíciós reakcióban, instabilis (peroxo)Cu(II)-komplex (46) keletkezése mellett a lassú, sebesség meghatározó lépésben. A kialakuló terner komplex (46), mindhárom reakciópartnert magába foglaló molekula, melyből hidrogén-peroxid eliminációval a ciklus utolsó átmeneti terméke egy (kinonáto)Cu(II)-komplex (47) keletkezik. Mivel a kinon affinitása a rézhez jóval kisebb mint a pirokatechiné, a komplex DBQ kihasadása mellett stabilizálódik és a katalitikus ciklus zárul.

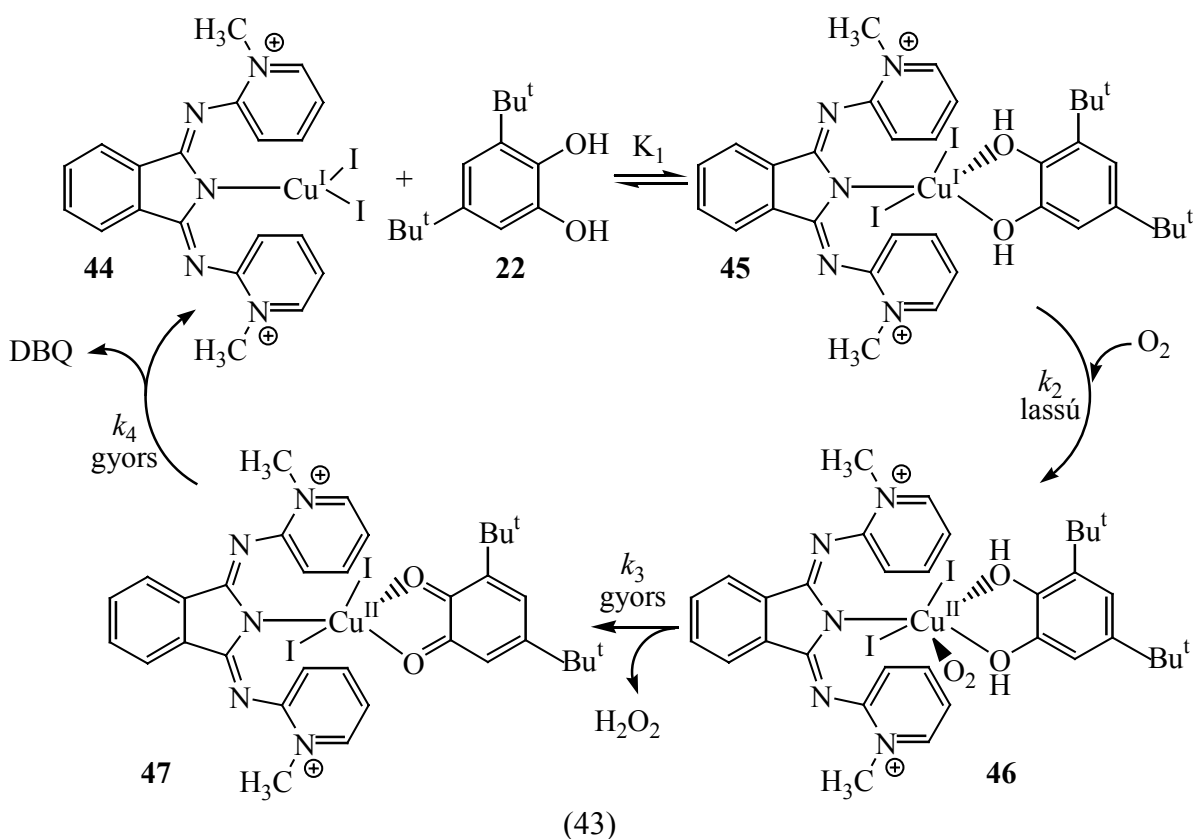
7. táblázat. A DBCatH₂ oxidációs reakciójának reakciókinetikai adatai.

Mérés Száma	T (K)	[DBCatH ₂] (10 ⁻³ M)	[Cu] (10 ⁻⁴ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	<i>k'</i> (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	<i>k</i> (M ⁻² s ⁻¹)	rs (10 ⁻⁶ Ms ⁻¹)
1	333	1,50	1,50	6,30	3,00±0,26	317,46±28,01	0,45
2	333	3,75	1,50	6,30	4,13±0,35	437,39±3,74	1,55
3	333	5,25	1,50	6,30	3,72±0,24	393,19±25,52	1,95
4	333	7,50	1,50	6,30	3,48±0,22	368,46±23,53	2,61
5	333	11,25	1,50	6,30	3,59±0,18	380,27±18,58	4,04
6	333	15,00	1,50	6,30	3,68±0,22	389,77±23,46	5,53
7	333	6,00	0,60	6,30	2,29±0,07	606,78±18,27	1,38
8	333	6,00	0,85	6,30	3,41±0,19	640,95±36,70	2,05
9	333	6,00	1,20	6,30	4,61±0,03	610,02±39,97	2,77
10	333	6,00	1,80	6,30	7,52±0,05	663,29±10,46	4,51
11	333	6,00	3,00	6,30	11,53±0,01	609,79±62,60	6,92
						461,48±25,14^a	
							rs _k ^b
12	333	6,00	2,40	1,26			0,35
13	333	6,00	2,40	2,52			0,59
14	333	6,00	2,40	3,78			0,92
15	333	6,00	2,40	5,04			1,16
16	333	6,00	2,40	6,30			1,79
17	313	6,00	6,00	5,66	2,19±0,14	64,54±4,12	1,32
18	323	6,00	6,00	6,14	2,84±0,07	77,14±1,80	1,71
19	333	6,00	6,00	6,30	5,85±0,32	154,80±8,34	3,51
20	343	6,00	6,00	6,85	8,32±0,47	202,63±11,45	5,00
21	353	6,00	6,00	7,00	15,13±0,97	360,24±23,00	9,08

^a *k* középértékének és szórásának $\sigma(k)$ számítása:

$$k = (\sum_i w_i k_i / \sum_i w_i) \text{ és } \sigma(k) = (\sum_i w_i (k_i - k)^2 / (n-1) \sum_i w_i)^{1/2}, \text{ ahol } w_i = 1/\sigma_i^2.$$

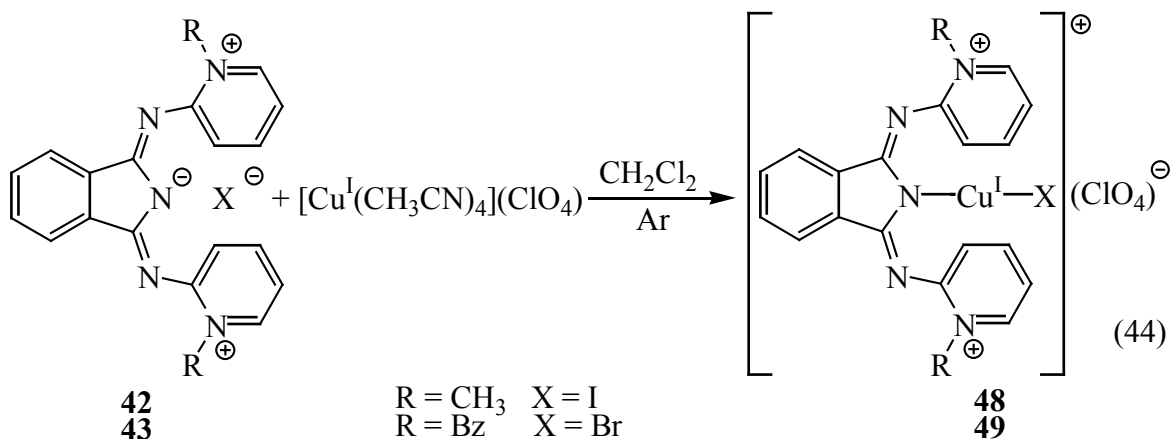
^b kezdeti reakciósebesség.



4.2.1.4. $[Cu^I(Me_2ind)I](ClO_4)$ és $[Cu^I(Bz_2ind)Br](ClO_4)$ komplexek előállítása és jellemzése

A pirokatechin oxidációs reakcióiban alkalmazott réztartalmú enzimmodellek esetében számos irodalmi példát találhatunk, ahol a funkcionális modellvegyületeket $Cu(I)$ -prekursorok segítségével állították elő. Ilyen gyakran használt réztartalmú prekursor a tetrakis-(acetonitrilo)réz(I)-perklorát is, melynek segítségével már több enzimmodellt szintetizáltak korábban. A 4.2.1.1. fejezetben bemutatott új, egyfogú N-donor ligandumokat alkalmazva, ionos $Cu(I)$ -vegyületek előállítását céloztuk meg. Metilén-kloridban inert körülmények között reagáltatva $[Cu^I(CH_3CN)_4](ClO_4)-t$ $[Me_2ind]I$ -al vagy $[Bz_2ind]Br$ -al a (44) egyenlet értelmében állítottuk elő a $[Cu^I(Me_2ind)I](ClO_4)$ (48) és $[Cu^I(Bz_2ind)Br](ClO_4)$ (49) komplexeket.

A komplexek összetételét elemanalízissel, szerkezetüket IR, UV-Vis, ESR és mágneses szuszceptibilitás mérésekkel határoztuk meg. Az elemanalízis eredményei mindkét komplex esetében jó egyezést mutattak az elméleti elvárásokkal.



A spektroszkópai adatok alátámasztják a ligandumok koordinálódását a réz(I)-ionhoz. Mind a **48**, mind a **49** komplex esetében az infravörös spektrumban megtalálhatóak a ligandumok jellemző sávjai, alacsonyabb energiatartományokba eltolódva ($\Delta\nu = 90\text{-}96 \text{ cm}^{-1}$) emellett a perklorát ellenanionra jellemző új sávok is megjelennek a spektrumban 1104 és 628 cm^{-1} hullámszám értékeknél. A koordinációt az UV-Vis spektrumban észlelhető batokróom eltolódás is megerősíti.

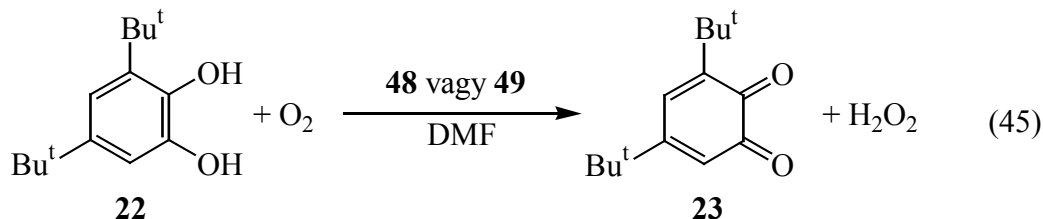
A központi fémion egyes oxidációs állapotát mutatja a komplexek diamágnesessége valamint a komplexek ESR inaktivitása. Szintén ezt támasztja alá az, hogy az UV-Vis spektrumokban nem találunk elnyelési sávot a réz(II)-ionra jellemző $600\text{-}700 \text{ nm}$ -es hullámhossz tartományban. A komplexek fontosabb spektroszkópai és fizikai adatait a 8. táblázat tartalmazza.

8. táblázat. A $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}](\text{ClO}_4)$ (**48**) és $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}](\text{ClO}_4)$ (**49**) komplexek fontosabb fizikai és spektroszkópai adatai.

Komplex	$[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}](\text{ClO}_4)$	$[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}](\text{ClO}_4)$
Szín	vörös	téglavörös
Op ($^{\circ}\text{C}$)	263	135
μ_{eff}	diamágneses	diamágneses
IR (cm^{-1}) (KBr)	1543(ν_{CN}); 1097($\nu_{\text{ClO}_4^-}$); 769, 718(ν_{py}); 628($\nu_{\text{ClO}_4^-}$)	1535(ν_{CN}); 1104($\nu_{\text{ClO}_4^-}$); 745, 690(ν_{py}); 628($\nu_{\text{ClO}_4^-}$)
UV-Vis (DMF) λ_{max} (nm) (log ϵ)	265(4,20); 342(4,24); 450(4,38)	265(4,05); 347(4,04); 454(4,09)

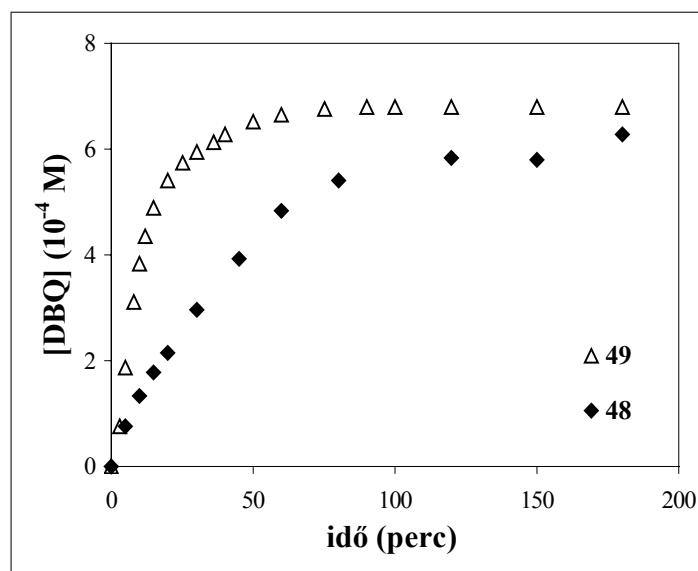
4.2.1.5. 3,5-Di-*tert*-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}](\text{ClO}_4)$ és $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}](\text{ClO}_4)$ komplexek jelenlétében

Vizsgáltuk 3,5-di-*tert*-butil-pirokatechin reakcióját dioxigénnel a **48** és **49** komplexek jelenlétében annak tisztázása céljából, hogy a komplexek mutatnak-e katalitikus aktivitást és ha igen, vajon az oxidáz vagy oxigenáz típusú. A reakciókat DMF oldószerben 25°C-on hajtottuk végre.



Az eredmények pozitívak voltak, mindkét komplex hatásos katalizátornak bizonyult oxidáz modellreakciókban. A termékek között gyűrűhasadt terméket egyik esetben sem találtunk, mindkét esetben DBQ és H_2O_2 voltak a termékek a (45) egyenletnek megfelelően. Megállapítható tehát, hogy a **48** és **49** komplexek pirokatechin oxidáz aktivitást mutatnak.

A reakció sztöchiometriájának megállapítása céljából mértük a dioxigénfelvételt gázvolumetrikus módszerrel. A DBCatH_2 1:1 sztöchiometria szerint reagál az O_2 -nel. Ahogy várható volt, a **49**-es komplex mutatott jobb katalitikus aktivitást a réz körül kialakuló nagyobb elektronsűrűségnek köszönhetően (32. ábra).



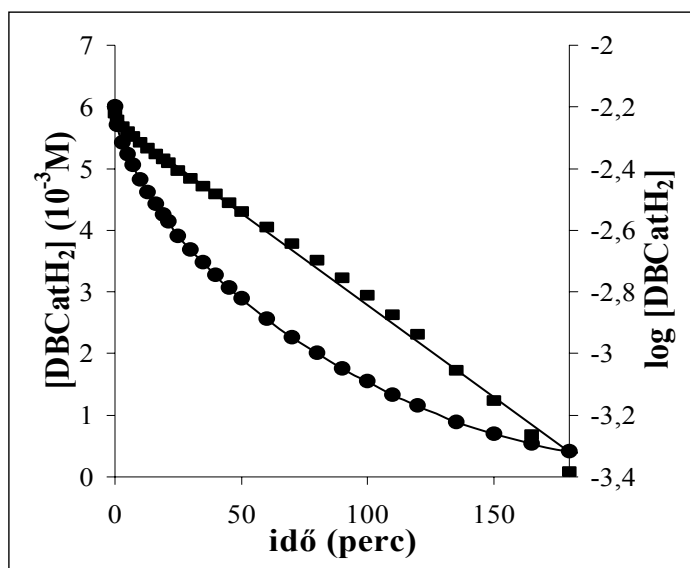
32. ábra. A DBCatH_2 katalitikus oxigénezési görbéi **48** (◆) és **49** (Δ) komplexek jelenlétében. $[\text{DBCatH}_2] = 6,80 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{Cu}] = 4,50 \times 10^{-5} \text{ M}$; $T = 25^\circ\text{C}$; DMF

Ezen ismeretek tükrében, részletes kinetikai méréseket végeztünk a reakció mechanizmusának felderítése céljából. A kinetikai méréseket a jobb katalitikus aktivitással rendelkező **49** komplex jelenlétében végeztük.

4.2.1.5.1. Reakciókinetikai vizsgálatok

A részletes kinetikai vizsgálatokat DMF oldószerben 20, 30, 40, 50 és 60°C-on végeztük. A szubsztrátum ismert koncentrációjú 50 cm³ oldatát egy speciálisan kialakított reakcióedényben a kívánt hőmérsékletre temperáltuk, majd a rendszert dioxigénnel telítettük, végül a kinetikai edényben hozzáadtuk a katalizátort. Az eredetileg színtelen oldat azonnal felvette a katalizátor sárga színét, majd a reakció előrehaladtával a terméként keletkező kinon színe vált dominánssá. A reakció időbeli lefutásának nyomonkövetésére ez alkalommal is UV-Vis spektroszkópiát használtunk. A keletkező termékek minőségi és mennyiségi meghatározása a 4.2.1.3. fejezetben leírtak szerint történt.

A 33. ábrán a szubsztrátum koncentrációjának és a koncentráció logaritmusának időbeli változását mutatom be. Látható, hogy a logaritmizált értékekre jó regressziójú egyenes illeszthető (meredekség = $5,96 \times 10^{-3}$ perc⁻¹; R = 99,78%).



33. ábra. A DBCatH₂ koncentrációjának és a koncentráció logaritmusának változása az idő függvényében. [DBCatH₂] = $6,00 \times 10^{-3}$ M; [**49**] = $1,15 \times 10^{-4}$ M; [O₂] = $5,66 \times 10^{-3}$ M; DMF; T = 40°C

A katalitikus reakcióra a következő sebességi egyenlet írható fel (46):

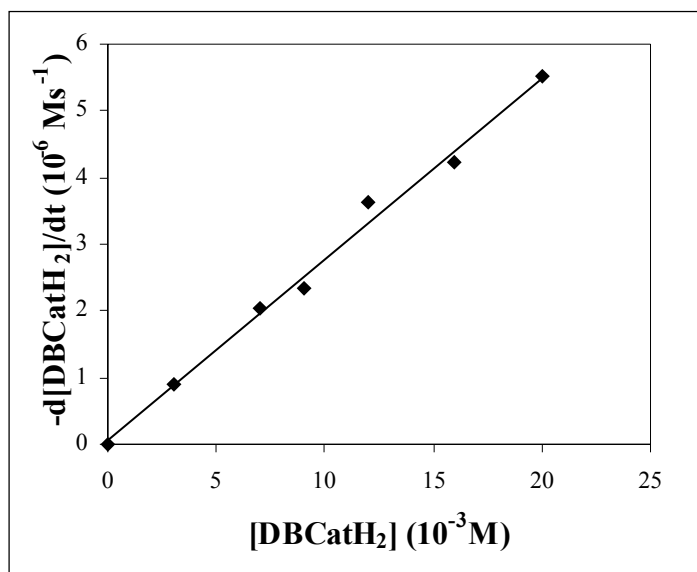
$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k [\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}\}(\text{ClO}_4)]^n [\text{O}_2]^q \quad (46)$$

Az egyes reakciópartnerek részrendjének meghatározása céljából a reakciókat különböző pirokatechin-, katalizátor- és dioxigénkoncentrációk mellett végeztük el. Állandó dioxigén- és katalizátor-koncentrációt biztosítva a (46) egyenlet a (48) formára egyszerűsödik.

$$\begin{aligned} [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}\}(\text{ClO}_4)] &= \text{állandó} & [\text{O}_2] &= \text{állandó} \\ k' &= k [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}\}(\text{ClO}_4)]^n [\text{O}_2]^q & & (47) \end{aligned}$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k' [\text{DBCatH}_2]^m \quad (48)$$

A szubsztrátum részrendjének megállapítása érdekében vizsgáltuk a reakciósebesség függését a szubsztrátum koncentrációjának függvényében. A 34. ábrán látható, hogy lineáris összefüggés áll fenn e két paraméter között (meredekség = $2,72 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $R = 99,27\%$), tehát a DBCatH_2 részrendje a reakcióban egy ($m = 1$).



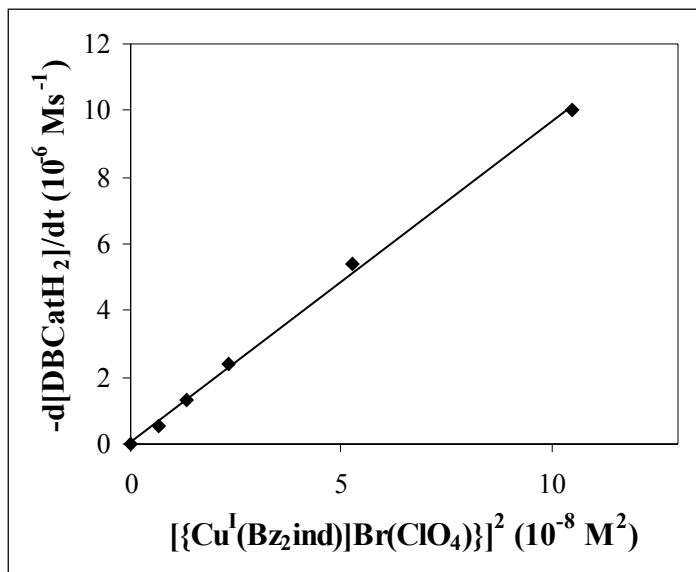
34. ábra. A reakciósebesség változása a kiindulási szubsztrátumkoncentráció függvényében. $[\mathbf{49}] = 1,53 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{O}_2] = 5,66 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 40^\circ\text{C}$

A katalizátor részrendjének megállapítására a reakciókat különböző katalizátor-koncentrációk mellett is nyomon követtük, állandó értéken tartva a dioxigén-, valamint a kiindulási szubsztrátumkoncentrációkat. Ebben az esetben a reakcióra felírható általános sebességi egyenlet (46) egyszerűbb formára hozható (50).

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó}; [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k'' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{O}_2]^q \quad (49)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k'' [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}\}(\text{ClO}_4)]^n \quad (50)$$

A kapott reakciósebességi adatokat ábrázolva a katalizátor koncentrációjának függvényében másodfokú összefüggéshez jutottunk. Abban az esetben, ha a koncentrációk négyzetének függvényében ábrázoltuk a mért reakciósebességi adatokat (35. ábra), a kapott pontokra jó regressziójú egyenes volt illeszthető (meredekség = $96,41 \text{ s}^{-1}$; $R = 99,83\%$), ez a katalizátor másod rendjének felel meg ($n = 2$).



35. ábra. A reakciósebesség változása a komplexkoncentráció négyzetének függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 6,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{O}_2] = 5,66 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 40^\circ\text{C}$$

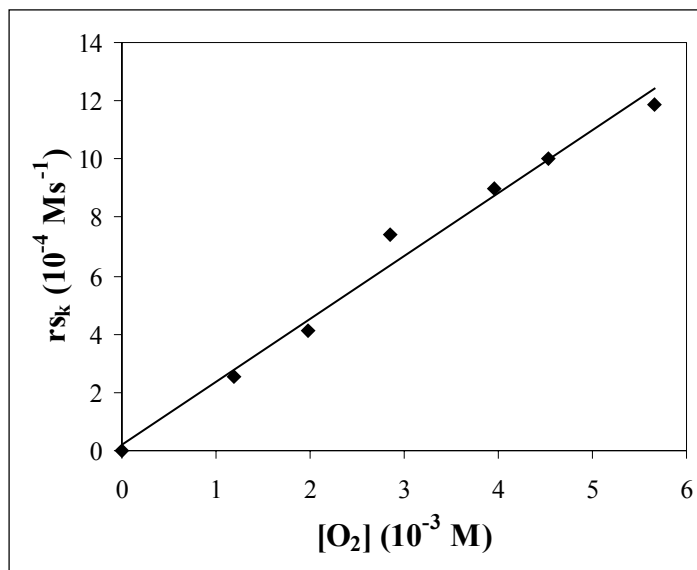
A harmadik komponens aminek a részrendjét meg kellett határoznunk a dioxid. A reakciókat különböző kiindulási dioxidkoncentrációk mellett követtük, állandó értéken tartva a szubsztrátum és a réz-komplex koncentrációkat. Ezeket a feltételeket a sebességi egyenlet egyszerűsítésére kihasználva a sebességi egyenlet a (52) alakra hozható.

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}\}(\text{ClO}_4)] = \text{állandó}$$

$$k''' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}\}(\text{ClO}_4)]^n \quad (51)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k''' [\text{O}_2]^q \quad (52)$$

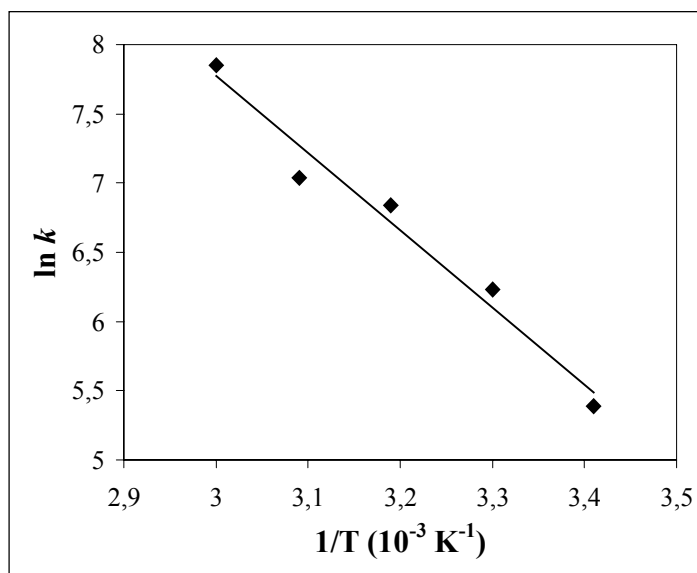
Mértük a reakciók kezdeti sebességét, majd a kapott értékeket ábrázoltuk a kiindulási O_2 -koncentráció függvényében (36. ábra). Az összefüggés lineárisnak adódott (meredekség = $2,16 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$; $R = 98,43\%$) ami annyit jelent, hogy a dioxid részrendje a sebességi egyenletben egy ($q = 1$).



36. ábra. A kezdeti reakciósebesség változása a dioxigénkoncentráció függvényében.

[DBCatH₂] = 6,00 × 10⁻³ M; [49] = 4,58 × 10⁻⁶ M; DMF; T = 40°C

A reakciókat 20, 30, 40, 50 és 60°C-on is elvégeztük az aktiválási paraméterek meghatározása céljából. Mind az Arrhenius mind az Eyring összefüggések lineárisnak adódtak. A 37. ábrán a reakció Arrhenius diagrammját mutatom be.



37. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Arrhenius diagrammja.

Az aktiválási paraméterek meghatározása a (25), (26), (27), (28) egyenletek alkalmazásával történt, értékeik 40°C-ra a következők:

$$E_A = 84,85 \pm 1,33 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta H^\ddagger = 80,13 \pm 1,26 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = 58,96 \pm 0,92 \text{ kJmol}^{-1}$$

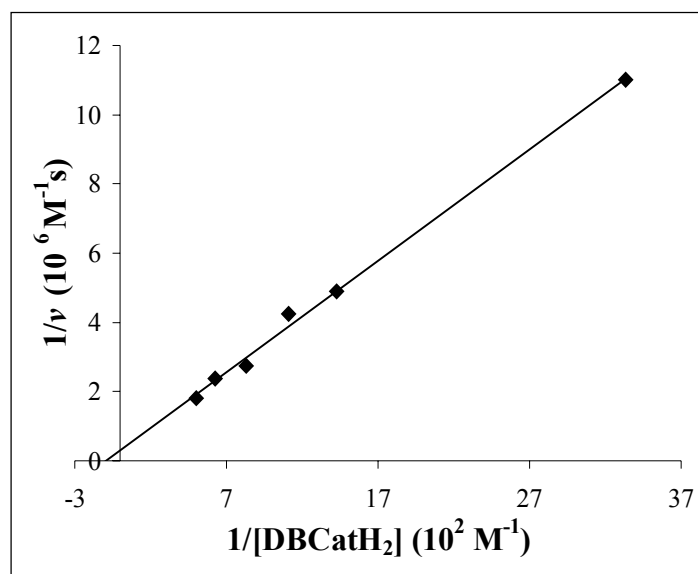
$$\Delta S^\ddagger = 67,65 \pm 1,06 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}$$

A komplex hatékonyságát mint enzimmodell, a Michaelis állandó kiszámításával tudjuk jellemezni. Ennek érdekében megrajzoltuk a reakció Lineweaver – Burk egyenesét (38. ábra) és a tengelymetszetekből meghatároztuk a kívánt állandókat. A Michaelis állandón kívül meghatároztuk a reakció maximális sebességét (V_{\max}) és a k_{cat} értékeket. A fent említett állandók értékei az alábbiak szerint változnak:

$$K_M = 1,02 \times 10^{-1} \text{ M} \quad V_{\max} = 3,19 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1} \quad k_{\text{cat}} = 2,08 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$$

A Michaelis állandó a **49** komplex által katalizált reakcióra magas értéket vesz fel, ami azt jelenti, hogy a rendszer féltelítettségének eléréséhez nagy szubsztrátumkoncentrációra van szükség. Az általunk alkalmazott körülmények mellett, ennek a koncentrációtartománynak a vizsgálata, a kinon nagy abszorpciós koefficiensének értéke miatt nem volt lehetséges. A mérések során vizsgált komplex : szubsztrátum arányok mellett, a klasszikus Michaelis-Menten féle enzimkinetikában megszokott telítési görbe helyett kapott lineáris összefüggés nagy valószínűséggel annak tudható be, hogy az általunk mért legnagyobb szubsztrátumkoncentráció is a görbe kezdeti, lineáris szakaszán helyezkedett el.

A kinetikai vizsgálatok körülményeit és eredményeit a 9. táblázatban foglaltam össze.



38. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Lineweaver-Burk egyenese.

$$[49] = 1,53 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 5,66 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 40^\circ\text{C}$$

9. táblázat. A DBCatH₂ **49** által katalizált oxidációs reakciójának reakciókinetikai adatai.

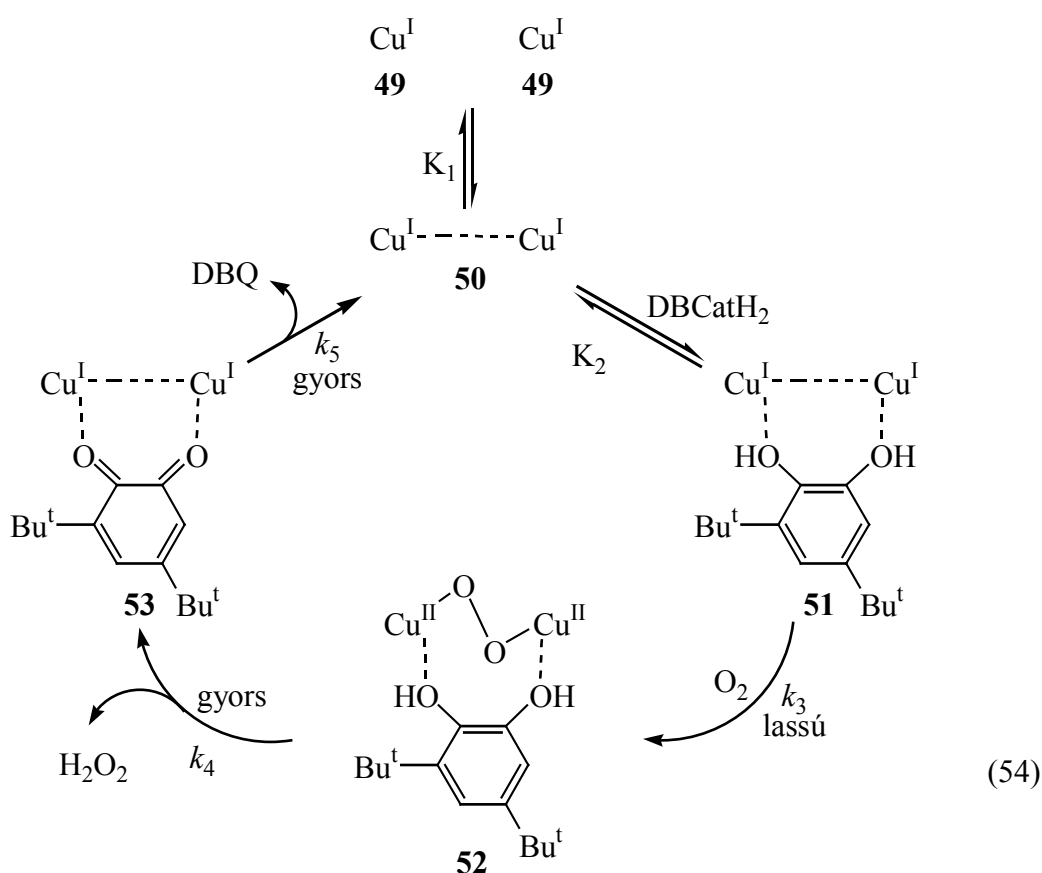
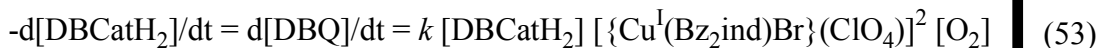
Mérés Száma	T (K)	[DBCatH ₂] (10 ⁻³ M)	[Cu] (10 ⁻⁴ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	<i>k'</i> (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	<i>k</i> (M ⁻³ s ⁻¹)	rs 10 ⁻⁶ Ms ⁻¹
1	313	3	1,53	5,66	3,03±0,03	350,70±4,03	0,91
2	313	7	1,53	5,66	2,91±0,03	336,08±3,09	2,04
3	313	9	1,53	5,66	2,61±0,02	301,52±2,42	2,35
4	313	12	1,53	5,66	3,03±0,05	350,20±5,81	3,64
5	313	16	1,53	5,66	2,65±0,02	306,27±2,66	4,24
6	313	20	1,53	5,66	2,76±0,03	318,86±3,87	5,52
7	313	6	0,81	5,66	0,90±0,01	260,10±2,31	5,40
8	313	6	1,15	5,66	2,15±0,03	331,56±3,99	1,29
9	313	6	1,53	5,66	4,02±0,05	464,94±6,26	2,41
10	313	6	2,29	5,66	8,96±0,67	691,32±5,13	5,38
11	313	6	3,24	5,66	16,67±0,96	910,65±5,24	10,00
						350,40±44,7^a	
							rs _k ^b
12	313	6	4,58	1,19			2,55
13	313	6	4,58	1,70			6,31
14	313	6	4,58	1,98			4,15
15	313	6	4,58	2,83			7,42
16	313	6	4,58	3,96			9,02
17	313	6	4,58	5,66			11,90
18	293	3	1,53	4,76	1,64±0,02	225,30±2,62	0,49
19	303	3	1,53	5,23	4,06±0,04	508,82±0,53	1,22
20	313	3	1,53	5,66	8,09±0,15	936,89±17,3	2,43
21	323	3	1,53	6,14	10,7±0,32	1137,6±3,4	3,21
22	333	3	1,53	6,30	24,8±0,94	2576,91±97	7,44

^a *k* középértékének és szórásának $\sigma(k)$ számítása:

$$k = (\sum_i w_i k_i / \sum_i w_i) \text{ és } \sigma(k) = (\sum_i w_i (k_i - k)^2 / (n-1) \sum_i w_i)^{1/2}, \text{ ahol } w_i = 1/\sigma_i^2.$$

^b kezdeti reakciósebesség.

A részletes kinetikai vizsgálatok eredménye alapján megállapítható, hogy a dioxigénnel szemben egyébként inaktív DBCatH₂ a **49** komplex jelenlétében már szobahőfokon is reakcióba lép dioxigénnel termékként kinont és hidrogén-peroxidot szolgáltatva. A kinetikai adatok alapján a reakcióra trimolekuláris sebességi egyenlet írható fel, melyben a szubsztrátum és a dioxigén első renddel, míg a katalizátor másod renddel szerepel (53).



A kinetikai eredmények alapján javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára (54). A **49** komplex disszociálabilis perklorát ellenaniont tartalmaz, valamint a réz koordinációs szférájában elhelyezkedő viszonylag kis méretű bromidion megteremti a komplex dimerizálódásának lehetőségét. Feltételezésünk szerint a katalitikus ciklus első, gyors lépésében két katalizátor molekulából egy dimer vegyület alakul ki (**50**) és hasonlóan mint a pirokatechin oxidáz enzimben, egy kétmagvú rézkomplex lesz felelős a katalízisért. Ezen feltevésünket a kinetikai mérések során a katalizátorra kapott másodrendű koncentrációfüggőség is alátámasztja. Ezt követi a rézdimer reakciója a szubsztrátummal,

pirokatechin-komplext (51) eredményezve. Ez az intermedier a lassú, sebességmeghatározó lépésben reagál az O₂ molekulával. A reakcióban kialakuló oxo-réz-komplex szerkezetét tekintve alapvetően három különböző típusú lehet: egyfelől μ -1,2-peroxo; másfelől μ - η^2 - η^2 -peroxo; harmadrészt bis- μ -oxo forma. Tekintve hogy a reakcióban a kinon mellett hidrogén-peroxid keletkezik, ezen oxo-réz-komplex szerkezetileg az első típushoz kell hogy tartozzon, hiszen egyedül így valósulhat meg a komplex bomlása során H₂O₂ elimináció, egyedül ebben az esetben nincs lehetőség az O-O kötés homolitikus felhasadására.⁹⁶ A kis stabilitású peroxo-intermedier (52) elbomlik a reakció további lépéseiben, előbb H₂O₂ hasad ki a molekulából, majd a megmaradó kinon-komplex (53) is szétesik, a kinon rézhez való kis koordinációs készségének következtében, így a katalitikus ciklus zárul.

4.2.2. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin oxidációs reakciói Cu(II)-komplexek jelenlétében

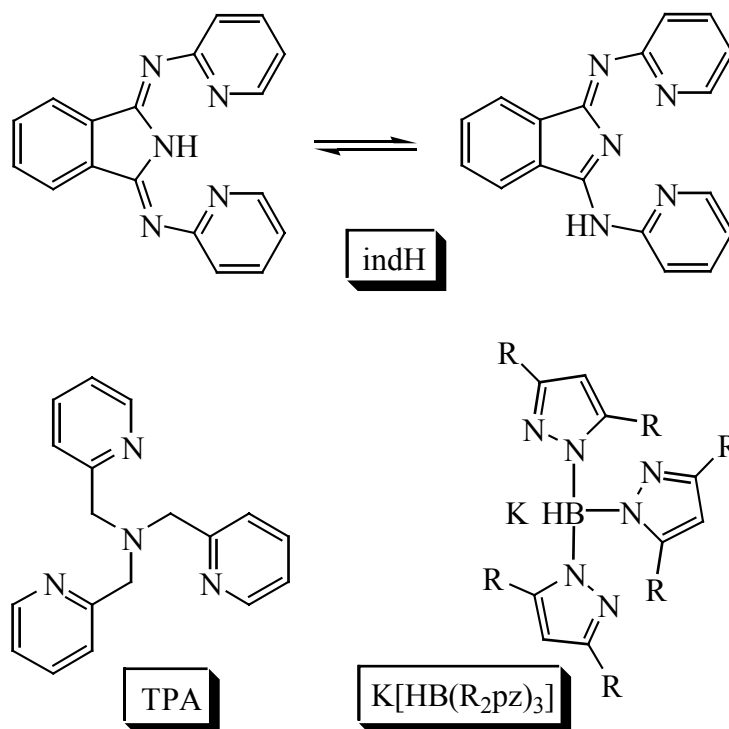
4.2.2.1. Szubsztrátumot tartalmazó modellvegyületek előállítása

Az oxidoreduktáz enzimek aktív centrumában található redoxaktív fémionok szerepe alapvetően abból áll, hogy az egymással nem, vagy csak nagyon kis sebességgel reagáló molekulákat aktiválják, ily módon növelve meg a reakciósebességet. Ennek megfelelően az enzim a szubsztrátum megkötésén és aktiválásán keresztül is kifejtheti hatását aminek következtében az aktivált szubsztrátum reakcióképes lesz a dioxigénnel szemben.

Munkánk során törekedtünk olyan funkcionális oxigenáz és/vagy oxidáz aktivitást mutató modellvegyületek előállítására, melyek ligandumként tartalmazzák a szubsztrátumot. Olyan modelleket állítottunk elő, melyek vizsgálatával közelebb kerülhetünk az enzimműködés jobb megismeréséhez.

A pirokatechin-oxidáz enzim szerkezete jól ismert³⁸ tudjuk, hogy az aktív centrumban lévő rézionokhoz három hisztidin molekula koordinálódik N-donor ligandumként. A pirokatechin dioxigenáz enzim szerkezetét egyelőre még nem ismerjük, de a biológiai rendszerekben található fémionokhoz leggyakrabban nitrogénatomok koordinálódnak (aminosavak, nukleotidok, fehérjék). Ezt figyelembe véve, a

modellvegyületek előállításakor, koordinálódásra képes nitrogéndonor ligandumokat alkalmaztunk. További fontos szempont volt, hogy segítségével változatos geometriájú modelleket állíthassunk elő (39. ábra).

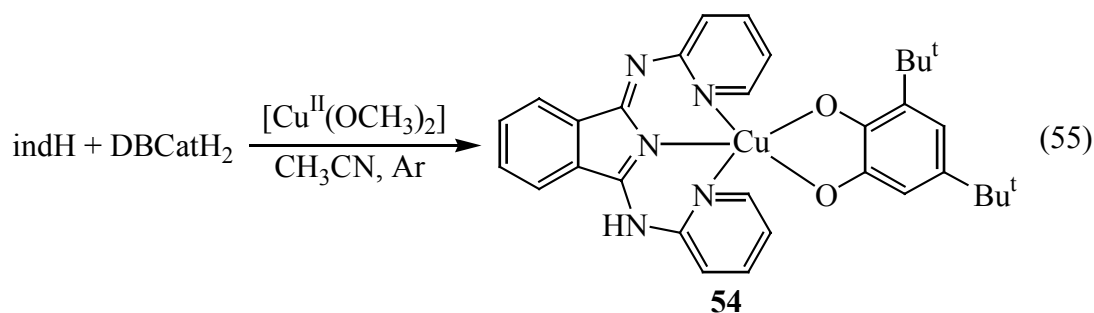


39. ábra. A modellvegyületek előállításánál alkalmazott ligandumok.

4.2.2.1.1. [Cu^{II}(indH)(DBCat)] komplex előállítása és jellemzése

Speier és munkatársai a kvercetin-2,3-dioxigenáz enzim funkcionális és szerkezeti modellvegyületeinek vizsgálata során szubsztrátumot és 1,3-bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin (indH) ligandumot tartalmazó rézkomplexekeket állítottak elő és megállapították, hogy ezen vegyületek jó biotánczó sajátságokkal bírnak.⁹³ Ezt alapul véve jutottunk el hasonló összetételű modellvegyületek szintéziséhez, melyek alapvetően vegyes ligandumú rézkomplexekek.

Az indH ligandumot Siegel módszerével szintetizáltuk⁹⁷ majd labilis metoxocsoportokat tartalmazó [Cu^{II}(OCH₃)₂] komplexszel reagáltatva DBCatH₂ jelenlétében, inert atmoszférában az (55) egyenletnek megfelelően a [Cu^{II}(indH)(DBCat)] (54) komplexet nyertük ki jó hozammal (Op: 343°C, hozam:85%).



A komplex összetételét elemanalízissel, szerkezetét spektroszkópiás mérésekkel határoztuk meg. A kapott eredményeket a 10. táblázatban foglaltam össze.

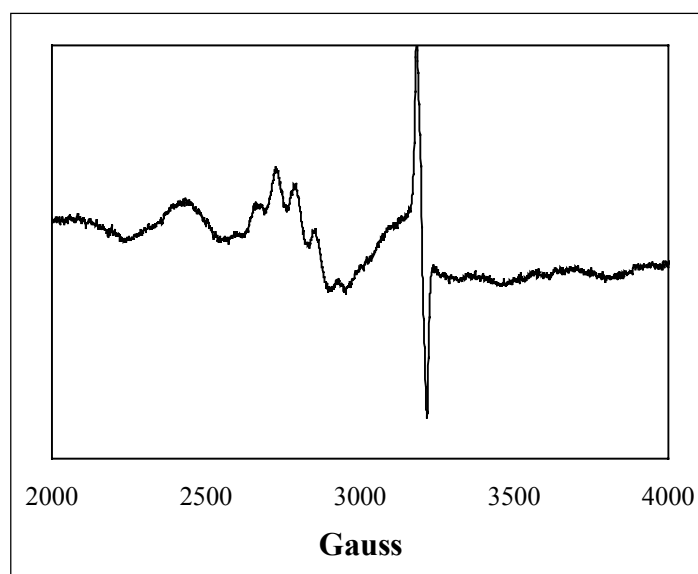
10. táblázat. A $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})]$ (**54**) komplex fontosabb fizikai és spektroszkópiai adatai.

Komplex	$[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})]$
Szín	sötét zöld
Op (°C)	343
μ_{eff}	1,81 BM
ESR	$g_{\text{SQ}}=2,0044$; $A_{\text{H}^1}=3,2\text{G}$; $A_{\text{H}^2}=1,8\text{G}$ $g_{\text{Cu}}=2,115$; $A_{\text{Cu}}=65,7\text{G}$; $A_{\text{N}(2)}=12,5\text{G}$
IR (cm^{-1}) (KBr)	3118, 3086(ν_{NH}); 2957(ν_{CH}); 1638(ν_{CO}); 1458, 1432(ν_{CN}); 1104, 782, 705(ν_{py})
UV-Vis (DMF) λ_{max} (nm) (log ϵ)	331(4,29); 420(4,30), 446(4,19); 663(2,59)

A komplex infravörös spektrumában 1580 és 1535 cm^{-1} hullámszám értékeknél megjelenő két intenzív sáv a ligandum protonált, semleges állapotban történő koordinációjának a jele. A sávok nem rendelhetők egyértelműen egyedi rezgésekhez, az irodalomban⁹⁸ megjelenésüket a ligandum imino- és 2'-piridil-csoportjai közötti csatolással magyarázzák. A 2'-piridil-csoportok koordinálódását a spektrumban 1104 cm^{-1} -nél megjelenő sáv is alátámasztja. A szubsztrátum koordinálódásának egyértelmű jele a szabad OH-rezgések eltűnése és az 1638 cm^{-1} hullámszámnál jelentkező CO-vegyértékrezgés, valamint a *terc*-butilcsoportok alifás CH-kötéseire jellemző sáv jelenléte a spektrumban 2957 cm^{-1} -nél.

Az UV-Vis spektrumban a ligandumra jellemző $\pi-\pi^*$ töltésátviteli sávok (331, 420, 446 nm) mellett a kettős oxidációs fokú rézionra jellemző d-d átmenetéhez rendelhető kis intenzitású abszorpciós sáv (663 nm) is megjelenik.

A mágneses szuszceptibilitás mérés eredménye a komplex paramágnesességét mutatja, ami a komplexben lévő Cu(II)-ion jelenlétének bizonyítéka.



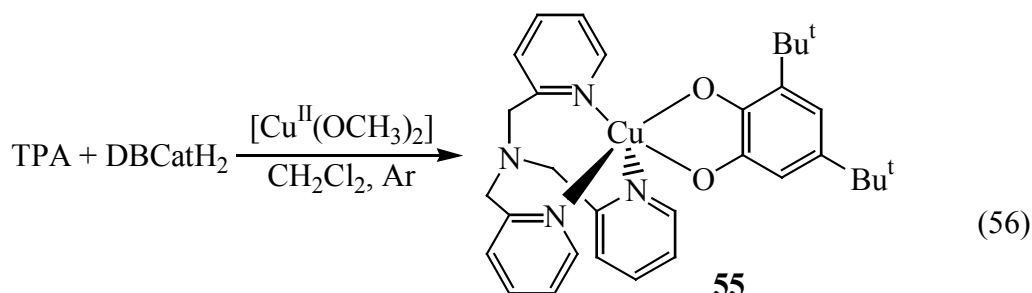
40. ábra A $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})]$ komplex ESR spektruma DMF-ban szobahőmérsékleten.
 $g_{\text{SQ}}=2,0044$; $A_{\text{H}^{\cdot}}=3,2\text{G}$; $A_{\text{H}^{\cdot\cdot}}=1,8\text{G}$; $g_{\text{Cu}}=2,115$; $A_{\text{Cu}}=65,7\text{G}$; $A_{\text{N}(2)}=12,5\text{G}$

A komplex 40. ábrán bemutatott ESR-spektruma összetett, a réz(II)-re jellemző négyvonalas spektrumban egy igen intenzív jel is látható, ami szemikínon-gyökanionhoz rendelhető. A jelenség a (pirokatechináto)rész(II)- és (szemikínonáto)rész(I)-komplexek között fennálló egyensúllyal magyarázható. Az oldatfázisban megjelenő egyensúly a Cu(II)-komplex irányában van eltolódva, amit a spektrum alapján számolt kis relatív Cu(I)-komplex-koncentráció (~8%) is bizonyít.

4.2.2.1.2. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})]$ komplex előállítása és jellemzése

A trisz[(2-piridil)-metil]-amin (TPA) nitrogén-donor, háromfogú ligandum egyes (pirokatechináto)vas-komplexeit hatásos katalizátorként alkalmazták pirokatechinek oxidatív gyűrűnyitási reakcióiban,⁹⁹ valamint igen kedvelt ligandum a réz-oxigén komplexkémiaiában is.⁸¹

Érdekesnek tartottuk megvizsgálni, hogy Jang munkájában⁹⁹ bemutatott [Fe(TPA)(DBCat)] komplex réz-analógja milyen katalitikus aktivitással bír pirokatechinek oxidációs folyamataiban. A [Cu^{II}(TPA)(DBCat)] (**55**) komplexet az (56) egyenletnek megfelelően állítottuk elő. A ligandum szintézise az irodalomból megismert módszerrel történt.¹⁰⁰



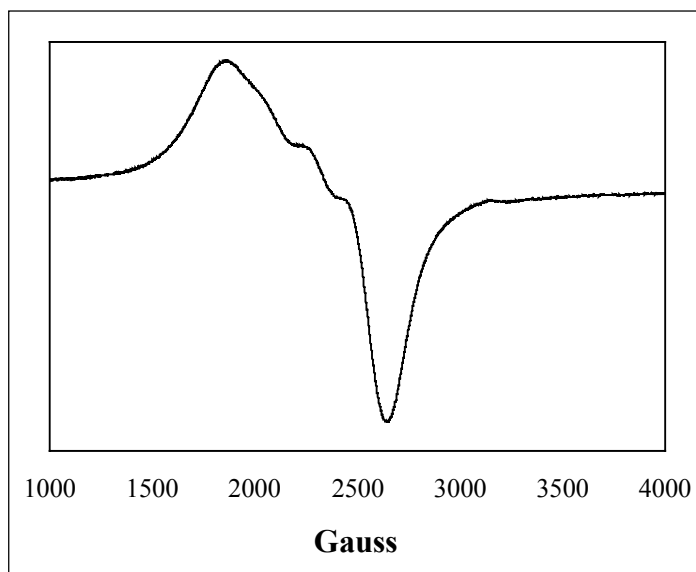
A komplex azonosítására standard módszereket használtunk, összetételét elemalízissal, szerkezetét spektroszkópai mérésekkel határoztuk meg. A fontosabb adatokat a 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat. A [Cu^{II}(TPA)(DBCat)] (**55**) komplex fontosabb fizikai és spektroszkópai adatai.

Komplex	[Cu ^{II} (TPA)(DBCat)]
Szín	barnás zöld
Op (°C)	103
μ_{eff}	2,01 BM
ESR	$g=2,115$; $A_{\text{Cu}}=41,9\text{G}$
IR (cm ⁻¹) (KBr)	2947(ν_{CH}); 1597(ν_{CO}); 1438(ν_{CN}); 978, 770(ν_{py})
UV-Vis (DMF) λ_{max} (nm) (log ϵ)	271(3,95); 305(3,90), 377(3,26); 677(2,21)

A komplex DMF-ban felvett UV-Vis spektrumában jól láthatók a ligandumok töltésátviteli sávjai magasabb hullámhossz, azaz alacsonyabb energiaszintek felé tolódva, ami a koordináció jeleként értelmezhető. Új sáv jelenik meg a spektrumban 677 nm-nél, ami a központi rézion kettes oxidációs állapotához rendelhető d-d átmenetnek felel meg. A

rézion kettős oxidációfokát támasztja alá a mágneses szuszceptibilitás mérések eredményeként kapott 2,01 BM érték, valamint a komplex ESR-spektruma is.



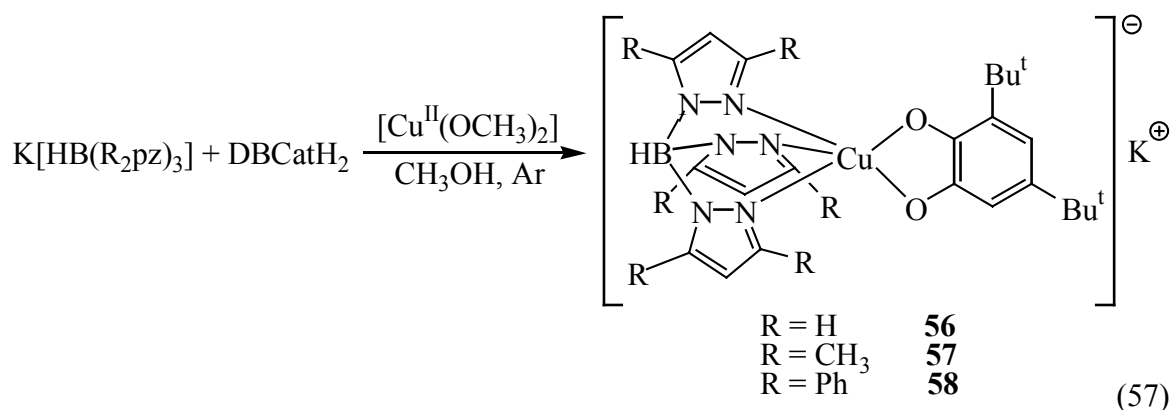
41. ábra A $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})]$ komplex ESR felvétele DMF-ban szobahőmérsékleten.

$$g=2,115; A_{\text{Cu}}=41,9\text{G}$$

Az infravörös spektrumban a ligandum jellemző csoportfrekvenciái alacsonyabb hullámszám értékek felé eltolódva található meg ($\Delta\nu = 1-70 \text{ cm}^{-1}$). A pirokatechin deprotonált formában koordinálódik a rézhez, amit az OH vegyértékrezgések hiánya és a C-O vegyérték sávok alacsonyabb hullámszámú tartományba történő eltolódása támasz alá. A TPA ligandum semleges formában koordinálódik a piridil-csoportok nitrogénjein keresztül a rézionhoz, amit az irodalomból ismert piridil-sávok jelenléte támaszt alá.¹⁰¹

4.2.2.1.3. $\text{K}[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{R}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBCat})]$ komplexek előállítása és jellemzése

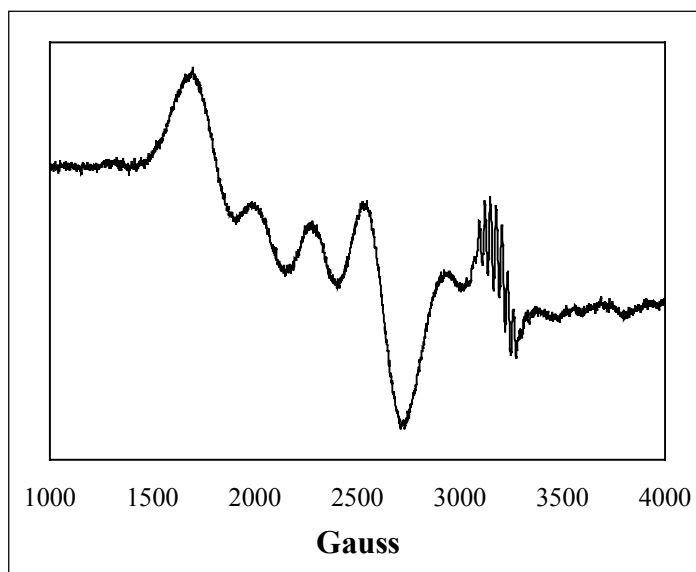
A $\text{K}[\text{HB}(\text{R}_2\text{pz})_3]$ háromfogú ligandumokat elsőként Trofimenko állította elő 1967-ben.¹⁰² Mi is az ő általa kidolgozott módszert alkalmaztuk a ligandumok szintézisnél. A pirazol csoportok N-donor sajátosságait kihasználva, a pirazol gyűrű 3,5-helyein különböző szubsztituenseket tartalmazó pirazolid-borítókból kiindulva, vegyes ligandumú (pirokatechináto)réz(II)-komplexeket állítottunk elő. A komplexek szintézise minden esetben inert atmoszférában, abszolútizált MeOH oldószerben történt az (57) egyenletnek megfelelően.



A komplexek összetételét elemanalízissel, szerkezetüket IR, UV-Vis, ESR spektroszkópiával, valamint mágneses szuszceptibilitás mérésekkel határoztuk meg. A komplexek KBr pasztillában felvett infravörös spektrumaiban a ligandumok jellemző vegyérték rezgési alacsonyabb hullámszámértékek irányába tolódtak el ($\Delta\nu = 1-100 \text{ cm}^{-1}$), ami a rézhez történő koordinációt bizonyítja. Ezen koordináció jele az UV-Vis spektrumokban megfigyelhető batokróm eltolódás is. A központi rézion paramágneses tulajdonságát mágneses szuszceptibilitás, valamint ESR-spektroszkópiás mérésekkel bizonyítottuk. A komplexek fontosabb fizikai és spektroszkópiai adatait a 12. táblázatban foglaltam össze.

12. táblázat. Az **56**, **57**, **58** komplexek fontosabb fizikai és spektroszkópiai adatai.

Komplex	56	57	58
Szín	zöld	világos zöld	világos zöld
Op (°C)	190	295	208
μ_{eff}	2,05 BM	2,01 BM	2,10 BM
ESR	Cu(II): $g=2,14$, $A_{\text{Cu}}=58\text{G}$ Cu(I): $g=2,01$, $A_{\text{Cu}}=5\text{G}$; $A_{\text{N}}(2)=5,7\text{G}$; $A_{\text{H}}(1)=7,7\text{G}$	Cu(II): $g=2,15$; $A_{\text{Cu}}=49\text{G}$ Cu(I): $g=2,01$; $A_{\text{Cu}}=5,6\text{G}$; $A_{\text{N}}(2)=5,5\text{G}$; $A_{\text{H}}(1)=7,8\text{G}$	Cu(II): $g=2,15$; $A_{\text{Cu}}=55\text{G}$; Cu(I): $g=2,01$; $A_{\text{Cu}}=3,7\text{G}$; $A_{\text{N}}(2)=5,7\text{G}$; $A_{\text{H}}(1)=7,6\text{G}$
IR (cm^{-1}) (KBr)	2474(ν_{BH}); 1500(ν_{CO}); 1405, 1386(ν_{CN}); 753, 716(ν_{pz})	2507(ν_{BH}); 1542(ν_{CO}) 1445, 1416(ν_{CN}) 807, 647(ν_{pz})	2611(ν_{BH}); 1579(ν_{CO}) 1478, 1461(ν_{CN}) 757, 696(ν_{pz})
UV-Vis λ_{max} (log ϵ)	271(3,71); 296(3,74), 388(3,24); 719(2,26)	218(2,65); 305(3,27) 357(3,09); 667(1,92)	305(3,87); 393(3,21) 719(1,87)

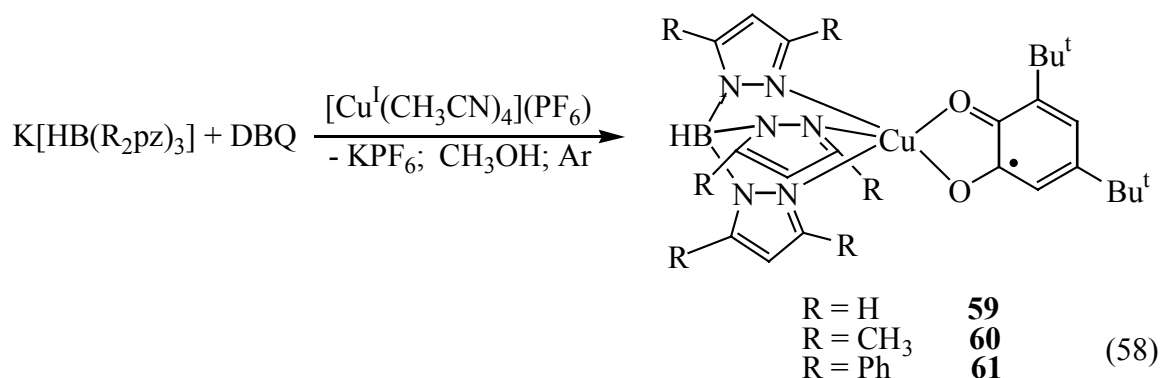


42. ábra. Az **56** komplex ESR spektruma DMF-ban szobahőmérsékleten.
 Cu(II): $g=2,14$, $A_{Cu}=58G$ Cu(I): $g=2,01$, $A_{Cu}=5G$; $A_N(2)=5,7G$; $A_H(1)=7,7G$

A pirokatechináto-komplexekről felvett oldatfázisú ESR-spektrumokban a $[Cu^{II}(\text{indH})(\text{DBCat})]$ komplex esetében is tapasztalt szuperpozíció figyelhető meg. Oldatfázisban ezen komplexeknél is megfigyelhető a (pirokatechináto)réz(II) (szemikínónáto)réz(I) egyensúly. Az egyensúly minden esetben a réz(II) irányában van eltolódva, a réz(I)-forma kis mennyiségben van jelen, hányada 2-3% körül alakul.

4.2.2.1.3. $[Cu^{II}(\text{HB}\{R_2pz\}_3)(\text{DBSQ})]$ komplexek előállítása és jellemzése

3,5-Di-*terc*-butil-*o*-benzokinont inert atmoszférában, abszolútizált metanol oldószerben reagáltatva $[Cu^I(\text{CH}_3\text{CN})_4](\text{PF}_6)$ -al $\text{K}[\text{HB}(R_2pz)_3]$ ligandumok jelenlétében, azt tapasztaltuk, hogy $[Cu^{II}(\text{HB}\{R_2pz\}_3)(\text{DBSQ})]$ összetételű (szemikínónáto)réz(II) komplexek keletkeznek (58). A komplexképzésnél alkalmazott prekursor anionja, a ligandumok K-ellenionjával KPF_6 formában kiválik és oldatban marad. Az előállított komplexeket standard spektroszkópiás módszerekkel vizsgáltuk szerkezetük megállapítása céljából, összetételüket elemanalízissel határoztuk meg. A kapott eredményeket a 13. táblázat tartalmazza.



13. táblázat. Az **59**, **60**, **61** komplexek fontosabb fizikai és spektroszkópai adatai.

Komplex	59	60	61
Szín	sötét zöld	zöld	világos zöld
Op (°C)	185	228	210
μ_{eff}	1,73 BM	1,52 BM	1,58 BM
ESR	inaktív	inaktív	inaktív
IR (cm ⁻¹) (KBr)	2474(ν_{BH}); 1579(ν_{CO}); 1478, 1458(ν_{CN}); 754, 723(ν_{pz})	2504(ν_{BH}); 1545(ν_{CO}) 1477, 1445(ν_{CN}) 857, 809(ν_{pz})	2596(ν_{BH}); 1577(ν_{CO}) 1479, 1461(ν_{CN}) 760, 697(ν_{pz})
UV-Vis (DMF) λ_{max} (nm) (log ϵ)	270(3,73); 293(3,72), 389(3,35)	271(3,75); 302(3,92) 383(3,37); 529(2,32)	305(3,87); 393(3,28)

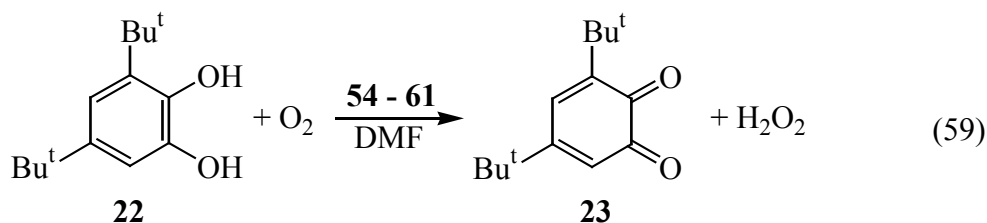
A komplexek UV-Vis spektrumában a koordinációra utaló batokróm eltolódás figyelhető meg. A ligandumokra jellemző $\pi-\pi^*$ töltésátviteli sávok mind megtalálhatóak, de a paramágneses réz(II)-ion d-d átmenetei eltűnnek a spektrumokból, feltehetőleg a komplex réz(II)-szemikininon jellege miatt. Ezen tulajdonságot támasztja alá a komplexek ESR-inaktivitása is, a réz(II)-ionon és a szemikininon-gyökanionon lévő magános elektronok kölcsönhatásának következtében.

Az infravörös spektrumban a ligandumok jellemző csoportfrekvenciáit alacsonyabb hullámszámoknál találjuk meg. A pirazolil-borátokra jellemző ν_{BH} és ν_{pz} rezgések

átlagosan 50 cm^{-1} hullámszámértékkal tolódnak az alacsonyabb energiaszintek felé, valamint a kinonra jellemző CO-rezgések is alacsonyabb hullámszámoknál jelentkeznek.

4.2.2.2. 3,5-Di-*tert*-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel szubsztrátumot tartalmazó modellvegyületek jelenlétében

Kíváncsiak voltunk arra, hogy a 4.2.2.1. fejezetben bemutatott komplexek, melyek különböző háromfogú nitrogén-donor ligandumokat és szubsztrátum molekulát tartalmazó vegyes ligandumú réz(II)-komplexek, milyen katalitikus aktivitást mutatnak DBCatH₂ oxidációs reakcióiban. Ennek megállapítása céljából modellreakciókat végeztünk DMF oldószerben, azonos körülmények mellett. Azt tapasztaltuk minden esetben, hogy egy mól DBCatH₂ molekula egy mól dioxigénnel reagált. A reakcióelegy feldolgozása során gázkromatográfiás méréseket végeztünk a termékelegy összetételének megállapítása végett. Gyűrűhasadt terméket egyetlen esetben sem sikerült kimutatnunk, a termékek minden esetben DBQ és H₂O₂ voltak (59). Megállapítható, hogy a komplexek mindegyike pirokatechin oxidáz aktivitást mutat, dioxigenáz aktivitással egyik komplex sem rendelkezik.

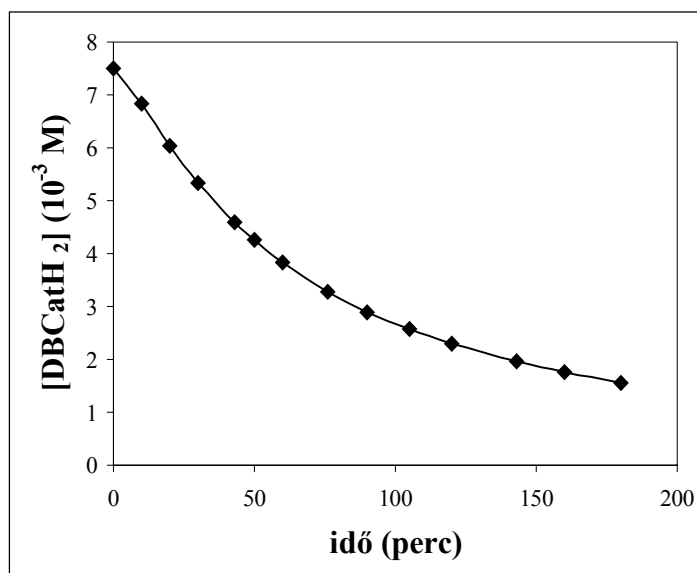


Igaz ugyan, hogy az egyes reakciók során minden esetben azonos termékek keletkeztek, de ez még nem jelenti azt, hogy a katalitikus reakciók egyforma mechanizmus szerint játszódnak le. Ennek kiderítésére részletes kinetikai vizsgálatokat végeztünk a különböző komplexek jelenlétében, különös tekintettel a különböző szerkezetű pirokatechináto- és szemikinonáto-komplexek által katalizált reakciókra.

4.2.2.2.1. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel [Cu^{II}(indH)(DBCat)] komplex jelenlétében – Reakciókinetikai vizsgálatok

A 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin katalitikus oxidációjának vizsgálatait DMF oldószerben végeztük 50, 60, 70, 80 és 90°C-on. A szubsztrátum ismert koncentrációjú oldatának 50 cm³-ét egy termosztálható reakcióedényben a kívánt hőmérsékletre temperáltuk, majd a rendszert dioxigénnel telítettük. A kinetikai edényben belső adagolással adtuk az oldathoz a katalizátort. Az eredetileg színtelen oldat azonnal felvette a katalizátor zöldes színét, majd a reakció előrehaladtával a termékként keletkező kinon színe vált dominánssá. A reakció időbeli lefutását UV-Vis spektroszkópiával követtük a kinonra jellemző abszorpciós sáv intenzitásnövekedésének mérésével. A keletkező termékek minőségi és mennyiségi meghatározása a 4.2.1.3. fejezetben leírtak szerint történt.

A 43. ábrán a reakció oxigénezési görbéjét ábrázoltam, azaz a szubsztrátum koncentrációjának változását az idő függvényében. A kapott koncentrációértékek logaritmusát ábrázolva az idő függvényében a kapott pontokra jó regressziójú egyenes illeszthető.



43. ábra. A DBCatH₂ aktuális koncentrációjának változása az idő függvényében.

[DBCatH₂] = 7,50 × 10⁻³ M; [54] = 1,00 × 10⁻⁴ M; [O₂] = 6,85 × 10⁻³ M; DMF; T = 70°C

Az oxidációra a következő általános sebességi egyenlet írható fel (60):

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k[\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}]^n [\text{O}_2]^q \quad (60)$$

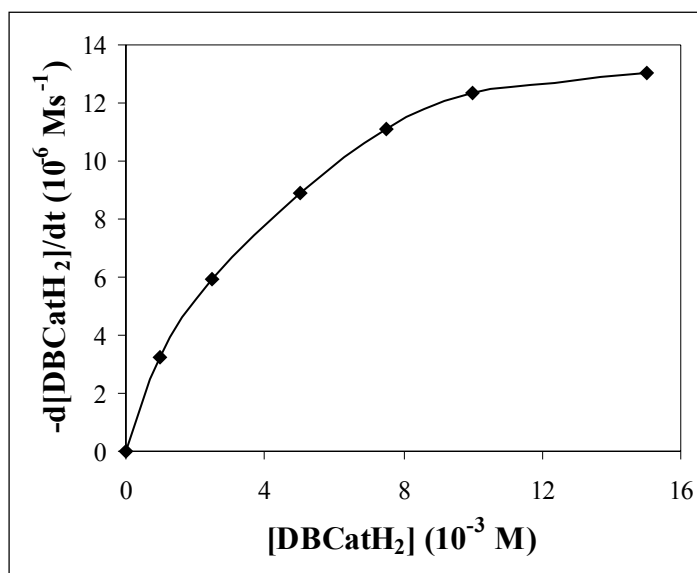
Az egyes reakciópartnerek részrendjének meghatározása céljából a reakciókat különböző DBCatH₂-, katalizátor- és O₂-koncentrációknál vizsgáltuk. A szubsztrátum részrendjének meghatározásánál állandó dioxigén- és katalizátorkoncentrációt biztosítva az (60) sebességi egyenlet az (62) egyszerűsített formában írható fel.

$$[\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}] = \text{állandó} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad (61)$$

$$k' = k [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}]^n [\text{O}_2]^q \quad (61)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k' [\text{DBCatH}_2]^m \quad (62)$$

A kapott reakciósebességi értékeket a kiindulási pirokatechin-koncentráció függvényében ábrázolva az összefüggésből megállapítható a szubsztrátum részrendje (44. ábra).



44. ábra. A reakciósebesség változása a kiindulási szubsztrátumkoncentráció függvényében. [54] = 1,00 × 10⁻⁴ M; [O₂] = 6,85 × 10⁻³ M; DMF; T = 70°C

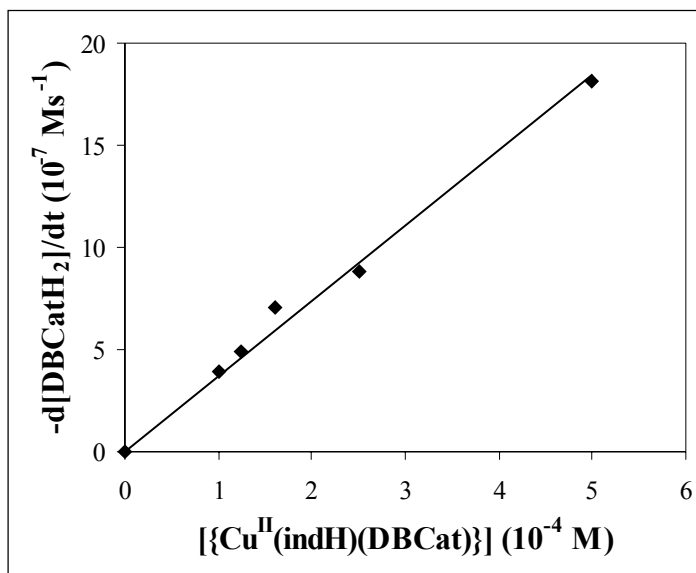
A fenti ábrán látható, hogy a reakciósebesség telítési függőséget mutat a kiindulási szubsztrátum-koncentrációtól azaz, a reakció a klasszikus Michaelis-Menten féle enzimkinetikával írható le. Kis szubsztrátum-koncentrációknál első rend adódik, míg egy telítési koncentráció értéket elérve, a rendűség nullává változik, azaz a sebesség már nem növelhető tovább a szubsztrátum koncentrációjának növelésével.

Ahhoz, hogy meghatározzuk a [Cu^{II}(indH)(DBCat)] komplex sebességi egyenletben szereplő n kitevőjének értékét, a reakciókat állandó dioxigén- és kiindulási szubsztrátumkoncentrációk, de különböző komplexkoncentrációk mellett vizsgáltuk. A sebességi egyenlet ez esetben a (64) formára egyszerűsödik.

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k'' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{O}_2]^q \quad (63)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k'' [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}]^n \quad (64)$$

Ábrázolva a reakciósebesség változását a katalizátorkoncentráció függvényében (45. ábra), a kapott pontokra jó regressziójú egyenest tudunk illeszteni (meredekség = $3,69 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $R = 99,10\%$), ami a katalizátor egyes részrendjének felel meg ($n = 1$).



45. ábra. A reakciósebesség változása a komplexkoncentráció függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,85 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 70^\circ\text{C}$$

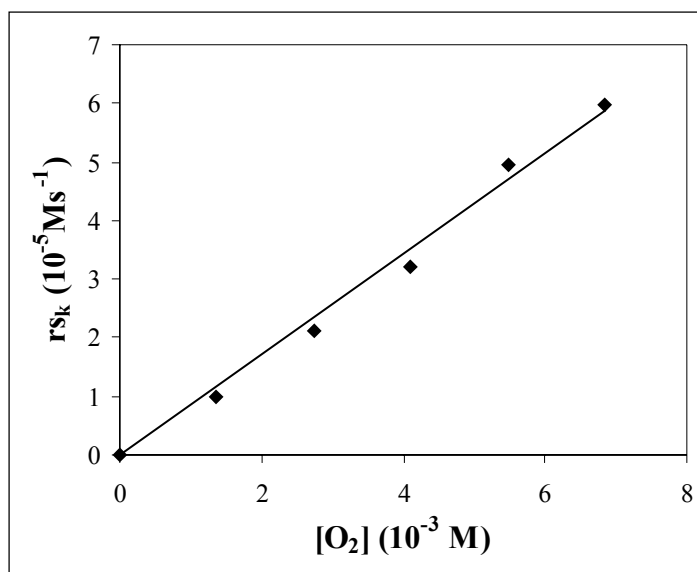
A harmadik komponens, ami a sebességi egyenletben szerepel a dioxigén. Részrendjének meghatározásakor, állandó értéken tartva a szubsztrátum- és katalizátorkoncentrációt, különböző dioxigénkoncentrációknál mértük a reakció kezdeti sebességét. A kívánt dioxigén koncentrációkat, O_2 / Ar változó összetételű gázelegeyeivel állítottuk be. A reakció sebességi egyenletét, figyelembe véve a fenti körülményeket, a (66) egyenletnek megfelelően adhatjuk meg.

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}] = \text{állandó}$$

$$k''' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}]^n \quad (65)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k''' [\text{O}_2]^q \quad (66)$$

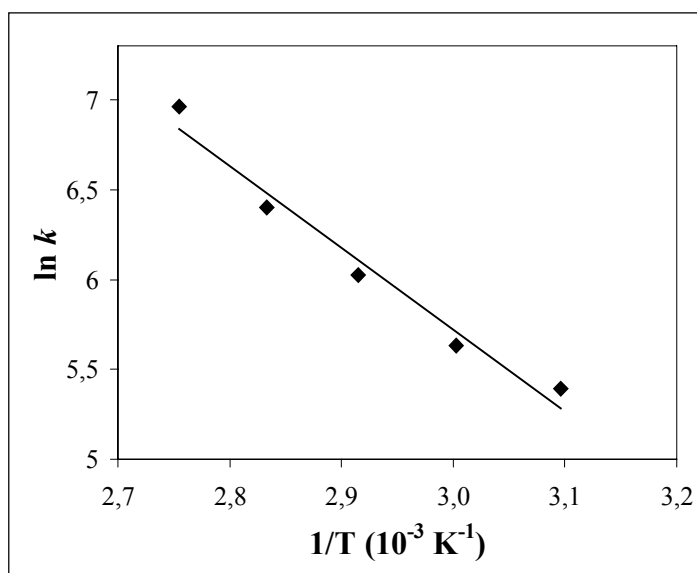
A 46. ábrán a kezdeti reakciósebességeket ábrázoltam a kiindulási dioxigén koncentráció függvényében. Látható, hogy a két paraméter között lineáris összefüggés áll fenn (az illesztett egyenes meredeksége = $8,56 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $R = 98,94\%$), ami a dioxigén egyes részrendjét mutatja ($q = 1$).



46. ábra. A kezdeti reakciósebesség változása a dioxigénkoncentráció függvényében.

[DBCatH₂] = 5,00 × 10⁻³ M; [54] = 5,00 × 10⁻⁴ M; DMF; T = 70°C

Az aktiválási paraméterek meghatározása érdekében a reakciókat különböző hőmérsékleteken 50, 60, 70, 80 és 90°C-on is elvégeztük. Mértük az egyes reakciósebességeket, majd megszerkesztettük az Arrhenius (47. ábra) és az Eyring diagrammokat. Mindkét összefüggés lineárisnak adódott.



47. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Arrhenius diagrammja.

Az aktiválási paraméterek kiszámolása a (25), (26), (27) és (28) egyenletek alapján történt, a kapott értékek 70°C-ra a következők:

$$E_A = 68,83 \pm 0,90 \text{ kJmol}^{-1} \qquad \Delta H^\ddagger = 63,66 \pm 0,83 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = 67,01 \pm 0,88 \text{ kJmol}^{-1} \qquad \Delta S^\ddagger = -9,76 \pm 0,13 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}$$

A kapott értékek közül szeretném kiemelni az aktiválási szabad entrópia értékét. A negatív érték, a reakció mechanizmusát tekintve, asszociációs, bimolekulás mechanizmusra utal.

A kapott reakciókinetikai eredmények alapján javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára (67). A reakció első lépésében, intramolekuláris elektronátmenet révén, a kiindulási (pirokatechináto)Cu(II)-komplex (54) egyensúlyi reakcióban (szemikinsonáto)Cu(I)-komplexxé (62) alakul át. Ez a reaktív réz(I)-komplex a dioxigénnel lép reakcióba, nukleofil addíciós reakcióban egy fontos (peroxo)Cu(II) intermedier (63) keletkezik. Ezt követi a lassú sebességmeghatározó lépés, melyben a szubsztrátum egyszeresen deprotonált állapotban kötődik meg a rézion szabad koordinációs helyén, egy alkil-hidroperoxo vegyületet (64) képezve. Mivel ebben a komplexben lévő hidroperoxo csoport α -helyzetű oxigén atomjának nukleofil ereje nagyobb mint a β -helyzetű oxigén atomé,¹⁰³ a szubsztrátum deprotonálódása és a H₂O₂ kihasadása az α -oxigéneken keresztül vezethető le. A keletkező kinon tartalmú komplex koordinatív telített és mivel a kinon jóval kisebb koordinációs erővel bír mint a pirokatechinát ligandum, a komplex kinon eliminációval stabilizálódik és ezzel a reakcióciklus zárul.

A kinetikai mérések körülményeit és eredményeit a 14. táblázat tartalmazza.

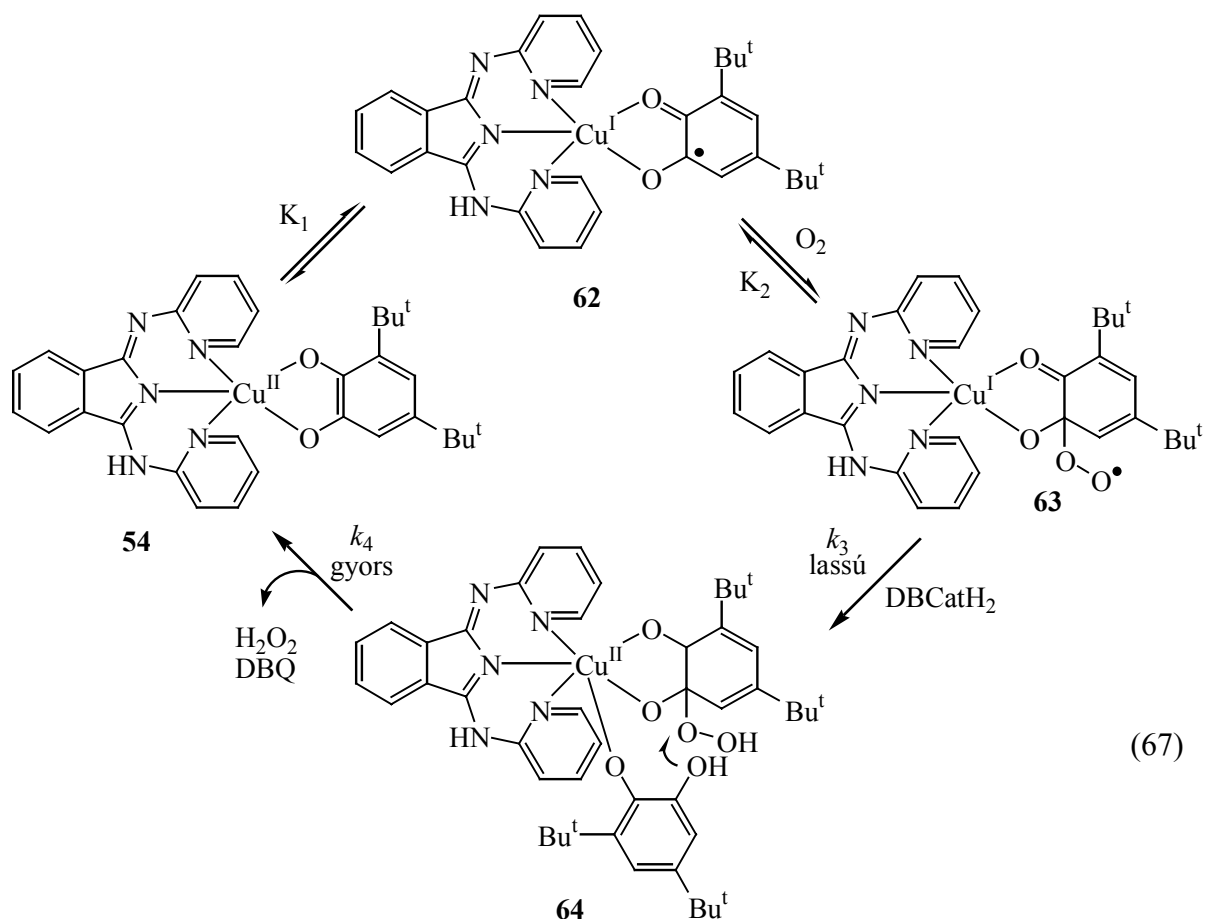
14. táblázat. A DBCatH₂ **54** által katalizált oxidációs reakciójának reakciókinetikai adatai.

Mérés Száma	T (K)	[DBCatH ₂] (10 ⁻³ M)	[Cu] (10 ⁻⁴ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	<i>k'</i> (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	<i>k</i> (M ⁻² s ⁻¹)	rs (10 ⁻⁶ Ms ⁻¹)
1	343	1,00	1,00	6,85	3,22±0,06	469,76±9,10	0,32
2	343	2,50	1,00	6,85	2,38±0,04	347,65±5,63	0,59
3	343	5,00	1,00	6,85	1,78±0,06	259,48±8,54	0,89
4	343	7,50	1,00	6,85	1,48±0,05	215,77±7,54	1,11
5	343	10,00	1,00	6,85	1,24±0,07	180,53±10,4	1,24
6	343	15,00	1,00	6,85	0,87±0,05	126,70±7,30	1,30
6	343	5,00	1,25	6,85	1,42±0,07	165,49±8,40	0,49
7	343	5,00	1,60	6,85	1,41±0,09	128,59±8,61	0,70
8	343	5,00	2,50	6,85	1,76±0,13	102,93±7,44	0,88
9	343	5,00	5,00	6,85	1,76±0,19	51,35±5,69	1,81
						198,09±41^a	
							r _{sk} ^b
10	343	5,00	5,00	1,37			9,81
11	343	5,00	5,00	2,74			21,10
12	343	5,00	5,00	4,11			31,95
13	343	5,00	5,00	5,48			49,55
14	343	5,00	5,00	6,85			59,834
15	323	1,00	1,00	6,14	1,35±0,03	219,86±4,47	0,14
16	333	1,00	1,00	6,30	1,76±0,03	279,25±5,11	0,18
17	353	1,00	1,00	7,00	4,22±0,04	603,47±6,40	0,42
18	363	1,00	1,00	7,23	7,63±0,08	1054,82±11	0,76

^a *k* középértékének és szórásának $\sigma(k)$ számítása:

$$k = (\sum_i w_i k_i / \sum_i w_i) \text{ és } \sigma(k) = (\sum_i w_i (k_i - k)^2 / (n-1) \sum_i w_i)^{1/2}, \text{ ahol } w_i = 1/\sigma_i^2.$$

^b kezdeti reakciósebesség.



Michaelis - Menten féle kinetikai elemzés

Mivel a reakció a klasszikus Michaelis-Menten féle enzimkinetikával írható le a reakció sebességi egyenlete is ennek megfelelően fog alakulni. A sebességi egyenletet a fent bemutatott reakciómechanizmus alapján a következő feltételezések figyelembe vétele mellett vezethetjük le:

- 1.) A K_1 és K_2 egyensúlyi állandókkal leírható egyensúlyi lépések gyors előegyensúlyoknak tekintendők, ily módon a reakciósebességet a következő formában írhatjuk fel:

$$V = k_3 [\text{DBCatH}_2] [\mathbf{63}]$$

- 2.) A $\mathbf{63}$ peroxo komplex koncentrációját állandónak tekintjük a reakció folyamán:

$$d[\mathbf{63}] / dt = 0 \quad \text{valamint;} \quad k_2 [\mathbf{63}] [\text{O}_2] = (k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2]) [\mathbf{64}]$$

- 3.) Átalakítva az egyenletet a **64** komplex koncentrációja az alábbiak szerint alakul:

$$[\mathbf{64}] = (k_2 [\mathbf{63}] [\text{O}_2]) / (k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2])$$

- 4.) A **63** komplex koncentrációját a kiindulási komplexkoncentrációval kifejezve:

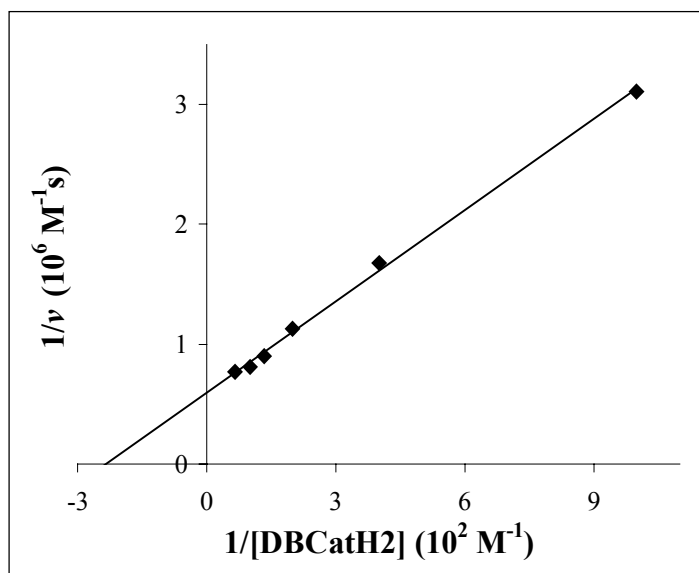
$$[\mathbf{63}] = (k_1 [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}]) / k_{-1} = K_1 [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}]$$

- 5.) A fentiek alapján a sebességi egyenlet a következők szerint alakul:

$$V = \frac{K_1 k_2 k_3 [\text{DBCatH}_2] [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{indH})(\text{DBCat})\}] [\text{O}_2]}{k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2]}$$

A klasszikus enzimkinetikában használatos Michaelis-állandó, a V_{\max} , valamint a k_{cat} értékeit is meghatároztuk. A Lineweaver-Burk egyenes (48. ábra) alapján számított értékek az alábbiak:

$$K_M = 4,26 \times 10^{-3} \text{ M} \quad V_{\max} = 1,68 \times 10^{-6} \text{ Ms}^{-1} \quad k_{\text{cat}} = 1,68 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$$



48. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Lineweaver-Burk egyenese.

$$[\mathbf{54}] = 1,00 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,85 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 70^\circ\text{C}$$

4.2.2.2. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin reakciója dioxigénnel [Cu^{II}(TPA)(DBCat)] komplex jelenlétében – Reakciókinetikai vizsgálatok

A DBCatH₂ már szobahőfokon is reakcióba lép dioxigénnel a [Cu^{II}(TPA)(DBCat)] (55) komplex katalitikus mennyiségének jelenlétében. A reakció mechanizmusának kiderítése érdekében célszerű volt részletes kinetikai vizsgálatokat végeznünk. A reakciókat 30, 40, 50, 60 és 70° C-on végeztük, egy dioxigén bevezetőcsővel ellátott, temperálható reakciókinetikai edényben. A reakció nyomonkövetése, a termékként keletkező DBQ ($\lambda_{\max} = 400$ nm) abszorpció sávjának intenzitásmérésével történt. Mint azt a 4.2.2.2. fejezetben kifejtettem a DBQ mellett hidrogén-peroxid volt a reakció másik fő terméke.

A reakcióra felírható (68) általános sebességi egyenlet alapján az egyes résztvevők részrendjét pszeudó első rendű körülményeket biztosítva, különböző szubsztrátum-, katalizátor- és dioxigénkoncentráció mellett elvégzett mérésorozat eredményei alapján határoztuk meg.

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k[\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}]^n [\text{O}_2]^q \quad (68)$$

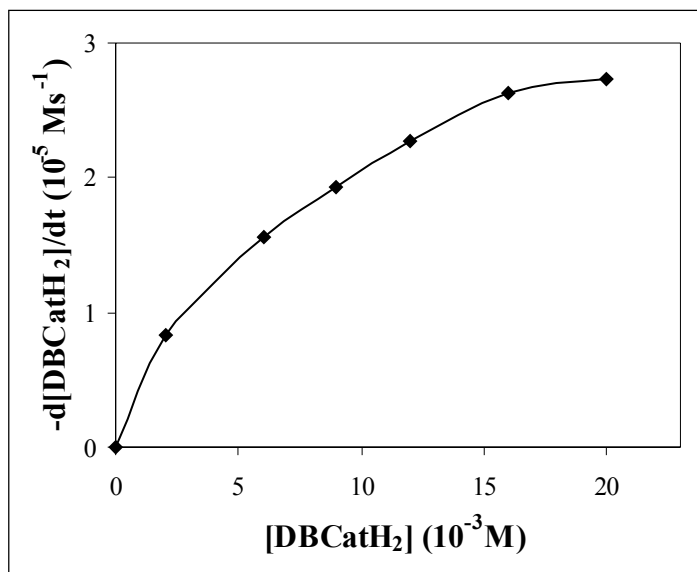
A szubsztrátum részrendjének meghatározására állandó dioxigén nyomáson és kiindulási katalizátorkoncentráció mellett, különböző kiindulási DBCatH₂ koncentrációknál vizsgálatuk a reakció sebességének változását. A (68) egyenletet az előbb említett feltételek mellett a (70) egyszerűsített formában írhatjuk fel. Az egyszerűsített sebességi egyenletből látható, hogy a reakciósebességek értékeit a különböző kiindulási szubsztrátumkoncentrációk függvényében ábrázolva, megkapjuk a pirokatechin részrendjét (49. ábra).

$$[\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}] = \text{állandó} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad (69)$$

$$k' = k [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}]^n [\text{O}_2]^q \quad (69)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k' [\text{DBCatH}_2]^m \quad (70)$$

A 49. ábrán látható, hogy a reakciósebesség nem mutat egyértelmű rendűséget a kiindulási szubsztrátumkoncentráció függvényében, hanem telítési összefüggést kaptunk. Ez az enzimkinetikában gyakori jelenség, a görbe kezdeti szakaszán, azaz kis szubsztrátum koncentrációknál, első rend szerint változik a sebességi állandó értéke, majd egy telítési pontot elérve nullad rendre változik, azaz a sebességet nem tudjuk tovább növelni a szubsztrátum koncentrációjának növelésével.



49. ábra. A reakciósebesség változása a kiindulási szubsztrátumkoncentráció függvényében. $[55] = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{O}_2] = 6,14 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 50^\circ\text{C}$

A katalizátor részrendjének meghatározására, állandó dioxid és kiindulási szubsztrátumkoncentráció, de különböző katalizátorkoncentrációk mellett végeztük el a méréseket. Ebben az esetben a (68) sebességi egyenletet a következő (72) formában írhatjuk fel.

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k'' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{O}_2]^q \quad (71)$$

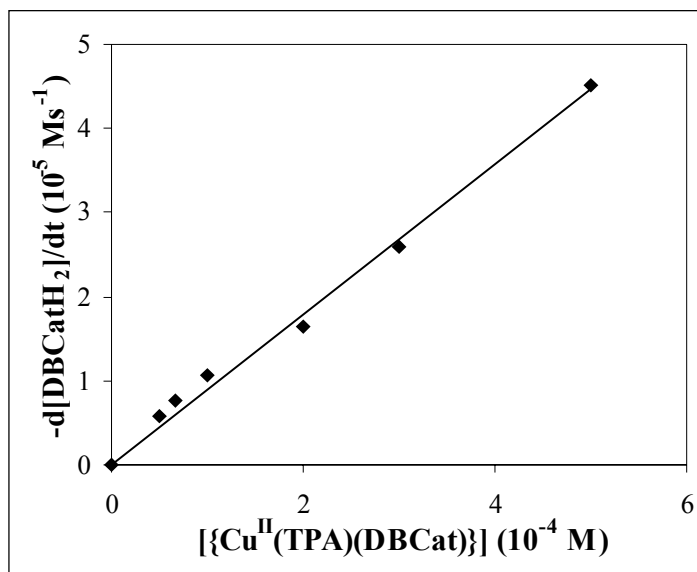
$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k'' [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}]^n \quad (72)$$

Ennek értelmében a reakciósebességeket ábrázolva a katalizátor koncentrációjának függvényében megkapjuk az „ n ” kitevő értékét. Az 50. ábrán látható, hogy lineáris összefüggés áll fenn a komplexkoncentráció és a reakciósebességek között. A pontokra illesztett egyenes meredeksége $8,93 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, regressziója 99,24%. Ennek alapján megállapítható, hogy a katalizátor részrendje a sebességi egyenletben egy ($n = 1$).

A dioxid részrendjének meghatározása érdekében állandó kiindulási DBCatH₂ és $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCatH}_2)]$ koncentrációk mellett, különböző dioxidkoncentrációknál is megvizsgáltuk a reakciót. A kívánt O₂-koncentrációkat argon és dioxid gázok megfelelő arányú elegyítésével állítottuk be. Állandó szubsztrátum és katalizátor koncentrációkat alkalmazva a sebességi egyenletet a (74) egyszerűsített formában írhatjuk fel.

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}] = \text{állandó} \\ k''' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}]^n \quad (73)$$

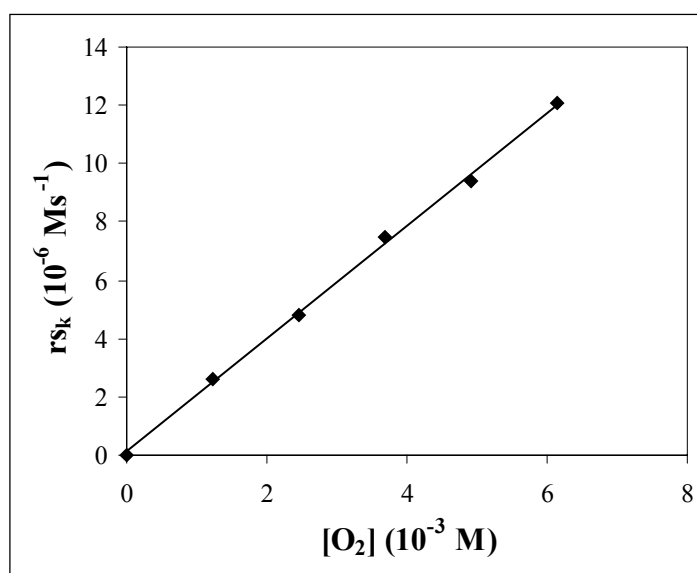
$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k''' [\text{O}_2]^q \quad (74)$$



50. ábra. A reakciósebesség változása a komplexkoncentráció függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,14 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 50^\circ\text{C}$$

Ábrázolva a kezdeti reakciósebesség értékeit az O₂-koncentráció függvényében (51. ábra) lineáris összefüggéshez jutottunk, ami a dioxidén egyes részrendjét támasztja alá, tehát $q = 1$ (meredekség = $1,94 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; R = 99,85%).



51. ábra. A kezdeti reakciósebesség változása a dioxidénkoncentráció függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 1,60 \times 10^{-2} \text{ M}; [\mathbf{55}] = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; \text{DMF}; T = 50^\circ\text{C}$$

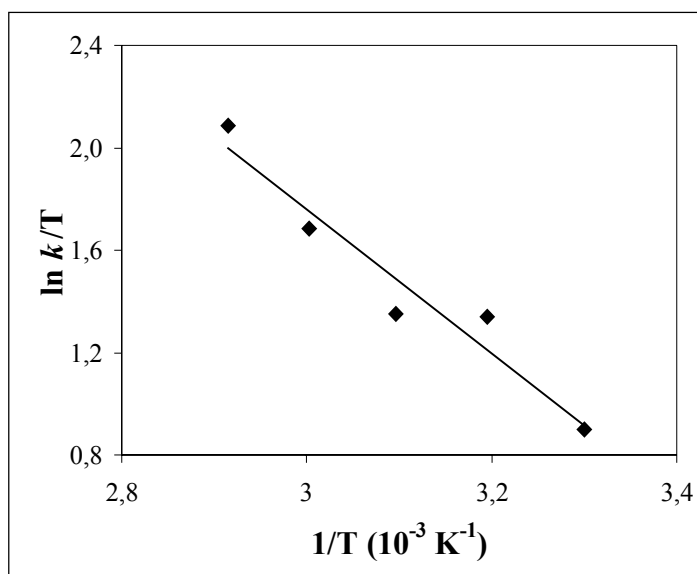
A reakció aktiválási paramétereinek megállapításához különböző hőmérsékleteken 30, 40, 50, 60 és 70° C-on végeztük el a reakciókat, majd ábrázoltuk az Arrhenius és Eyring diagrammokat, ez utóbbi látható az 52. ábrán. Mindkét összefüggés lineárisnak adódott. A (23-26) egyenletek alapján kiszámoltuk a reakció aktiválási paramétereit, melyek az alábbiak szerint alakulnak 50°C-on:

$$E_A = 47,39 \pm 0,83 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta H^\ddagger = 42,53 \pm 0,75 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = 57,55 \pm 1,01 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta S^\ddagger = -46,49 \pm 0,81 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}$$



52. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Eyring diagrammja.

A kapott eredmények összhangban vannak az előző fejezetben bemutatott [Cu^{II}(indH)(DBCat)] komplex által katalizált reakciónál kapottakkal, ami feltehetően a komplexek hasonló szerkezetének eredménye. A mechanizmus terén, ennek megfelelően hasonló javaslatot tettünk, mint a 4.2.2.2.1. fejezetben (75).

A kinetikai mérések eredményei és körülményei a 15. táblázatban találhatóak.

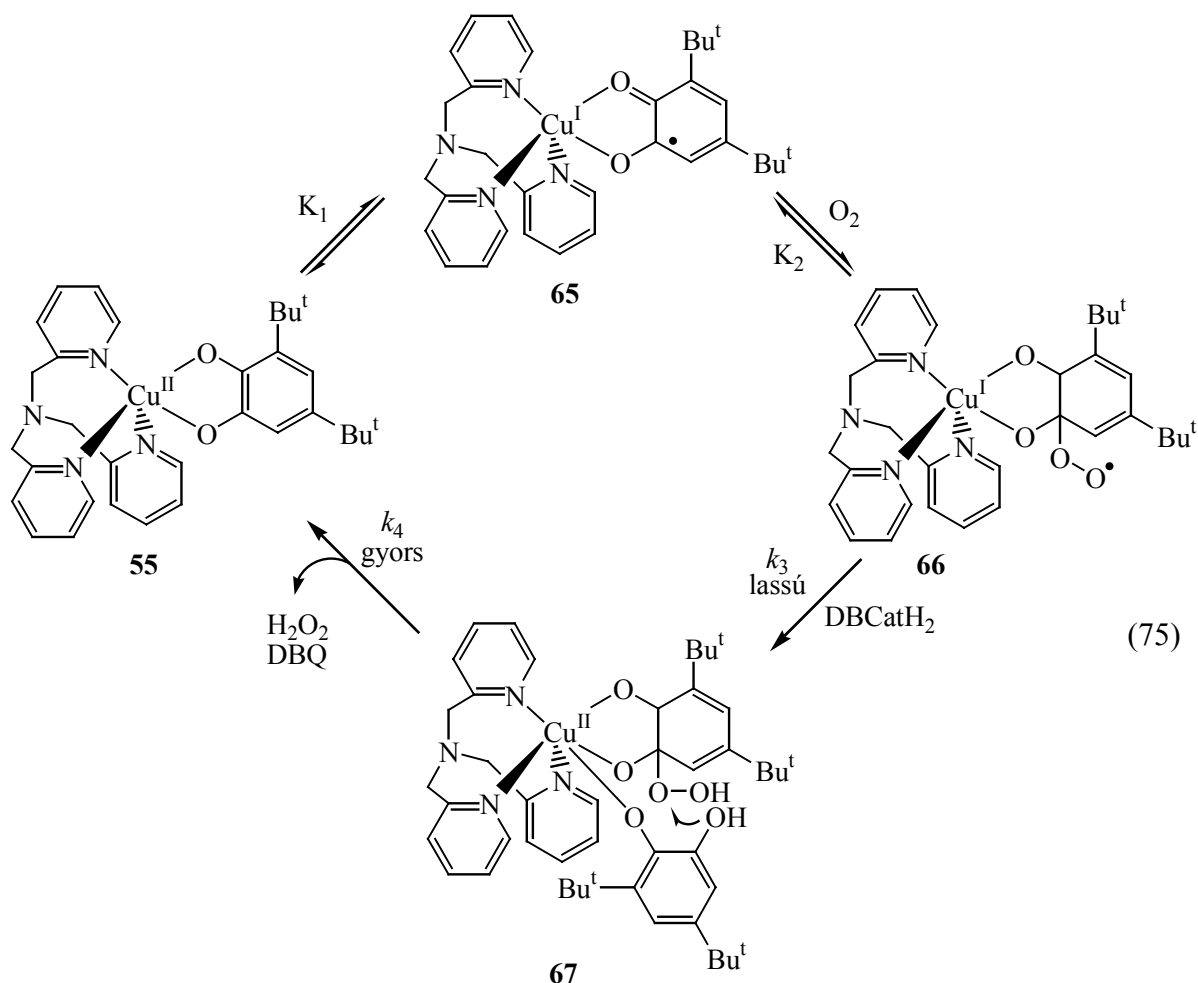
15. táblázat. A DBCatH₂ 55 által katalizált oxidációs reakciójának reakciókinetikai adatai.

Mérés Száma	T (K)	[DBCatH ₂] (10 ⁻³ M)	[Cu] (10 ⁻⁴ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	k' (10 ⁻³ s ⁻¹)	k (M ⁻² s ⁻¹)	rs (10 ⁻⁵ Ms ⁻¹)
1	323	2,00	2,00	6,14	4,14±0,02	3374,60±43,20	0,83
2	323	6,00	2,00	6,14	2,59±0,02	2106,76±14,57	1,55
3	323	9,00	2,00	6,14	2,15±0,15	1751,25±84,55	1,94
4	323	12,00	2,00	6,14	1,90±0,04	1544,67±18,22	2,28
5	323	16,00	2,00	6,14	1,64±0,03	1334,39±10,41	2,62
6	323	20,00	2,00	6,14	1,37±0,02	1115,17±5,06	2,74
7	323	5,00	0,50	6,14	1,15±0,01	3732,92±48,41	0,57
8	323	5,00	0,67	6,14	1,55±0,07	3789,59±222,5	0,77
9	323	5,00	1,00	6,14	2,11±0,01	3445,03±17,92	1,06
10	323	5,00	2,00	6,14	3,27±0,18	2666,28±175,6	1,64
11	323	5,00	3,00	6,14	5,18±0,03	2814,51±20,02	2,59
12	323	5,00	5,00	6,14	9,02±0,12	2937,35±46,53	4,51
						1476,46±12,9^a	
							r _{sk} ^b
13	323	16,00	2,00	6,14			1,21
14	323	16,00	2,00	4,91			0,94
15	323	16,00	2,00	3,68			0,75
16	323	16,00	2,00	2,46			0,48
17	323	16,00	2,00	1,23			0,26
18	303	9,00	2,00	5,23	0,78±0,02	745,98±10,74	0,70
19	313	9,00	2,00	5,66	1,35±0,01	1196,16±3,41	1,22
20	333	9,00	2,00	6,30	2,26±0,05	1795,53±28,58	2,04
21	343	9,00	2,00	6,85	3,79±0,11	2767,53±60,71	3,41

^a k középértékének és szórásának $\sigma(k)$ számítása:

$$k = (\sum_i w_i k_i / \sum_i w_i) \text{ és } \sigma(k) = (\sum_i w_i (k_i - k)^2 / (n-1) \sum_i w_i)^{1/2}, \text{ ahol } w_i = 1/\sigma_i^2.$$

^b kezdeti reakciósebesség.



Michaelis – Menten féle kinetikai elemzés

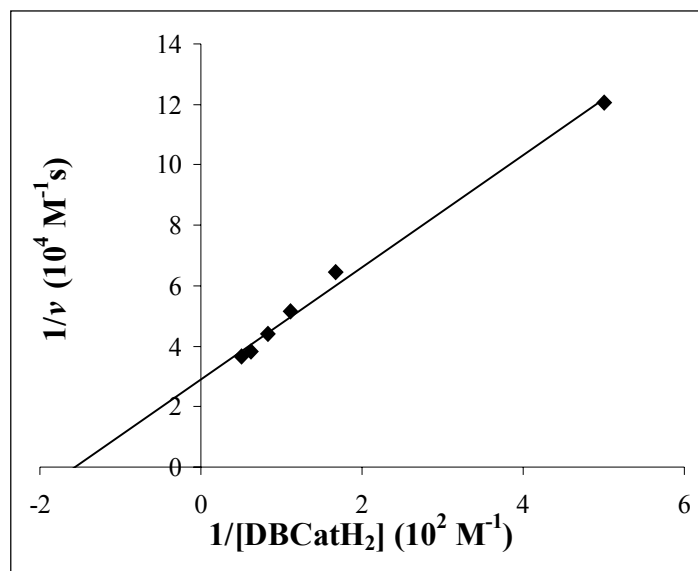
A feltételezett reakciómechanizmusnak megfelelően vezettük le a sebességi egyenletet figyelembe véve a kinetikai mérések során kapott részrendeket. A 4.2.2.2.1. fejezetben bemutatott levezetést alkalmazva, a $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})]$ komplex által katalizált reakcióra a következő sebességi egyenlet írható fel:

$$V = \frac{K_1 k_2 k_3 [\text{DBCatH}_2] [\{\text{Cu}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{DBCat})\}] [\text{O}_2]}{k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2]}$$

A klasszikus enzimkinetikában használt Michaelis féle állandók meghatározásához ábrázoltuk a kapott reakciósebesség értékek reciprokát az alkalmazott szubsztrátumkoncentrációk reciprokának függvényében. Az így kapott pontokra egyenest illesztve kapjuk meg a Lineweaver-Burk egyenest, melynek tengelymetszeteiből a kívánt

állandók meghatározhatóak. Az 53. ábrán látható egyenes adataival számolva a Michaelis állandó (K_M), a V_{\max} és a k_{cat} értékek az alábbiak szerint alakulnak:

$$K_M = 6,38 \times 10^{-3} \text{ M} \quad V_{\max} = 3,44 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1} \quad k_{\text{cat}} = 1,72 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$$

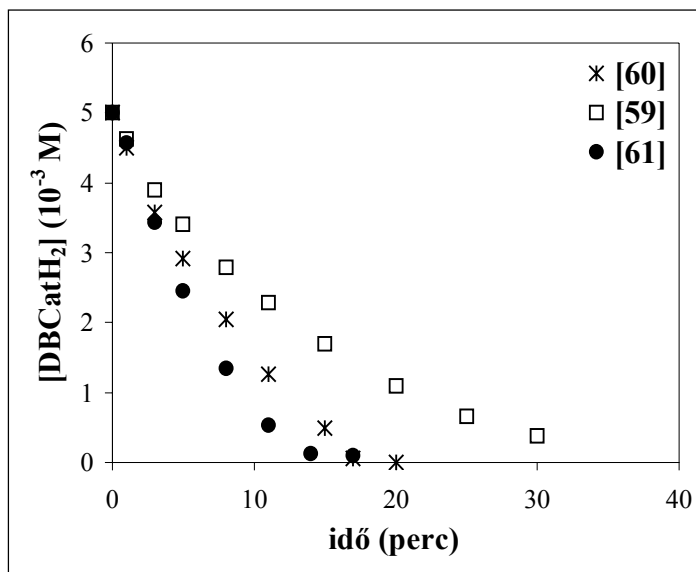


53. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Lineweaver-Burk egyenese.

$$[\mathbf{55}] = 2,00 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,14 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 50^\circ\text{C}$$

4.2.2.3. A DBCatH₂ reakciója dioxi génnel $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]$ komplex jelenlétében - Reakciókinetikai vizsgálatok

A $\text{K}[\text{HB}(\text{R}_2\text{pz})_3]$ háromfogú ligandumokkal előállított (pirokatechináto)- és (szemikinsonáto)réz(II)-komplexek mind hatásos katalizátoroknak mutatkoztak a DBCatH₂ oxidációs reakcióiban, szelektíven oxidáz aktivitást mutatva. Mivel az előző fejezetekben bemutatott (pirokatechináto)réz(II)-komplexek egyforma mechanizmus szerint katalizálják a reakciót úgy gondoltuk, hogy szerkezetbeli különbségük miatt, csak a (szemikinsonáto)réz(II)-komplexek által katalizált reakciók esetében végezzük el a kinetikai vizsgálatokat. Az **59**, **60** és **61** komplexek közül a fenilsubstitúenseket tartalmazó **61**-es komplex mutatta a legjobb katalitikus aktivitást (54. ábra), minden bizonnyal a réz körül kialakuló nagy elektronsűrűség miatt. Ezt a kísérleti eredményt kihasználva a kinetikai mérések ezen komplex jelenlétében történtek.



54. ábra. A DBCatH₂ oxidációjának időbeli lefutása **59**, **60**, **61** komplexek jelenlétében. [DBCatH₂] = 5,00 × 10⁻³ M; [Cu] = 5,00 × 10⁻⁴ M; [O₂] = 6,14 × 10⁻³ M; DMF; T = 50°C

A méréseket 30, 40, 50, 60 és 70°C-on végeztük DMF oldószerben. A reakció lefutásának nyomon követésére UV-Vis spektrofotometriát használtunk a kinon jellemző abszorpciós sávját ($\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$; $\varepsilon = 1688 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) mértük.

A reakcióra a következő általános sebességi egyenletet írhatjuk fel (76) melynek értelmében az egyes komponensek részrendjét különböző szubsztrátum-, katalizátor- valamint dioxigénkoncentrációk mellett történt mérésekkel határoztuk meg.

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k[\text{DBCatH}_2]^m [\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]^n [\text{O}_2]^q \quad (76)$$

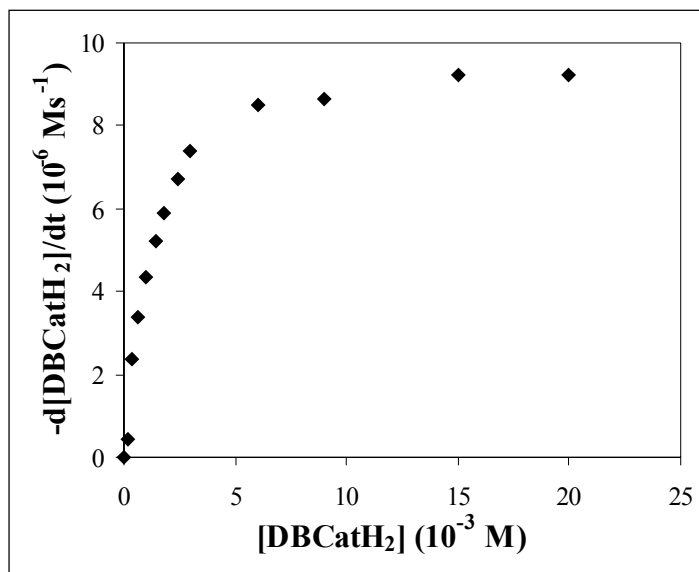
A szubsztrátum részrendjének meghatározása érdekében, a reakciókat azonos katalizátor- és dioxigénkoncentráció, de különböző kiindulási DBCatH₂ koncentrációk mellett végeztük el. A fenti körülményeket figyelembe véve a sebességi egyenlet egyszerűsített formában írhatjuk fel (78).

$$[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})] \text{ és } [\text{O}_2] = \text{állandó}$$

$$k' = k [\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]^n [\text{O}_2]^q \quad (77)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k' [\text{DBCatH}_2]^m \quad (78)$$

Ábrázolva a reakciósebesség értékeit a szubsztrátum koncentrációjának függvényében telítési jellegű összefüggéshez jutottunk (55 ábra), azaz a reakció a klasszikus Michaelis – Menten féle enzimkinetikával jellemezhető.



55. ábra. A reakciósebesség változása a kiindulási szubsztrátumkoncentráció függvényében. $[61] = 2,40 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{O}_2] = 6,14 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 50^\circ\text{C}$

A katalizátor részrendjének meghatározásához, állandó kiindulási szubsztrátum- és dioxigénkoncentrációk mellett mértük a reakciósebességeket. A sebességi egyenlet ekkor a (80) egyenletnek megfelelően alakul.

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k'' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{O}_2]^q \quad (79)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k'' [\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]^n \quad (80)$$

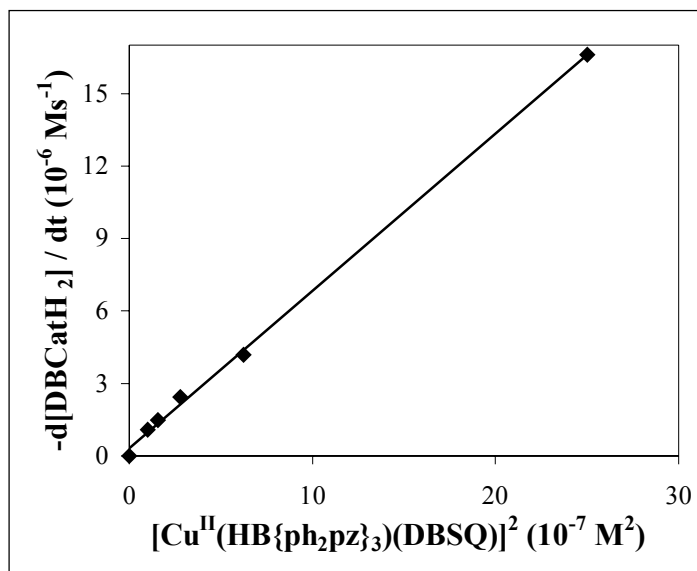
Ábrázoltuk a reakciósebességeket a katalizátorkoncentrációk függvényében és azt tapasztaltuk, hogy ez esetben az összefüggés négyzetes volt. Ez a katalizátor másodrendjének felel meg. Amennyiben a kapott reakciósebesség értékeket a katalizátorkoncentráció négyzetének függvényében ábrázoljuk (56. ábra), a kapott pontokra jó regressziójú egyenes illeszthető (meredekség = $65,07 \text{ s}^{-1}\text{M}^{-1}$; $R = 99,86 \%$). Az eredmények értelmében a katalizátor részrendje kettő ($n = 2$).

A dioxigén részrendjének meghatározásához állandó értéken tartva a kiindulási szubsztrátum- és katalizátorkoncentrációkat, különböző O_2 -koncentrációk mellett is vizsgáltuk a reakciósebességek alakulását. A különböző koncentrációk beállításához O_2 / Ar gázelegyet alkalmaztunk. A sebességi egyenletet - figyelembe véve, hogy a katalizátor és a szubsztrátumkoncentrációk állandóak - az alábbi egyszerűsített formában írhatjuk fel (82):

$$[\text{DBCatH}_2] = \text{állandó} \quad [\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})] = \text{állandó}$$

$$k''' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{ph}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]^n \quad (81)$$

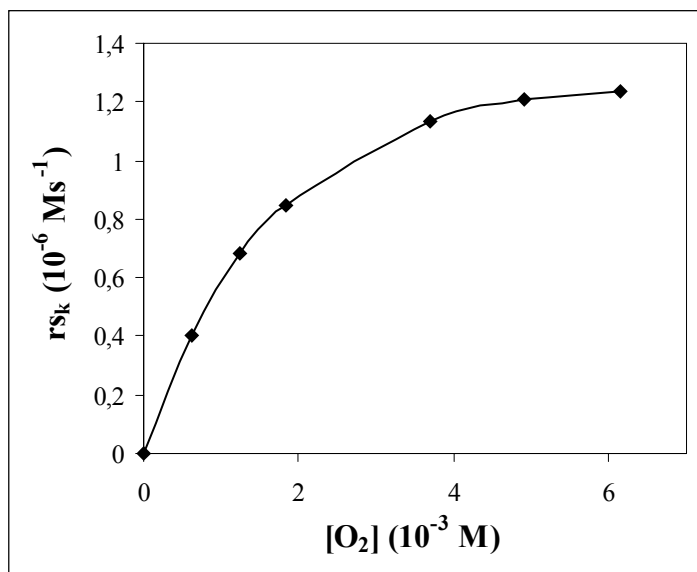
$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k''' [\text{O}_2]^q \quad (82)$$



56. ábra. A reakciósebesség változása a komplexkoncentráció négyzetének függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,14 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 50^\circ\text{C}$$

Az 57. ábrán a kezdeti reakciósebesség függése látható a dioxid koncentrációjától. A kapott eredmények azt mutatják, hogy telítési jellegű összefüggés áll fenn a két paraméter között.



57. ábra. A kezdeti reakciósebesség változása a dioxidkoncentráció függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 5,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\mathbf{61}] = 1,67 \times 10^{-4} \text{ M}; \text{DMF}; T = 50^\circ\text{C}$$

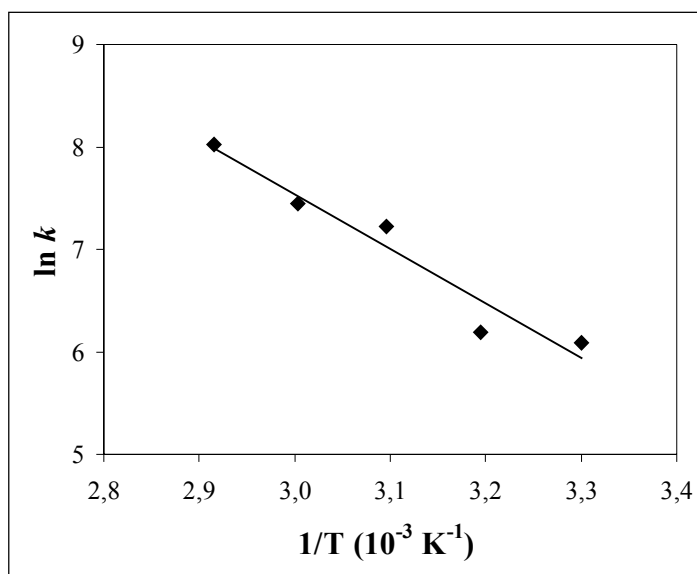
Az aktiválási paraméterek meghatározása érdekében a reakciókat különböző hőmérsékleteken is elvégeztük. Ábrázolva az Arrhenius és Eyring diagrammokat lineáris összefüggéseket kaptunk (58.ábra). A (25–28) egyenletek értelmében meghatároztuk az aktiválási paramétereket, melyek 50°C-ra a következők:

$$E_A = 80,27 \pm 1,23 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta H^\ddagger = 75,40 \pm 1,15 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = 87,72 \pm 1,34 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta S^\ddagger = -38,14 \pm 0,58 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}$$



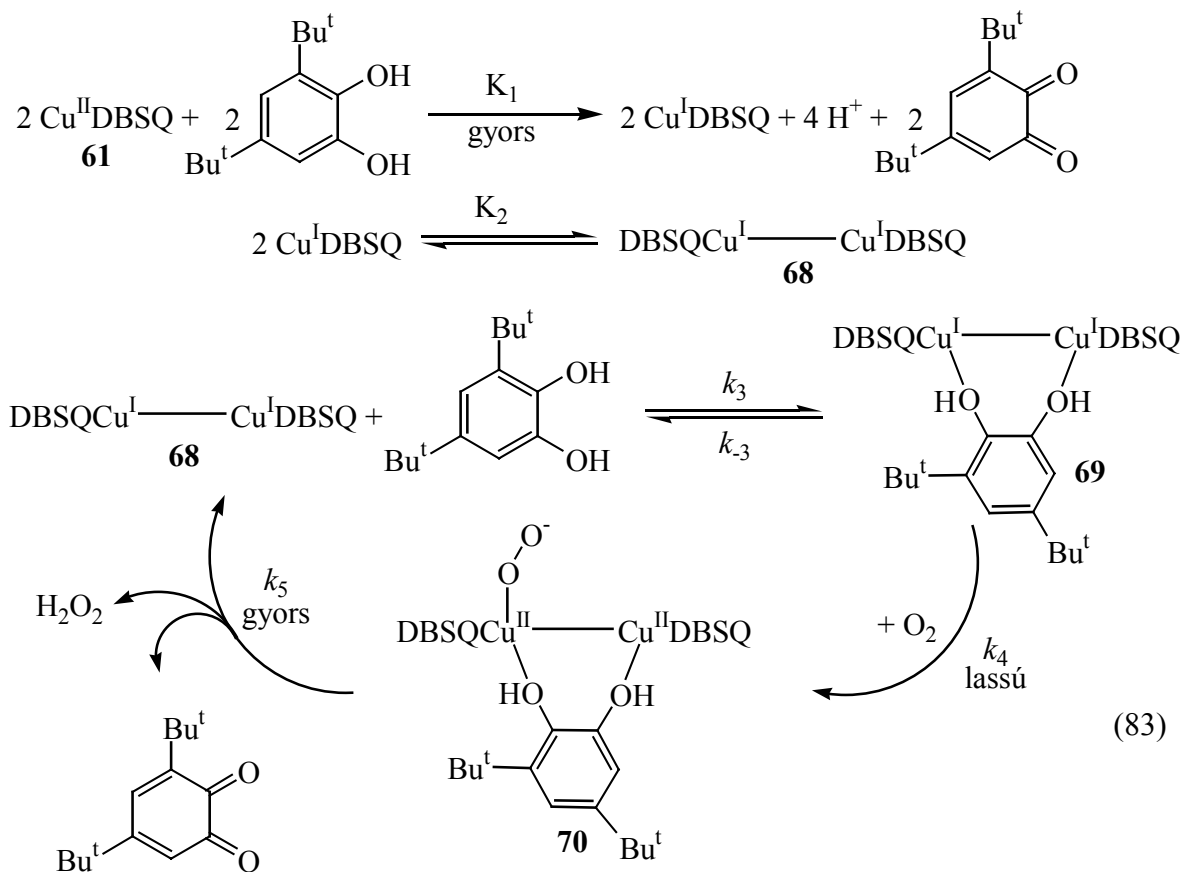
58. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Arrhenius diagrammjá.

A reakciókinetikai mérések körülményeit és eredményeit a 16. táblázatban foglaltam össze.

A kapott eredmények alapján javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára (83). A reakció kezdeti lépéseként a katalizátormolekulát a DBCatH₂ réz(I)-komplexszé redukálja, ami egy következő gyors lépésben dimerizálódik. A kapott dimer (68) további pirokatechin molekulával lép reakcióba, feltehetőleg a szubsztrátummolekula híd-ligandumként koordinálódik a komplexben (69). Ez a köztitermék fog a dioxigénnel reagálni a lassú, sebességmeghatározó lépésben. Eredményként egy (pirokatechináto)rész(II)-(peroxo)rész(II) terner komplex (70) keletkezik, mely két katalizátor molekulát, egy dioxigént és egy szubsztrátumot tartalmaz. Tulajdonképpen ez a komplex felel meg az enzimkatalízis során kialakuló enzim-szubsztrátum-komplexnek, melyben megtörténik maga a katalízis és kialakulnak a kívánt termékek. A kapott terner-komplex instabilis molekula lévén elbomlik, előbb hidrogén-peroxid eliminálódik, majd kihatad a másik fő termék a DBQ is, mely lépéssel a katalitikus ciklus zárul.

16. táblázat. A DBCatH₂ 61 által katalizált oxidációs reakciójának reakciókinetikai adatai.

Mérés Száma	T (K)	[DBCatH ₂] (10 ⁻³ M)	[Cu] (10 ⁻⁴ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	k' (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	k (10 ² M ⁻² s ⁻¹)	rs (10 ⁻⁶ Ms ⁻¹)
1	323	0,20	2,40	6,14	22,89±0,91	18,64±0,74	0,46
2	323	0,40	2,40	6,14	59,37±6,91	48,±5,63	2,38
3	323	0,60	2,40	6,14	56,34±6,51	45,88±5,30	3,38
4	323	1,00	2,40	6,14	43,25±1,46	35,22±1,19	4,33
5	323	1,40	2,40	6,14	37,19±1,89	30,28±1,54	5,21
6	323	1,80	2,40	6,14	32,64±2,34	26,58±1,91	5,88
7	323	2,40	2,40	6,14	28,03±0,84	22,83±0,69	6,73
8	323	3,00	2,40	6,14	24,61±1,98	20,04±1,62	7,38
9	323	6,00	2,40	6,14	14,21±0,06	11,57±0,05	8,53
10	323	9,00	2,40	6,14	9,60±0,20	7,82±0,16	8,64
11	323	15,00	2,40	6,14	6,14±0,17	5,00±0,14	9,22
12	323	20,00	2,40	6,14	4,61±0,11	3,75±0,09	9,22
13	323	5,00	1,00	6,14	2,18±0,19	3,55±0,63	1,09
14	323	5,00	1,25	6,14	2,96±0,40	3,86±0,26	1,48
15	323	5,00	1,67	6,14	4,86±0,20	4,73±0,19	2,43
16	323	5,00	2,50	6,14	20,96±0,19	13,66±0,25	4,18
17	323	5,00	5,00	6,14	33,21±0,14	10,82±0,23	16,60
						9,42±0,25	rs _k
18	323	5,00	1,67	0,61			0,40
19	323	5,00	1,67	1,23			0,69
20	323	5,00	1,67	1,84			0,84
21	323	5,00	1,67	3,68			1,14
22	323	5,00	1,67	4,91			1,20
23	323	5,00	1,67	6,14			1,24
24	303	5,00	2,50	5,23	5,78±0,25	4,42±0,19	2,89
25	313	5,00	2,50	5,66	6,92±0,07	4,89±0,05	3,46
26	333	5,00	2,50	6,30	17,18±0,99	17,18±0,63	13,53
27	343	5,00	2,50	6,85	52,32±1,80	30,55±0,10	26,16



(83)

Michaelis – Menten féle kinetikai elemzés

A feltételezett mechanizmus alátámasztása érdekében levezettük a sebességi egyenletet a kapott rendűségek figyelembevételével, valamint meghatároztuk a Lineweaver-Burk összefüggés alapján a Michaelis állandót, a maximális sebesség, valamint a k_{cat} értékeit.

A sebességi egyenlet levezetésekor a következő feltételezésekkel éltünk:

- 1.) A K_1 , K_2 és K_3 egyensúlyi állandókkal jellemzett lépések gyors előgyensúlyi lépéseknek tekintendők, így a sebességi egyenlet a következő formában írható fel:

$$V = k_4 [\text{O}_2] [\mathbf{69}]$$

- 2.) A **69**-es köztitermék koncentrációja állandónak tekinthető „steady state” körülmények mellett, azaz:

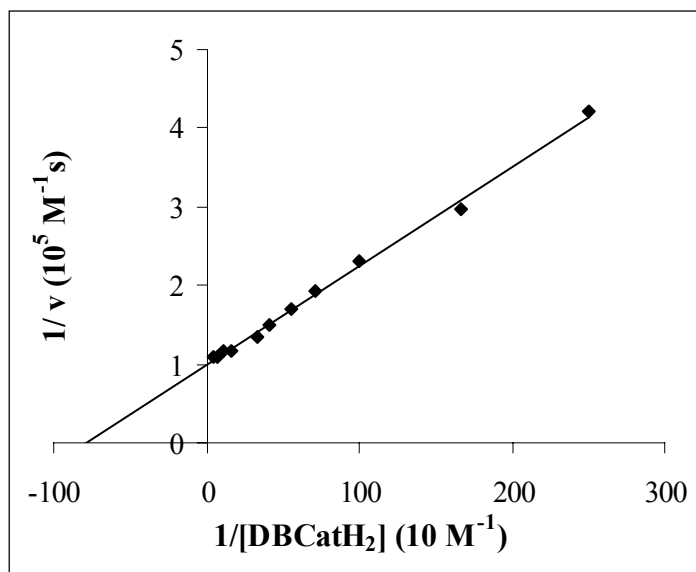
$$d[\mathbf{69}] / dt = 0 \quad \text{és} \quad k_3 [\text{DBCatH}_2] [\mathbf{68}] = [\mathbf{69}] (k_{-3} + k_4 [\text{O}_2])$$

- 3.) A fenti egyenletből kifejezve **68** koncentrációját, valamint felírva a teljes rézkoncentrációt, a megfelelő egyszerűsítések és behelyettesítések után megkapjuk a sebességi egyenletet, mely a következő:

$$V = \frac{K_2 k_3 k_4 [\text{DBCatH}_2] [\mathbf{61}]^2 [\text{O}_2]}{k_{-3} + k_3 [\text{DBCatH}_2] + k_4 [\text{O}_2]}$$

A reakciókinetikai mérések során, a különböző szubsztrátumkoncentráció és reakciósebességi adatok reciprok értékeit ábrázolva egymás függvényében, megkaptuk a Lineweaver-Burk egyenest, melynek tengelymetszeteiből a K_M , V_{\max} és k_{cat} értékek kiszámíthatóak. A 59. ábrán látható egyenesből számolt értékek a következők:

$$K_M = 1,28 \times 10^{-3} \text{ M} \quad V_{\max} = 1,01 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1} \quad k_{\text{cat}} = 4,22 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$$



59. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Lineweaver-Burk egyenese.

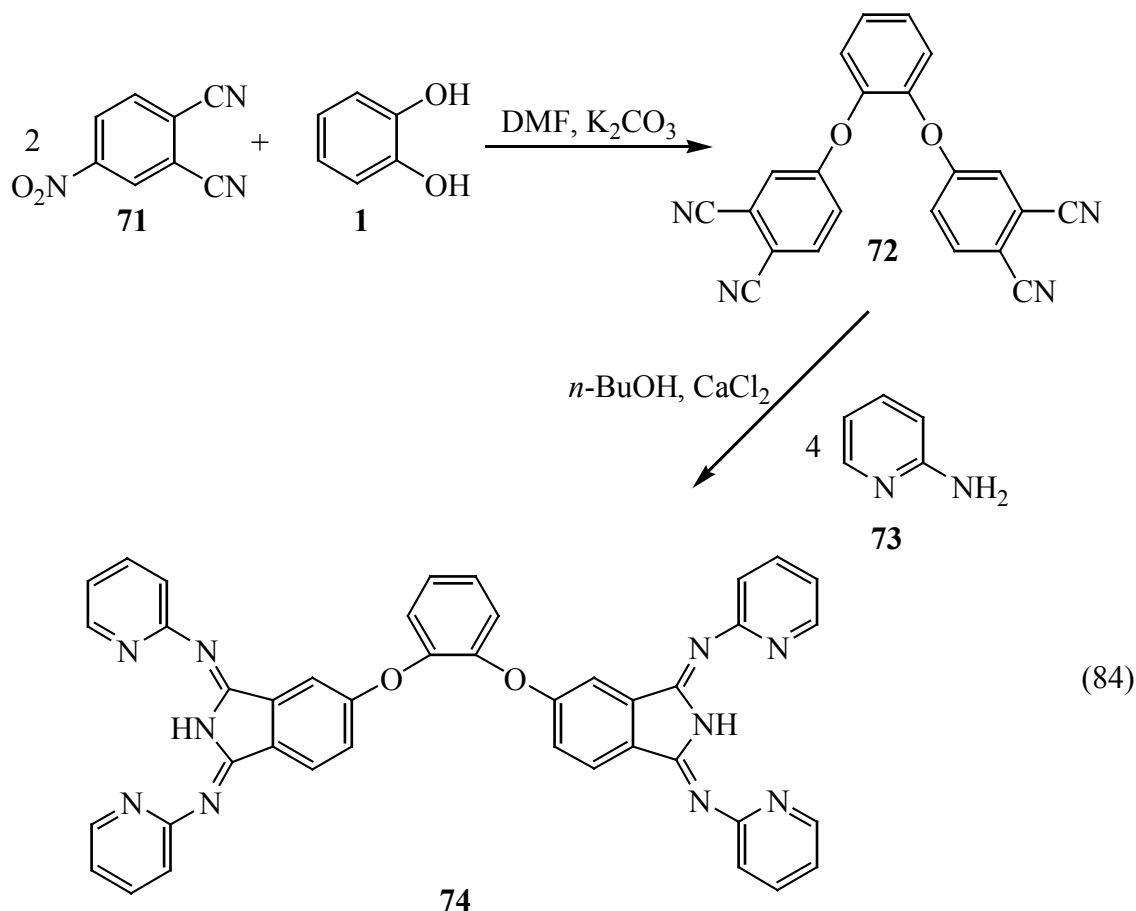
$$[\mathbf{61}] = 2,40 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 6,14 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 50^\circ\text{C}$$

4.2.2.3. 3,5-Di-*tert*-butil-pirokatechin oxidációs reakciói kétmagvú réz(II)-komplex jelenlétében

4.2.2.3.1. Az alkalmazott ligandum előállítása

A pirokatechin oxidáz, kétmagvú rézcentrumot tartalmazó enzim. Szándékoztunk az enzimnek a korábbiakban kidolgozott működési modell vegyületei mellett, szerkezeti modelljét is előállítani. L. K. Thompson munkáját¹⁰⁴ alapul véve olyan ligandum szintézisét tűztük ki célul, amely kétmagvú rézkomplex előállítására alkalmas és már korábban megismert építőegységeket tartalmaz. Ennek megfelelően az általunk szintetizált új ligandum 1,3-bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin egységekből felépített új hatfogú, nitrogén donor atomokat tartalmazó vegyület, az *o*-fenilén-bisz[6-oxil-1,3-bisz(2'-piridil-imino)izoindolin] volt (74).

A ligandum szintézise a (84) egyenlet szerint történt az összetételét elemáanalízissel, szerkezetét standard spektroszkópai mérésekkel határoztuk meg.



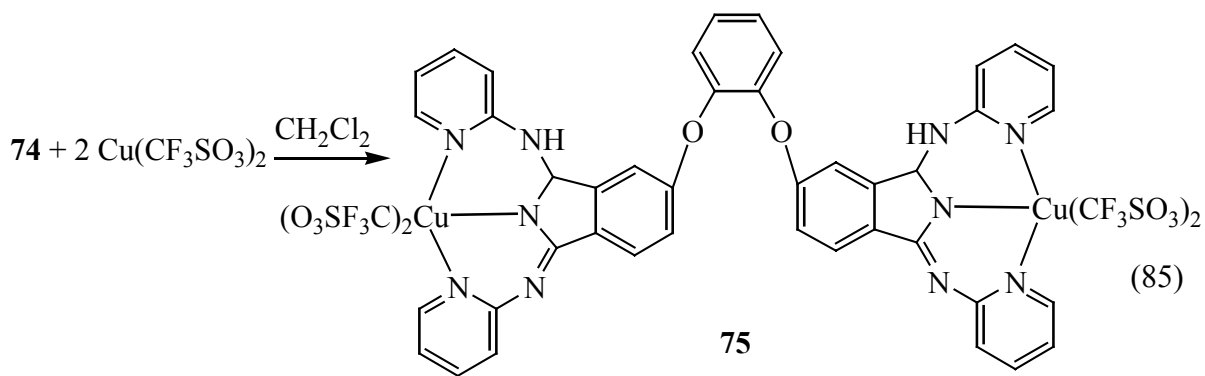
A ligandum fontosabb fizikai és spektroszkópai adatait a 17. táblázat tartalmazza.

17. táblázat. A **74** ligandum fontosabb fizikai és spektroszkópai adatai

Ligandum	74
Szín	Sárga
Op (°C)	170
IR (cm ⁻¹) (KBr)	3078, 3038(ν_{NH}); 1581, 1487(ν_{CN}); 1259(ν_{CO}); 768, 668 (ν_{py})
UV-Vis (DMF) λ_{max} (nm) (log ϵ)	407(3,87); 386(4,06); 366(4,04); 348(4,04); 305(4,21)
¹³ C NMR (CDCl ₃)	109,64; 114,54; 114,91; 117,60; 120,47; 120,59; 123,43; 128,27; 135,27; 137,89; 144,55; 160,10

4.2.2.3.2. Komplexképzés és jellemzés

A **74** ligandumnak kétmagvú rézkomplexét állítottuk elő, inert körülmények között reagáltatva a vegyületet réz(II)-triflát komplexképzővel víz- és dioxigénmentesített metilén-klorid oldószerben az alábbi egyenletnek megfelelően:



A komplexet 55%-os hozammal sikerült elkülönítenünk a reakcióelegyből, élénk zöld színű csapadék formájában. Az összetételt elemanalízissel, a szerkezetet spektroszkópai módszerekkel határoztuk meg. A kapott adatokat a 18. táblázatban foglaltam össze.

A komplex spektroszkópai adatait vizsgálva látható, hogy a komplex ESR-inaktív, a két rézcentrum közötti antiferromágneses kölcsönhatás következményeként; ezt a kölcsönhatást mutatja a mágneses mérések eredményeként kapott 1,35 BM mágneses szuszceptibilitási érték is ($\mu_{\text{eff}} = 1,7\text{-}2,2$ BM réz(II)-komplexek esetében). Az ultraibolya-

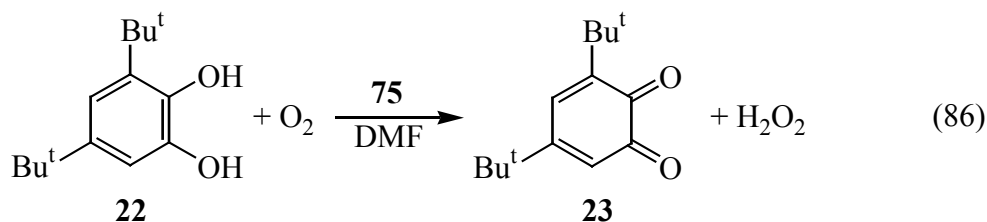
látható spektrumban megtalálhatjuk a ligandumra jellemző $\pi-\pi^*$ töltésátviteli sávokat alacsonyabb energiaértékek irányába eltolódva, ami a koordináció okozta energianyereségből adódik. Az infravörös spektrum is a feltételezett szerkezet kialakulását támasztja alá. A 74-es ligandum jellemző rezgési sávjai mind megtalálhatóak alacsonyabb hullámszám értékek irányába eltolódva ($\Delta\nu = 1-50$). A ligandum semleges, protonált formában kapcsolódik a központi rézatomokhoz (ν_{NH}), valamint ellenionként a triflát-ligandumok maradnak a komplexben amit a spektrumban található új sávok (1282, 1032, 640, 524 cm^{-1}) megjelenése mutat.

18. táblázat. A 75 komplex fontosabb fizikai és spektroszkópai adatai

Komplex	75
Szín	élénk zöld
Op ($^{\circ}\text{C}$)	195
μ_{eff}	1,35 BM
ESR	inaktív
IR (cm^{-1}) (KBr)	3495(ν_{NH}); 1532, 1485(ν_{CN}); 1258(ν_{CO}); 787(ν_{py}) 1282, 1032, 640, 524($\nu_{\text{CF}_3\text{SO}_3}$)
UV-Vis (DMF) λ_{max} (nm) (log ϵ)	451(4,38); 425(4,45); 346(4,37); 312(4,51); 271(4,60)

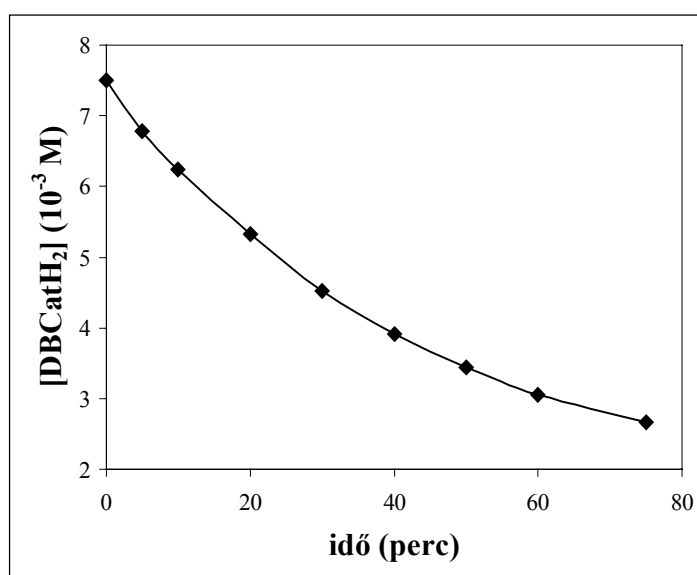
4.2.2.3.3. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin oxidációs reakciói a 75 komplex jelenlétében

Az előző fejezetben bemutatott kétmagvú rézkomplex szintén hatásos katalizátornak bizonyult a DBCatH₂ oxidációs reakciójában. A komplex jelenlétében a szubsztrátum már szobahőmérsékleten is reakcióba lép dioxigénnel és az enzim-katalizált útnak megfelelően 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzokinonná oxidálódik, miközben a reakciópartnerét hidrogén-peroxiddá redukálja. A keletkező termékek kimutatása a 4.2.1.3. fejezetben bemutatott módon történt. A reakcióban termékként kizárólag a fent említett vegyületek keletkeztek.



A reakció mechanizmusának tisztázása érdekében részletes kinetikai vizsgálatokat végeztünk. A reakciókat 66, 73, 80, 87 és 94 fokon végeztük, vízmentes DMF oldószerben.

A reakció lefutásának nyomonkövetésére gázvolumetrikus valamint UV-Vis spektroszkópiás módszereket alkalmaztunk. A 60. ábrán a szubsztrátum koncentrációjának változását mutatom be az idő függvényében.



60. ábra. A DBCatH₂ koncentrációjának változása az idő függvényében.

$$[\text{DBCatH}_2] = 7,50 \times 10^{-3} \text{ M}; [\mathbf{75}] = 1,00 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 7,00 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 80^\circ\text{C}$$

A reakciókat egy speciálisan kialakított reakcióedényben végeztük mely termosztáttal, a dioxigénfogyás nyomon követésére alkalmas gázbürettával és a mintavételt lehetővé tevő szeptumos csappal volt ellátva. Az edénybe a szubsztrátumból készített ismert koncentrációjú, 50 ml oldatot mértünk be, termosztálás után egy belső mintaadagoló segítségével adtuk hozzá a kívánt katalizátor mennyiséget. A kezdetben színtelen reakcióelegy rögtön felvette a komplex sárgászöld színét, majd a reakció előrehaladtával a kinon jellemző vörös színe vált uralkodóvá az oldatban.

A reakcióra a következő általános sebességi egyenletet írhatjuk fel (87):

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = d[\text{DBQ}]/dt = k [\text{DBCatH}_2]^m [\mathbf{75}]^n [\text{O}_2]^q \quad (87)$$

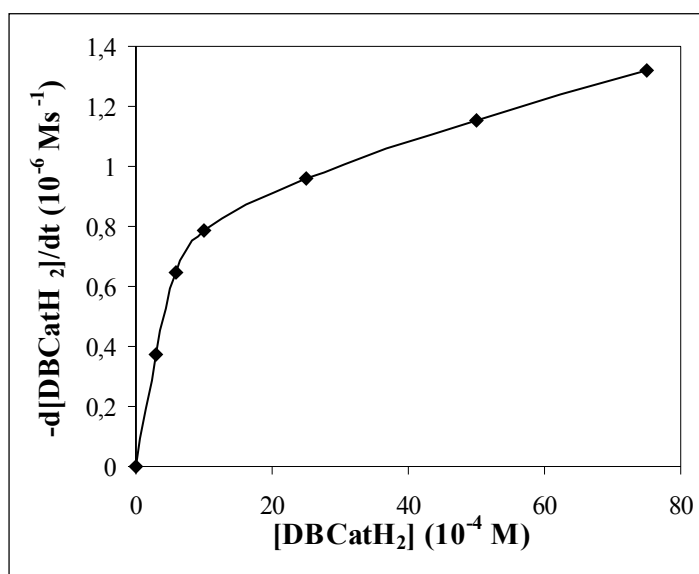
A sebességi egyenletben szereplő együtthatók, azaz a komponensek részrendjének meghatározása érdekében, a reakciókat különböző szubsztrátum- komplex- és dioxigénkoncentrációk mellett végeztük el a többi komponens koncentráció értékeit állandó értéken tartva.

A szubsztrátum részrendjének meghatározása érdekében a reakciókat állandó katalizátor- és dioxigénkoncentrációk, de változó szubsztrátumkoncentrációk mellett vizsgáltuk. Ebben az esetben a (87) sebességi egyenlet a következő egyszerűsített formában (89) írható fel.

$$[75] \text{ és } [O_2] = \text{állandó}; \quad k' = k [75]^n [O_2]^q \quad (88)$$

$$-d[DBCatH_2]/dt = k' [DBCatH_2]^m \quad (89)$$

A fenti egyenlet értelmében, ábrázolva a kapott reakciósebesség értékeket a kiindulási szubsztrátumkoncentráció függvényében (61. ábra) megkapjuk a szubsztrátum rendűségét azaz az m sebességi együtthatót. Az 61. ábrán látható, hogy telítési jellegű görbét kaptunk. A kezdeti szakasz lineáris, itt még első rendű a reakciósebesség szubsztrátumkoncentrációtól való függése, míg a telítési koncentráció értéket elérve ez a rendűség nullad rendűvé válik.



61. ábra. A reakciósebesség változása a kiindulási DBCatH₂ koncentráció függvényében. [75] = 1,00 × 10⁻⁴ M; [O₂] = 7,00 × 10⁻³ M; DMF; T = 80°C

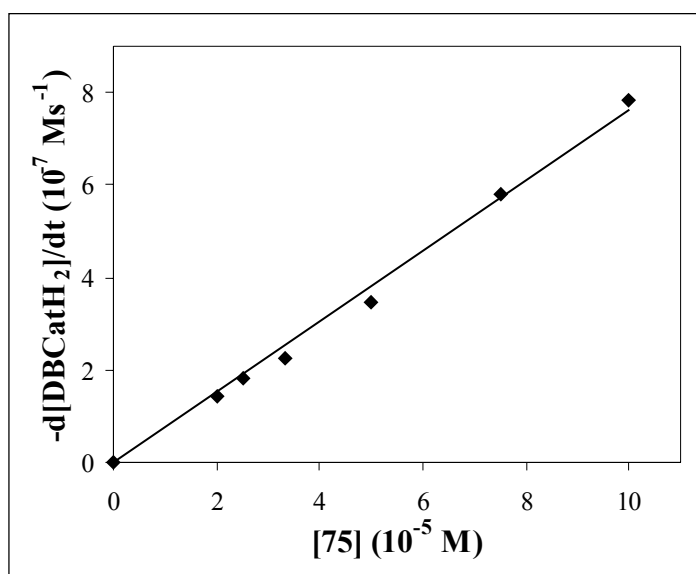
A katalizátor részrendjének meghatározására, a kísérleteket állandó kiindulási DBCatH₂ és dioxigénkoncentráció mellett, de változó komplexkoncentrációnál végeztük

el. Ebben az esetben az eredeti sebességi egyenletet a (91) formára egyszerűsíthetjük, figyelembevéve a fenti állításokat.

$$[\text{DBCatH}_2] \text{ és } [\text{O}_2] = \text{állandó} \quad k'' = k [\text{DBCatH}_2]^m [\text{O}_2]^q \quad (90)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k'' [\text{75}]^n \quad (91)$$

Ábrázolva a reakciósebesség függését a kiindulási komplexkoncentrációtól (62. ábra), a kapott pontokra jó hibával egyenes illeszthető (meredekség = $7,60 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $R = 99,35\%$) ami azt mutatja, hogy a komplex koncentrációjától a reakciósebesség első rend szerint függ, azaz az n kitevő értéke egy.

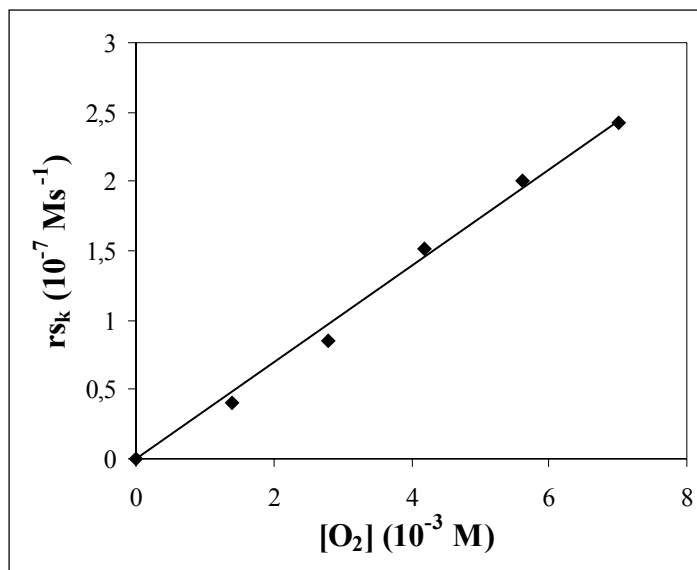


62. ábra. A reakciósebesség változása a kiindulási komplexkoncentráció függvényében. $[\text{DBCatH}_2] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{O}_2] = 7,00 \times 10^{-3} \text{ M}$; DMF; $T = 80^\circ\text{C}$

A dioxién részrendjének meghatározása érdekében a reakciókat állandó kiindulási szubsztrátum- és katalizátorkoncentráció mellett végeztük el, különböző dioxiénkoncentrációk mellett. A kívánt dioxiénkoncentrációk beállítása az O_2 parciális nyomásának változtatásával történt. Állandó katalizátor és DBCatH_2 koncentrációk mellett a (84) sebességi egyenletet egyszerűsíthetjük (93), aminek értelmében ha ábrázoljuk a reakciók kezdeti sebesség értékeit a dioxiénkoncentráció függvényében (63. ábra), megkapjuk a q együttható értékét, és az O_2 rendjét.

$$[\text{DBCatH}_2] \text{ és } [\text{75}] = \text{állandó} \quad k''' = k [\text{DBCatH}_2] [\text{75}] \quad (92)$$

$$-d[\text{DBCatH}_2]/dt = k''' [\text{O}_2]^q \quad (93)$$

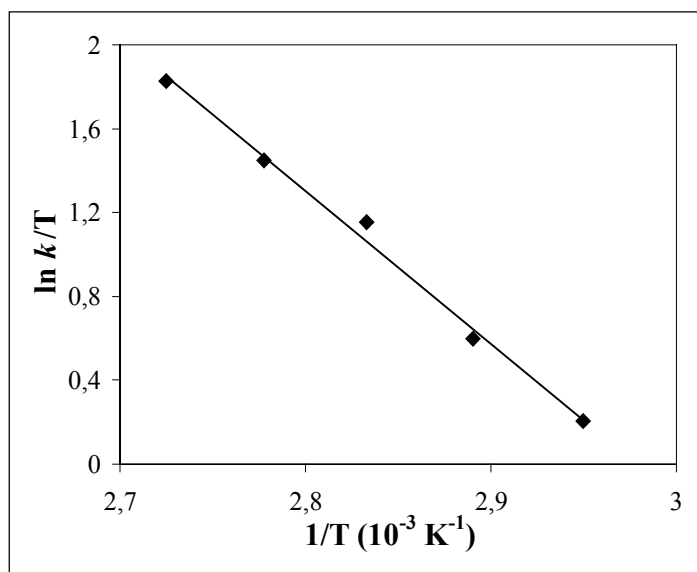


63. ábra. A kezdeti reakciósebesség változása a dioxigénkoncentráció függvényében.

[DBCatH₂] = 1,00 × 10⁻³ M; [75] = 5,00 × 10⁻⁴ M; DMF; T = 80°C

A 63. ábrán látható, hogy a kezdeti reakciósebesség és a dioxigénkoncentráció között lineáris összefüggés áll fenn (az illesztett egyenes meredeksége = 3,49 × 10⁻⁵ s⁻¹ R = 99,35%) azaz a dioxigén rendősége egy ($q = 1$).

Az aktiválási paraméterek meghatározása érdekében különböző hőmérsékleteken (66, 73, 80, 87 és 94°C) is elvégeztük a kísérleteket. Mértük a reakciósebességeket, majd ábráztuk az Arrhenius és Eyring diagrammokat (64. ábra), mindkét összefüggés lineárisnak adódott.



64. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Eyring diagrammja.

A (25), (26), (27) és (28) egyenletek értelmében, meghatároztuk az aktiválási paramétereket. A kapott aktiválási paraméterek 80°C-ra a következők:

$$E_A = 115,30 \pm 12,42 \text{ kJmol}^{-1} \qquad \Delta H^\ddagger = 109,97 \pm 11,85 \text{ kJmol}^{-1}$$

$$\Delta G^\ddagger = 123,65 \pm 13,32 \text{ kJmol}^{-1} \qquad \Delta S^\ddagger = -38,75 \pm 4,17 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}$$

A mért kinetikai adatokat és a reakciókörülményeket a 19. táblázatban foglaltam össze.

A kapott eredmények alapján javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára (94). Feltételezéseink szerint a reakció első, gyors lépésében a komplexet a jelenlevő pirokatechin egy kétmagvú Cu(I)-Cu(I) (**76**) vegyületté redukálja, míg saját maga kinonná oxidálódik. A kialakuló **76** komplex ezt követően különböző módon reagálhat tovább.

Egyfelől a dioxigénnel léphet reakcióba (A-ciklus), ami egy Cu(II)-(μ-η²-η²-O₂)-Cu(II) (**77**) vegyület kialakulását eredményezi akár csak az enzimkatalizált reakció során. A kialakuló peroxokomplex lesz a katalitikusan aktív vegyület, amely további DBCatH₂ molekulákat fog oxidálni kinonná a sebességmeghatározó, lassú reakciólépésben. A reakció addig tud lejátszódni amíg van a rendszerben pirokatechin, miután a katalizátor a DBCatH₂ teljes mennyiségét feloxidálta kinonná elbomlik, majd maga is visszaalakul a kiindulási Cu(II)-Cu(II) komplexszé (C-ciklus).

Egy alternatív reakcióban a **76**-os intermedier reakcióba léphet a DBCatH₂-vel is (B-ciklus), (pirokatechináto)Cu(I)-Cu(I)-komplexet képezve, ami dioxigénnel reagálva szolgáltatja a kinon és hidrogén-peroxid végtermékeket.

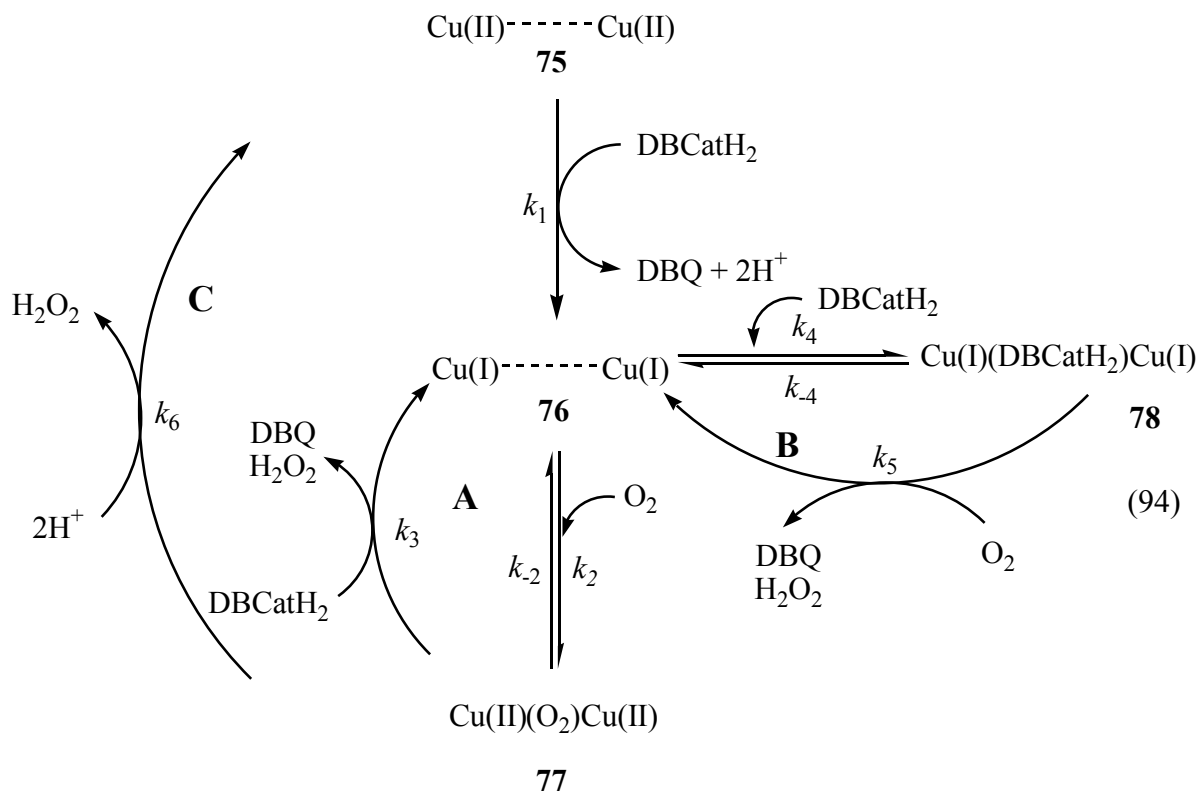
19. táblázat. A DBCatH₂ 75 által katalizált oxidációs reakciójának kinetikai adatai.

Mérés Száma	T (K)	[DBCatH ₂] (10 ⁻³ M)	[Cu] (10 ⁻⁴ M)	[O ₂] (10 ⁻³ M)	k' (10 ⁻³ s ⁻¹)	k (M ⁻² s ⁻¹)	rs (10 ⁻⁶ Ms ⁻¹)
1	353	0,30	1,00	7,00	1,24±0,009	1776,17±33,34	0,37
2	353	0,60	1,00	7,00	1,08±0,003	1536,10±46,20	0,65
3	353	1,00	1,00	7,00	0,78±0,004	1120,36±35,69	0,78
4	353	2,50	1,00	7,00	0,38±0,094	548,61±37,61	0,96
5	353	5,00	1,00	7,00	0,23±0,008	329,66±16,47	1,15
6	353	7,50	1,00	7,00	0,18±0,013	251,79±17,27	1,32
7	353	1,00	0,20	7,00	0,14±0,001	1028,28±50,12	0,14
8	353	1,00	0,25	7,00	0,18±0,001	1028,57±51,33	0,18
9	353	1,00	0,33	7,00	0,22±0,002	960,61±71,65	0,22
10	353	1,00	0,50	7,00	0,35±0,005	987,49±101,96	0,35
11	353	1,00	0,75	7,00	0,58±0,002	1104,76±26,67	0,58
						625,02±15,50^a	
							r _{sk} ^b
12	353	1,00	5,00	7,00			0,24
13	353	1,00	5,00	5,60			0,20
14	353	1,00	5,00	4,20			0,15
15	353	1,00	5,00	2,80			0,09
16	353	1,00	5,00	1,40			0,04
17	339	1,00	1,00	6,51	0,27±0,005	417,21±48,56	0,27
18	346	1,00	1,00	6,74	0,42±0,00	629,20±45,97	0,42
19	353	1,00	1,00	7,00	0,78±0,04	1120,36±35,69	0,78
20	360	1,00	1,00	7,41	1,14±0,01	1533,35±140,01	1,14
21	367	1,00	1,00	7,49	1,71±0,05	2282,82±465,76	1,71

^a k középértékének és szórásának $\sigma(k)$ számítása:

$$k = (\sum_i w_i k_i / \sum_i w_i) \text{ és } \sigma(k) = (\sum_i w_i (k_i - k)^2 / (n-1) \sum_i w_i)^{1/2}, \text{ ahol } w_i = 1/\sigma_i^2.$$

^b kezdeti reakciósebesség.



Michaelis – Menten féle kinetikai elemzés

A reakciókinetikai mérések eredménye alapján javasolt mechanizmusnak megfelelően, a sebességi egyenletet a következő feltételezések figyelembevételével vezettük le:

- 1.) A reakciósebességet a leglassabb lépés, azaz a peroxo-komplex és a pirokatechin reakciója határozza meg, ily módon a sebesség:

$$V = k_3 [\text{DBCatH}_2] [\text{77}]$$

- 2.) A peroxo-komplex koncentrációját egyensúlyban állandónak tekintjük, azaz:

$$d[\text{77}]/dt = 0 \quad \text{valamint}$$

$$k_2 [\text{76}] [\text{O}_2] = [\text{77}] (k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2])$$

- 3.) A peroxo-komplex koncentrációját a fenti egyenletből kifejezve:

$$[\text{77}] = (k_2 [\text{76}] [\text{O}_2]) / (k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2])$$

- 4.) Ennek értelmében a sebességi egyenletet az alábbi formában írhatjuk fel:

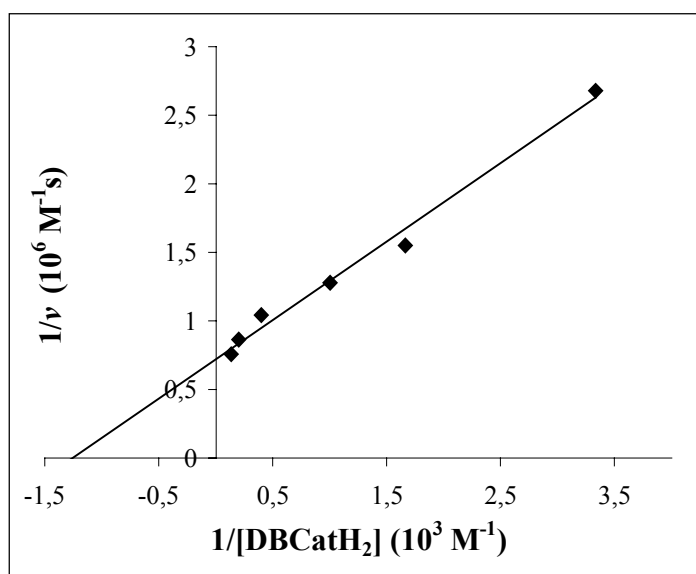
$$V = (k_2 k_3 [\text{76}] [\text{DBCatH}_2] [\text{O}_2]) / (k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2])$$

- 5.) A **76** komplex koncentrációját a kiindulási rézkoncentrációval kifejezve a fenti egyenletből megkapjuk a sebességi egyenlet végleges formáját:

$$V = \frac{K_1 k_2 k_3 [\text{DBCatH}_2] [\mathbf{75}] [\text{O}_2]}{k_{-2} + k_3 [\text{DBCatH}_2]}$$

A Lineweaver–Burk egyenest megrajzolva (65. ábra), az egyenes tengelymetszeteiből megkapjuk a Michaelis - állandó (K_M) valamint a maximális sebesség értékeit (V_{\max}), amikből a k_{cat} állandó meghatározható. A kapott értékek a következők:

$$K_M = 7,94 \times 10^{-4} \text{ M} \quad V_{\max} = 1,39 \times 10^{-6} \text{ Ms}^{-1} \quad k_{\text{cat}} = 1,39 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$$



65. ábra. A DBCatH₂ katalitikus oxidációjának Lineweaver-Burk egyenese.

$$[\mathbf{75}] = 1,00 \times 10^{-4} \text{ M}; [\text{O}_2] = 7,00 \times 10^{-3} \text{ M}; \text{DMF}; T = 80^\circ\text{C}$$

5. KÍSÉRLETI RÉSZ

A műszeres vizsgálatokhoz alkalmazott készülékek:

SHIMADZU UV-160A UV-Vis spektrofotométer
AVATAR 330 FT-IR infravörös spektrofotométer
UNITY 300 NMR készülék
CARLO ERBA EA 1108 C, H, N, S elemi analizátor
PERKIN ELMER LS 50B Luminescence spektrofluoriméter
JEOL JES-FE/3X ESR spektrométer
BRUKER B-E 10B8 mágneses mérőrendszer
ENRAF-NONIUS CAD4 diffraktométer
HEWLETT PACKARD 4890D gázkromatográf
HEWLETT PACKARD 5890 II, 5971 GC/MSD tömegspektrométer

A dioxigénre illetve nedvességre érzékeny anyagok előállítása inert atmoszférában, Schlenk-technika alkalmazásával történt.¹⁰⁵ Az alkalmazott gázokat (Ar, O₂) szárítottuk (P₂O₅, blaugél), az argont széndioxid- és dioxigén mentesítettük KOH és DEOXO katalizátorral töltött oszlopokon.

A kinetikai vizsgálatok során a reakciók időbeli lefutásának követése UV-Vis spektrofotométerrel történt, az aktuális koncentrációk megállapítását a megfelelő λ_{\max} értékeknél végeztük. A Lambert-Beer törvény érvényességét minden esetben igazoltuk.

5.1. Acetonitril¹⁰⁶

Felhasználás előtt visszacsepegés közben, foszfor-pentoxiddal refluxáltuk mindaddig, amíg az acetonitril szintelen nem lett. Ezt követően átdestilláltuk, majd kalcium-hidridről újra ledestilláltuk. Argon atmoszférában molekulaszűrőn tároltuk.

5.2. Dietil-éter¹⁰⁶

Kálium-nátrium ötvözetből inert atmoszférában frissen desztillált dietil-étert használtunk.

5.3. Metanol¹⁰⁷

Egy liter metanolhoz 5,00 g magnéziumforgácsot adtunk majd a reakció lejátszódása után 2-3 órán át refluxáltuk, végül ledesztilláltuk és Ar atmoszférában tároltuk (a kiindulási metanol víztartalma 1%-nál kisebb volt).

5.4. Metilén-klorid¹⁰⁶

A metilén kloridot választó tölcserben tömény kénsavval mostuk a savas réteg elszíntelenedéséig, ezt követően vízzel és 5%-os NaHCO₃ oldattal mostuk. A szerves fázist MgSO₄-on történő szárítást követően két napig CaH₂-en refluxáltuk inert atmoszférában. Átdestillálást követően molekulaszűrőn, Ar alatt tároltuk.

5.5 N,N-Dimetil-formamid¹⁰⁷

250,00 g DMF-ot 30,00 g benzollal és 10,00 g vízzel frakcionáltan desztilláltunk. Először a benzol-víz azeotrop, aminok és ammónia desztillál át. Ezt követően vákuumban átdestillálva a maradékot szintelen, szagtalan, nagy tisztaságú DMF-ot kaptunk.

5.6 Tetrahidrofurán¹⁰⁶

A THF-t KOH-on tároltuk majd argon atmoszférában fémnátrium és benzofenon jelenlétében sötét lila színállandósulásig refluxáltuk. Az átdestillált oldószert frissen használtuk fel.

5.7. Nitrozo-metil-karbamid előállítása¹⁰⁷

101,00 g (1,50 mól) metil-amin-hidrokloridot és 300,00 g (5,00 mól) karbamidot 400 ml vízben oldottunk és visszacsepegő hűtőt alkalmazva 3 órán át forraltuk. 110,00 g (1,60 mól) nátrium-nitrit hozzáadása után a -10°C-ra hűtött oldatot 600,00 g jég és 110,00 g tömény kénsav, jég-konyhasó keverékével hűtött elegyéhez, kevertetés közben adagoltuk lassan. A leváló nitrozovegyületet szűrtük, jeges vízzel mostuk. A termék hozama 80%-os volt.

5.8. Diazo-metán előállítása¹⁰⁷

Erlenmeyer lombikban állandó rázogatás közben 100 ml éterhez 10,30 g (0,10 mól) nitrozo-metil-karbamidot adagoltunk kis részletekben. Az éter alá 35 ml hűtött 40%-os kálium-hidroxid oldatot rétegeztünk. A hőmérséklet nem emelkedett +5°C fölé. Tíz perccel az utolsó részlet beadagolása után az éteres diazo-metán oldatot leöntöttük és három órán át kevés szilárd kálium-hidroxidon szárítottuk.

5.9. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin előállítása (DBCatH₂)¹⁰⁸

55,00 g (0,50 mól) pirokatechin és 125 ml *terc*-butilalkohol elegyében 20°C alatt, 50 ml tömény kénsavat adtunk majd éjszakán át állni hagytuk az elegyet. Másnap vízbe öntöttük, aminek hatására lila színű viaszos anyag vált ki. A kapott anyagot benzolban felvettük, vízzel, NaHCO₃ oldattal mostuk majd a benzolt vákuumban ledesztilláltuk és a száraz maradékot hexánból átkristályosítottuk. A DBCatH₂ fehér tűkristályok formájában vált ki. Hozam: 100,00 g (90%). Op: 99°C.

5.10. 3,5-Di-*terc*-butil-*o*-benzokinon előállítása (DBQ)¹⁰⁹

22,22 g (100,00 mmól) DBCatH₂-t, 10,00 g (100,00 mmól) KHCO₃-ot és 0,20 g (1,00 mmól) MnCl₂ × 4 H₂O-t 150 ml 80%-os metanolban oldottunk majd dioxigén atmoszféra alá helyeztük és így kevertettük egy napig. A kivált vörös tűkristályokat leszűrtük, izooktánból átkristályosítottuk. Hozam: 18,73 g (85%). Op: 113°C.

5.11. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin káliumsójának előállítása (DBCatK₂)

A DBCatH₂ káliumsójának előállítására három különböző módszert dolgoztunk ki:

A.) Szigorúan dioxigénmentes körülmények mellett 3,09 g (14,00 mmól) 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechint és sztöchiomerikus mennyiségű K-*terc*-butilátot, 30 ml frissen desztillált THF-ban feloldottunk és Ar atmoszférában kevertettünk. Az eredetileg színtelen oldat rövid időn belül intenzív kék színűre változott, majd négy nap kevertetés után elszíntelenedett és az oldatban fehér csapadék vált ki. A csapadékot szűrtük, vákuumban szárítottuk. A kapott só dioxigénre és nedvességre igen érzékeny volt. Hozam: 4,23 g

(45%). Op: $> 300^{\circ}\text{C}$. IR (KBr)/ cm^{-1} : 2964, 1741, 1625, 1368, 893. UV-Vis (MeOH), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 206 (3,95).

B.) 22,22 g (100,00 mmól) DBCatH₂-t feloldottunk 100 ml pontosan 1 N-os, dioxigénmentesített KOH oldatban majd inert atmoszférában szobahőmérsékleten kevertettük amíg az oldat kék színe eltűnt. A vizet vákuumban ledesztilláltuk és a száraz maradékot 20 órán át 100°C -on szárítottuk. Hozam: 20,25 g (73%). Op: $> 300^{\circ}\text{C}$.

C.) Dioxigénmentesített, abszolútizált éterben vagy THF-ban argon védőgáz alatt reagáltattuk a DBCatH₂-t (22,22 g, 0,10 mól) káliumamalgámmal. Az eredetileg kék színű oldat elszíntelenedését követően, a levegő gondos kizárása mellett, az oldatot leöntöttük az amalgámról majd az oldószert vákuumban ledesztillálva fehér színű anyagot kaptunk, melynek az IR spektruma azonos volt az előző módszerekkel előállított anyagokéval. Hozam: 7,45 g (25%). Op: $> 300^{\circ}\text{C}$.

5.12. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin nátriumsójának előállítása (DBCatNa₂)

A DBCatH₂ nátriumsójának előállítását szintén több módszerrel kíséreltük meg; ezek közül az alábbi két módszer vezetett eredményre:

A.) 2,22 g (10,00 mmól) DBCatH₂-t feloldottunk 10 ml 1 N-os dioxigénmentesített NaOH oldatban majd Ar atmoszférában szobahőfokon kevertettük. A kezdeti kék szín eltűnését követően a vizet vákuumban ledesztilláltuk, a száraz maradékot abszolútizált éterrel mostuk majd vákuumban szárítottuk. A végeredmény fehér porszerű anyag. Hozam: 2,50 g (85%). Op: 300°C .

B.) 2,22 g (10,00 mmól) DBCatH₂-t frissen desztillált THF-ban feloldottunk majd nátriumamalgámra öntöttük. Argon védőgáz alatt addig kevertettük a reakcióelegyet míg az teljesen elszíntelenedett. Ekkor inerten szűrtük és az oldószert vákuumban ledesztilláltuk. A száraz maradékot absz. éterrel mostuk, vákuumban szárítottuk. Hozam: 1,40 g (42%). Op: 300°C .

5.13. 3,5-Di-*terc*-butil-5-(karboxi-metil)-2-furanon előállítása¹¹⁰

0,25 g (1,00 mmól) 3,5-di-*terc*-butil-mukonsavanhidridet 0,14 g (3,50 mmól) NaOH-nak 1,50 ml vízzel készült oldatában oldottunk melegítés közben. Az oldatot szobahőfokra való lehűlése után híg sósavval megsavanyítottuk. A kivált terméket szűrtük és hexánból átkristályosítottuk. Eredményként fehér tűkristályokat kaptunk. Hozam: 0,23 g (93%). Op: 131-133°C. IR (nujol)/cm⁻¹: 3330, 1740, 1695, 1640. UV-Vis (MeOH), λ_{\max} /nm (log ϵ): 208 (4,06). ¹H NMR (CDCl₃), δ /ppm: 0,89 (s, 9H); 1,14 (s, 9H); 2,67 (d, 1H); 2,90(d, 1H); 6,87 (s, 1H); 8,63 (s, 1H).

5.14. 2,3-Dihidroxi-naftalin káliumsójának előállítása (Naph(OK)₂)

1,60 g (10,00 mmól) 2,3-dihidroxi-naftalint 50 ml frissen desztillált THF-ban oldottunk Ar atmoszférában majd 0,40 g (10,00 mmól) fémkáliumot adtunk az oldathoz és szobahőmérsékleten kevertettük. Intenzív hidrogénfejlődés indult meg majd a reakció előrehaladtával fehér színű csapadék vált ki az oldatból. A hidrogéngáz fejlődésének megszűnése után inerten szűrtük a csapadékot, kevés abszolútizált dietil-éterrel mostuk, vákuumban szárítottuk. Hozam: 2,30 g (98%). Op: 293°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 1622, 1479, 1404, 1335, 1264, 1173, 1151, 858, 853, 742, 486, 476. UV-Vis (DMF), λ_{\max} /nm (log ϵ): 267 (4,20), 295 (3,92), 348 (3,85), 357 (3,85).

5.15. 9,10-Dihidroxi-fenantrén előállítása¹¹¹

250 ml-es gömblombikba 20,00 g (96,00 mmól) finoman elporított fenantrénkinont 150 ml jégcetben oldottunk. A lombikot reflux hűtővel láttuk el, felmelegítettük és a forró oldathoz lassan, 20 perc alatt 15,00 g Zn-porot adtunk. A színtelen oldatot még 10 percig refluxáltuk, leöntöttük a Zn-porról és még forrón egy liter vízbe öntöttük. A 9,10-dihidroxi-fenantrén ebből az oldatból vált ki előbb tejszerű, majd pelyhes csapadék formájában. Hozam: 16,15 g (80%). Op: 145-147°C.

5.16. 9,10-Dihidroxi-fenantrén kálium sójának előállítása (Phen(OK)₂)

A.) 4,16 g (20,00 mmól) fenantrénkinont frissen desztillált THF-ban feloldottuk, majd káliumamalgámra öntöttük. Inert atmoszférában szobahőmérsékleten addig kevertettük, míg az oldat színtelen nem lett. Ezt követően inerten szűrtük, az oldószert vákuumban ledesztilláltuk. A száraz maradékot abszolútízált éterben szuszpendáltattuk, szűrtük, végül vákuumban szárítottuk. Eredményként piszkosfehér színű levegőre és nedvességre érzékeny porszerű anyagot kaptunk. Hozam 1,37 g (24%). Op: 234°C.

B.) 2,10 g (10,00 mmól) 9,10-dihidroxi-fenantrént és 1,12 g (10,00 mmól) K-*terc*-butoxidot inert atmoszférában bemértünk egy Schlenk-edénybe majd 50 ml frissen desztillált THF-ban oldottuk. Szobahőmérsékleten kevertettük 24 órán át majd szárazra pároltuk, a száraz maradékot absz. dietil-éterben vettük fel. A szuszpenziót leszűrtük, a szilárd anyagot vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,85 g (30%). Op: 234°C. UV-Vis (DMF), λ_{\max}/nm (log ϵ): 278 (3,40); 335 (3,21); 391 (2,92).

5.17. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin-dikáliumsó oxigénezési reakciójának vizsgálata

Gázbürettával, termosztáttal összekapcsolt speciálisan kialakított reakcióedényben, inert körülmények mellett 0,21 g (0,70 mmól) DBCatK₂-t oldottunk 50 ml dioxigénmentesített DMF-ban, 24°C-ra temperáltuk a reakcióelegyet majd az argon atmoszférát dioxigénre cseréltük. Ekkor a reakcióelegy 17 ml dioxigént vett fel hat óra leforgása alatt. A dioxigén fogyását gázbürettával mértük. A reakció során az eredetileg színtelen oldat dioxigén hatására azonnal intenzív kék színűvé változott majd a reakció előrehaladtával sárgává alakult. A reakcióelegy feldolgozása a következők szerint történt: elsőként vákuumban szárazra pároltuk az elegyet aminek eredményeként fehér, porszerű anyagot kaptunk. A kapott anyagot vízben feloldottuk, híg sósavval megsavanyítottuk, végül hexánnal extraháltuk. A hexános fázist felére bepárolva, mélyhűtőben tű alakú kristályos anyag, 3,5-di-*terc*-butil-5-(karboxi-metil)-2-furanon vált ki. Hozam: 0,11 g (60%). Op: 131°C.

5.18. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin-dikáliumsó oxigénezési reakciójának kinetikai vizsgálata

A kívánt hőfokra temperált kinetikai edénybe bemértük a DBCatK₂ adott koncentrációjú DMF-ban, inert atmoszférában készített oldatát, majd 10 perc argon ellenáramban történt kevertetés után az argon atmoszférát dioxigénre cseréltük. Az eredetileg színtelen oldat azonnal intenzív kék színűre változott, ami a kialakuló szemikínon-gyökhöz rendelhető. A reakció lejátszódását UV-Vis spektrofotometria segítségével követtük a gyök $\lambda_{\max} = 685$ nm hullámhossznál ($\varepsilon = 608 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$) jelentkező abszorpciós sávjának intenzitásváltozásának mérésével.

5.19. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin-dikáliumsó oxigénezési reakcióját kísérő kemilumineszcencia mérése

Egy 1,00 cm optikai úthosszúságú kvarcküvetába, DBCatK₂ DMF-ban inert atmoszférában frissen készített oldatából 3,00 ($3,88 \times 10^{-3}$ M) ml-t mértünk be, majd hozzáadtunk 20 μl ($6,70 \times 10^{-4}$ M) DMSO-ban készült luminol-oldatot, végül 45°C-ra állítottuk be az oldat hőmérsékletét. Dioxigént buborékoltatva át a rendszeren mértük az emittált fény intenzitásváltozását.

5.20. 2,3-Dihidroxi-naftalin-dikáliumsó oxigénezési reakciójának vizsgálata

Gázbürettával, termosztáttal összekapcsolt reakcióedényben inert körülmények mellett 0,27 g (1,18 mmól) Naph(OK)₂-t oldottunk fel 50 ml dioxigénmentesített DMF-ban, 30°C-ra temperáltuk a reakcióelegyet majd az argon atmoszférát dioxigénre cseréltük. A reakcióelegy 29 ml dioxigént vett fel 2 óra alatt. A dioxigén fogyását gázbürettával mértük. A reakció során az eredetileg színtelen oldat a dioxigén hatására egyre mélyülő mályvaszínűvé változott. A reakcióelegyet tizedére párolva lila színű, porszerű anyag vált ki amit szűrtünk, dietil-éterrel mostunk majd vákuumban szárítottunk. Hozam: 0,30 g (90%). Op: 300°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 1622, 1595, 1563, 1499, 1478, 1264, 858. Elemanalízis (%) (C₁₀H₆O₄K₂): Számított: C (44,75); H (2,24); Talált: C (43,01); H (2,35).

5.21. 9,10-Dihidroxi-fenantrén-dikáliumsó oxigénezési reakciójának vizsgálata

Inert körülmények mellett 50 ml DMF-ban oldottunk 1,35 g (4,72 mmól) Phen(OK)₂-t majd 25°C-ra temperáltuk a reakcióelegyet. Ezt követően dioxigén atmoszférára cseréltük az eredeti argon atmoszférát és mértük a dioxigén fogyását volumetrikus módszerrel. A reakcióelegy három óra alatt 115 ml dioxigént vett fel. A só DMF-ban (hasonlóan mint DMSO-ban) vörös színnel oldódott. A dioxigénfelvétel hatására az oldat vörös színe halványodott és a teljes dioxigén mennyiségének felvételére kisárgult. Ezt követően a reakcióelegyet továbbdolgoztuk. Vákuumban az oldószert ledesztilláltuk és a száraz maradékot vízben oldottuk. Híg sósavas oldattal megsavanyítottuk és éterrel extraháltuk. Az éteres fázist MgSO₄-tal szárítottuk majd az oldószert vákuumban ledesztilláltuk. A száraz maradék fehér porszerű anyag, difénsav volt. Hozam: 1,03 g (90%). Op: 225°C.

5.22. 1,3-Bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin előállítása (indH)⁹⁷

Visszacsepegő hűtővel ellátott 250 ml-s gömblombikba bemértünk 1,28 g (10,00 mmól) ftalonitrilt és 1,88 g (20,00 mmól) 2-amino-piridint majd intenzív kevertetés mellett 250°C-ra hevítettük és ezen a hőfokon tartottuk húsz órán át. A reakcióidő lejártá után az olvadékot 100 ml etanolba öntöttük. A kivált csapadékot leszűrtük majd etanolból átkristályosítottuk. Eredményként zöld színű, pelyhes anyagot kaptunk. Hozam: 2,81 g (94%). Op: 185°C.

5.23. 1,3-Bisz(N-metil-2'-piridil-imino)izoindolin-jodid előállítása ([Me₂ind]I)

3,00 g (10,00 mmól) indH-t 100 ml frissen desztillált THF-ban oldottunk argon atmoszférában majd 13 ml (21,00 mmól) *n*-butil-lítium oldatot (1,6 M hexánban) csepegtettünk hozzá szobahőmérsékleten. A reakcióelegyet félórai intenzív kevertetés után -20°C-ra hűtöttük le és 3,00 g (21 mmól) metil-jodidot adtunk hozzá. További intenzív kevertetés mellett hagytuk felmelegedni az oldatot, majd további 24 órát kevertettük Ar atmoszférában szobahőfokon. Az elegyből sötétvörös csapadék vált ki. A szilárd anyagot inerten szűrtük majd etanolból átkristályosítottuk. Hozam: 1,50 g (33%) sötétvörös tükristályok. Op: 253°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 1625, 1477, 1097, 776, 724. UV-Vis (H₂O), λ_{max}/nm (log ε): 229,5 (4,58); 322 (4,23); 403 (4,18). ¹H NMR (CDCl₃), δ/ppm: 4,13 (s,

3H); 7,41 (m, 1H); 7,67 (q, 1H); 7,85 (q, 1H); 8,27 (m, 2H); 8,65 (d, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 42,43; 118,30; 121,62; 122,41; 131,31; 139,39; 143,13; 156,75; 173,89. Elemanalízis (%) ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{I}$): Számított: C (52,76); H (3,95); N (15,39); Talált: C (53,08); H (3,82); N (15,18).

5.24. 1,3-Bisz(N-benzil-2'-piridil-imino)izoidolin-bromid előállítása ([Bz₂ind]Br)

3,00 g (10,00 mmól) indH-t 100 ml frissen desztillált THF-ban oldottunk argon védőgáz alatt majd 13 ml (21,00 mmól) *n*-butil-litium oldatot (1,6 M hexánban) csepegtettünk hozzá. A reakcióelegyet fél órán át szobahőfokon kevertettük majd 4,00 g (23,40 mmól) benzil-bromidot adtunk hozzá. Visszacsepegő hűtőt csatoltunk a berendezéshez majd 16 órán át 80°C-on tartottuk. A reakcióelegyből narancssárga csapadék vált ki. Miután az oldat lehűlt, szűrtük a csapadékot majd metanol/éter elegyből (1/100) átkristályosítottuk. Hozam: 1,60 g (29%). Op: 212°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 1619, 1471, 1097, 750, 698. UV-Vis (H_2O), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 230 (4,37); 323 (4,18); 408 (4,12). ^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 5,94 (s, 2H); 7,26 (m, 6H); 7,48 (m, 2H); 7,55 (q, 1H); 7,76 (q, 1H); 8,17 (m, 1H); 8,26 (d, 1H); 8,80 (d, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 57,34; 119,08; 122,28; 123,72; 128,72; 129,11; 129,21; 129,36; 129,59; 131,73; 134,91; 140,22; 142,25; 143,92; 157,69; 175,78. Elemanalízis (%) ($\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{Br}$): Számított: C (68,59); H (4,64); N (12,50); Talált: C (68,52); H (4,78); N (11,97).

5.25. [Me₂ind]I és [Bz₂ind]Br vízbéli oldhatóságának vizsgálata¹¹²

Egy tipikus oldhatóságmérési kísérlet során termosztált edénybe 50 ml desztillált vizet öntöttünk majd 30°C-ra állítottuk be a rendszer hőmérsékletét. A vizsgált anyagból telített oldatot készítettünk figyelve arra, hogy valamennyi feloldatlan anyag maradjon az edényben. A telítettség elérése után a rendszert hagytuk 25°C-ra lehűlni majd fél óráig ezen a hőfokon tartottuk. Az oldat koncentrációját UV-Vis spektrofotometria segítségével határoztuk meg a megfelelő abszorpciós sávok intenzitásának mérésével ([Me₂ind]I: $\lambda_{\text{max}} = 322 \text{ nm}$; [Bz₂ind]Br: $\lambda_{\text{max}} = 323 \text{ nm}$).

5.26. $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}_2]$ komplex előállítása

1,90 g (10,00 mmól) CuI -ot 10 ml acetonitrilben szuszpendáltattunk inert atmoszférában majd 4,55 g (10,00 mmól) $[\text{Me}_2\text{ind}]\text{I}$ 10 ml acetonitriles oldatát csepegtettük hozzá Ar ellenáramban. Ezt követően a vörös színű oldatot 8 órát refluxáltattuk miközben csapadékkiválás volt észlelhető. A lehűlt oldatot szűrtük, a csapadékot absz. éterrel mostuk, vákuumban szárítottuk. Hozam: 5,00 g (78%). Op: 300°C . IR (KBr)/ cm^{-1} : 1702, 1651, 1621, 1580, 1523, 1491, 1288, 1098, 1077, 768, 706. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log \epsilon$): 270 (4,01); 346 (4,22); 360 (4,01); 450 (4,36). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{I}_2\text{Cu}$): Számított: C (37,21); H (2,79); N (10,85); Cu (9,84); Talált: C (37,55); H (2,83); N (11,00); Cu (9,89).

5.27. $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Me}_2\text{ind})\text{I}](\text{ClO}_4)$ komplex előállítása

0,51 g (1,55 mmól) $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{CH}_3\text{CN})](\text{ClO}_4)$ -t 10 ml abszolútizált metilén-kloridban szuszpendáltattunk Ar ellenáramban majd 0,71 g (1,55 mmól) $[\text{Me}_2\text{ind}]\text{I}$ 10 ml CH_2Cl_2 -ben készített oldatát csepegtettük hozzá inert körülmények megtartása mellett. A vörös színű oldatot szobahőfokon kevertettük nyolc órán keresztül. Az oldatból élénk narancsvörös színű csapadék vált ki. A kapott anyagot inerten szűrtük, absz. dietil-éterrel mostuk majd vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,75 g (78%). Op: 263°C . IR (KBr)/ cm^{-1} : 1625, 1543, 1387, 1297, 1213, 1149, 1097, 769, 718, 628. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log \epsilon$): 265 (4,20); 342 (4,24); 450 (4,38). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_4\text{ClCu}$): Számított: C (38,85); H (2,91); N (11,33); Cu (10,28); Talált: C (39,23); H (2,96); N (11,63); Cu (10,63).

5.28. $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{Bz}_2\text{ind})\text{Br}](\text{ClO}_4)$ komplex előállítása

0,25 g (0,76 mmól) $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{CH}_3\text{CN})](\text{ClO}_4)$ -t 10 ml absz. metilén-kloridban szuszpendáltattunk majd a $[\text{Bz}_2\text{ind}]\text{Br}$ ligandum (0,43 g, 0,76 mmól) 10 ml metilén-kloridban készült oldatát csepegtettük hozzá argon ellenáramban. Szobahőfokon egy napi kevertetés hatására téglavörös csapadék vált ki az oldatból. A csapadékot inerten szűrtük, absz. éterrel mostuk, vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,36 g (65%). Op: 135°C . IR (KBr)/ cm^{-1} : 1625, 1599, 1535, 1497, 1104, 745, 690, 628. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log \epsilon$): 265 (4,05); 347 (4,04); 454 (4,09). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_4\text{ClBrCu}$):

Számított: C (53,13); H (3,59); N (9,68); Cu (8,79); Talált: C (53,56); H (3,61); N (9,87); Cu (8,76).

5.29. [Cu^{II}(indH)(DBCat)] komplex előállítása

Egy Schlenk-edényben összemértünk 0,53 g (1,77 mmól) izoindolint, 0,39 g (1,77 mmól) DBCatH₂-t valamint 0,22 g (1,77 mmól) réz-dimetoxidot. Argon atmoszférába helyeztük a rendszert és 20 ml abszolútizált acetonitrilt adtunk hozzá. A keletkezett oldatot 72 órát szobahőmérsékleten kevertettük, mialatt zöld színű csapadék kiválást észleltünk. A csapadékot szűrtük, absz. dietil-éterrel mostuk majd vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,88 g (85%). Op: 343°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 3118, 3086, 2957, 1638, 1580, 1535, 1458, 1432, 1303, 1104, 782, 705. UV-Vis (DMF), λ_{max}/nm (log ε): 331 (4,29); 420 (4,30); 446 (4,19); 663 (2,59). Elemanalízis (%) (C₃₂H₃₃N₅O₂Cu): Számított: C (65,33); H (5,38); N (11,61); Cu (10,92), Talált: C (66,04); H (5,49); N (12,04); Cu (11,03). μ_{eff} = 1,81 BM.

5.30. Trisz[(2-piridil)-metil]-amin előállítása¹⁰⁰

500 ml-es gömblombikba bemértünk 13,00 g (79,00 mmól) pikolil-klorid-hidrokloridot, 5 ml vízben feloldottuk majd jégűtés mellett 15 ml 5,40 N-os (79,50 mmól) NaOH oldatot adtunk hozzá. Az amin mélyvörös emulzió formájában szabadul fel sójából. Ehhez az emulzióhoz adagoltunk kevertetés és hűtés mellett 4,27 g (39,50 mmól) pikolil-amint. A következő négy napban egyenlő részletekben további 15 ml 5,40 N-os NaOH oldatot adtunk a reakcióelegyhez ügyelve arra, hogy az oldat pH-ja ne emelkedjék 9,5 fölé. Legvégül 24 ml 5 N-os (0,12 mól) perklórsavat adtunk az elegyhez, aminek következtében kristálykiválás indult meg. Hat órával később 80 ml 20°C-on telített, forró NaClO₄ oldatot adtunk a reakcióelegyhez majd hagytuk kihűlni. Másnap szűrtük a kivált kristályokat és szárítás után vízből átkristályosítottuk. Hozam: 13,00 g (55%) trisz[(2-piridil)-metil]-amin-perklorát.

A trisz[(2-piridil)-metil]-amin-perklorátból 3,00 g-ot (7,68 mmól) 100 ml vízben oldottunk majd 20 ml 5 N-os NaOH oldattal semlegesítettük, végül háromszor 30 ml metilén-kloriddal extraháltuk. Az egyesített szerves fázist vízmentes Na₂SO₄-on szárítottuk, tizedére bepároltuk és hűtőszekrénybe tettük. Másnap a kivált fehér kristályokat szűrtük és vákuumban szárítottuk. Hozam 1,32 g (90%). Op: 85°C.

5.31. [Cu^{II}(TPA)(DBCat)] komplex előállítása

0,15 g (0,51 mmól) trisz[(2-piridil)-metil]-amint, 0,11 g (0,51 mmól) DBCatH₂-t és 0,06 g (0,51 mmól) réz-dimetoxidot összemértünk és inert atmoszférába helyeztük egy Schlenk edényben. A komponenseket 10 ml absz. metilén-kloridban oldottuk, majd szobahőfokon argon ellenáramban kevertettük 48 órán át. Az oldatból kivált csapadékot szűrtük, éterrel mostuk végül vákuumban szárítottuk. Hozam 0,26 g (89%) barnás zöld színű por. Op: 103°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 2947, 1597, 1466, 1438, 1417, 1250, 978, 770. UV-Vis (DMF), λ_{max}/nm (log ε): 271 (3,95); 305 (3,90); 377 (3,26); 677 (2,21). Elemanalízis (%) (C₃₂H₃₈N₄O₂Cu): Számított: C (66,96); H (6,62); N (9,76); Cu (11,07); Talált: C (66,35); H (6,38); N (9,29); Cu (10,95). μ_{eff} = 2,01 BM.

5.32. 3,5-Di-fenil-pirazol előállítása¹¹³

7,57 g (34,00 mmól) dibenzoil-metánt 15 ml etanolban oldottunk majd 2,04 g (41,00 mmól) hidrazin-monohidrátot csepegtettünk hozzá. Az elegyet addig melegítettük, amíg a dibenzoil-metán teljes mennyisége feloldódott (~ 50°C) és csapadék kiválás kezdődött meg. Az oldatot további fél órán át ezen a hőfokon tartottuk majd hagytuk kihűlni. Miután az elegy kihűlt, a kivált fehér kristályokat szűrtük és acetontól átkristályosítottuk. Hozam: 6,40 g (85%). Op: 98°C. ¹H NMR (DMSO-d₆), δ/ppm: 7,12 (s, 1H); 7,30-7,50 (m, 6H); 7,85-7,95 (m, 4H); 12,52 (s 1H). Elemanalízis (%) (C₁₅H₁₂N₂): Számított: C (81,79); H (5,49); N (12,72); Talált: C (81,95); H (5,45); N (12,79).

5.33. K[HB(R₂pz)₃] ligandumok előállítása¹⁰²

K[HB(pz)₃]: Gázbürettával összekapcsolt Schlenk-edénybe 2,75 g (40,00 mmól) pirazolt és 0,54 g (10,00 mmól) KBH₄-ot mértünk be majd 200°C-ra hevítettük. Az elegyet ezen a hőfokon tartottuk amíg 735 ml dihidrogén gáz szabadult fel. Ezt követően intenzív kevertetés mellett 100 ml toluolba öntöttük az ömledéket, aminek hatására azonnali csapadék kiválás indult meg. A kivált csapadékot szűrtük, 30 ml forró toluollal és 50 ml hexánnal mostuk, végül levegőn hagytuk megszáradni. Hozam: 1,40 g (56%). Op: 187°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 2430, 1638, 1503, 1426, 1387, 1291, 1220, 1117, 1052, 782, 756, 737, 679, 628. ¹H NMR (DMSO-d₆), δ/ppm: 3,35 (s, 1H); 5,99 (t, 1H); 7,30 (m, 1H). Elemanalízis

(%) ($C_9H_{10}N_6BK$): Számított: C (42,88); H (3,97); N (28,59); Talált: C (43,02); H (3,98); N (29,08).

K[HB(Me₂pz)₃]: A ligandum előállítása a fentiekkel azonos módszerrel történt 3,5-dimetil-pirazol alapvegyület felhasználásával. Hozam: 59,19%. Op: 298°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 2961, 2925, 2438, 1538, 1416, 1372, 1350, 1191, 1158, 1071, 1025, 815, 775, 761, 666, 640. Elemanalízis (%) ($C_{15}H_{22}N_6BK$): Számított: C (53,60); H (6,54); N (25,01); Talált: C (54,01); H (7,11); N (25,21).

K[HB(ph₂pz)₃]: A ligandum előállítása a fentiekkel azonos módszerrel történt 3,5-di-fenil-pirazol alapvegyület felhasználásával. Hozam: 46,58%. Op: 270°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 3062, 2873, 2527, 1605, 1479, 1462, 1177, 1073, 779, 770, 760, 701, 564. ¹H NMR (DMSO-d₆), δ/ppm: 6,75 (s, 3H); 6,95-7,50 (m, 18H); 7,80-7,95 (m, 12H). Elemanalízis (%) ($C_{45}H_{34}N_6BK$): Számított: C (76,29); H (4,80); N (11,87); Talált: C (76,47); H (4,91); N (11,57).

5.34. K[Cu^{II}(HB{R₂pz}₃)(DBCat)] komplexek előállítása

Schlenk edényben 0,31 g (1,22 mmól) kálium-hidrido-trisz-pirazolil-borátot, 0,27 g (1,22 mmól) DBCatH₂-t és 0,15 g (1,22 mmól) réz-dimetoxidot mértünk össze, majd Ar atmoszférába helyeztük és 20 ml absz. MeOH-t adtunk hozzá. 48 órát szobahőmérsékleten kevertettük, végül a kivált zöld színű csapadékot inerten szűrtük, metanollal mostuk és vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,40 g (58%). Op: 190°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 2957, 2474, 1500, 1478, 1405, 1386, 1310, 1213, 1056, 753, 716. UV-Vis (DMF), λ_{max}/nm (log ε): 271 (3,71); 296 (3,74); 388 (3,24); 719 (2,26). Elemanalízis (%) ($C_{23}H_{30}N_6O_2BKCu$): Számított: C (51,56); H (5,59); N (15,69); Cu (11,86); Talált: C (50,95); H (5,63); N (15,94); Cu (12,01). μ_{eff} = 2,05 BM.

A pirazol gyűrűk 3 és 5 helyein metil- illetve fenilszubsztituenseket tartalmazó ligandumokkal képzett komplexek előállítása analóg módon történt:

57: Hozam: 52% világos zöld színű por. Op: 295°C. IR (KBr)/cm⁻¹: 2926, 2507, 1542, 1445, 1416, 1204, 1066, 807, 769, 647. UV-Vis (DMF), λ_{max}/nm (log ε): 218 (2,65); 305 (3,27); 357(3,09); 667(1,92). Elemanalízis (%) ($C_{29}H_{42}N_6O_2BKCu$): Számított: C (56,19);

H (6,78); N (13,56); Cu (10,25); Talált: C (55,83); H (6,63) N (14,11); Cu (10,13). $\mu_{\text{eff}} = 2,01$ BM.

58: Hozam 53% világos zöld színű por. Op: 208°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 2955, 2611, 1579, 1478, 1461, 1363, 1172, 1073, 1062, 757, 696. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 305 (3,87); 393 (3,21); 719 (1,87). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{59}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_2\text{BKCu}$): Számított: C (71,42); H (5,44); N (8,49); Cu (6,40); Talált: C (71,64); H (5,28); N (9,01); Cu (6,26). $\mu_{\text{eff}} = 2,10$ BM.

5.35. $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{HB}\{\text{R}_2\text{pz}\}_3)(\text{DBSQ})]$ komplexek előállítás

0,23 g (0,62 mmól) $[\text{Cu}^{\text{I}}(\text{CH}_3\text{CN})_4](\text{PF}_6)$ -ot inert körülmények mellett 10 ml abszolútizált metanolban szuszpendáltattunk majd hozzásepegtettük előbb 0,16 g (0,62 mmól) $\text{K}[\text{HB}(\text{pz})_3]$ 10 ml metanolos oldatát, majd 0,14 g (0,62 mmól) DBQ 10 ml absz. metanolban készült oldatát. A sötétzöld színű oldatot 48 órán át kevertettük Ar ellenáramban szobahőmérsékleten, miközben sötétzöld színű csapadék kiválást tapasztaltunk. Az elegyet inerten szűrtük, a csapadékot metanollal mostuk és vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,16 g (50%). Op: 185°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 2956, 2474, 1579, 1478, 1458, 1405, 1310, 1212, 1114, 1056, 986, 754, 723. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 270 (3,73); 293 (3,72); 389 (3,35). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_2\text{BCu}$): Számított: C (55,62); H (6,04); N (16,92); Cu (12,80); Talált: C (55,93); H (6,33); N (17,15); Cu (13,02). $\mu_{\text{eff}} = 1,73$ BM.

A pirazol gyűrűk 3 és 5 helyein metil- illetve fenilszubsztituenseket tartalmazó ligandumokkal képzett komplexek előállítás analóg módon történt:

60: Hozam: 75%. Op: 228°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 2958, 2504, 1545, 1477, 1445, 1419, 1386, 1357, 1204, 1066, 857, 809, 646. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 271 (3,75); 302 (3,92); 383 (3,37); 529 (2,32). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_2\text{BCu}$): Számított: C (59,97); H (7,23); N (14,47); Cu (10,94); Talált: C (59,48); H (7,43); N (14,58); Cu (10,56). $\mu_{\text{eff}} = 1,52$ BM.

61: Hozam: 55%. Op: 210°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 2956, 2596, 1577, 1479, 1461, 1364, 1171, 1073, 760, 697. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (log ϵ): 305 (3,87); 393 (3,28). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{59}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_2\text{BCu}$): Számított: C (74,35); H (5,67); N (8,82); Cu (6,67); Talált: C (74,26); H (5,33); N (8,66); Cu (6,29). $\mu_{\text{eff}} = 1,58$ BM.

5.36. 1,2-Bisz(3,4-diciano-fenoxi)-benzol előállítása¹¹⁴

3,90 g (22,50 mmól) nitro-ftalonitrilt, 1,10 g (10,00 mmól) pirokatechint, valamint 7,00 g (50,00 mmól) K_2CO_3 -ot 25 ml vízmentes DMF-ban oldottunk majd az elegyet 36 órán át szobahőmérsékleten kevertettük. A reakcióidő lejártá után 150 ml vízbe öntöttük majd etil-acetáttal extraháltuk. A szerves fázist telített $NaHCO_3$ oldattal, vízzel és telített $NaCl$ oldattal mostuk, $MgSO_4$ -on szárítottuk majd az oldószert vákuumban ledesztilláltuk. Hozam: 0,78 g (78%). Op: 190°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 2229, 1587, 1567, 1487, 1286, 1246, 1104, 770, 527. ^{13}C NMR (DMSO- d_6), δ/ppm : 108,36, 114,85, 115,42, 116,29, 121,17, 121,47, 122,93, 127,44, 135,75, 144,22, 159,65. Elemanalízis (%) ($C_{22}H_{10}N_4O_2$): Számított: C (72,93); H (2,78); N (15,64); Talált: C (73,05); H (2,44); N (15,61).

5.37. O-fenilén-bisz[6-oxil-1,3-bisz(2'-piridil-imino)izoindolin] (L) előállítása

Visszacsepegő hűtővel ellátott Schlenk-edénybe bemértünk 0,64 g (1,75 mmól) 1,2-bisz(3,4-diciano-fenoxi)-benzolt, 0,69 g (7,36 mmól) 2-amino-piridint, 0,05 g (0,35 mmól) vízmentes $CaCl_2$ -ot és 20 ml *n*-butanolt. A keletkező oldatot 48 órán át refluxáltattuk, mialatt a kezdeti színtelen oldat előbb sárga majd fokozatosan zöld színűvé változott. A reakcióidő lejártá után az oldószer felét ledesztilláltuk, a kivált sárga csapadékot szűrtük és etanolból átkristályosítottuk. Hozam: 0,45 g (36%). Op: 170°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 3428, 3078, 3038, 2359, 2229, 1627, 1581, 1487, 1456, 1287, 1259, 1246, 1202, 1184, 1104, 797, 768, 668, 524. UV-Vis (DMF), λ_{max}/nm (log ϵ): 305 (4,21); 348 (4,04); 366 (4,04); 386 (4,06); 407 (3,87). ^{13}C NMR ($CDCl_3$), δ/ppm : 109,64; 114,54; 114,91; 117,60; 120,47; 120,59; 123,43; 128,27; 135,27; 137,89; 144,55; 160,10. Elemanalízis (%) ($C_{42}H_{28}N_{10}O_2$): Számított: C (71,60); H (3,97); N (19,89); Talált: C (71,73); H (4,17); N (19,34).

5.38. $[\text{Cu}_2\text{L}](\text{CF}_3\text{SO}_3)_4$ komplex előállítása

0,31 g (0,85 mmól) réz(II)-triflátot 10 ml abszolútizált metilén-kloridban szuszpendáltattunk inert atmoszférában majd 0,30 g (0,42 mmól) *o*-fenilén-bisz[6-oxil-1,3-bisz(2'-piridil-imino)izoidolin] 10 ml metilén-kloridban készült oldatát csepegtettük hozzá argon ellenáramban. A keletkezett oldatot 48 órán át szobahőfokon kevertettük majd bepároltuk az eredeti mennyiség tizedére és a komplexet tízszeres dietil-éter felesleggel kicsaptuk. A szilárd anyagot szűrtük, éterrel kezeltük, végül vákuumban szárítottuk. Hozam: 0,33 g (55%). Op: 195°C. IR (KBr)/ cm^{-1} : 3495, 2234, 1637, 1532, 1485, 1282, 1258, 1178, 1119, 1104, 1032, 787, 640, 524. UV-Vis (DMF), $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log \epsilon$): 271 (4,60); 312 (4,51); 346 (4,37); 425 (4,45); 451(4,38). Elemanalízis (%) ($\text{C}_{46}\text{H}_{28}\text{N}_{10}\text{O}_{14}\text{F}_{12}\text{S}_4\text{Cu}_2$): Számított: C (38,69); H (1,96); N (9,81); Cu (8,90); Talált: C (38,65); H (2,04); N (9,73); Cu (8,80). $\mu_{\text{eff}} = 1,35 \text{ BM}$.

5.39. 3,5-Di-*terc*-butil-pirokatechin oxidációs reakcióinak reakciókinetikai vizsgálata

Termosztálható kinetikai edénybe bemértünk 50 ml DBCatH₂ ismert koncentrációjú törzsoldatát, a kívánt hőfokra temperáltuk majd dioxigénnel telítettük a rendszert. Ezt követően csiszolatos bemérő kanál segítségével hozzáadtuk a megfelelő katalizátor kívánt mennyiségét. A reakció lefutását a keletkező DBQ $\lambda_{\text{max}} = 400 \text{ nm}$ -nél ($\epsilon = 1688 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) jelentkező abszorpciós sávjának intenzitás mérésével követtük.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozatban bemutatott kutatómunka célja az aromás vegyületek biológiai lebontásának első lépésében keletkező fontos hidroxilezett köztitermék, a pirokatechin oxidációs folyamatainak vizsgálata volt modellvegyületek alkalmazásával. Ennek érdekében a szükséges autooxidációs reakciók tanulmányozása után, egyszerű réztartalmú működési- és szerkezeti enzimmodelleket állítottunk elő és vizsgáltuk katalitikus aktivitásukat a szubsztrátum oxidációs folyamataiban.

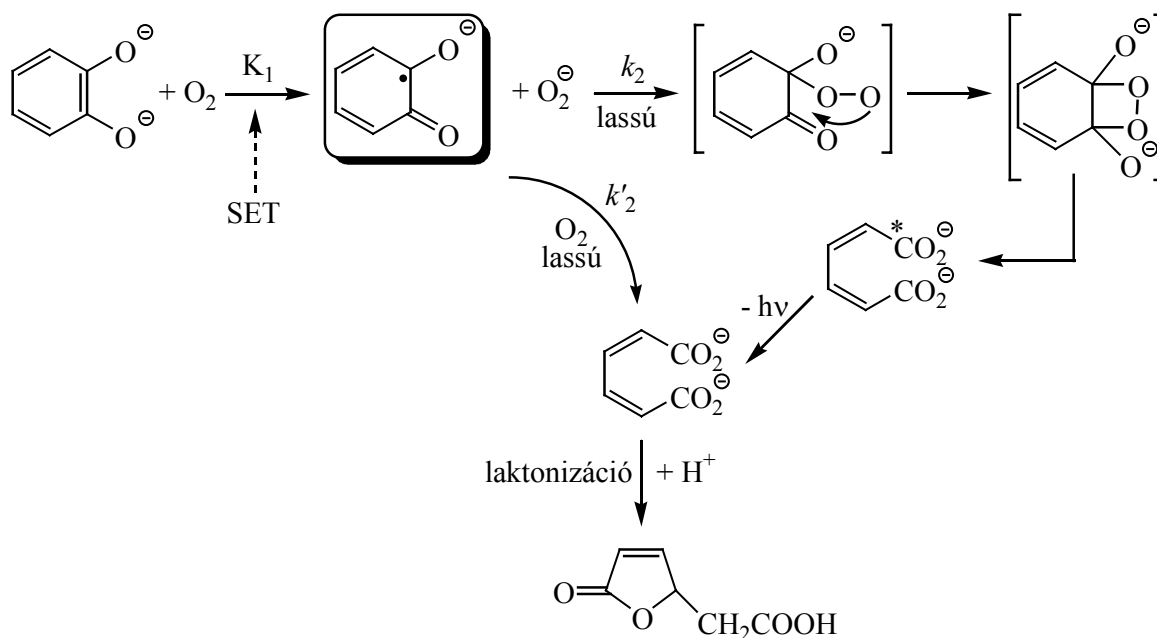
6.1. Pirokatechinek autooxidációs reakciói aprotos oldószerben

A pirokatechinek aprotikus oldószerben történő oxigénezési reakcióinak pontos megismerése érdekében előállítottuk és jellemeztük a 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin, 2,3-dihidroxi-naftalin és 9,10-dihidroxi-fenantrén alkálifém-sóit és vizsgáltuk reakciójukat dioxigénnel különböző aprotos oldószerben (THF, dietil-éter, DMSO, DMF). Gázvolumetrikus mérésekkel megállapítottuk, hogy a reakció 1:1 sztöchiometria szerint játszódik le.

A reakcióban keletkező köztitermékek kimutatására ESR és kemilumineszcenciás méréseket végeztünk. ESR-spektrumuk alapján azonosítottuk a reakcióban keletkező 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikinin, 2,3-naftoszemikinin és 9,10-fenantrénszemikinin gyökös intermediereket. A reakciókat kísérő fényemissziót spektrofluoriméterrel mértük, így módon nyerve bizonyítékot 1,2-dioxetán köztitermék keletkezéséről.

A reakciómechanizmus pontos megismerése céljából részletes kinetikai méréseket végeztünk. Vizsgáltuk a 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin-dikáliumsó reakcióját dioxigénnel DMF oldószerben. Megállapítottuk, hogy a reakció egy gyors SET-mechanizmusú elektronátadással indul melynek során a diaionról egy elektron kerül át a dioxigénre gyökös intermediereket, 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikinit és kálium-szuperoxidot szolgáltatva. A bruttó reakcióban két részfolyamat verseng egymással a keletkezett szemikinin-gyökért. Egyfelől a nagy feleslegben jelenlevő dioxigén lesz a 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikinin reakciópartnere, konsekutív reakcióban 2,4-di-*terc*-butil-*cisz-cisz*-mukonsavat szolgáltatva végtermékként. A párhuzamos reakcióban a viszonylag nagy stabilitással rendelkező szemikinin intermedier, gyök-gyök reakcióban reagál a kálium-szuperoxiddal 1,2-dioxetán köztiterméket eredményezve. Ennek a gyűrűs köztiterméknek a

homolitikus kötésfelhasadási reakciójával vezethető le a gerjesztett energiaállapotú 2,4-di-*tert*-butil-*cisz-cisz*-mukonsav keletkezése. Az energiátöbblet fényemisszió formájában hasznosul, amit a reakciót kísérő kemilumineszcencia támaszt alá. A reakcióban keletkező mukonsav, sav hatására 5-(karboxi-metil)-3,5-di-*tert*-butil-2-furanonná alakul át.



6.2. Réztartalmú enzimmodellek vizsgálata

Réz(I)-komplexek

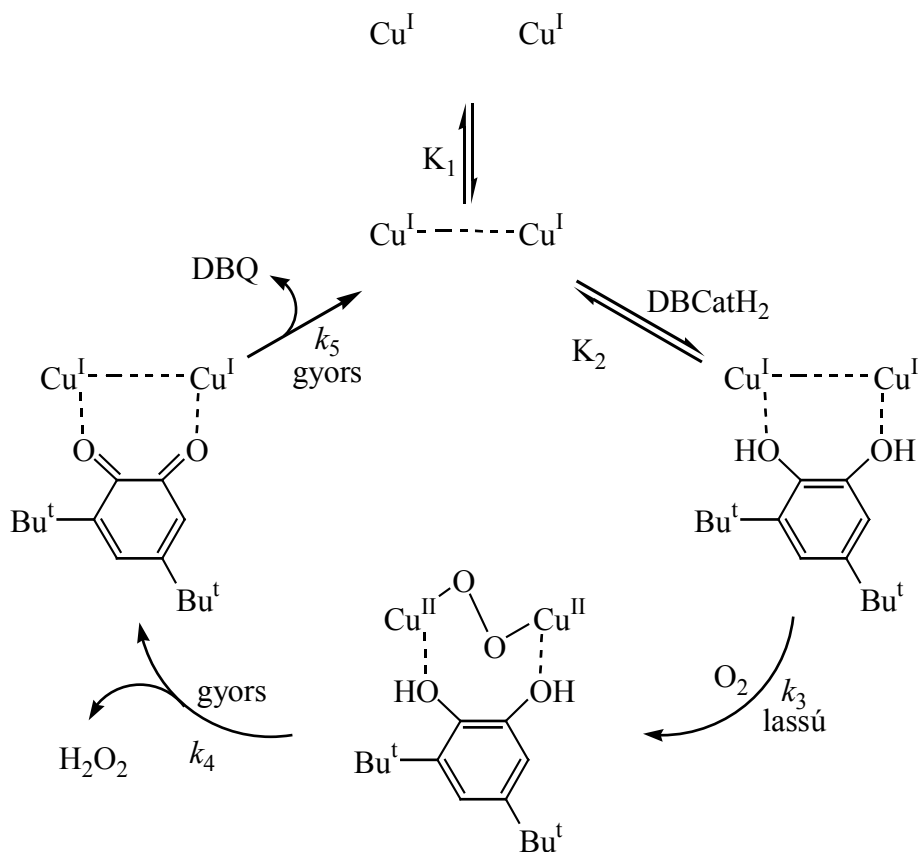
1,3-Bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin nem szokványos alkilezési reakciójával állítottunk elő és jellemeztünk két új ikerionos szerkezetű vegyületet: 1,3-bisz(*N*-metil-2'-piridil-imino)-izoindolin-jodidot és 1,3-bisz(*N*-benzil-2'-piridil-imino)-izoindolin-bromidot.

A fenti vegyületeket mint egyfogú, nitrogén-donor ligandumokat alkalmazva állítottuk elő az [(1,3-bisz{*N*-metil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(dijodo)réz(I)], [(1,3-bisz{*N*-metil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(jodo)réz(I)](perklorát) és [(1,3-bisz{*N*-benzil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(bromo)réz(I)](perklorát) komplexeket. A kapott vegyületeket spektroszkópai módszerekkel azonosítottuk, illetve az első komplex esetében a röntgendiffrakciós szerkezetet is sikerült meghatároznunk.

A 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin a fent említett komplexek jelenlétében elvégzett katalitikus oxidációs reakcióinak vizsgálatával az alábbiakat állapítottuk meg:

1. Mindhárom komplex katalitikusan aktív a vizsgált modellreakcióban, termékként 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzokinon és hidrogén-peroxid keletkeznek. Gyűrűnyitási reakcióra utaló terméket nem tudtunk kimutatni, tehát szelektív pirokatechin-oxidáz modelleknek tekintendők. A legjobb katalitikus aktivitást a benzilezett ligandummal előállított komplex mutatta.
2. Az [(1,3-bisz{*N*-metil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(dijodo)réz(I)] komplex által katalizált reakció kinetikai vizsgálata során trimolekuláris sebességi egyenlethez jutottunk, melyben mindegyik komponens részrendje egy. Meghatároztuk az aktiválási paramétereket; az aktiválási szabadentropia alapján megállapítható, hogy a reakció asszociációs mechanizmussal játszódik le.
3. Az [(1,3-bisz{*N*-benzil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(bromo)réz(I)](perklorát) komplex esetében végzett kinetikai vizsgálatok az előzőektől eltérő eredményekhez vezettek. A reakciósebesség első rendű függőséget mutat a szubsztrátum- és dioxigénkoncentrációktól, míg a katalizátor részrendje kettő. Az aktiválási szabadentropia értéke asszociációs reakciómechanizmusra utal.
4. A kapott kinetikai eredmények alapján javaslatot tettünk a reakciók mechanizmusára. A katalizátormolekulák szerkezetbeli különbségéből adódó eltéréseket tapasztaltunk. Az [(1,3-bisz{*N*-benzil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(bromo)réz(I)](perklorát) komplex disszociábilis perklorát-ellenanionja, valamint a koordinációs szférában található kis méretű bromidion dimerizálódásra ad lehetőséget folyadékfázisban, így a katalízis ezzel a dimerizációs lépéssel indul. Az [(1,3-bisz{*N*-metil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(dijodo)réz(I)] komplex sokkal merevebb, kompaktabb szerkezetű, így itt dimerizációs jelenséget nem tapasztalhatunk. A szubsztrátum aktiválásában a monomer komplex vesz részt. Mindkét reakcióút esetében feltételezhető egy terner-komplex kialakulása, mely a szubsztrátum-, katalizátor- és dioxigén molekulákból épül fel. Ezen molekulákból eliminációs reakciókban keletkeznek a termékek, illetve szabadul fel a katalizátormolekula, mely újabb szubsztrátum oxidációját végezheti el egy következő ciklusban.

Az alábbi ábrán a 3,5-di-*tert*-butil-pirokatechin katalitikus oxidációs reakciójának mechanizmusát mutatom be [(1,3-bisz{*N*-benzil-2'-piridil-imino}-izoindolináto)(bromo)-réz(I)](perklorát) komplex jelenlétében.



Szubsztrátumot tartalmazó réz(II) komplexek

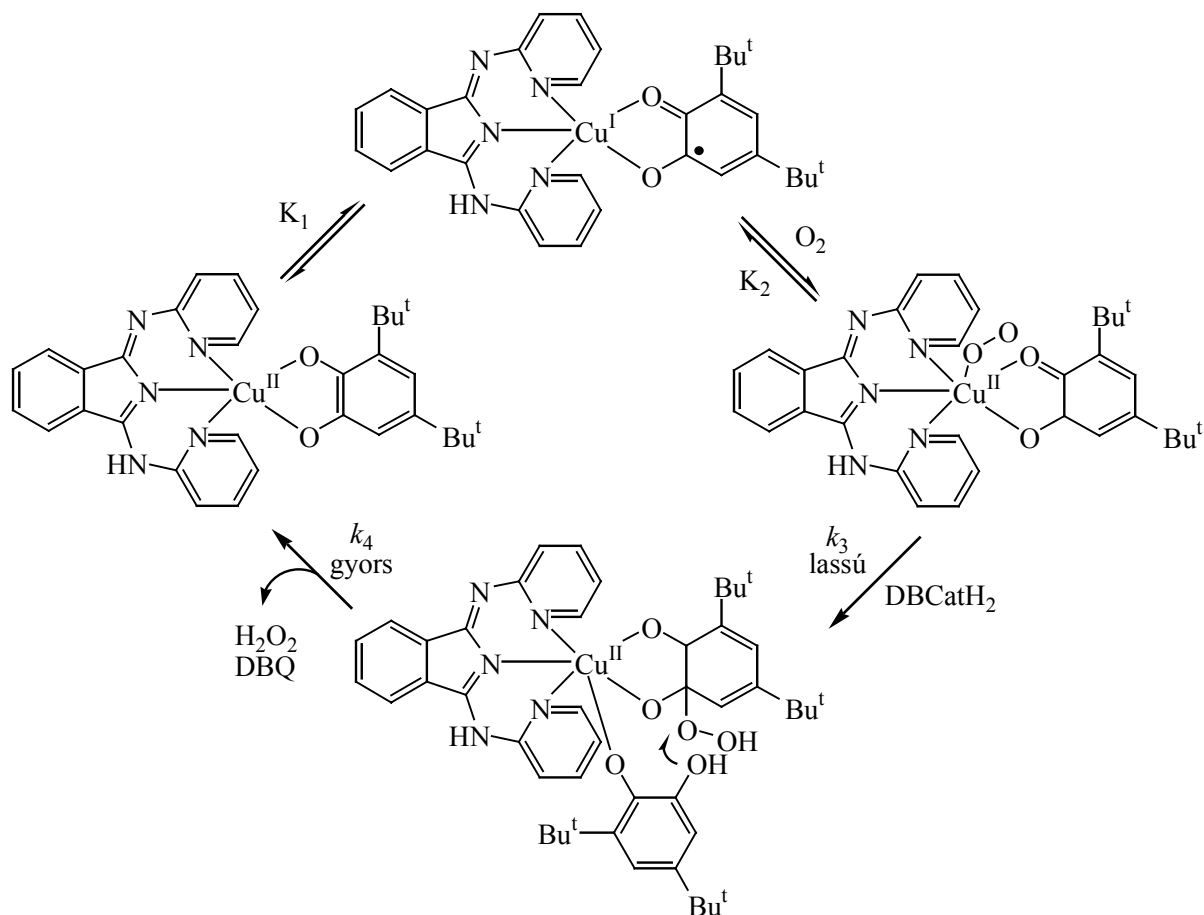
Az enzimmkatalízis jobb megértésének érdekében olyan vegyesligandumú réz(II)-komplexeket állítottunk elő, melyek eleve tartalmazták a szubsztrátummolekulát. 3,5-Di-*tert*-butil-pirokatechin, nitrogén-donoratomokat tartalmazó ligandumok, valamint réz(II)-dimetoxid felhasználásával a következő pirokatechináto-komplexeket állítottuk elő: [(1,3-bisz{2'-piridil-imino}izoindolináto)(3,5-di-*tert*-butil-pirokatechináto)réz(II)]; [(trisz{(2-piridil)-metil}-amino)(3,5-di-*tert*-butil-pirokatechináto)réz(II)]; kálium-[(hidridotrisz-pirazolil-boráto)(3,5-di-*tert*-butil-pirokatechináto)réz(II)]; kálium-[(hidridotrisz{3,5-dimetil-pirazolil}-boráto)(3,5-di-*tert*-butil-pirokatechináto)réz(II)]; kálium-[(hidridotrisz{3,5-difenil-pirazolil}-boráto)(3,5-di-*tert*-butil-pirokatechináto)réz(II)]. Hidridotrisz-pirazolil-borát ligandumokat, 3,5-di-*tert*-butil-*o*-benzokinont és

[tertakisz(acetonitrilo)réz(I)](hexafluoro-foszfát)-ot reagáltatva egymással (szemikinsonáto)réz(II)-komplexekeket állítottunk elő melyek a következők: [(hidridotrisz-pirazolil-boráto)(3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikinsonáto)réz(II)]; [(hidridotrisz{3,5-dimetil}-pirazolil-boráto)(3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikinsonáto)réz(II)]; [(hidridotrisz{3,5-difenil-pirazolil-boráto)(3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikinsonáto)réz(II)]. Az előállított komplexek összetételét elemanalízissel, szerkezetüket standard spektroszkópiás mérésekkel határoztuk meg.

Vizsgáltuk katalitikus aktivitásukat 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin oxidációs reakcióiban. A kapott eredmények alapján a következő megállapításokat tehetjük:

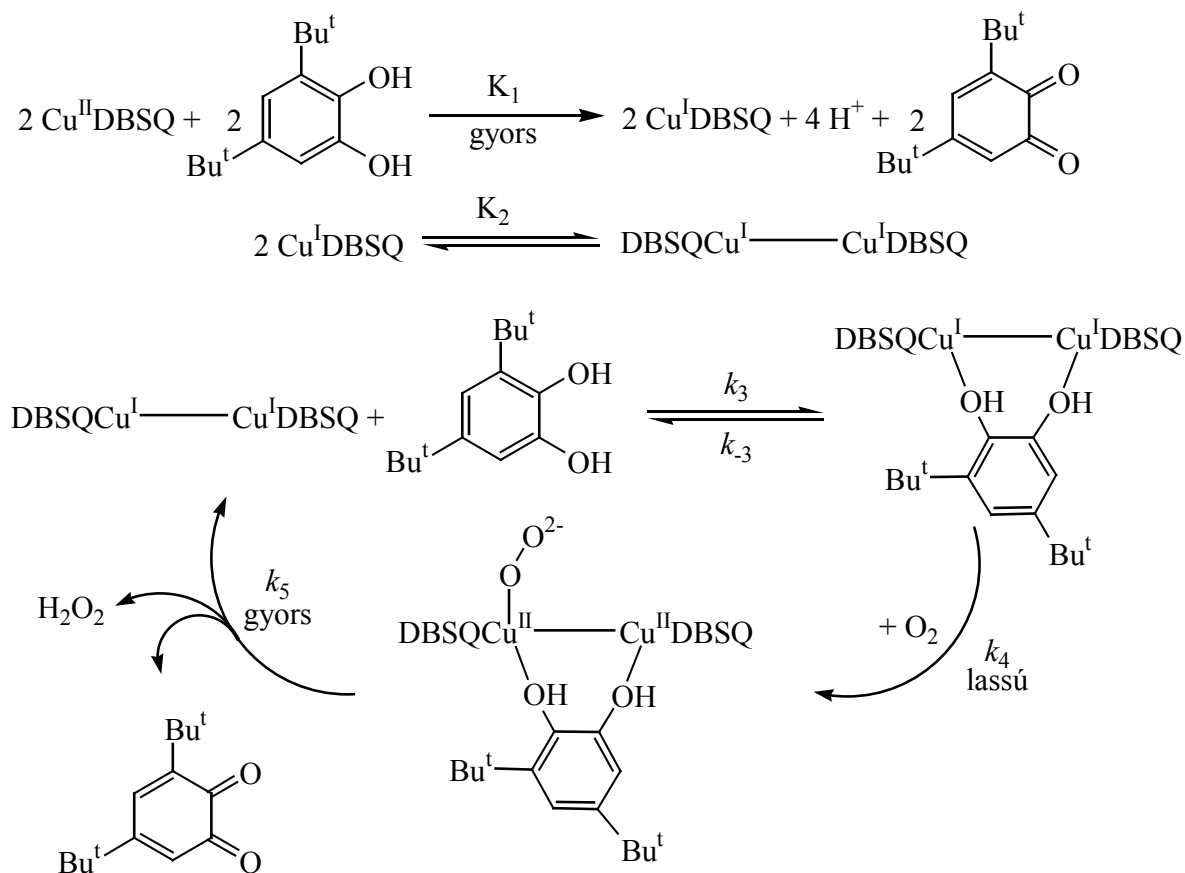
1. Az általunk előállított valamennyi - pirokatechináto és szemikinsonáto komplex - katalitikusan aktívnek bizonyult a 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin oxidációs reakciójában. Termékként minden esetben 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzokion és hidrogén-peroxid keletkeztek. Dioxigenáz aktivitásra utaló gyűrűnyitott terméket nem tudtunk kimutatni a reakcióelegyből, következésképpen a komplexek szelektív pirokatechin-oxidáz modellként viselkednek.
2. A reakciók részletes kinetikai vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy klasszikus Michaelis-Menten féle telítési kinetika teljesül mindegyik esetben.
3. Elvégeztük az [(1,3-bisz{2'-piridil-imino}izoindolináto)(3,5-di-*terc*-butil-pirokatechináto)réz(II)] és [(trisz{(2-piridil)-metil}-amin)(3,5-di-*terc*-butil-pirokatechináto)réz(II)] komplexek által katalizált reakciók részletes kinetikai vizsgálatát. Mindkét reakció trimolekuláris sebességi egyenlettel írható le, melyben a katalizátor és a dioxigén részrendje egy, a szubsztrátumra telítési kinetika adódik. Kis szubsztrátumkoncentrációnál a reakciósebesség első rend szerint függ a koncentrációtól, míg egy telítési koncentráció elérése után a reakciósebesség nem növelhető tovább a szubsztrátumkoncentráció növelésével, tehát a rend nulla lesz. Meghatároztuk az aktiválási paramétereket, az aktiválási szabadentropiára kapott negatív értékek asszociatív reakciómechanizmust támasztanak alá.
4. A kapott eredmények alapján javaslatot tettünk a reakciómechanizmusra. ESR-spektroszkópiás mérésekkel kimutattuk, hogy az előállított komplexekre egy pirokatechináto-réz(II) \leftrightarrow szemikinsonáto-réz(I) egyensúly jellemző folyadékfázisban. A reakció kezdeti lépésében a jelenlevő szemikinsonáto-réz(I) aktív molekula reakcióba lép a dioxigénnel A_N reakcióban. A kialakult peroxo-réz(II)-komplex a lassú, sebességmeghatározó lépésben reagál a

pirokatechinrel. A kialakult terner intermedier-komplex, hidrogén-peroxid és 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzokinon eliminációval stabilizálódik, majd a katalitikus ciklus zárul.



5. A (szemikidonáto)réz(II)-komplexek közül a [(hidridotrisz{3,5-difenilpirazolil-boráto})(3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzoszemikidonáto)réz(II)] komplex mutatta a legjobb katalitikus aktivitást, így a kinetikai vizsgálatokat ezen komplex jelenlétében végeztük. A kapott eredmények alapján elmondható, hogy a reakciósebesség másodrendű függőséget mutat a komplexkoncentrációtól, míg a szubsztrátum- és dioxigénkoncentráció függés telítési jellegű. Az aktiválási paraméterek közül kiemelendő a kapott negatív értékű aktiválási szabadentropia, amely a reakció asszociatív jellegét bizonyítja.
6. A kinetikai eredmények alapján javaslatot tettünk a reakciómechanizmusra. Az első lépésben a katalizátormolekula redukciója történik meg amit egy dimerizációs lépés követ. A kialakult réz-dimer reagál előbb a szubsztrátummal, majd a lassú sebességhatározó lépésben a dioxigénnel. A

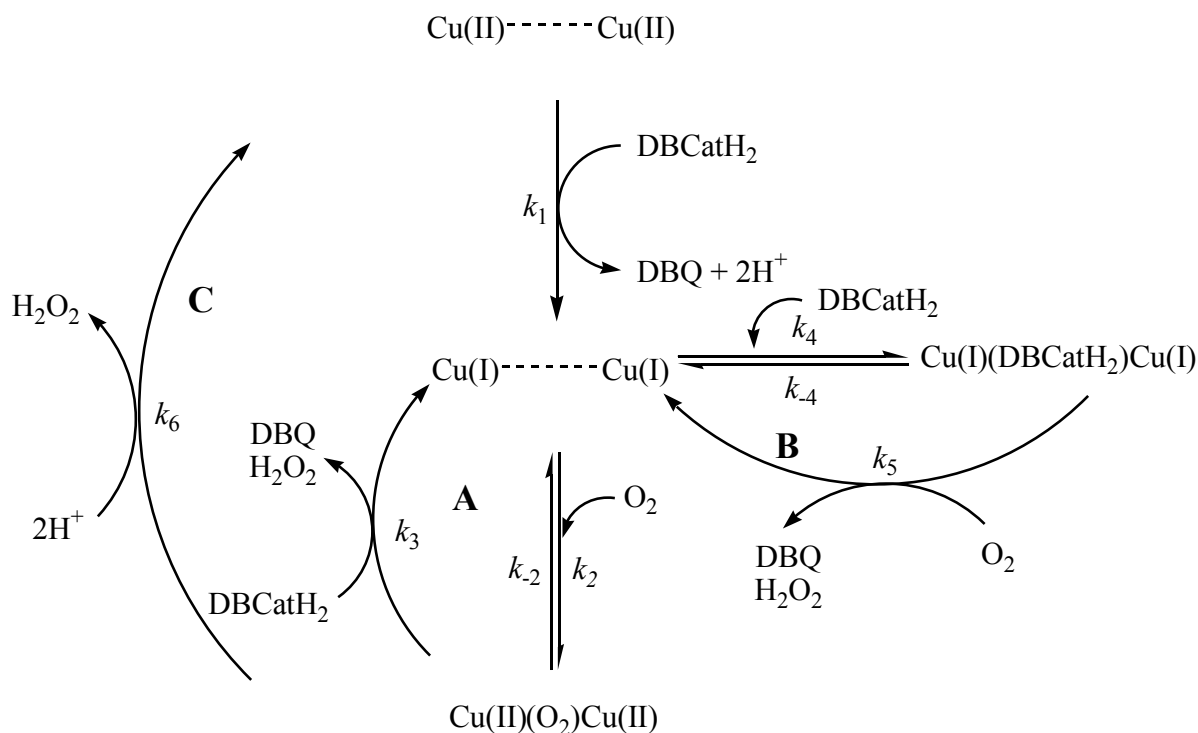
kialakult terner komplex hidrogén-peroxid és 3,5-di-*tert*-butil-*o*-benzokinon elimináció mellett stabilizálódik.



Kétmagvú réz(II)-komplex

A pirokatechin oxidáz enzim funkcionális és szerkezeti modellvegyületeként előállítottuk az [(*o*-fenilén-bisz{6-oxil-1,3-bisz-(2'-piridil-imino)izoindolináto})(tetra-trifláto)diréz(II)] komplexet. Vizsgáltuk katalitikus aktivitását a 3,5-di-*tert*-butil-pirokatechin oxidációs reakciójában. Azt tapasztaltuk, hogy a komplex aktív katalizátora a szubsztrátum hidrogén-peroxiddá és 3,5-di-*tert*-butil-*o*-benzokinonná történő oxidációjának. A reakciómechanizmus megismerése céljából részletes kinetikai vizsgálatokat végeztünk és megállapítottuk, hogy a reakciót a klasszikus Michaelis-Menten enzimkinetika írja le. A reakciósebesség első rendű függőséget mutat a katalizátor- és a dioxigénkoncentrációktól, a szubsztrátumra pedig telítési kinetika adódott. Különböző hőmérsékleteken elvégezve a reakciót meghatároztuk az aktiválási paramétereket. Az

aktiválási szabadentropia nagy negatív értéke asszociatív mechanizmust támaszt alá. A kapott eredmények alapján az alábbi reakciómechanizmus írható fel:



A reakció egy gyors redukciós lépéssel indul, ami egy réz(I)-réz(I)-dimer kialakulásához vezet, 3,5-di-*terc*-butil-*o*-benzokinon felszabadulása mellett. A kialakuló intermedier ezt követően különböző úton reagálhat tovább a jelenlevő dioxigén és szubsztrátum molekulákkal.

Egyfelől reakcióba léphet a dioxigénnel (A-ciklus), egy $\text{Cu(II)}(\mu\text{-peroxo})\text{Cu(II)}$ komplex kialakulása mellett, ugyanúgy mint az enzimkatalizált reakcióban. A kialakuló intermedier-komplex lesz a katalitikusan aktív vegyület, mely további DBCatH₂ molekulákat fog oxidálni kinonná a sebességmeghatározó, lassú reakciólépés során. A reakció hajtómotorja a rendszerben jelenlevő pirokatechin. Miután a katalizátor, a DBCatH₂ teljes mennyiségét eloxidálta, elbomlik majd ő maga is visszaalakul a kiindulási Cu(II)-Cu(II) komplexszé (C-ciklus).

Egy alternatív reakcióúton a réz(I)-réz(I) dimer a DBCatH₂-vel is reakcióba léphet (B-ciklus), (pirokatechináto)Cu(I)-Cu(I)-kompleket eredményezve. Az intermedier reakciója O₂-el kinon és hidrogén-peroxid végtermékeket eredményez.

7. IRODALOMJEGYZÉK

- 1 R. W. Hay, *Bio-Inorganic Chemistry*, Ellis Harwood Ltd., Chichester, (1984)
- 2 E. Kőrös, *Bioszervetlen Kémia*, Gondolat, Budapest, (1980)
- 3 O. Hayaishi, K. Hashimoto, *J. Biochem.* (Tokyo), **9**, 371 (1950)
- 4 A. L. Feig, S. J. Lippard, *Chem. Rev.*, **94**, 759 (1994)
- 5 T. Matsuura, *Tetrahedron*, **33**, 2869 (1977)
- 6 F. O. Brady, *Bioinorg. Chem.*, **5**, 167, (1975)
- 7 K. Haguchi, O. Hayaishi, *Arch. Biochem. Biophys.*, **242**, 5260 (1967)
- 8 S. E. Crutcher, P. J. Geary, *Biochem. J.*, **177**, 393 (1979)
- 9 J. Farjanel, Mc. Rozniere, A. Frey, *J. Biochimie.*, **58(3)**, 333 (1976)
- 10 T. Kido, K. Soda, T. Suzuki, K. Asada, *J. Biol. Chem.*, **251**, 6994 (1976)
- 11 M. Noziaki, *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, (Ed. O. Hayaishi),
Academic Press, New York, (1974)
- 12 P. Feigelson, F. O. Brady, *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, (Ed. O.
Hayaishi), Academic Press, New York, (1974)
- 13 W. H. Vanneste, A. Zuberbühler, *Molecular Mechanism of Oxygen Activation*, (Ed.
O. Hayaishi), Academic Press, New York, (1974)
- 14 T. Oka, F. J. Simpson, H. G. Krishnamurty, *Can. J. Microbiol.*, **8**, 893 (1972)
- 15 W. Adam, *Chem. Ztg.*, **99**, 142 (1975)
- 16 D. R. Kearns, *Chem. Rev.*, **71**, 395 (1971)
- 17 T. D. H. Bugg, C. I. Winfield, *Nat. Prod. Rep.*, **15**, 513 (1998)
- 18 S. Dagley, *Essays Biochem.*, **11**, 81 (1975)
- 19 O. Hayaishi, M. Katagiri, S. Rothberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5450 (1955)
- 20 H. K. Sharma, C. S. Vaidyanathan, *Eur. J. Biochem.*, **56**, 163 (1975)
- 21 D. G. Brown, L. Beckmann, C. H. Ashby, C. Vogel, J. T. Reinprecht, *Tetrahedron
Lett.*, 1363 (1977)
- 22 Y. Kojima, N. Itada, O. Hayaishi, *J. Biol. Chem.*, **236**, 2223 (1961)
- 23 T. D. Bugg, J. S. Voisin, E. L. Spence, *Biochem. Soc. Trans.*, **25**, 81, (1997)
- 24 L. Que Jr., J. Widom, R. L. Crawford, *J. Biol. Chem.*, **256**, 10941 (1981)
- 25 Y. R. Boldt, M. J. Sadowsky, L. B. M. Ellis, J. Que Jr., L. P. Wacket, *J. Bacteriol.*,
177, 1225, (1995)
- 26 A. K. Whiting, Y. R. Boldt, M. P. Hendric, L. P. Wacket, L. Que Jr., *Biochemistry*,
35, 160, (1996)

- 27 M. F. Reynolds, M. Costas, M. Ito, D-H. Jo, A. A. Tipton, A. K. Whiting, L. Que Jr., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **8**, 263, (2003)
- 28 A. Gibello, E. Ferrer, M. Martin, A. Garrido-Pertierra, *Biochem J.*, **301**, 145, (1994)
- 29 L. N. Ornston, R. Y. Stainer, *J. Biol. Chem.*, **241**, 3776 (1966)
- 30 L. N. Ornston, *J. Biol. Chem.*, **241**, 3800 (1966)
- 31 D. H. Ohlendorf, J. D. Lipscomb, P. C. Weber, *Nature*, **366**, 403 (1988)
- 32 M. W. Vetting, D. H. Ohlendorf, *Structure*, **8**, 429 (2000)
- 33 B. G. Malström, *Ann. Rev. Biochem.*, **51**, 21 (1982)
- 34 E. I. Solomon, V. M. Sundaram, T. E. Machonkin, *Chem. Rev.*, **96**, 2563 (1996)
- 35 D. Meives, B. Ross, M. Kiesshaner, K. Camman, H. Witzel, M. Knoll, M. Borchardt, C. Sandmaier, *Lab. Med.*, **15**, 24 (1992)
- 36 B. J. Drevall, *Nature*, **189**, 311 (1961)
- 37 A. M. Mayer, E. Harel, *Phytochemistry*, **18**, 193 (1979)
- 38 T. Kalbunde, C. Eicken, J. C. Sacchettini, B. Krebs, *Nat. Struct. Biol.*, **5**, 1084 (1998)
- 39 C. Eicken, F. Zippel, K. Büldt-Karentzoponolos, B. Krebs, *FEBS Lett.*, **436**, 293 (1998)
- 40 C. Eicken, B. Krebs, J. C. Sacchettini, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **9**, 677 (1999)
- 41 M. A. Halcrow, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 346 (2000)
- 42 M. E. Cuff, K. J. Miller, K. E. van Holde, W. A. Hendrickson, *J. Mol. Biol.*, **278**, 855 (1998)
- 43 M. F. Reynolds, M. Costas, M. Ito, D. H. Jo, A. A. Tipton, A. K. Whiting, L. Que Jr., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **8**, 263 (2003)
- 44 A. A. Parchet, B. Witkop, *J. Org. Chem.*, **22**, 1477 (1957)
- 45 C. A. Tyson, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 3379 (1968)
- 46 C. A. Tyson, A. E. Martell, *J. Phys. Chem.*, **74**, 2601 (1970)
- 47 G. Speier, Z. Tyeklár, *J. Chem. Soc. Perkin II*, 1176 (1981)
- 48 O. Hayaishi, K. Hashimoto, *J. Biochem (Tokyo)*, **37**, 371 (1950)
- 49 R. J. Stainer, J. L. Ingraham, *J. Biol. Chem.*, **210**, 799 (1954)
- 50 Z. Yoshida, *Pure and Appl. Chem.*, **53**, 293 (1981)
- 51 G. Speier, Z. Tyeklár, *J. Mol. Catal.*, **57**, 117 (1990)
- 52 D. R. Bates, M. S. Massey, *Trans. Roy. Soc.*, **A239**, 269 (1943)
- 53 D. T. Sawyer, J. L. Roberts, *J. Electroanalyt. Chem.*, **12**, 90 (1966)

- 54 I. Nakanishi, K. Fukuhara, K. Ohkubo, T. Shimada, H. Kansui, M. Kurihara, S. Urano, S. Fukuzumi, N. Myata, *Chem. Lett.*, 1152, (2001)
- 55 T. Funabiki, H. Sakamoto, S. Yoshida, K. Tarama, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 754 (1979)
- 56 L. S. White, P. V. Nilsson, L. H. Pignolet, L. Que Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 8312 (1984)
- 57 L. Que Jr., R. C. Kolanczky, L. S. White, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5373 (1987)
- 58 S. C. Shoner, P. P. Power, *Inorg. Chem.*, **31**, 1001 (1992)
- 59 R. B. Lauffer, R. H. Heistand, L. Que Jr., *Inorg. Chem.*, **22**, 50 (1983)
- 60 D. D. Cox, L. Que Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 8085 (1988)
- 61 M. Ito, L. Que Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **36**, 1342 (1997)
- 62 C. Bianchini, P. Frediani, F. Laschi, A. Meli, F. Vizza, P. Zanello, *Inorg. Chem.*, **29**, 3402 (1990)
- 63 P. Barbaro, C. Bianchini, C. Mealli, A. Meli, F. Vizza, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 3181 (1991)
- 64 P. Barbaro, C. Bianchini, K. Linn, C. Mealli, A. Meli, F. Vizza, F. Laschi, P. Zanello, *Inorg. Chim. Acta*, **198**, 31 (1992)
- 65 J. S. Thompson, J. C. Calabrese, *Inorg. Chem.*, **24**, 3167 (1985)
- 66 D. G. Brown, L. Beckmann, C. H. Ashby, C. Vogel, J. T. Reinprecht, *Tetrahedron Lett.*, 1363 (1977)
- 67 J. Kaizer, J. Pap, G. Speier, L. Párkányi, L. Korecz, A. Rockenbauer, *J. Inorg. Biochem.*, **91**, 190 (2002)
- 68 L. M. Berreau, M. S. Mahapatra, A. J. Halten, R. P. Houser, V. G. Yonerg Jr., W. B. Tolman, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **38**, 207 (1999)
- 69 S. Kida, H. Okawa, Y. Nishida, *Copper Coordination Chemistry: Biochemical and Inorganic Perspectives*, (Eds: K. D. Karlin, J. Zubieta), Adenine, Guilderland, New York, 425 (1983)
- 70 N. Oishi, Y. Nishida, K. Ida, S. Kida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 2847 (1980)
- 71 K. D. Karlin, Y. Gultneh, T. Nickolson, J. Zubieta, *Inorg. Chem.*, **24**, 3727 (1985)
- 72 F. Zippel, F. Ahlers, R. Werner, W. Haase, H. F. Nolting, B. Krebs, *Inorg. Chem.*, **35**, 3409 (1996)
- 73 J. Reims, B. Krebs, *J. Chem. Soc. Dalton, Trans.*, 3793 (1997)
- 74 P. Gentshev, N. Möller, B. Krebs, *Inorg. Chim. Acta*, **300**, 442 (2000)

- 75 J. Mukherjee, R. Mukherjee, *Inorg. Chim. Acta*, **337**, 429 (2002)
- 76 K. Bertocello, G. D. Fallon, J. H. Hodgkin, K. S. Muray, *Inorg. Chem.*, **27**, 4750 (1988)
- 77 B. Jung, K. D. Karlin, A. D. Zuberbühler, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 3763 (1996)
- 78 W. E. Allen, T. N. Sorrell, *Inorg. Chem.*, **36**, 1732 (1997)
- 79 N. Kitajima, T. Katayama, K. Fujisawa, Y. Iwata, Y. Moro-oka, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 7872 (1993)
- 80 R. R. Jacobson, Z. Tyeklár, A. Farooq, K. D. Karlin, S. Lin, J. Zubieta, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 3690 (1988)
- 81 N. Kitajima, K. Fujisawa, C. Fujimoto, Y. Moro-oka, S. Hashimoto, T. Kitagawa, K. Toriumi, A. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 1277 (1992)
- 82 N. Kitajima, K. Fujisawa, C. Fujimoto, Y. Moro-oka, *Chem. Lett.*, 421 (1989)
- 83 M. Kodera, K. Katayama, Y. Tachi, K. Kano, S. Hirota, S. Fujinami, M. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 11006 (1999)
- 84 K. Fujisawa, M. Tanaka, Y. Moro-oka, N. Kitajima, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 12079 (1994)
- 85 S. Mahapatra, J. A. Halfen, E. C. Wilkinson, L. Que Jr., W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 9785 (1994)
- 86 H. Hayaishi, S. Fujinami, S. Nagatoma, S. Ogo, M. Suzuki, A. Vehara, Y. Watanabe, T. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2124 (2000)
- 87 J. Reim, B. Krebs, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **33**, 1969 (1994)
- 88 Tyeklár Zoltán, *Kandidátusi Értekezés*, Veszprém (1985)
- 89 L. S. White, L. Que Jr., *J. Mol. Catal.*, **139**, 33 (1985)
- 90 B. H. J. Beilski, H. W. Richter, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3019 (1977)
- 91 T. Kamadite, H. Andou, *Chem. Lett.*, 557 (1999)
- 92 K. Schwetlik, *Reakciómechanizmusok kinetikai vizsgálata*, Műszaki Tankönyvkiadó, Budapest (1978)
- 93 É. Balogh-Hergovich, J. Kaizer, G. Speier, G. Huttner, L. Zsolnai, *J. Inorg. Biochem.*, **59**, 687 (1995)
- 94 R. R. Gagné, D. N. Marks, *Inorg. Chem.*, **23**, 65 (1984)
- 95 C. A. Tolman, J. D. Druliner, P. J. Krusic, M. J. Nappa, W. C. Seidel, I. D. Williams, S. D. Itter, *J. Mol. Catal.*, **48**, 129 (1988)

- 96 É. Balogh-Hergovich, J. Kaizer, Á. Kupán, J. Pap, E. Speier, G. Speier, *J. Inorg. Biochem.*, **86**, 100 (2001)
- 97 W. O. Siegel, *J. Org. Chem.*, **42**, 1872 (1977)
- 98 R. R. Gagné, D. N. Marks, *Inorg. Chem.*, **23**, 65, (1984)
- 99 H. G. Jang, D. D. Cox, L. Que Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 9200, (1991)
- 100 G. Anderegg, F. Wenk, *Helv. Chim. Acta*, **50**, 2330 (1967)
- 101 D. Y. Wu, B. Ren, Y. X. Jiang, X. Xu, Z. Q. Tiang, *J. Phys. Chem.*, **106**, 9042 (2002)
- 102 S. Trofimenko, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3170 (1967)
- 103 H. J. Mimonn, *J. Mol. Catal.*, **7**, 29 (1980)
- 104 Y. Zhang, L. K. Thompson, M. Bubenik, J. N. Bridson, *J. Chem. Soc. Commun.*, 1375 (1993)
- 105 D. F. Shriver, M. A. Drezdson, *The Manipulation of Air Sensitive Compounds*, John Wiley & Sons, New York (1990)
- 106 D. D. Perrin, W. L. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*, (2nd ed.), Pergamon, New York (1990)
- 107 *Organikum*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest (1967)
- 108 H. Schulze, W. Flaig, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **575**, 231 (1952)
- 109 R. M. Grinstead, *Biochem.*, **3**, 1308 (1964)
- 110 G. Speier, Z. Tyeklár, *Chem. Ber.* **112**, 389 (1979)
- 111 J. Schmidt, H. Lump, *Ber.* **43**, 790 (1910)
- 112 Z. S. Lu, *Trans. Met. Chem.*, **27**, 239 (2002)
- 113 N. Kitajima, K. Fujisawa, C. Fujimoto, Y. Moro-oka, S. Hashimoto, T. Kitagawa, K. Toriumi, K. Tatsumi, A. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 1277 (1992)
- 114 S. M. Maruccio, P. J. Svirskaya, S. Greenberg, A. B. P. Lever, C. C. Leznoff, K. B. Tomer, *Can. J. Chem.*, **63**, 3057 (1985)