

**Vastartalmú dioxigenáz utánzó komplexek előállítása és
oxigénezési reakciójának vizsgálata**

Készítette: Váradi Tünde

Szak: Vegyész MSc, II. évfolyam

Témavezetők: Dr. Pap József Sándor, egyetemi adjunktus

Dr. Kaizer József, egyetemi tanár

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Szerves Kémia Intézeti Tanszék

2011

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	2
2. Irodalmi áttekintés	2
2.1. Enzimek, enzimreakciók	2
2.2. Oxigenáz enzimek	4
2.3. Dioxigenáz enzimek	5
2.4. Pirokatechin dioxigenázok	6
2.4.1. Intradiol dioxigenázok	7
2.4.2. Extradiol dioxigenázok	8
2.5. Enzimmodellek.....	10
2.6. Vastartalmú dioxigenáz enzimmodellek	11
2.7. Az általunk felhasznált ligandumok és jellemzésük.....	12
2.8. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ ($n = 1-6$) komplexek előállítása.....	14
2.9. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ komplexek szerkezetének azonosítása	14
3. Célkitűzések.....	15
4. Eredmények és értékelésük.....	16
4.1. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek előállítása és UV-Vis spektroszkópiai jellemzése.....	16
4.2. $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ és $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek elektrokémiai vizsgálata.....	17
4.3. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ és $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek dioxigénezési reakcióinak kinetikai vizsgálata	19
5. Összefoglalás	27
6. Kísérleti rész	29
7. Irodalomjegyzék	32
8. Függelék.....	34

Rövidítések:

1,2-CTD	pirokatechin 1,2-dioxigenáz
2,3-CTD	pirokatechin 2,3-dioxigenáz
3,4-PCD	protokatechuát 3,4-dioxigenáz
4,5-PCD	protokatechuát 4,5-dioxigenáz
CCD	kloropirokatechin dioxigenáz
PCA	3,4-dihidroxi-benzoészav
DBCatH ₂	3,5-di- <i>terc</i> -butil-pirokatechin
DBSQ ⁻	3,5-di- <i>terc</i> -butil-szemikininát gyök-anion
SOD	szuperoxid dizmutáz
NAD ⁺	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADP ⁺	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
DMF	<i>N,N</i> -dimetil-formamid
MeOH	metanol
Et ₃ N	triethyl-amin
IR	infravörös spektroszkópia
GC	gázkromatográfia
MS	tömegspektrometria
UV-Vis	ultraibolya-látható spektroszkópia
NMR	mágneses magrezonancia spektroszkópia
ESR	elektronspin rezonancia spektroszkópia
MCD	mágneses cirkuláris dikroizmus
CV	ciklikus voltammetria
His	hisztidin
Glu	glutaminsav
Tyr	tirozín
HL	protonált semleges ligandum (általánosan)
ML	fém-ligandum komplex (általánosan)
ES	enzim-szubsztrátum komplex
LMCT	ligandumról fémmre történő töltésátvitel
KBr	kálium-bromid
ν	hullámszám (cm ⁻¹)
λ	hullámhossz (nm)
ϵ	moláris abszorpciós együttható (M ⁻¹ cm ⁻¹)
RT	retenciós idő

1. Bevezetés

A biokatalizátorként működő enzimek fontos funkciókat látnak el az élő szervezetekben, elengedhetetlenek az élethez. Sok fajtájuk ismert és a tudomány fejlődésével egyre nagyobb mértékben derül fény pontos szerepükre, az általuk katalizált reakciókra és az enzimek szerkezetére.

Az enzimek egyik csoportja, az oxigenázok, kulcsfontosságú szerepet játszanak az anyagcsere különböző folyamataiban. A dioxigenáz enzimek a molekuláris oxigén beépülését katalizálják valamilyen szerves szubsztrátumba, így fontosak az aromás vegyületek anyagcseréjében, a szennyező anyagok lebontásában és vízzeloldható alifás vegyületekké való átalakításában.

Az oxigén nélkülözhetetlen az élethez, de nehéz megérteni, mi is a pontos szerepe a biológiában és a kémiában. Manapság számos metalloenzim ismert, melyek kapcsolatba hozhatók az oxigénnel [1]. Ezek az enzimek az aktív centrumuknak köszönhetően képesek megkötni az oxigént és beépíteni valamely szubsztrátumba.

Az enzimek kutatásával kapcsolatban az egyik legfontosabb terület a natív enzimek vizsgálatán kívül a mesterséges enzimutánzó vegyületek előállítása, ezek szerkezetének pontos leírása és reakcióik tanulmányozása különböző körülmények között. Az ilyen vegyületeken keresztül modellezhetők a szervezetben lejátszódó természetes folyamatok és különböző analitikai módszerekkel vizsgálható az enzimek szerkezete, az aktív centrum tulajdonságai és az enzimek által katalizált reakciók mechanizmusa, kinetikája, valamint jól azonosíthatók a reakciótermékek is.

A dolgozatban bemutatásra kerülő munka is e területhez kötődik. Vizsgálataink középpontjában a pirokatechin dioxigenáz enzimek modelljeiként előállított vaskomplexek állnak, melyek egy adott ligandumcsaládhoz tartozó nitrogéndonor kelátképzőket tartalmaznak. Bemutatjuk dioxigénezési reakcióikat, a reakciók kinetikáját, a keletkező termékeket, valamint a komplex vegyületek szerkezetét és redox tulajdonságait.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Enzimek, enzimreakciók

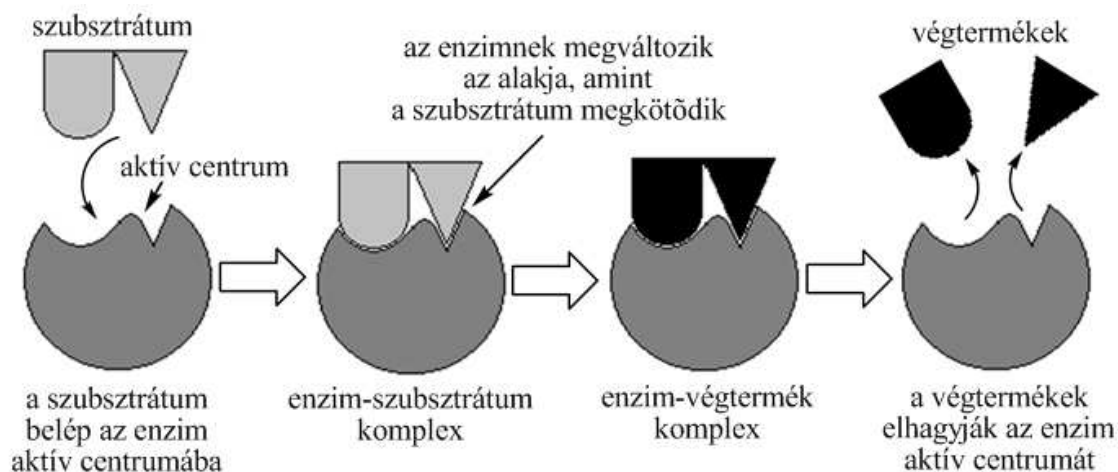
Az enzimek az élő szervezetben lejátszódó anabolikus (építő) és katabolikus (lebontó) folyamatokat katalizálják. Ahogy az összes katalizátor, az enzimek is csak olyan folyamatok lejátszódását segítik elő, amelyek önmaguktól is végbemennének az élő szervezet adta körülmények között, csak lényegesen kisebb sebességgel.

Fontos, hogy az enzimek a reakciók során beálló termodinamikai egyensúlyi állapotokat nem változtatják meg, csak az aktiválási energiát csökkentve siettetik az egyensúlyi állapot elérését.

Az enzimreakciók megértéséhez szükséges tisztázni néhány alapfogalmat. Az enzimreakcióban átalakuló molekulát szubsztrátumnak nevezzük. A koenzim egy reakciópartner molekula, melynek jelenléte egyes enzimreakciókhoz nélkülözhetetlen, és a reakciókban maga is átalakul. A koenzim valójában nem katalizátor, emiatt helyesebb kosubsztrátumnak nevezni. A reakcióhoz sztöchiometrikus mennyiségben kell jelen lennie, vagy regenerálni kell.

Az enzimet alkotó bonyolult fehérjemolekula aminosavsorrendje és térbeli szerkezete révén olyan molekulafelület jön létre, amely alakja és töltésmintázata miatt más molekulák (szubsztrátum, koenzim) megkötésére képes a kötőhely vagy aktív centrum léte folytán (1. ábra). Az itt megkötődő szubsztrátum molekula átalakul, és

termék formájában távozik a felületről. A kiindulási anyagok koncentrációja igen kicsi. Az enzimek megkötik ezeket a kis koncentrációban jelen lévő vegyületeket, ilyen módon növelik a molekulák találkozásának esélyét. A megkötődés az aktív centrumon szelektív: csak bizonyos molekula vagy bizonyos típusú molekulák kötődnek meg (specifitás). Ezt az aktív hely sztérikus és elektronikus sajátosságai biztosítják.



1. ábra. Az enzimműködés folyamata.

Az enzimreakciókat a következő tényezők befolyásolják: pH, hőmérséklet, szubsztrátum-, enzim- és a különböző inhibitor vegyületek koncentrációja.

Az enzimek aminosavakból épülnek fel, molekulatömegük $1,2 \times 10^4$ - 5×10^5 Dalton-ig változhat [2]. Az enzimek egy része egyszerű fehérje, ami önmagában is képes katalizátorként működni (egyszerű enzimek), más részüknek viszont szüksége van valamilyen kiegészítő anyagra (összetett enzimek). A kiegészítő anyag lehet valamilyen szerves vegyület, fémion vagy nem fehérje természetű csoport (például a NAD^+ és NADP^+ molekulákban). Amennyiben erősen kötődik az enzimhez, proszketikus csoportnak nevezzük. Gyakori azonban, hogy egy szerves vegyület csak lazán kapcsolódik, és könnyen leválik a fehérjéről, ezeket a szakirodalom koenzimnek nevezi. A koenzimek elterjedtek az élővilágban, ugyanis a nem fehérje természetű rész többféle fehérjéhez is képes kapcsolódni, így többféle enzim alkotójává válhat.

Az enzimek reakcióspecifikus katalizátorok, csak egyféle biokémiai reakciót katalizálnak. Ezt figyelembe véve, 6 csoportba sorolhatók [3]:

- Hidrolázok. Fehérjék peptidkötésének, poliszacharidok glikozidkötésének, zsírok és foszfátok észterkötésének hasítását katalizálják.
- Oxidoreduktázok. Redoxireakciókat katalizálnak, melyek során elektronok vagy hidrogénatom kerül át egyik molekuláról a másikra.
- Transzferázok. Egy meghatározott atomcsoport átvitelét katalizálják egyik molekuláról a másikra.
- Izomerázok. Átrendeződéses reakciókat katalizálnak.
- Liázok. A szubsztrátum egy adott csoportjának eltávolítását segítik elő nem hidrolitikus módon.
- Ligázok. Két molekulát kapcsolnak össze.

A fémiont vagy fémionokat tartalmazó enzimeket két csoportba sorolhatjuk. Az első csoportba tartozó metalloenzimek esetében a fémion beépül az enzim molekulába,

amennyiben a fémiont kiszakítjuk az enzimből, a metalloenzim elveszíti aktivitását. A második csoportba tartozó fémionok által aktivált enzimeknél egyensúly áll fenn az enzim és fémion, valamint a fémion által aktivált enzim között. A fém úgy választható el a fehérjétől, hogy az nem veszíti el teljes aktivitását. A metalloenzimek között találunk olyan tulajdonságúakat, amelyek az oxigén beépülését katalizálják különböző szubsztátumokba, ezek az oxigenáz enzimek. A következőkben részletesebben ezekről lesz szó, mivel munkánk egy, az ebbe az osztályba tartozó enzimhez kapcsolódik.

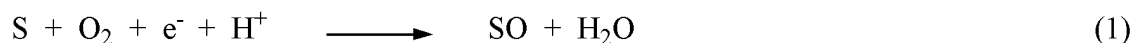
2.2. Oxigenáz enzimek

Az élő szervezetekben lényeges szerep jut azon metalloenzimeknek, melyek képesek kölcsönhatásba lépni a dioxigénnel (1. táblázat). Biológiai rendszerekben a dioxigén leggyakoribb reakciópartnere a vas és réz, ritkábban a mangán és a vanádium.

1.táblázat. Oxigénnel kölcsönható metalloproteinek [1].

	Hem Fe	Nem hem Fe	Cu	Mn és V
Dioxigén transzport	hemoglobin, mioglobin	hemeritrin, miohemeritrin	hemocianin	
Monooxigenázok	szekunder amin monooxigenáz, NO szintáz	pterin-függő hidroxilázok	tirozináz, dopamin β -hidroxiláz, fenilalanin hidroxiláz	
Dioxigenázok	triptofán 2,3-dioxigenáz, proszttaglandin H szintetáz	pirokatechin dioxigenázok, arén dioxigenázok	kvercetináz	pirokatechin dioxigenáz (Mn)
Oxidázok	citokróm c oxidáz	ribonukleotid reduktáz	galaktóz oxidáz, amin oxidáz	ribonukleotid reduktáz (Mn)
Peroxidázok és katalázok	kataláz, citokróm c peroxidáz, lignin peroxidáz			Mn kataláz, V brómperoxidáz, Mn peroxidáz
Szuperoxid dizmutázok		Fe SOD	Cu-Zn SOD	Mn SOD

Az oxigenázok két csoportja ismert: a monooxigenázok és a dioxigenázok. Előbbiek esetében egy oxigénatom épül be a szubsztátumba (1), míg utóbbiaknál két oxigénatom kerül ugyanazon (2) vagy két különböző szubsztátumba (3). Monooxigenáz enzimeknél szükség van elektron és proton donor vegyületekre, melyek a molekuláris oxigén aktiválására szolgálnak [4].



Az oxigenázokat más gondolatmenet alapján feloszthatjuk hem és nem hem tartalmú enzimekre. A hem enzimekben a vastartalmú aktív centrumot porfirin és axiális ligandumok kötik meg. Az axiális ligandumok határozzák meg az enzimek funkciót

és leggyakoribb képviselőik a különböző aminosavláncok (hisztidin, tirozin, cisztein). A nem hem enzimekben a vasat különböző számú hisztidin, tirozin, cisztein és karboxilát láncok kötik meg. A hem oxigenázok alapvetően síknégyzetes szerkezetével szemben itt cserélhető monodentát ligandumokról beszélhetünk. Ebbe a csoportba sorolhatók a pirokatechin 1,2-dioxigenázok is [5].

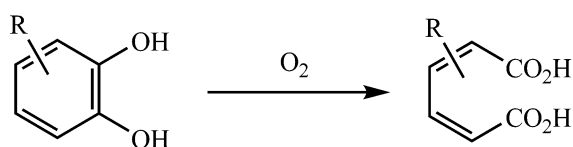
2.3. Dioxigenáz enzimek

A dioxigenáz enzimek a molekuláris oxigén beépülését katalizálják valamilyen szerves szubsztrátumba (2)-(3). A dioxigénezési reakciók közé tartozik a kettős kötés hasítása és a peroxidképzés. A kettős kötés hasításának fő típusai az aromás és indol gyűrűk deciklizálása. Ezek az aromások két szomszédos funkciós csoporttal rendelkeznek, mely leggyakrabban két hidroxilcsoport (pirokatechineknél), de előfordulhatnak más funkciók is. Az aromás gyűrű kétféleképpen hasadhat, beszélhetünk intradiol és extradiol hasításról (2. ábra). Ezekkel analóg szubsztrátumokat, mint a szubsztituált pirokatechineket, más enzimek oxigéneznak. Az enzimatisz oxigénezés egyik jellemzője a szubsztrátum specifikusság, de számos enzim mutat katalitikus aktivitást különféle szubsztrátumokkal szemben [4].

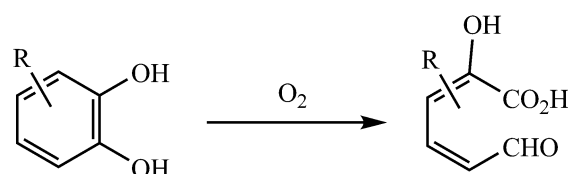
A legtöbb dioxigenáz aktív centrumában vasat tartalmaz, de előfordulnak réztartalmúak is (pl. kvercetináz). Többségük a hem enzimek közé sorolható. A hem enzimekben a porfirin a 4 ekvatoriális koordinációs helyet foglalja el, axiális ligandum pedig hisztidin (N koordináció), cisztein (S koordináció) vagy tirozin (O koordináció) lehet. Nem hem enzimeknél elengedhetetlen, hogy a fém körül az összes ligandumot azonosítsuk. A vastartalmú enzimek általában 5-ös vagy 6-os koordinációjúak, a vasat tirozin (fenolát kötés) és/vagy hisztidin (imidazol kötés) láncok kötik. A molekuláspektroszkópia különböző területei, az NMR, ESR, Raman, MCD és a röntgen abszorpció, lehetővé teszik az aktív centrumok és az intermedierek szerkezetének viszonylag pontos leírását [4].

Kettős kötést hasító dioxigenázok

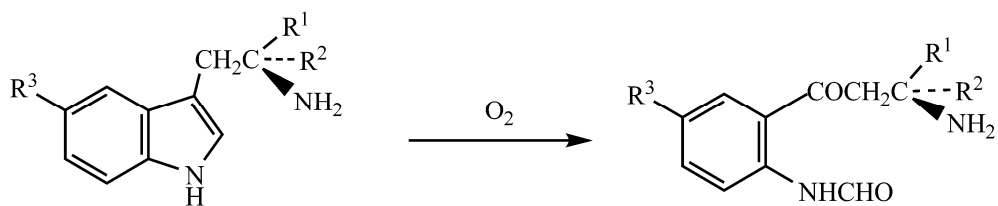
1. Intradiol hasadás



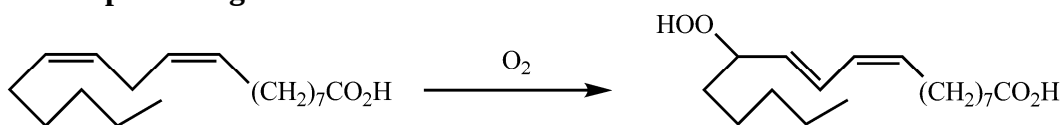
2. Extradiol hasadás



3. Egyéb kettőskötés-hasadás

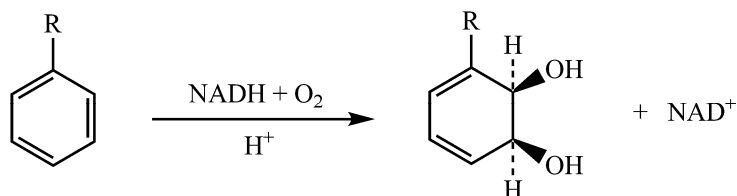


Peroxidképző dioxigenázok

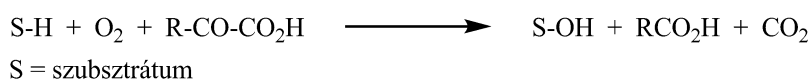


Egyéb dioxigenázok

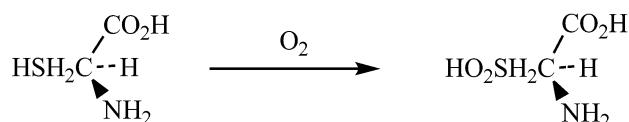
1. Aromások dihidroxilezése



2. α -ketokarbonsav függő oxigénezés



3. Vegyes dioxigénezés

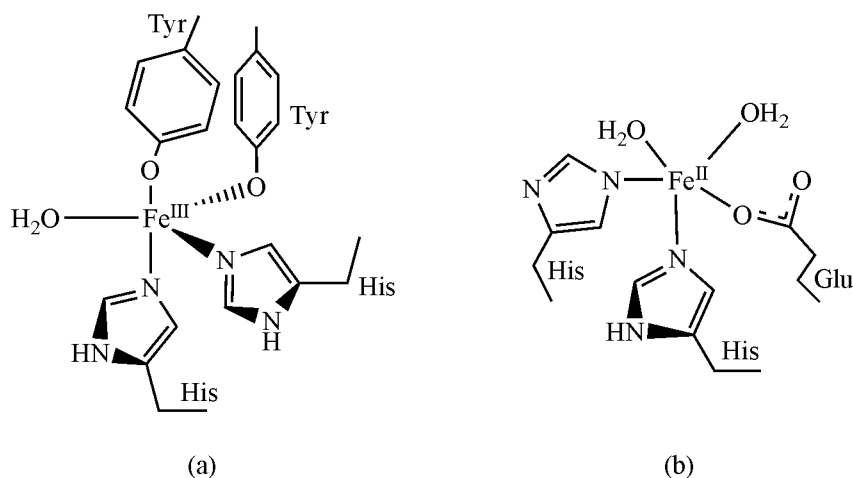


2. ábra. Az enzimatis dioxigénezés néhány típusa [4].

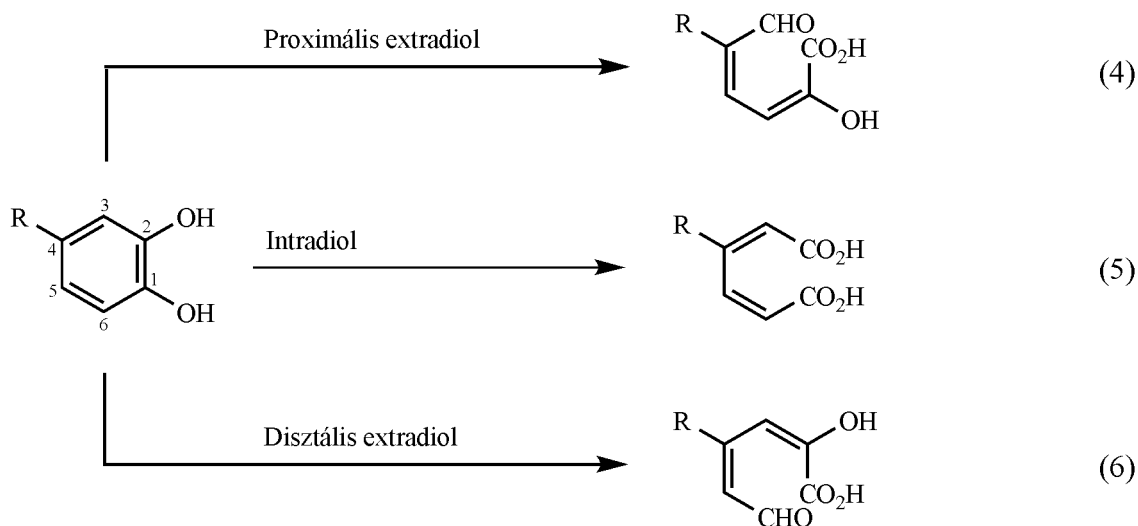
2.4. Pirokatechin dioxigenázok

A pirokatechin dioxigenáz enzimek fontos szerepet játszanak a különböző aromás összetevők anyagcseréjében. Az aromás vegyületeket dioxigén jelenlétében az aromás gyűrű felnyitásával alifássá alakítják, tehát lebontják a szennyező anyagokat. A 4. ábrán látható, hogy a különböző mono- és dioxigenázok számos aromás vegyületet pirokatechinné hidroxilálnak, melyeket a pirokatechin dioxigenázok katalitikusan alifás savvá oxigéneznek. A kapcsolódó szomszédos dihidroxilcsoportok az aromás gyűrű aktiválására szolgálnak. A Fe^{3+} tartalmú enzimek főként az intradiol oxigénezést katalizálják, mely során a C1-C2 kötés hasad el (5), a Fe^{2+} tartalmú enzimek pedig inkább az extradiol oxigénezést segítik elő, ahol a C2-C3 (4) vagy a C1-C6 (6) kötés szűnik meg. Ez a figyelemre méltó szelektivitási kontroll kiváló példája a biológiai rendszerekben lejátszódó, nagyszelektivitású katalitikus reakcióknak [4]. A pirokatechin

dioxigenázoknál a szubsztrátum-specifikusság és a szelektivitás elsősorban az aktív centrum szerkezetétől és oxidációs állapotától függ (3. ábra).



3. ábra. Az intradiol (a) és az extradiol dioxigenáz (b) aktív centruma [6, 7].



4. ábra. Intradiol és extradiol hasítás [4].

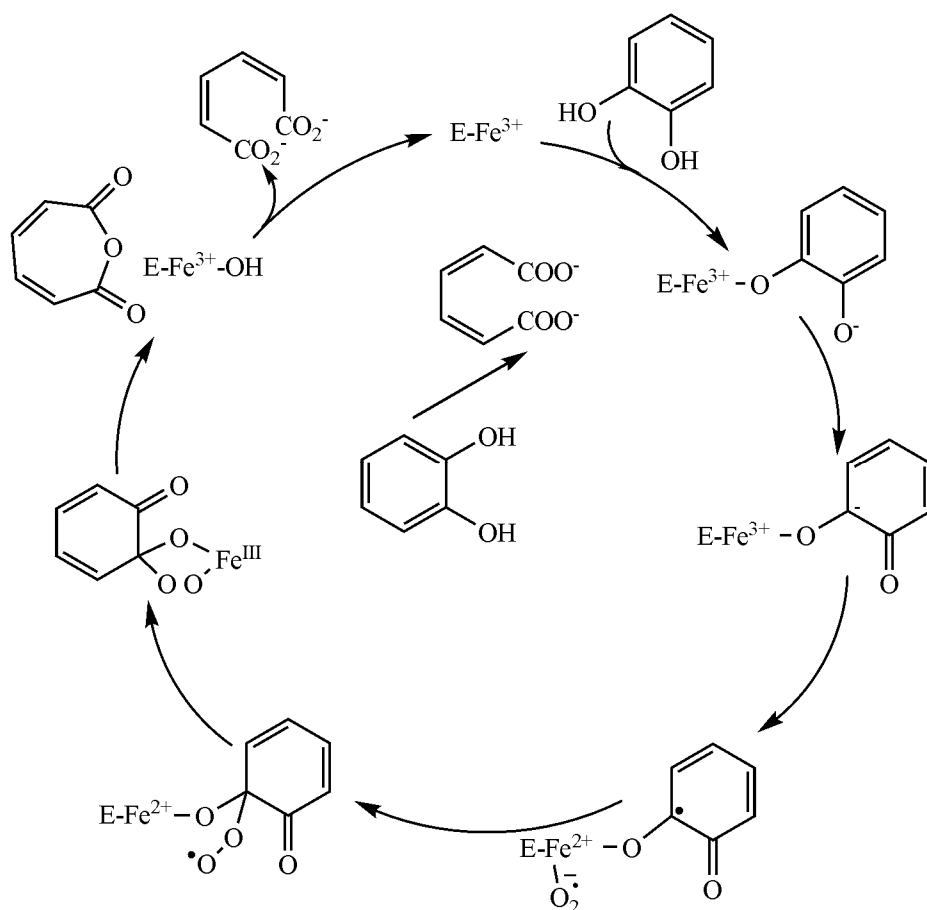
2.4.1. Intradiol dioxigenázok

Az intradiol hasítást végző oxigenázok a pirokatechinek oxigénezését katalizálják, melynek során molekuláris oxigén lép be a szubsztrátumba és *cisz,cisz*-mukonsav keletkezik. Ezen típushoz tartozik a pirokatechin 1,2-dioxigenáz (1,2-CTD), a protokatechuát 3,4-dioxigenáz (3,4-PCD) és a kloropirokatechin dioxigenáz (CCD). Az 1,2-CTD enzim katalizálta oxigén inzerciót először 1955-ben tisztázták [8, 9], és azóta is számos 1,2-CTD enzimet izoláltak mikroorganizmusokból [10]. Közülük mindegyik vasat tartalmaz egyetlen kofaktorként, azonban a különböző mikroorganizmus törzsekből izolált enzimek eltérő szerkezetűek [11-13]. Ezek az eltérések nehézségeket okoznak a katalizátorok szerkezetének és a reakciók mechanizmusának felderítésében.

Az 1,2-CTD nemcsak a pirokatechint oxigénezi, hanem néhány szubsztituált pirokatechint is. Mérésekkel bizonyították, hogy a reaktivitási sorrend az R-

pirokatechinek esetében a következőképpen alakul: $R = H > 4\text{-Me} \gg 4\text{-F} > 3\text{-Me} > 4\text{-Cl} > 3\text{-OH}$. Látható hogy a 4-es helyen szubsztituált pirokatechinek reaktivitása nagyobb, mint a 3-as helyen szubsztituáltaké. A 4-F származék relatíve magas aktivitását Dorn és Knackmuss magyarázta [14]. Az intra- és extradiol reakciók termékeit elsőként Fujiwara tanulmányozta 3-as helyettesítésű pirokatechinek esetében [15], később pedig a különböző kapcsolódó csoportok pontos hatására is fényt derítettek [16].

Az 1,2-CTD enzimet elsőként Hayaishi különítette el a *Pseudomonas fluorescens* nevű mikroorganizmusból [8, 10], később más élőlényekből is sikerült hasonló enzimeket nyerni (*Pseudomonas arvilla*, *Brevibacterium fuscum*, *Pseudomonas putida*). Az intradiol dioxigénezési reakció mechanizmusát sokan tanulmányozták, a kutatások során kiderült, hogy a szubsztrátum egyfogú ligandumként koordinálódik a vashoz és elveszíti mindkét protonját. A deprotonált, elektronban gazdag részecske vegyérték-izomerizáció révén szemikínónátovas(II) intermedierré alakulhat. A gyökös szénatom a triplett dioxigénnel peroxidvegyületet képez, majd vélhetően egy trioxa-metallocikluson keresztül jutunk a termékhez (5. ábra) [17]. A regioszelektivitást (vagyis az intradiol hasítást) a vegyérték-izomerizáció biztosítja.



5. ábra. Intradiol dioxigénezési mechanizmus (E = enzim) [17].

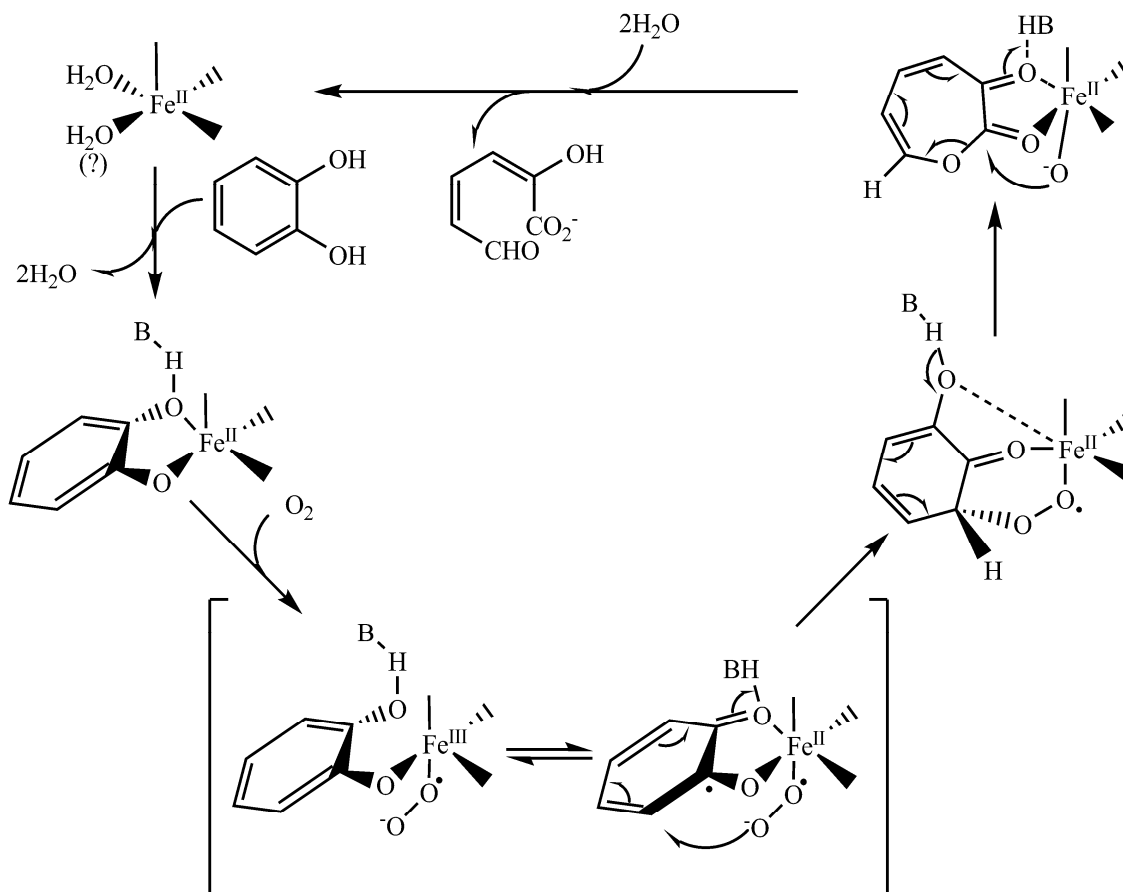
2.4.2. Extradiol dioxigenázok

Az extradiol-hasító enzimek gyakoribbak mint az intradiol dioxigenázok, azonban az oxidáló anyagokra való érzékenységük folytán kevésbé stabilisak. Ebbe a

csoportba tartozik a pirokatechin 2,3-dioxigenáz (2,3-CTD), melyet 1961-ben Kojima fedezett fel [18]. Az enzim aktív centrumában egy nagy spinszámú Fe^{2+} ion található.

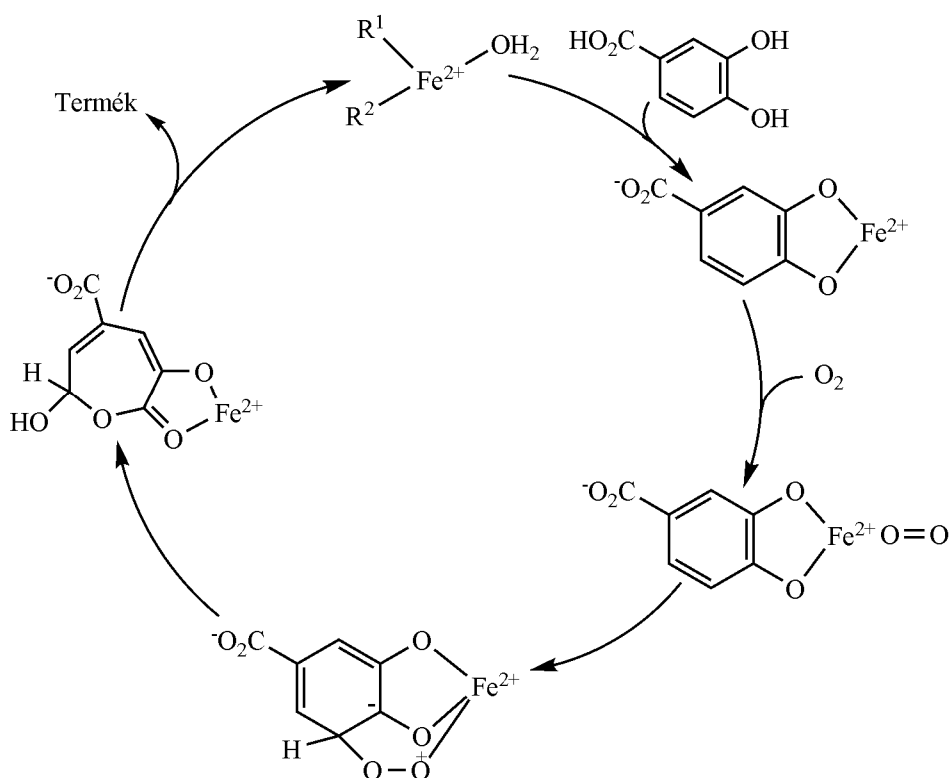
Ebben az esetben is végeztek aktivitás vizsgálatokat szubsztituált pirokatechinekkel, és a következő sorrendet figyelték meg: $\text{R}=\text{H} \sim 4\text{-Me} > 3\text{-Me} > 4\text{-Cl} > 3\text{-OH} > 4\text{-CHO} \gg 4\text{-NO}_2$ [19].

A dioxigénezési reakció mechanizmusát illetően több elképzelés is született, Shu szerint, az O_2 , ami a Fe^{II} -höz kapcsolódik, nukleofil szuperoxid gyökké alakul és megtámadja a gyűrű kis elektronsűrűségű oldalát, mégpedig az oxigént hordozó szénatom melletti szénen (6. ábra) [20].



6. ábra. 2,3-CTD által katalizált extradiol gyűrűhasítás [20].

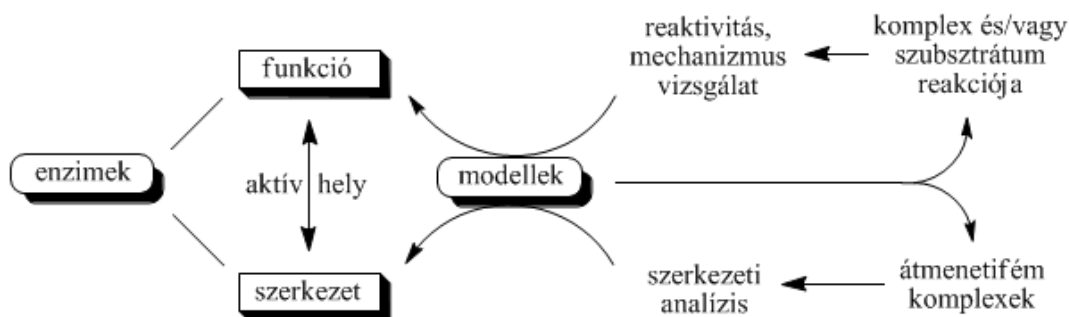
Arciero és Lipscomb a 4,5-PCD által katalizált oxigénezést írta le [21]. A PCA (protokatechuát sav) kétfogú kapcsolódása után az oxigén a vascentrumhoz kötődik. Az aromás gyűrű és a koordinált oxigén molekula között megvalósuló parciális elektron transzfer lehetővé teszi az ionos reakciót az anionos oxigén és a kationos aromás gyűrű 5. szénatomja között (7.ábra).



7. ábra. 4,5-PCD katalizálta extradiol oxigénezés [21].

2.5. Enzimmodellek

A legtöbb enzim nehezen hozzáférhető és kevés vizsgálatra nyújt lehetőséget, mivel tiszta formában való elkülönítésük nehéz feladat. Pontos hatásmechanizmusuk felderítése részletes kinetikai vizsgálatokat igényelne, amelyhez több és pontosabb mérésre lenne szükség. Az enzimek megismerésében a szerkezet és a funkció a legfontosabb paraméterek. Ezek szorosan összefüggő sajátságok, hiszen az enzim funkcióját elsősorban az aktív centrum szerkezete, elektronikus és szterikus viszonyai befolyásolják. A szerkezet és a funkció megismerésének érdekében kettős célú enzimmodellek (8. ábra) megalkotása szükséges, melyekkel az enzimvizsgálatok nehézségei kiküszöbölhetők.



8. ábra. Enzimmodellek és szerepük.

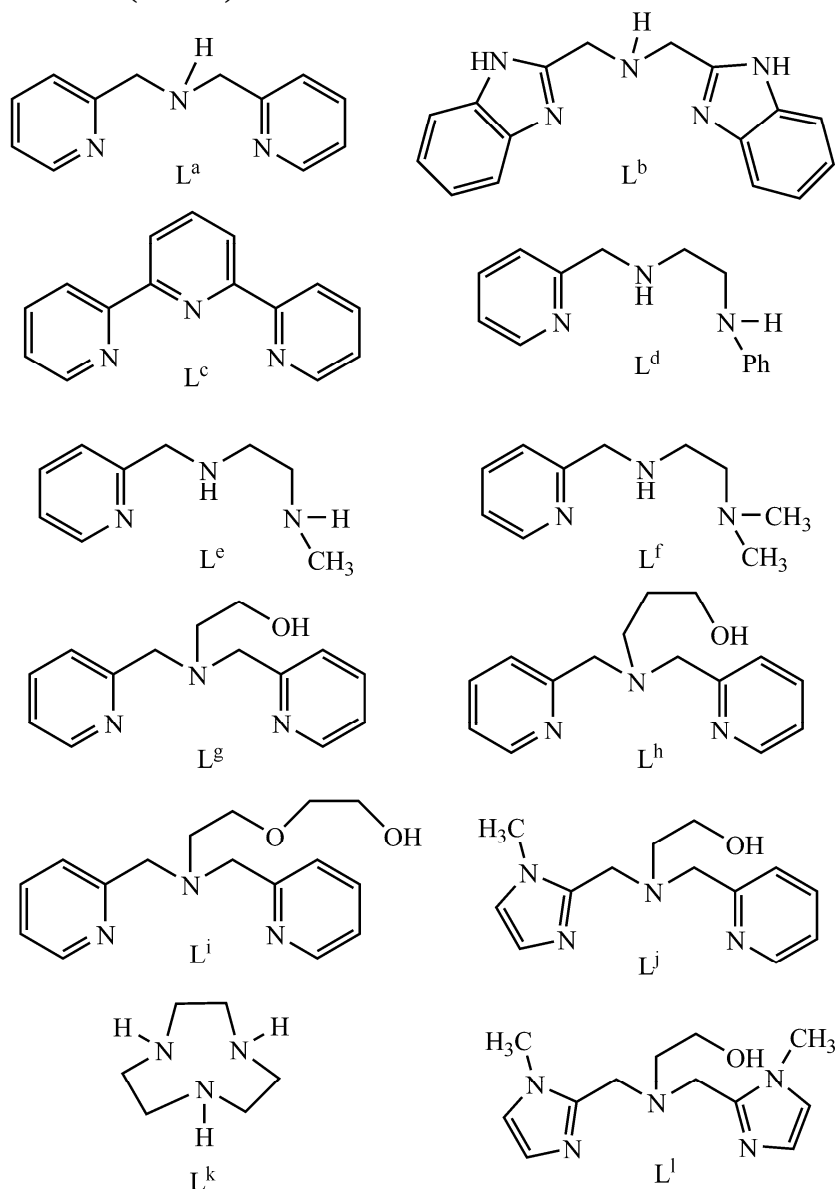
A szerkezeti modellek esetében legfontosabb az, hogy geometriai és elektronikus tulajdonságaik minél jobban hasonlítsanak az aktív helyéhez.

Metalloenzimek esetében, a nagyméretű fehérjemolekulát szerves ligandumokkal helyettesítik, ebből kifolyólag standard körülmények között spektroszkópiailag vizsgálhatók. A kialakuló komplex általában túl stabilis, hogy az enzimatikushoz hasonló reakciót katalizálja.

A funkcionális modellek esetében a leglényegesebb, hogy minél nagyobb szelektivitás mellett képezzék az enzimreakció termékeit, tehát az enzim funkcióját utánozzák. Ez lehetséges úgy, hogy csak a komplexet visszük reakcióba, máskor a modellt katalizátorként alkalmazzuk a szubsztrátum megfelelő reakciójában. Ezek után a mechanizmus felderíthető kinetikai vizsgálatok alkalmazásával.

2.6. Vastartalmú dioxigenáz enzimmodellek

Munkánk során vastartalmú dioxigenáz utánzó enzimmodelleket állítottunk elő és vizsgáltunk. Számos kutatás irányul erre a területre, az évek során különböző ligandumokkal változatos modelleket állítottak elő, melyekben gyakori a 3 nitrogén donoratom motívum (9. ábra).



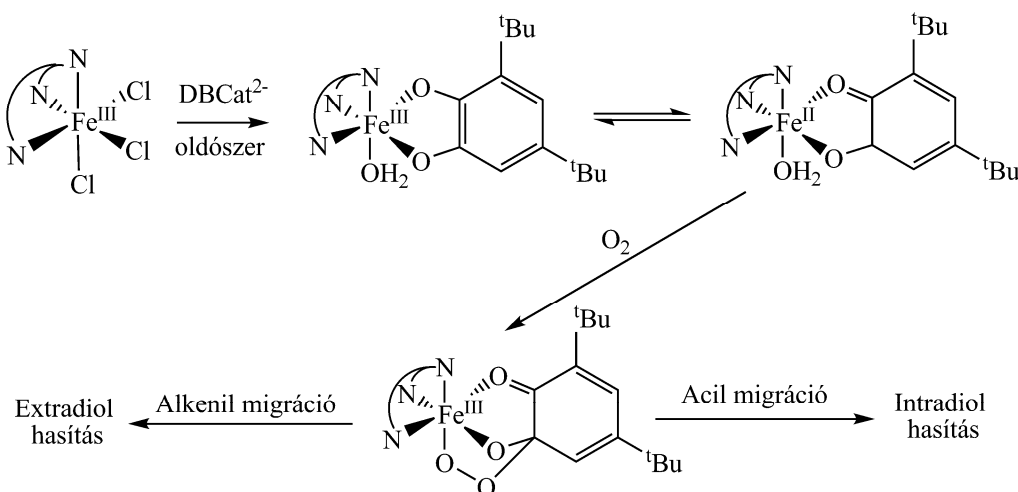
9. ábra. A modellekben alkalmazott ligandumok [22, 23].

A 9. ábrán látható ligandumokkal képzett $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{m}})\text{Cl}_3]$ ($\text{m} = \text{a}, \text{b}, \text{d}, \text{e}, \text{f}$) komplexek szerkezetét és CTD utánzó aktivitását is vizsgálták. Az $\text{L}^{\text{a}}, \text{L}^{\text{b}}, \text{L}^{\text{d}}, \text{L}^{\text{e}}$ és L^{f} tartalmú vegyületek esetén a $k_{\text{O}_2} = k_{\text{obs}}/[\text{O}_2]$ értékeket nézve *N,N*-dimetil-formamidban (DMF) a következő trend adódott: $\text{Fe}(\text{L}^{\text{b}})^{3+} > \text{Fe}(\text{L}^{\text{d}})^{3+} > \text{Fe}(\text{L}^{\text{a}})^{3+} > \text{Fe}(\text{L}^{\text{e}})^{3+} > \text{Fe}(\text{L}^{\text{f}})^{3+}$ (2. táblázat). A termékösszetételt tekintve a modellek többsége 1,2-CTD utánzó aktivitást mutat [22].

2. táblázat. Az $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{m}})\text{Cl}_3]$ ($\text{m} = \text{a}, \text{b}, \text{d}, \text{e}, \text{f}$) komplexekkel végzett oxigénezési reakciók kinetikai adatai [22].

Komplex	$k_{\text{O}_2} (10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1})$
$[\text{Fe}(\text{L}^{\text{a}})\text{Cl}_3]$	$1,7 \pm 0,3$
$[\text{Fe}(\text{L}^{\text{b}})\text{Cl}_3]$	$120 \pm 0,2$
$[\text{Fe}(\text{L}^{\text{e}})\text{Cl}_3]$	$1,3 \pm 0,2$
$[\text{Fe}(\text{L}^{\text{f}})\text{Cl}_3]$	$0,5 \pm 0,2$
$[\text{Fe}(\text{L}^{\text{d}})\text{Cl}_3]$	$2,8 \pm 0,1$

A $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{p}})\text{Cl}_3]$ ($\text{p} = \text{a}, \text{b}, \text{k}$) komplexek reakciósebességét tekintve vizes fázisban, a sorrend másképpen alakul: $\text{Fe}(\text{L}^{\text{k}})^{3+} > \text{Fe}(\text{L}^{\text{a}})^{3+} > \text{Fe}(\text{L}^{\text{b}})^{3+}$, ez annak köszönhető, hogy a $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{k}})\text{Cl}_3]$ esetében a kisebb ligandum kevésbé, míg a $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{b}})\text{Cl}_3]$ vegyületnél a két nagy térkitöltésű benzimidazolil ligandum sokkal inkább gátolja a szubsztrátum és a dioxidigén kapcsolódását. A végzett mérések alapján a 10. ábrán látható reakciómechanizmust javasolták a $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{p}})\text{Cl}_3]$ ($\text{p} = \text{a}, \text{b}, \text{k}$) komplexekkel végzett dioxidigénezési reakciókra [23].

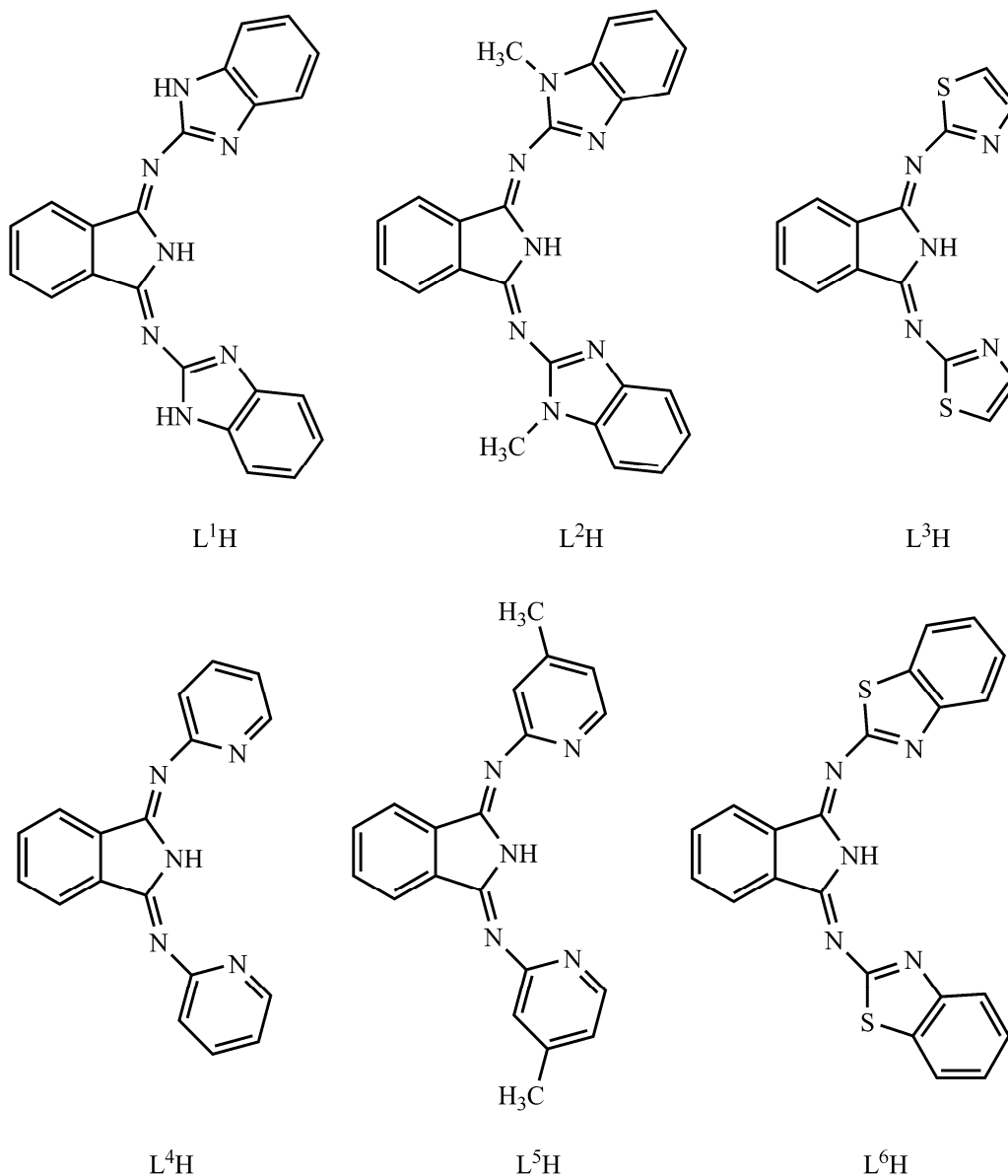


10. ábra. Javasolt intra- és extradiol dioxidigénezési mechanizmus a $[\text{Fe}(\text{L}^{\text{p}})\text{Cl}_3]$ ($\text{p} = \text{a}, \text{b}, \text{k}$) komplexek esetén [23].

2.7. Az általunk felhasznált ligandumok és jellemzésük

A modellvegyületek előállításához háromfogú izoindolin-vázás ligandumokat használtunk fel (11. ábra), melyek egy része már ismert [24, 25], más részüket pedig újonnan állították elő a kutatócsoportban. Az alkalmazott ligandumokra jellemző a merev szerkezet és a planaritás, így donoratomjaik egy síkban helyezkednek el. A

vizsgálatok során azért használtunk több ligandumot a komplexek előállításához, mert korábbi szuperoxid dizmutáz modelljeinkben ezekkel jól hangolható volt a fém redox potenciálja, amelynek lényeges hatása lehet a reaktivásra. Ugyanakkor a ligandumok szerkezete nagyon hasonló, könnyen előállíthatók, szerves oldószerekben oldhatók és az ML komplexekben elméletileg még 3 szabad koordinációs hely található az oxigén és a 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechin (DBCatH₂) számára.

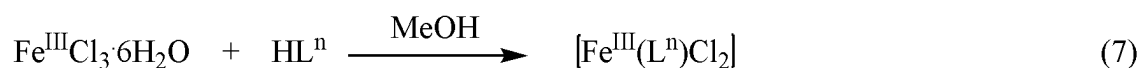


- L^1H : 1,3-bisz(2'-benzimidazolil-imino)-izoindolin
 L^2H : 1,3-bisz(2'-(1-metil-benzimidazolil)-imino)-izoindolin
 L^3H : 1,3-bisz(2'-tiazolil-imino)-izoindolin
 L^4H : 1,3-bisz(2'-piridil-imino)-izoindolin
 L^5H : 1,3-bisz(2'-(4-metil-piridil)-imino)-izoindolin
 L^6H : 1,3-bisz(2'-benztiazolil-imino)-izoindolin

11. ábra. A modellvegyületekhez alkalmazott ligandumok.

2.8. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ ($n = 1-6$) komplexek előállítása

Prekurzor komplexeként a $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ ($n = 1-6$) vegyületeket alkalmaztuk, melyekből a DBCatH₂ a Cl⁻ ligandumokat könnyen kiszorítja bázis jelenlétében, vagyis így eljuthatunk a kívánt CTD modellekhez. A kiindulási komplexek előállításakor FeCl₃·6H₂O metanolos oldatához hozzáadtuk a megfelelő ligandumot argon alatt, majd 70 °C-on refluxáltuk 6 órán át (7). A keletkező csapadékot szűrtük, hideg metanollal mostuk és vákuummal szárítottuk.



Ligandum	Komplex
L ¹	1
L ²	2
L ³	3
L ⁴	4
L ⁵	5
L ⁶	6

2.9. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ komplexek szerkezetének azonosítása

A 2.8. fejezetben bemutatott komplexeket korábban már nagyrészt jellemezték. Ugyan szorosan nem kapcsolódik a dolgozat témájához, de a fenti komplexek egyes tulajdonságait meghatároztuk (FT-IR, UV-Vis és CV), hogy összehasonlíthassuk az előállítandó $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexekével (a spektroszkópiai adatokat a Kísérleti részben felsoroltuk).

Az **1** komplex esetében az IR spektrumon jól láthatók az 1556 és 1509 cm⁻¹-nél jelentkező erőteljes $\nu(\text{C}=\text{N})$ sávok, melyek az L¹H ligandum deprotonált, anionos formájának jelenlétére utalnak, ugyanis a protonált, neutrális L¹H ligandum (szabad ligandum) esetében ezen sávok 1660-1600 cm⁻¹ tartományban jelentkeznének. A 3389 cm⁻¹-nél megfigyelhető kisebb $\nu(\text{NH})$ sáv a benzimidazol NH csoportjának rezgéséből adódik.

A többi komplex IR spektrumán megfigyelhető $\nu(\text{Ar-H})$ sávok 3044 és 3094 cm⁻¹ között jelentkeznék. A **2** és **5** komplexek esetében kevésbé intenzív $\nu(\text{CH}_3)$ sávok figyelhetők meg 2936 és 2919 cm⁻¹-nél, melyek a metil csoporttól származnak, utalva annak jelenlétére a benzimidazol, illetve a piridin gyűrűkön. Az **1** komplexhez hasonlóan, a többi vegyület esetében is azonosíthatók a koordinált indolináto-ligandumok $\nu(\text{C}=\text{N})$ rezgései az 1600-1500 cm⁻¹ tartományban, melyek a ligandumok deprotonált formáinak jelenlétére utalnak.

A **2** komplex UV-Vis spektrumán a szabad ligandumsávok (L²H, λ_{max} =478, 447, 420 nm) eltolódása DMF oldószert használva ~15-20 nm a kisebb energiák felé. Ez a vörös eltolódás jelzi, hogy a ligandum deprotonált formában koordinálódik a fémhez. Ugyanez a batokróom eltolódás kisebb-nagyobb mértékben jellemző a többi komplex sávjaira is.

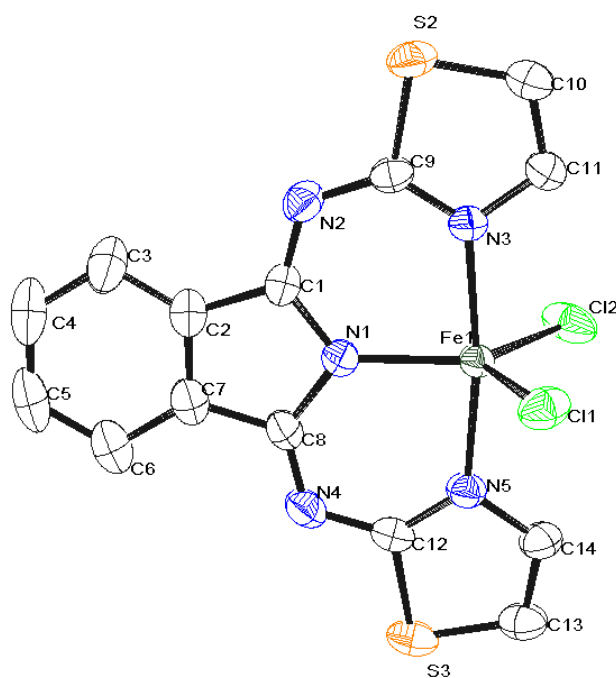
A **3** komplex szerkezetét röntgendiffrakciós módszerrel is meghatározták [26]. A vizsgálat eredményeit a 3. táblázat tartalmazza. A röntgenszerkezetet (12. ábra) tekintve látható, hogy a komplex egymagvú, torzult trigonális bipiramis szerkezetű. A központi vasionhoz a háromfogú izoindolináto-ligandum nitrogénatomjain keresztül kapcsolódik, melyek egy síkban helyezkednek el, a további két ekvatoriális helyet pedig a két klorid

ligandum tölti be. A röntgenszerkezetből tehát jól látható a tipikus FeN_3 egység geometriája és jellemző kötéstávolságai (3. táblázat). Ezek közvetetten érvényesek az *in situ* előállított $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexekre is.

3. táblázat. A 3 komplex fontosabb kötéstávolságai és kötésszögei.

Kötés	Kötéshossz (Å)
Fe1–N1	2,019(2)
Fe1–N3	2,094(2)
Fe1–N5	2,095(2)
Fe1–Cl1	2,2216(8)
Fe1–Cl2	2,2344(8)

Kötés	Kötésszög (°)
N1–Fe1–N3	86,01(9)
N1–Fe1–N5	86,10(9)
N1–Fe1–Cl1	171,29(9)
Cl1–Fe1–Cl2	115,47(4)
N1–Fe1–Cl2	127,11(7)
N3–Fe1–N5	171,29(9)



12. ábra. A 3 komplex röntgenszerkezete.

3. Célkritériumok

Munkánk célja olyan vastartalmú pirokatechin dioxigenáz enzimutánzó komplex vegyületek előállítása és vizsgálata volt, melyek elsősorban funkciójukat tekintve jól modellezik az enzim aktív centrumát. Ennek megfelelően a 2.8. fejezetben ismertetett háromfajú ligandumokkal és vas központi atommal rendelkező 3,5-di-*terc*-butil-pirokatechinát komplexeket szerettünk volna előállítani. A ligandumok kiválasztásánál

szem előtt tartottuk, hogy az egyes származékok komplexképző sajátsága hasonló legyen, emellett a komplexben kötött fémion redox sajátságát megváltoztassák. Ezáltal elkülöníthető a ligandumok különböző sajátságainak (elektronikus, szterikus, gyenge kölcsönhatások) hatása a komplex reaktivására. Továbbá célul tűztük ki az előállított vegyületek oxigénezési reakcióinak vizsgálatát, reakciókinetikai mérések elvégzését és a reakciótermékek azonosítását.

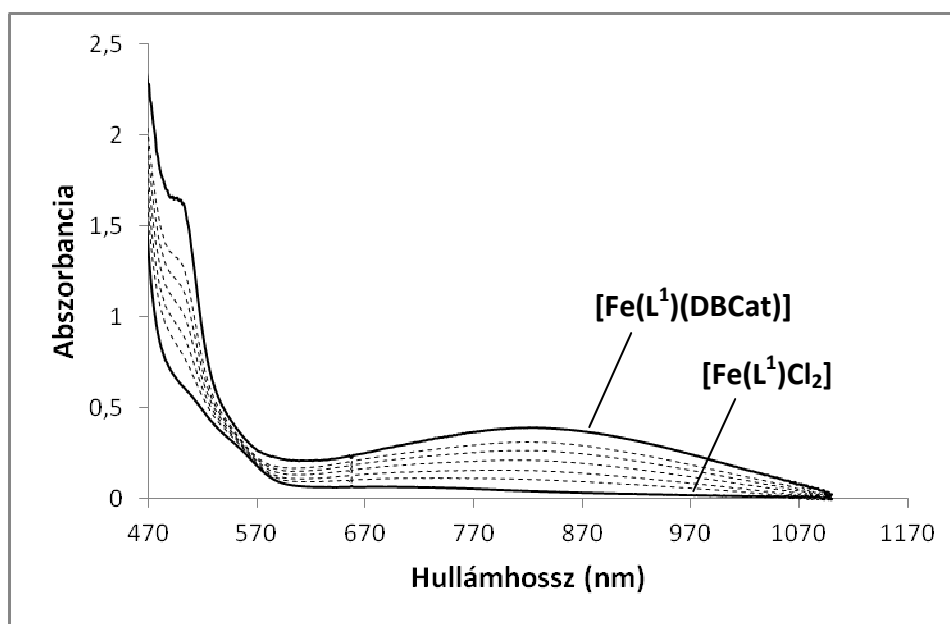
4. Eredmények és értékelésük

4.1. A $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek előállítása és UV-Vis spektroszkópiai jellemzése

A pirokatechin dioxigenáz enzim modelljeként a $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ vegyületeket vizsgáltuk, melyek az ES komplexet utánozzák. Ehhez kiindulásként a $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ vegyületekhez DMF-ben adtunk DBCatH_2 -t és trietil-amint (Et_3N) (8).



L^1	7
L^2	8
L^3	9
L^4	10
L^5	11
L^6	12



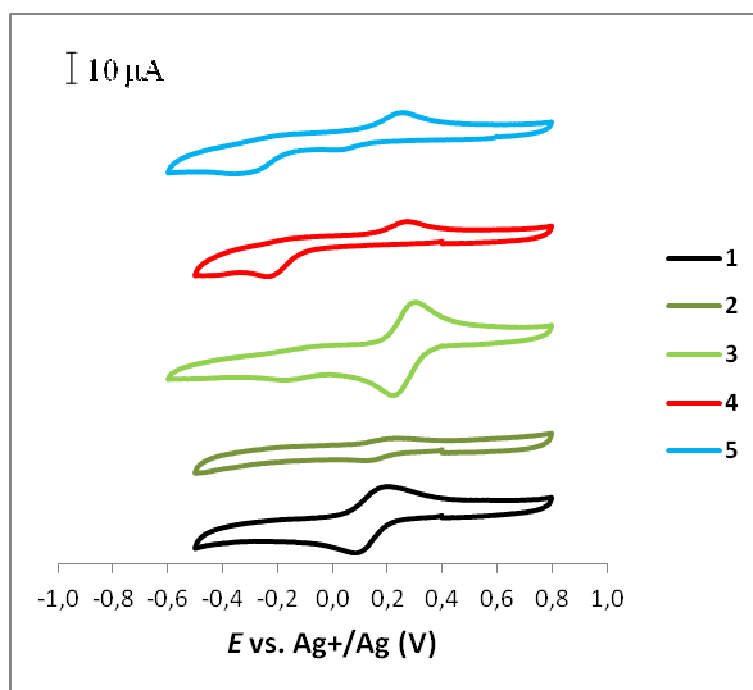
13. ábra. Az **1** komplex esetében a $[\text{Fe}(\text{L}^1)(\text{DBCat})]$ komplex kialakulása Et_3N hozzáadása mellett ($\log \varepsilon_{828} = 3,411$).

A Et_3N deprotonálja a DBCatH_2 -t és az így keletkező DBCat^{2-} kiszorítja a Cl^- ionokat a $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ komplexből. A (8) reakció jól követhető UV-Vis spektroszkópiai módszerrel [23], ugyanis a **7-12** komplexek 790-980 nm között jellegzetes elnyelést mutatnak. A $[\text{Fe}(\text{L}^1)(\text{DBCat})]$ komplex kialakulása jól látható a 13. ábrán, ahol Et_3N

fokozatos (2 ekvivalensig) hozzáadása mellett megfigyelhető a 828 nm-nél jelentkező sáv abszorbanációjának növekedése. A széles sávok maximuma a **7-12** sorrendjében a következő: 828, 828, 790, 860, 860, 980 nm. Ez a bázis hozzáadására megjelenő sáv a vas(III) pirokatechinát komplexének ligandum-fém töltésátviteli (LMCT) átmenetéhez rendelhető [23]. A dioxigénezési reakciók során az LMCT sáv fokozatosan eltűnik, így a reakció nyomonkövetésére alkalmas.

4.2. $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ és $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek elektrokémiai vizsgálata

A komplexek elektrokémiai sajátságainak felderítése fontos a redoxi reakciók vizsgálatában. A redoxátmenetek meghatározására ciklikus voltammetriát (CV) alkalmaztunk. Felvettük a $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ és $[\text{Fe}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek voltammogramját 1 mmol koncentráció mellett (14. és 15. ábra), és ezek alapján megállapítottuk a redoxpotenciál értékeket DMF oldószerben (4. táblázat), argon atmoszféra alatt. Az inert munkaelektrod (üveges szén elektrod, GCE) és a külső elektrod (Pt) közé kapcsolt folyamatosan változó potenciál függvényében ábrázoltuk a mért áramot (14. és 15. ábra). A háromelektrodos konfigurációban a referenciaelektrod Ag/AgCl (3 M KCl) volt. A nagy elektrolit koncentráció miatt, amelyet tetrabutil-ammónium perkloráttal ($c = 0,1 \text{ mol/dm}^3$) biztosítottunk, elektronátadáskor, tehát oxidáció vagy redukció esetén pozitív vagy negatív áramcsúcs mérhető, mivel a keletkezett áram a munkaelektrodon lezajló elektrokémiai folyamatokhoz köthető.

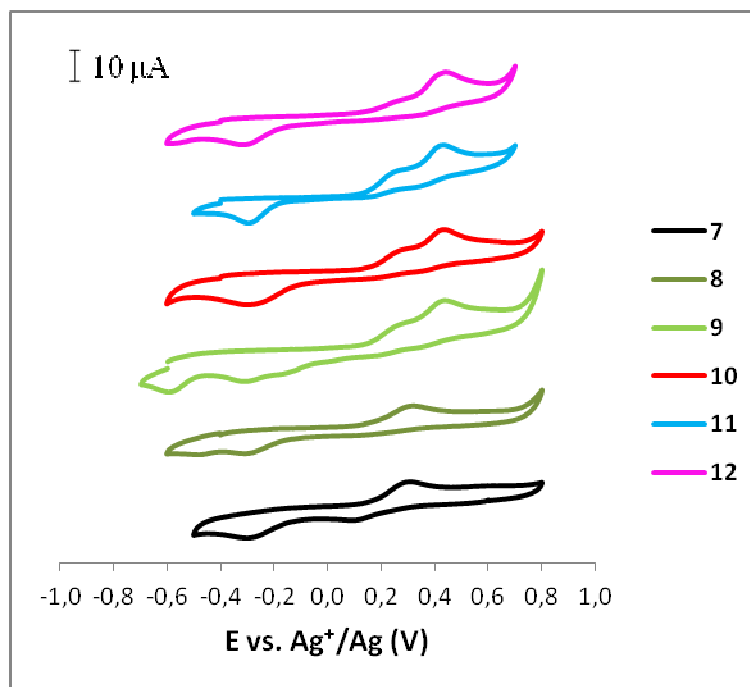


14. ábra. $[\text{Fe}(\text{L}^n)\text{Cl}_2]$ komplexek CV diagramjai. (A 2 komplex voltammogramja a rosszabb oldhatóság miatt mutat kisebb áramcsúcsokat).

A kloridkomplexek esetében elmondható, hogy csak az **1, 2 és 3** komplexek mutatnak reverzibilis viselkedést. Ez a $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ redoxátmenethez rendelhető redukciós és oxidációs áramcsúcsok közel megegyező nagyságából és a csúcsszeparáció ferrocénével megegyező értékéből állapítható meg. A **4 és 5** komplexek oldatában ugyanakkor irreverzibilis átmenetek mérhetők (E_{red}). Ez arra utal, hogy oldatban

(legalábbis a kísérleti körülmények között) számolni kell a klorid ligandum spontán, vagy a vascentrum redukciója által indukált disszociációjával.

A CV méréseket úgy is elvégeztük, hogy a komplex oldatához egy ekvivalens DBCatH₂-t és 4 ekvivalens Et₃N-t adtunk a komplexképződés teljessé tétele érdekében. A mért voltammogramokat a 15. ábrán tüntettük fel. Itt már mindegyik átmenet irreverzibilis. Az áramcsúcsok hozzárendelését az egyes átmenetekhez nehezíti, hogy ebben az esetben a fém mellett a DBCat²⁻ szubsztrátum is redoxaktív, ugyanis oxidációja során DBSQ⁻ gyök-anionná alakulhat. A dioxigénnel szembeni reaktivitás szempontjából az oxidációs potenciálok nagyságának van jelentősége, a továbbiakban ezeket vesszük figyelembe.



15. ábra. [Fe(Lⁿ)(DBCat)] komplexek CV diagramjai.

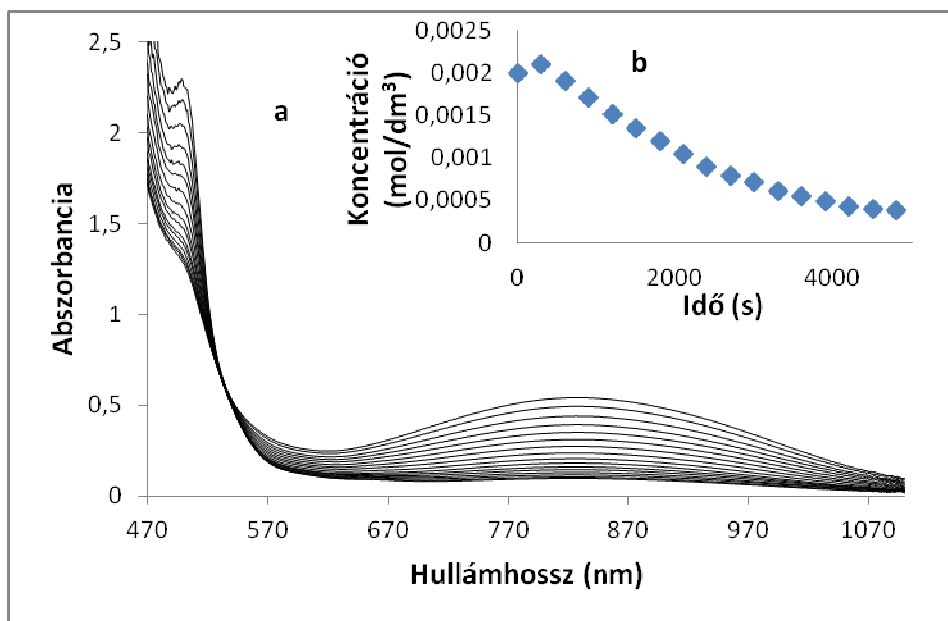
4. táblázat. [Fe(Lⁿ)Cl₂] és [Fe(Lⁿ)(DBCat)] komplexek redox potenciál értékei Ag⁺/Ag-re vonatkoztatva.

Komplex	E_{ox1} (mV)	E_{ox2} (mV)	E_{red1} (mV)	E_{red2} (mV)
1	197		80	
2	229		128	
3	302		221	
4	272		-233	
5	251		15	-355
7		305	95	-300
8		324	-317	-483
9		432	-310	
10		439	-312	
11		432	-295	
12		400	-99	-305

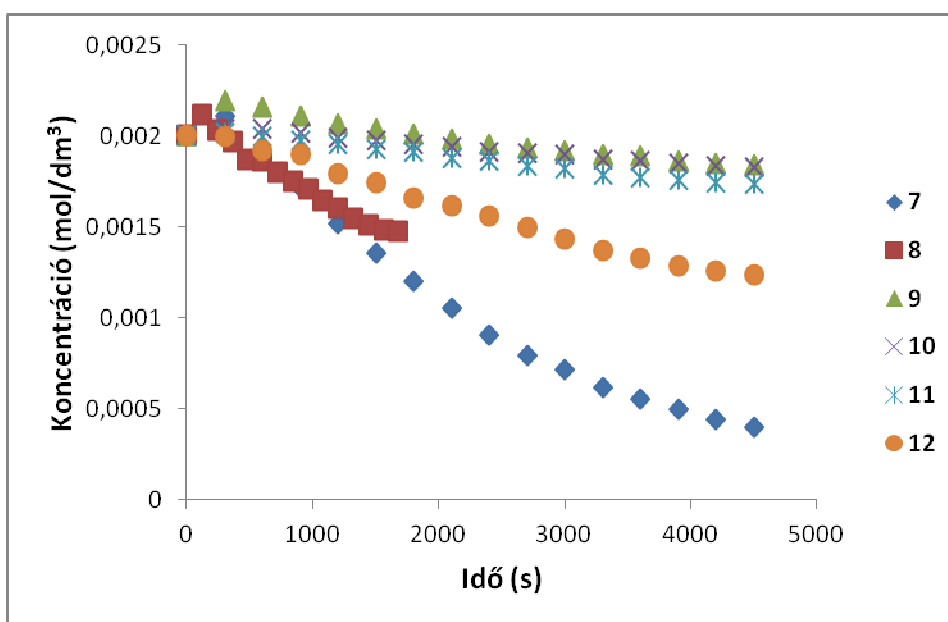
A **9-12** komplexek esetében két lépcsőben történik a komplexek oxidációja. Az első (E_{ox1}) a $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ átmenethez rendelhető, míg a második (E_{ox2}) a $[Fe^{III}(L)(DBCat)] \rightarrow [Fe^{III}(L)(DBSQ)]^+$ szubsztrátum oxidációhoz köthető. (Itt megjegyezzük, hogy amennyiben a dioxigénezés során az O_2 a vascentrumhoz kötődik első lépésben, az nem eredményez gyűrűhasítást. Ennek okát az összefoglalásban bővebben magyarázzuk. Így az E_{ox1} értéke a dioxigenáz utánzó aktivitás szempontjából nem mérhető.) A **7** és **8** komplexek CV-jén ezzel szemben csak egy oxidációs áramcsúcs van jelen (E_{ox2}), jóval negatívabb potenciálnál. A kettős csúcs hiányának oka ugyan nem magyarázható egyértelműen, az azonban bizonyos, hogy az elektron elvételéhez szükséges kisebb energia (vagyis jobb redukáló képesség) előrejelzi utóbbi két komplex várhatóan nagyobb reaktivitását. A **9-12** komplexek esetében két lépcsőben történik a komplexek oxidációja. Az első (E_{ox1}) a $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ átmenethez rendelhető, míg a második (E_{ox2}) a $[Fe^{III}(L)(DBCat)] \rightarrow [Fe^{III}(L)(DBSQ)]^+$ szubsztrátum oxidációhoz köthető. (Itt megjegyezzük, hogy amennyiben a dioxigénezés során az O_2 a vascentrumhoz kötődik első lépésben, az nem eredményez gyűrűhasítást. Ennek okát az összefoglalásban bővebben magyarázzuk. Így az E_{ox1} értéke a dioxigenáz utánzó aktivitás szempontjából nem mérhető.) A **7** és **8** komplexek CV-jén ezzel szemben csak egy oxidációs áramcsúcs van jelen (E_{ox2}), jóval negatívabb potenciálnál. A kettős csúcs hiányának oka ugyan nem magyarázható egyértelműen, az azonban bizonyos, hogy az elektron elvételéhez szükséges kisebb energia (vagyis jobb redukáló képesség) előrejelzi utóbbi két komplex várhatóan nagyobb reaktivitását.

4.3. A $[Fe(L^n)Cl_2]$ és $[Fe(L^n)(DBCat)]$ komplexek dioxigénezési reakcióinak kinetikai vizsgálata

Az *in situ* körülmények között előállított $[Fe(L^n)(DBCat)]$ komplexek dioxigenáz utánzó aktivitását, azok dioxigénezési reakcióin keresztül vizsgáltuk. A méréseket DMF-ben, 60 °C-on végeztük, szubsztrátumként DBCatH₂-t, bázisként pedig Et₃N-t alkalmaztunk. A dioxigénezési reakció időbeli változását UV-Vis spektroszkópiai módszerrel követtük, melyre a $[Fe(L^n)(DBCat)]$ vegyületekre jellemző abszorpciós sáv intenzitásának változása adott lehetőséget. Ha ugyanis a $[Fe(L^n)(DBCat)]$ komplex pirokatechinát liganduma gyűrűhasadt terméké alakul, az LMCT sáv eltűnik. A 16. ábrán a **7** komplex megfelelő reakciójához tartozó spektrumsorozatot ábrázoltuk. Amint látható a 828 nm-es sáv 80 perc alatt teljesen eltűnik (16. (a) ábra), ami a reakció teljes lejátszódására utal. A **8-12** komplexek esetében a megfelelő LMCT sávok csökkenése különböző sebességgel történik (17. ábra). A **8** komplex esetében csapadékképződést tapasztaltunk, ezért a reakciót csak 28 percig tudtuk követni.



16. ábra. Tipikus dioxigénezési reakciót kísérő spektroszkópai változások a legnagyobb vizsgált komplexkoncentráción (a). A $[\text{Fe}(\text{L}^1)(\text{DBCat})]$ komplex dioxigénezési reakciója, koncentráció az idő függvényében (b).



17. ábra. A 7-12 komplexek esetében a koncentráció az idő függvényében ábrázolva.

Mielőtt részletes kinetikai vizsgálatokba kezdtünk, a dioxigénezési reakciók termékeinek azonosítása céljából a reakciókat nagyobb mennyiségű komplexszel is elvégeztük, majd az azonosítást GC-MS módszerrel hajtottuk végre. A vizsgálatokból kiderült, hogy minden esetben intradiol főtermékhez jutottunk (5. táblázat).

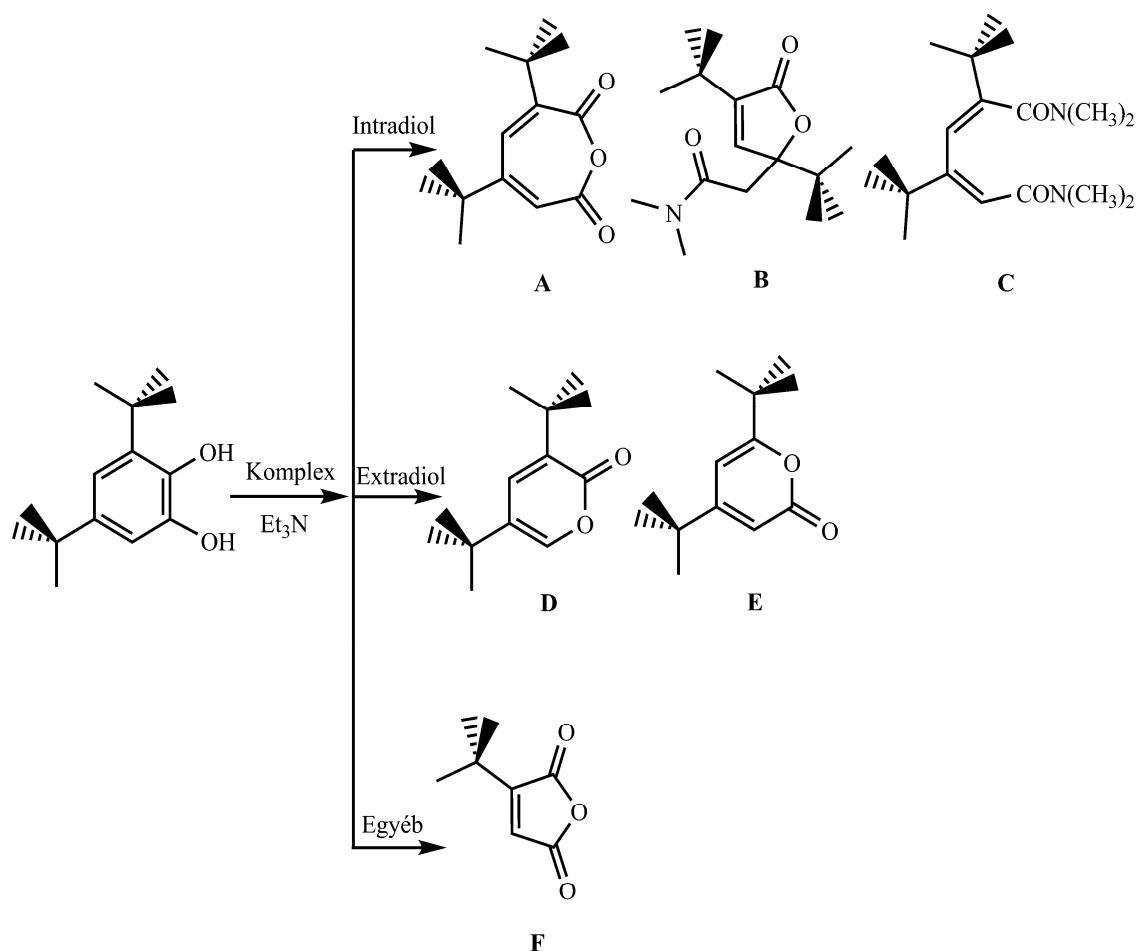
5. táblázat. A dioxigénezési reakciók során azonosított termékek %-os aránya, retenciós ideje (RT) és m/z értéke. A termékek betűkódjait a 18. ábrán tüntettük fel.

Komplex	Intradiol	Extradiol	Egyéb	Teljes hozam
7	A (10%, 25,0, 236) B (24%, 25,8, 281) C (63%, 28,5, 309)	D (~1%, 20,2, 208) E (~1%, 21,4, 208)	F (~1%, 16,3, 156)	98%
8	A - B (15%, 25,5, 281) C (80%, 28,4, 309)	D - E (3%, 21,5, 208)	F (2%, 16,5, 156)	98%
9	A (<1%, 25,1) B (54%, 25,4, 281) C (35%, 28,4, 309)	D (3%, 20,8, 208) E (3%, 21,4, 208)	F (4%, 16,3, 156)	83%
10	A (<1%, 25,1) B (53%, 25,9, 281) C (34%, 28,5, 309)	D - E (9%, 21,3, 208)	F (3%, 16,6, 156)	72%
11	A (1%, 25,2, 236) B (48%, 25,8, 281) C (33%, 28,5, 309)	D (4%, 20,0, 208) E (8%, 21,3, 208)	F (1%, 16,7, 156)	93%
12	A (<1%, 25,0, 236) B (40%, 25,4, 281) C (48%, 28,4, 309)	D (8%, 20,7, 208) E (<1%, 21,3)	F (3%, 16,7, 156)	93%

A termékek azonosítása után UV-Vis spektroszkópiai módszerrel reakciókinetikai vizsgálatokat végeztünk. A reakciókat 60 °C-on, levegő jelenlétében, DMF oldószerben vizsgáltuk $c_{\text{komplex}} = 0,5 \times 10^{-3}$ és 2×10^{-3} mol/dm³ tartományban. A vizsgált reakciók a következő általános sebességi egyenlettel írhatók le:

$$-\frac{d[\text{Fe}]}{dt} = k_{\text{obs}} [\text{Fe}]^m [\text{O}_2]^n \quad (9)$$

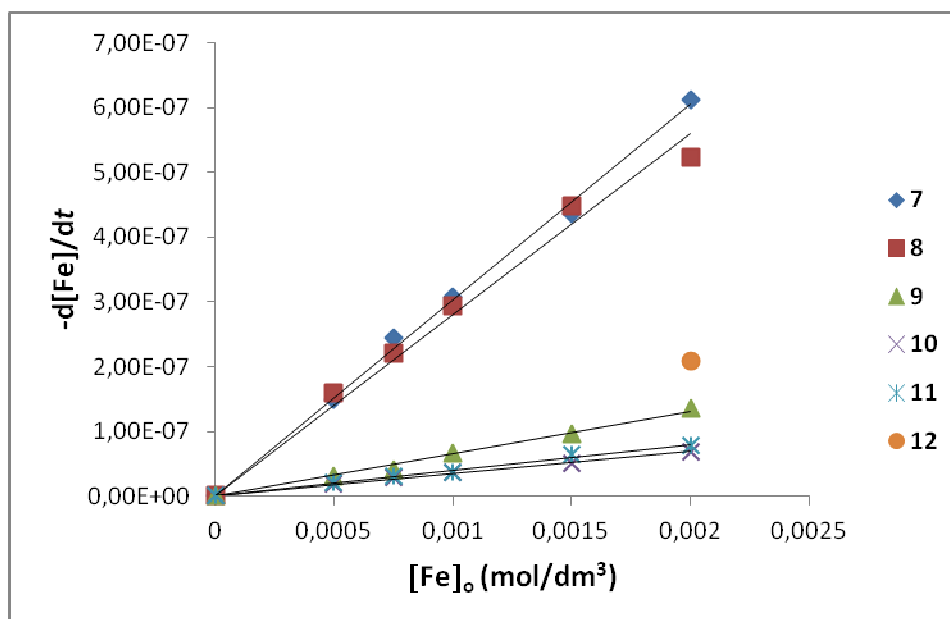
ahol [Fe] a komplex-, [O₂] a dioxigénkoncentráció, k_{obs} pedig a megfigyelt sebességi állandó. Az egyes komplexek esetében a kezdeti reakciósebességeket határoztuk meg különböző kiindulási koncentrációk mellett (19. ábra). Az UV-Vis spektrofotométerrel kapott abszorbanca vs. idő spektrumokból koncentráció vs. idő függvényeket kapunk, melyek meredekségét, valamint a komplex és O₂ koncentrációkat és részrendeket ismerve a k_{obs} értékek meghatározhatók (6. táblázat). A 19. ábra alapján mindegyik komplex esetében elmondható, hogy $m = 1$.



18. ábra. Dioxigénezési reakció termékei: 3,5-di-*tert*-butil-1-oxaciklohepta-3,5-dién-2,7-dion (A), 3,5-di-*tert*-butil-5-(karboximetil)-2-furanon (B), 3,5-di-*tert*-butil-1,6-bisz-(*N,N*-dimetil-amino)-1,6-dion-2,4-hexadién (C), 3,5-di-*tert*-butil-2-piron (D), 4,6-di-*tert*-butil-2-piron (E) és 3-*tert*-butil-furán-2,5-dion (F) [23].

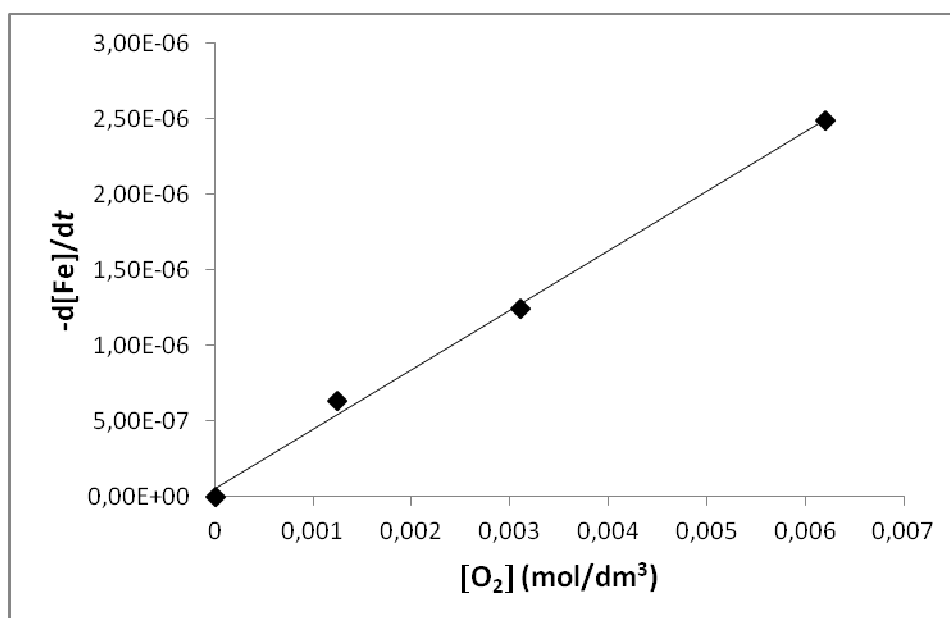
6. táblázat. Az 1-6 komplexek k átlagértékei 60 °C-on $1,24 \times 10^{-3}$ mol/dm³ dioxigénkoncentráció mellett.

Komplex	$k_{\text{átlag}}$ ($10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
1	$24,6 \pm 0,16$
2	$23,6 \pm 0,25$
3	$5,02 \pm 0,60$
4	$2,90 \pm 0,17$
5	$3,19 \pm 0,32$
6	$8,36 \pm 0,00$



19. ábra. A kezdeti reakciósebességek a 7-12 komplex esetében ($-d[\text{Fe}]/dt$ a koncentráció függvényében).

A 7 komplex esetében mértük a reakció O_2 -függését is gázbekeveréses módszerrel. Gázbürettát alkalmazva, különböző O_2 koncentrációkat beállítva végeztük el a dioxigénezési reakciókat és UV-Vis spektroszkópiai módszerrel követtük nyomon. A kapott eredmények érvényesek a többi komplexre is. A pontokra egyenes illeszthető, amiből következik, hogy a reakció részrendje dioxigénre nézve $n = 1$ (20. ábra). (A 12 komplexre a részletes kinetikai vizsgálatok folyamatban vannak.)



20. ábra. Oxigénfüggés a 7 komplex esetében (koncentráció időbeli változása az O_2 koncentráció függvényében).

A kinetikai sebességi egyenlet (9) tehát az alábbi formában írható föl mindegyik komplexre (10):

$$-\frac{d[Fe]}{dt} = k_{obs}[Fe][O_2] \quad (10)$$

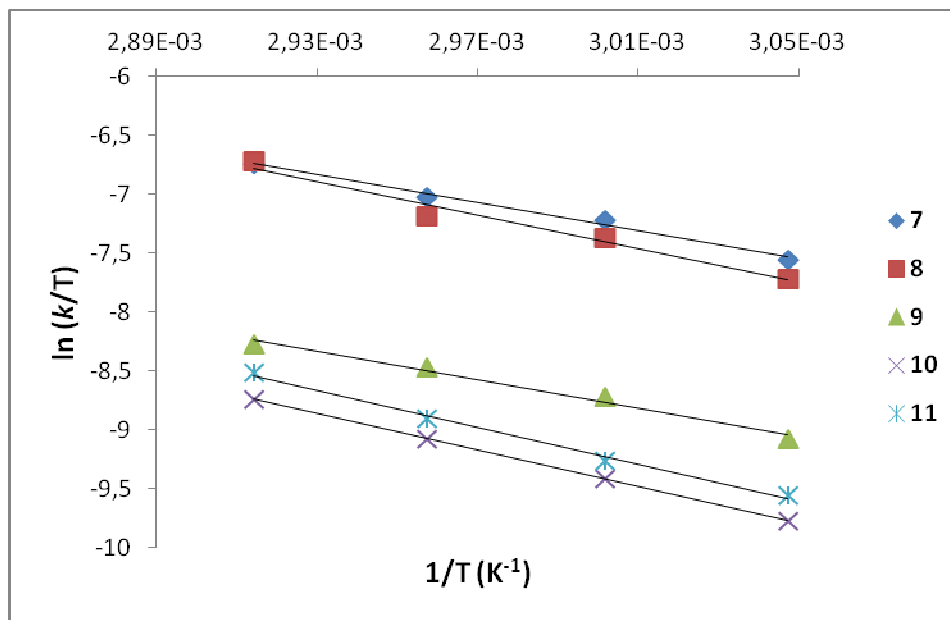
Ezután vizsgáltuk a reakciók hőmérséklet-függését úgy, hogy különböző hőmérsékleteket és a legnagyobb komplexkoncentrációt (2×10^{-3} mol/dm³) alkalmaztuk DMF oldószerben és levegő jelenlétében. A 7-11 komplexek esetén a különböző reakciókinetikai paramétereket (7. táblázat) az Arrhenius- és Eyring-egyenletek segítségével határoztuk meg:

$$k_{obs} = Ae^{\frac{E_a}{RT}} \rightarrow \ln k_{obs} = -\frac{E_a}{RT} + \ln A \quad (11)$$

$$\ln \frac{k}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{RT} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} + \ln \frac{k_B}{h} \quad (12)$$

ahol A a preexponenciális tényező, E_a az aktiválási energia, R az univerzális gázállandó, T az abszolút hőmérséklet, $\Delta H^\ddagger$ az aktiválási entalpia, $\Delta S^\ddagger$ az aktiválási entrópia, k_B a Boltzmann-állandó, h pedig a Planck-állandó. A k sebességi állandók a (9) egyenlet alapján itt is meghatározhatók. Az $\ln k$ és $\ln(k/T)$ értékeket ábrázolva az $1/T$ függvényében a kapott pontokra egyenes illeszthető (21. ábra). Az egyenesek meredekségéből és tengelymetszetéből a (11) és (12) egyenletek segítségével kapjuk az aktiválási paramétereket az egyes komplexek esetében.

A termékek ismeretében elmondható, hogy a dioxigénezési reakciók során nagyon jó szelektivitással (81-97%) mindig az intradiol gyűrűhasításból származó vegyületek keletkeznek. Ennek figyelembevételével és a kinetikai méréseink eredményei alapján a 22. ábrán látható mechanizmusjavaslatot tehetjük.



21. ábra. A 7-11 komplexek esetében az $\ln(k/T)$ értékek $1/T$ függvényében.

7. táblázat. Az 7-11 komplexek aktiválási paraméterei.

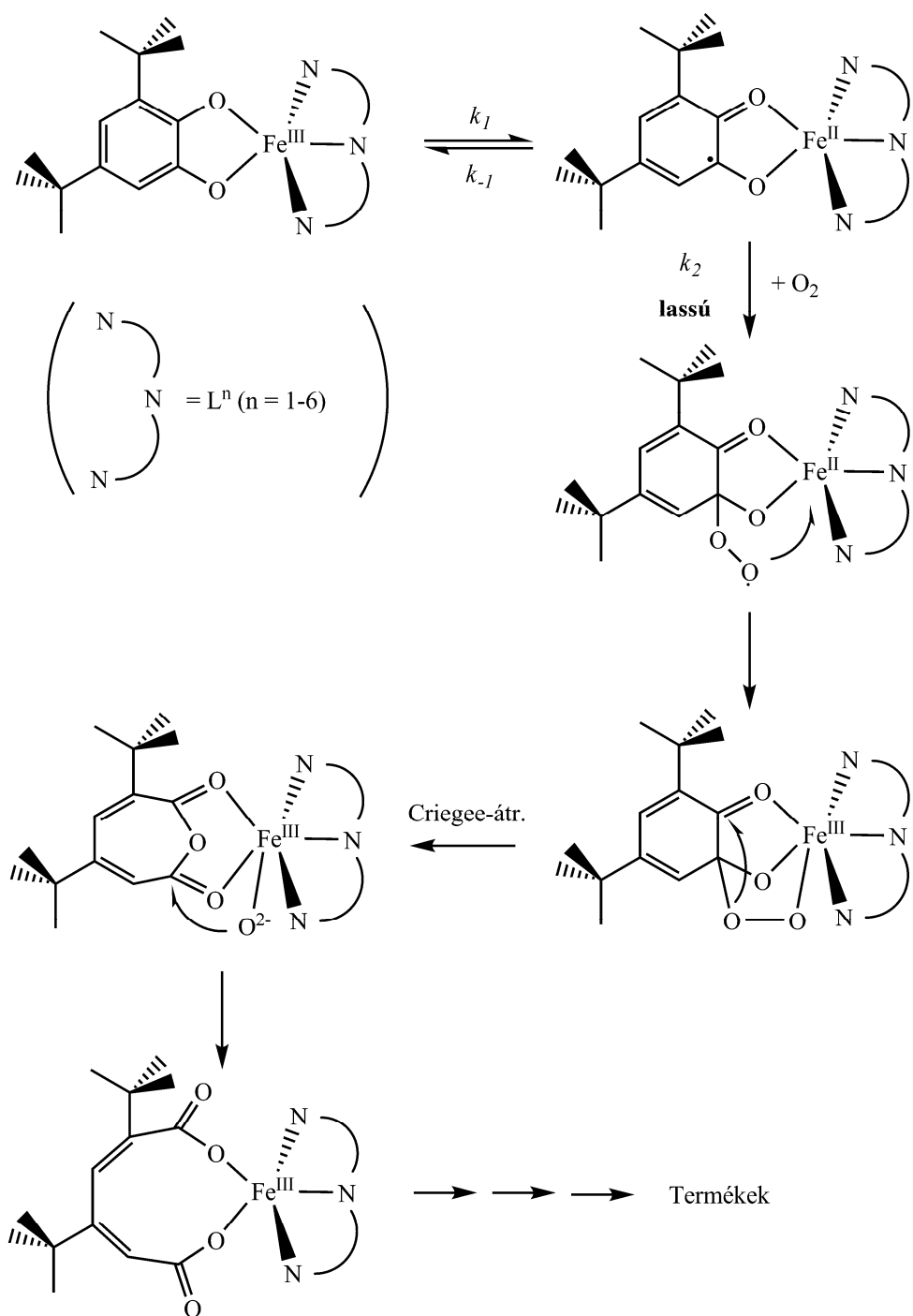
Komplex	ΔE_a (kJ/mol)	$\Delta H^\ddagger$ (kJ/mol)	$\Delta S^\ddagger$ (J/mol)
7	$51,9 \pm 3,3$	$49,1 \pm 3,3$	-110 ± 1
8	$61,9 \pm 7,3$	$59,1 \pm 7,3$	-82 ± 3
9	$52,9 \pm 4,3$	$50,1 \pm 4,3$	-120 ± 2
10	$66,8 \pm 0,3$	$64,0 \pm 0,3$	-84 ± 0
11	$68,3 \pm 3,5$	$65,5 \pm 3,5$	-78 ± 1

Az *in situ* előállított $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L}^n)(\text{DBCat})]$ komplexek jellegzetes LMCT elnyelési sávja a látható/közeli infra tartományban a szubsztrátum kétfogú kötődésére utal [27,28]. Az intradiol hasítást végző enzim esetében általánosan elfogadott feltételezés, hogy a vas(III)ion szerepe a szubsztrát-molekula aktiválása, amelynek során a vas(III) pirokatechinát komplex vegyérték-izomerizáció révén a vas(II) szemikinsonát formával tart egyensúlyt [29]. Ilyen módon a komplexekben kötött szubsztrátum pártalan elektronra tesz szert és a tripllett állapotú dioxigénnel való reakciója spin-megengedetté válik. Az általunk a modellvegyületekre javasolt általános mechanizmus első, előegyensúlyi lépése is ez (k_1/k_{-1}). A vas(II) izomerben lévő szemikinsonát a következő lépésben megköt egy dioxigén molekulát, melynek révén egy alkilperoxil gyök intermedier alakul ki (k_2). Ez egyben a reakció leglassabb, sebesség-meghatározó lépése is. Erre a (10) egyenlet alapján lehet következtetni, hiszen abban mind a dioxigén, mind pedig a komplex részrendje egy. Vagyis mindkét reaktáns a lassú lépést megelőzően, részt vesz az aktív komplex kialakításában. A peroxil gyök ezután egy trioxa-metallociklussá alakul, amelynek gyors Criegee-átrendeződése [29] biztosítja a mukonsav termék kialakulását. A GC-MS vizsgálatokkal kimutatott, mukonsavból származó termékek (A, B és C) már a primer termék átrendeződésével és/vagy az oldószerként használt *N,N*-dimetil-formamiddal való reakciójának következtében alakulnak ki. A csupán néhány százaléknyi mennyiségben keletkező extradiol termékek (D, E és F) nyilvánvalóan más mechanizmus szerint vezethetők le, de ennek magyarázata túlmutat e dolgozat keretein. Az egyes komplexeket összehasonlítva említést érdemel, hogy a lassabb megfigyelt reakciósebességek esetében (kisebb k_{obs} értékek) nagyobb mértékben keletkeznek extradiol termékek. Az egyes komplexekre mért k_{obs} értékek hőmérséklet-függéséből meghatározott aktiválási entrópiák nagy negatív értékei alátámasztják a 22. ábrán javasolt asszociatív mechanizmust. Az aktiválási entalpiákban mutatkozó növekvő trend a 7-12 komplex sorozatban, összhangban áll a sebességi együtthatók arányos csökkenésével.

A javasolt mechanizmusból a (13) sebességi egyenlet vezethető le, amely a (11) kinetikai sebességi egyenlettel jó egyezést mutat, ha $k_{obs} = (k_1 k_2)/k_{-1}$.

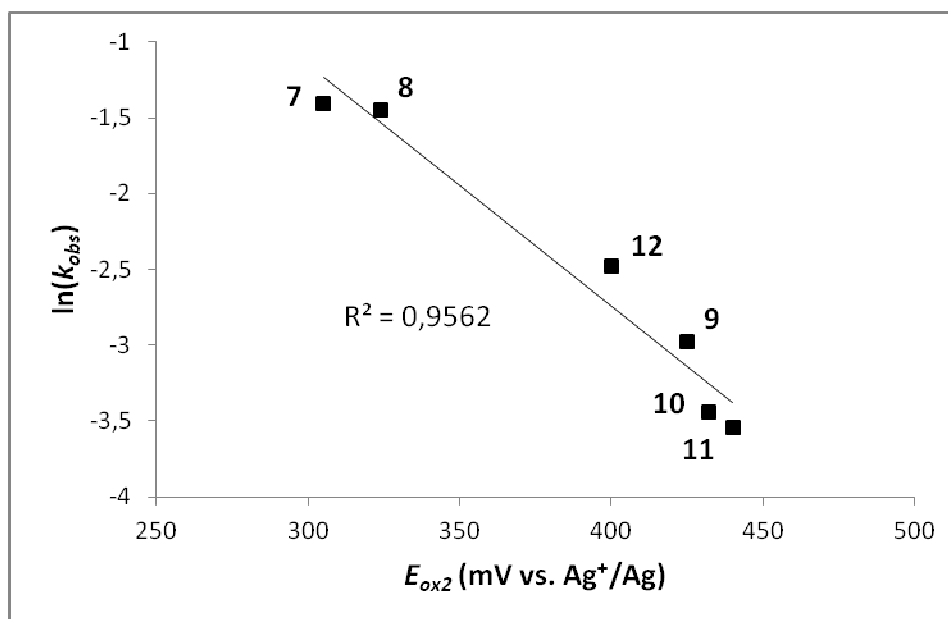
$$-\frac{d[\text{Fe}]}{dt} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1}} [\text{Fe}][\text{O}_2] \quad (13)$$

Egyrészt tehát az előegyensúly vas(II) forma felé tolódása kedvez a reakciónak, másrészt a k_2 növekedése, vagyis a vas(II) forma minél nagyobb reaktivitása dioxigénnel szemben. Várható, hogy utóbbira a komplex redox potenciálja jelentős hatást gyakorol. A komplexek voltammogramjain (15. ábra) az E_{ox2} átmenete hozható összefüggésbe a koordinált DBCat²⁻ ligandum DBSQ⁻ gyök-anionná való oxidációjával.



22. ábra. A modellkomplexek intradiol dioxigénezési reakcióinak általunk javasolt mechanizmusa.

Ha a komplexben kötött szubsztrátum könnyebben oxidálható (E_{ox2} kisebb), akkor nagyobb reakciósebességre számíthatunk. Az $\ln k_{obs}$ értékeket az E_{ox2} függvényében ábrázolva jó regresszióval negatív meredekségű egyenes illeszthető a pontokra, amelynek meredeksége alapján a k_{obs} sebességi együttható a kompleksorozatban ötödrészére csökken 100 mV-os redox potenciálnövekedés hatására ($d\ln(k_{obs})/dE = -(1,6 \pm 0,2)/100 \text{ mV}$). Ez az elektronikus hatás tekinthető tehát a legmeghatározóbbnak a reakciósebesség szempontjából.

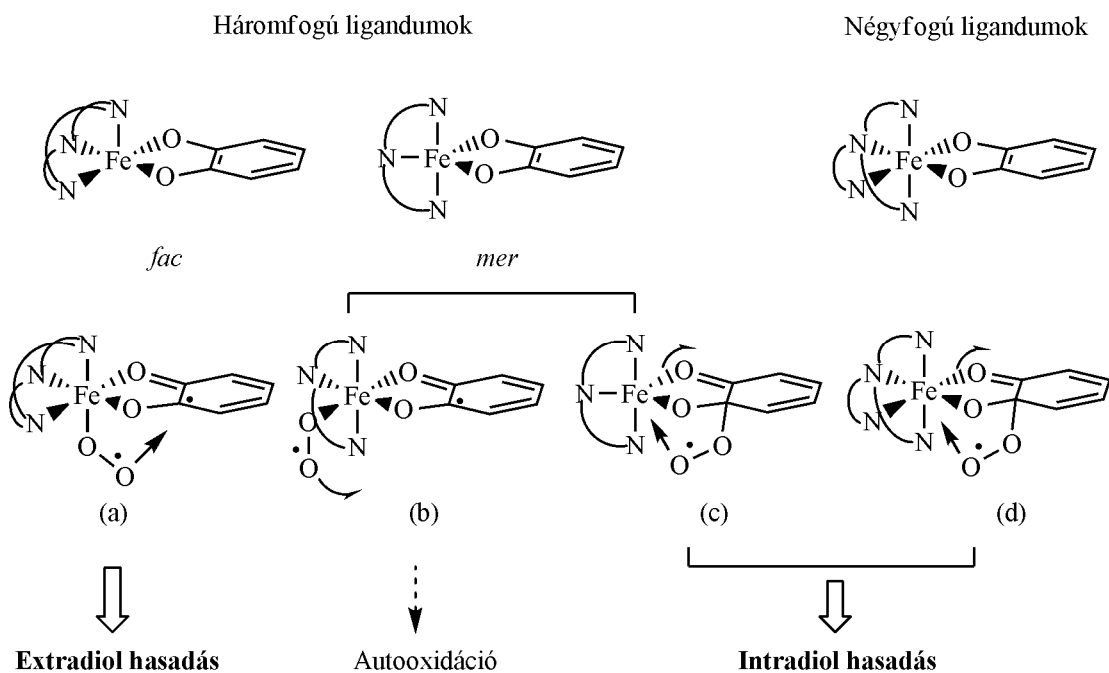


23. ábra. A reakciósebesség ($\ln k_{obs}$) függése a vaskomplexek redox potenciáljától.

5. Összefoglalás

A pirokatechin dioxigenáz enzim modelljeként *in situ* körülmények között $[Fe(L^n)(DBCat)]$ komplexeket állítottunk elő, kiindulásképpen pedig a $[Fe(L^n)Cl_2]$ vegyületeket alkalmaztuk prekürzorként. Az 1-12 vegyületek szerkezetét UV-Vis és IR spektroszkópiai módszerekkel, redox tulajdonságaikat pedig ciklikus voltammetriával vizsgáltuk. A 7-12 komplexek dioxigenáz utánzó aktivitását azok dioxigénezési reakcióin keresztül határoztuk meg a reakciókinetika felderítésével. A reakciótermékeket gázkromatográfiás és tömegspektrometriás módszerrel azonosítottuk, eredményeink alapján javaslatot tettünk a reakciómechanizmusra. Továbbá fényt derítettünk arra, hogy a ligandumok nagymértékben befolyásolják a dioxigénezési reakció mechanizmusát és egyben a keletkező termékeket is. Korábban vizsgált háromfogú faciális (*fac*) és meridionális (*mer*), valamint négyfogú ligandumokat tartalmazó komplexek esetén kiderült, hogy háromfogú faciális ligandum esetén a DBCatH₂ dioxigénezése során 97 %-ban az extradiol termék, meridionális ligandum esetén 20 %-ban intradiol termék és 78 %-ban az oxidáz aktivitáshoz köthetően kinon, míg négyfogú ligandum esetén 84-98 %-ban intradiol termék keletkezik (24. ábra) [30]. Faciális ligandum jelenlétében a dioxigénnek van lehetősége a vashoz koordinálódni, majd támadni a komplexben kötött szemikinont, ami extradiol hasításhoz vezet. Meridionális ligandumnál (esetünkben is), a dioxigén vason történő megkötődésével kedvezőtlen geometria alakul ki a trioxametallociklus kialakítására, hiszen a dioxigén nagyon távol kerül a szemikinonát gyök-aniontól, ezért autooxidáció játszódhat le. Esetünkben azonban kinon terméket nem tudtunk kimutatni. Ugyanakkor a dioxigén molekula a vas helyett a szemikinonáthoz is kapcsolódhat. Ilyen módon intradiol termék keletkezik. Modellkomplexeink dioxigénezése során nagy szelektivitással ez a reakcióút valósul meg. Négyfogú ligandum esetében nincs hely a dioxigén vashoz történő koordinációjára, tehát szintén intradiol hasítás megy végbe. Az elektrokémiai méréseink, valamint az egyes komplexek $\ln(k_{obs})$ értékének csökkenése az oxidációs potenciál növekedésével azt bizonyítja, hogy a koordinált szemikinon redukáló erejének

növekedése pozitív hatással van a reakciósebességre. Minden eredményünk összhangban van tehát az általunk javasolt mechanizmussal.



24. ábra. A különböző három- és négyfogú ligandumok hatása a dioxigénezési mechanizmusra [30].

6. Kísérleti rész

Az inert kísérleteket levegő és nedvesség kizárásával végeztük. Az argon gázt foszfor-pentoxid-os és blaugéles rendszeren szárítottuk, valamint szén-dioxid és oxigénmentesítettük (KOH és DEOXO katalizátor). A felhasznált oldószereket tisztítottuk és argon alatt tároltuk.

A műszeres vizsgálatokhoz alkalmazott készülékek:

Thermo Nicolet Avatar 330 FT-IR,
Agilent 8453 diódasoros UV-Vis spektrofotométer
VoltaLab 10 potenciosztát VoltaMaster 4 szoftverrel

A ligandumok és komplexek előállításához felhasznált kiindulási anyagok kereskedelmi termékek voltak, a preparatív munka a leírtak szerint történt.

[Fe^{III}(L¹)Cl₂] előállítása

Bemértünk 1,081 g (0,004 mol) FeCl₃·6H₂O-t és 1,504 g (0,004 mol) L¹H-t, majd feloldottuk 30 ml MeOH-ban. Ezután golyós hűtőt csatlakoztattunk a Schlenk-edényhez és az argon alatti oldatot 6 órán keresztül 70 °C-on refluxáltuk. A refluxálás után a csapadékos oldatot üvegszűrőn szűrtük, a csapadékot hideg metanollal mostuk és vákuummal szárítottuk, barna színű terméket kaptunk. Hozam: 1,442 g (71,7 %).

UV-Vis (DMF): 259,0 nm (logε = 4,238), 296,0 nm (logε = 4,032), 359,0 nm (logε = 4,164), 425,0 nm (logε = 4,162), 449,0 nm (logε = 4,139).

IR (KBr): 3389 (gy) (ν(NH)), 3269 (gy), 3068 (gy), 1651 (gy), 1628 (k), 1598 (e), 1556 (e) (ν(C=N)), 1513 (k), 1509 (e) (ν(C=N)), 1441 (k), 1426 (e), 1348 (gy), 1319 (k), 1286 (gy), 1184 (gy), 1094 (k), 1038 (k), 760 (k), 743 (k), 700 (k), 642 (gy), 610 (gy), 563 (gy), 524 (gy) cm⁻¹.

A további komplexeket a fentivel megegyező módon állítottuk elő.

[Fe^{III}(L²)Cl₂] előállítása

Kiindulási anyagok: 1,081 g (0,004 mol) FeCl₃·6H₂O és 1,616 g (0,004 mol) L²H. Hozam: 1,469 g (69,2 %). UV-Vis (DMF): 262,0 nm (logε = 4,192), 269,0 nm (logε = 4,139), 354,0 nm (logε = 4,084), 377,0 nm (logε = 4,076), 427,0 nm (logε = 4,124). IR (KBr): 3052 (gy) (ν(Ar-H)), 3023 (gy), 2936 (gy) (ν(CH₃)), 1628 (k), 1615 (k), 1553 (e) (ν(C=N)), 1504 (k), 1477 (k), 1448 (k), 1400 (k), 1305 (k), 1294 (k), 1178 (k), 1153 (gy), 1049 (e), 950 (gy), 894 (gy), 771 (gy), 741 (e), 704 (k), 686 (gy), 656 (gy), 546 (gy), 471 (gy), 460 (gy) cm⁻¹.

[Fe^{III}(L³)Cl₂] előállítása

Kiindulási anyagok: 1,081 g (0,004 mol) FeCl₃·6H₂O és 1,240 g (0,004 mol) L³H. Hozam: 1,148 g (65,7 %). UV-Vis (DMF): 289,0 nm (logε = 4,053), 407,0 nm (logε = 4,057), 436,0 nm (logε = 4,078), 463,0 nm (logε = 4,051). IR (KBr): 3427 (k), 3094 (gy) (ν(Ar-H)), 2922 (gy), 2664 (gy), 1607 (gy), 1583 (e), 1555 (k), 1514 (e) (ν(C=N)), 1481 (k), 1459 (gy), 1364 (gy), 1310 (gy), 1232 (k), 1207 (gy), 1150 (gy),

1101 (k), 1065 (k), 907 (gy), 875 (k), 810 (gy), 774 (gy), 712 (k), 637 (gy), 621 (gy) cm^{-1} .

[Fe^{III}(L⁴)Cl₂] előállítás

Kiindulási anyagok: 1,081 g (0,004 mol) FeCl₃·6H₂O és 1,192 g (0,004 mol) L⁴H. Hozam: 1,155 g (67,9 %). UV-Vis (DMF): 277,0 nm (log ϵ = 4,391), 330,0 nm (log ϵ = 4,196), 343,0 nm (log ϵ = 4,179), 365,0 nm (log ϵ = 4,161), 386,0 nm (log ϵ = 4,208). IR (KBr): 3052 (gy) (ν (Ar-H)), 1630 (gy), 1601 (gy), 1577 (e) (ν (C=N)), 1551 (k), 1530 (e) (ν (C=N)), 1467 (e), 1430 (k), 1356 (k), 1292 (k), 1268 (k), 1246 (k), 1183 (k), 1149 (k), 1091 (gy), 1049 (e), 1006 (k), 832 (k), 775 (e), 710 (k), 694 (k), 642 (gy), 533 (gy), 514 (k) cm^{-1} .

[Fe^{III}(L⁵)Cl₂] előállítás

Kiindulási anyagok: 1,081 g (0,004 mol) FeCl₃·6H₂O és 1,308 g (0,004 mol) L⁵H. Hozam: 0,869 g (47,9 %). UV-Vis (DMF): 278,0 nm (log ϵ = 4,091), 296,0 nm (log ϵ = 4,085), 331,0 nm (log ϵ = 4,057), 368,0 nm (log ϵ = 4,056), 387,0 nm (log ϵ = 4,119). IR (KBr): 3044 (gy) (ν (Ar-H)), 2919 (gy) (ν (CH₃)), 1649 (gy), 1638 (gy), 1611 (k), 1580 (e) (ν (C=N)), 1522 (e) (ν (C=N)), 1471 (e), 1403 (k), 1353 (k), 1294 (k), 1277 (e), 1234 (k), 1173 (k), 1087 (k), 1043 (e), 1006 (k), 938 (k), 889 (k), 817 (k), 777 (k), 751 (k), 712 (e), 698 (k), 548 (gy), 521 (k), 464 (k) cm^{-1} .

[Fe^{III}(L⁶)Cl₂] előállítás

Kiindulási anyagok: 1,081 g (0,004 mol) FeCl₃·6H₂O és 1,642 g (0,004 mol) L⁶H. Hozam: 0,869 g (47,9 %). UV-Vis (DMF): 369,0 nm (log ϵ = 4,088), 389,0 nm (log ϵ = 4,026), 420,0 nm (log ϵ = 4,017), 445,0 nm (log ϵ = 4,161), 474,0 nm (log ϵ = 4,208), 508,0 nm (log ϵ = 4,006). IR (KBr): 3434 (gy), 3234 (gy), 3053 (gy) (ν (Ar-H)), 1635 (k), 1616 (e), 1590 (k) (ν (C=N)), 1530 (k) (ν (C=N)), 1474 (k), 1456 (k), 1424 (k), 1380 (gy), 1312 (k), 1296 (k), 1254 (k), 1213 (k), 1162 (k), 1093 (k), 1033 (e), 914 (k), 844 (gy), 804 (gy), 783 (k), 754 (e), 722 (k), 709 (k), 667 (gy), 641 (gy), 578 (gy), 465 (gy), 441 (k) cm^{-1} .

A dioxigénezési reakciók kinetikai és gázkromatográfiás vizsgálata

A kinetikai mérések során első lépésben egy kétnyakú gömblombikhoz golyós hűtőt csatlakoztattunk, bemértük az **1-6** komplexek egyikét és a szubsztrátumként szolgáló DBCatH₂-t ($0,5 \times 10^{-3}$ - 2×10^{-3} mol/dm³ koncentrációban), oldószerként pedig 30 cm³ DMF-et alkalmaztunk levegő jelenlétében. Az oldatot állandó keverés mellett olajfürdővel adott hőmérsékleten tartottuk (55-70°C, $\pm 1^\circ\text{C}$) és hozzáadtunk 4 ekvivalens Et₃N-t szeptumon keresztül. A mintavételezést 5 percenként végeztük fecskendő segítségével ($V_{\text{minta}} \sim 0,1 \text{ cm}^3$). A reakciót UV-Vis spektrofotométerrel követtük, a mérésekhez 0,1 cm-es úthosszú kvarcküvetát alkalmaztunk. A reakció dioxigén függését gázbekeveréses módszerrel mértük, gázbürettát alkalmazva. A kívánt összetételű gázkeveréket manométerrel összekötött gázbürettával biztosítottuk a reakció során.

A dioxigénezési reakciót nagyobb mennyiségű komplexszel (0,1 mmol) is elvégeztük ugyanilyen körülmények között a reakciótermékek azonosítása miatt. A 48 órás reakcióidő végeztével az 5 cm³ DMF-ben lévő reakcióelegyhez első lépésben 5 cm³

10%-os H_2SO_4 -at adtunk, fél órát kevertettük, majd elválasztótölcsér segítségével $3 \times 10 \text{ cm}^3$ dietil-éterrel extraháltuk a termékeket. Az éteres fázist CaCl_2 -dal szárítottuk, szűrtük, majd bepároltuk. Az elegyhez 1 cm^3 dietil-étert adva, abból $1,0 \mu\text{l}$ mintát vettünk és elvégeztük annak gázkromatográfiás meghatározását. A gázkromatográfiás mérések minden esetben azonos mérési paraméterek beállításával történtek, a kromatogrammok csúcsaihoz tartozó komponensek azonosítása GC-MS technikával történt.

7. Irodalomjegyzék

- [1] K. D. Karlin, *Science*, 261, 701 (1993).
- [2] R. W. Hay, *Bio-Inorganic Chemistry*, Ellis Harwood Ltd., Chicester (1984).
- [3] E. Kőrös, *Bioszervetlen kémia*, Gondolat Kiadó, Budapest (1980).
- [4] T. Funabiki, *Oxygenases and Model Systems*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1997), 1-18., 19-104.
- [5] A. L. Feig, S. Lippard, *Chem. Rev.*, 94, 759 (1994).
- [6] D. H. Ohlendorf, J. D. Lipscomb, P. C. Weber, *Nature*, 336, 403 (1988).
- [7] S. Han, L. D. Eltis, K. J. Timmis, S. W. Muchmore, J. T. Bolin, *Science*, 270, 976 (1995).
- [8] O. Hayaishi, M. Katagiri, S. Rotherberg, *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 5450 (1955).
- [9] O. Hayaishi, M. Katagiri, S. Rothberg, *J. Biol. Chem.*, 229, 905 (1957).
- [10] O. Hayaishi, K. Hashimoto, *J. Biochem.*, 37, 371 (1950).
- [11] K. Nagami, S. Senoh, *J. Biochem.*, 75, 389 (1974).
- [12] R. N. Patel, C. T. Hou, A. Felix, M. O. Lillard, *J. Bacteriol.*, 127, 536 (1976).
- [13] M. Itoh, *Agric. Biol. Chem.*, 45, 2787 (1981).
- [14] E. Dorn, H. J. Knackmuss, *J. Biochem.*, 174, 85 (1978).
- [15] M. Fujiwara, L. A. Golvleva, Y. Saeki, M. Nozaki, O. Hayaishi, *J. Biol. Chem.*, 502, 4848 (1975).
- [16] C. Nakai, T. Nakazawa, M. Nozaki, *Arch. Biochem. Biophys.*, 267, 701 (1988).
- [17] L. Que Jr., *Coord. Chem. Rev.*, 50, 73 (1983).
- [18] Y. Kojima, N. Itada, O. Hayaishi, *J. Biol. Chem.*, 236, 2223 (1961).
- [19] M. Nozaki, S. Kotani, K. Ono, S. Senoh, *Biochim. Biophys. Acta*, 220, 213 (1970).
- [20] L. Shu, Y.-M. Chiou, A. M. Orville, M. A. Miller, J. D. Lipscomb, L. Que Jr., *Biochem.*, 34, 6649 (1995).
- [21] D. M. Arciero, J. D. Lipscomb, *J. Biol. Chem.*, 261, 2170 (1986).
- [22] M. Velusamy, M. Ramasamy, M. Palaniandavar, *J. Inorg. Biochem.*, 99, 1032-1042 (2005).
- [23] A. Natarajan, M. Palaniandavar, *Dalton Trans.*, 40, 1888-1901 (2011).
- [24] R. R. Gagné, D. N. Marks, *Inorg. Chem.*, 23, 65 (1984).
- [25] C. A. Tolman, J. D. Druliner, P. J. Krusic, M. J. Nappa, W. C. Seidel, I. D. Williams and S. D. Ittel, *J. Mol. Catal.*, 48, 129 (1988).
- [26] D. Sz. Szilvási, J. S. Pap, J. Kaizer, *Vas(III) komplexek előállítása, jellemzése és katalitikus hatásának vizsgálata benzil-alkohol oxidációjában, ITDK*, (2010).

- [27] M. Pascaly, M. Duda, F. Schweppe, K. Zurlinden, F. K. Müller, B. Krebs, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 828 (2001).
- [28] F. Li, M. Wang, P. Li, T. Zhang, L. Sun, *Inorg. Chem.*, 46, 9364 (2007).
- [29] R. Yamahara, S. Ogo, H. Masuda, Y. Watanabe, *J. Inorg. Biochem.*, 88, 284 (2002).
- [30] D.-H. Jo and L. Que Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39, 23 (2000).

8. Függelék

1.táblázat. Az **1** komplex kinetikai adatai ($[\text{Fe}]_0$ a kiindulási komplexkoncentráció).

Kísérlet	T (°C)	$[\text{Fe}]_0$ (10^{-3} M)	$[\text{O}_2]$ (10^{-3} M)	$-(d[\text{Fe}]_0/dt)$ (10^{-7} M s $^{-1}$)	k_{obs} (10^{-1} M $^{-1}$ s $^{-1}$)
1	60	2,00	1,24	$6,11 \pm 0,16$	$2,46 \pm 0,06$
2	60	1,50	1,24	$4,35 \pm 0,23$	$2,34 \pm 0,12$
3	60	1,00	1,24	$3,07 \pm 0,23$	$2,48 \pm 0,19$
4	60	0,75	1,24	$2,44 \pm 0,08$	$2,62 \pm 0,09$
5	60	0,50	1,24	$1,48 \pm 0,07$	$2,39 \pm 0,11$
					$2,47 \pm 0,04$
6	55	2,00	1,19	$4,12 \pm 1,16$	$1,73 \pm 0,49$
7	60	2,00	1,24	$6,11 \pm 0,16$	$2,46 \pm 0,06$
8	65	2,00	1,28	$7,75 \pm 0,20$	$3,04 \pm 0,08$
9	70	2,00	1,31	$10,67 \pm 0,07$	$4,07 \pm 0,03$
10	60	2,00	1,24	$6,36 \pm 0,12$	$2,56 \pm 0,05$
11	60	2,00	3,10	$12,49 \pm 0,40$	$2,01 \pm 0,06$
12	60	2,00	6,20	$24,94 \pm 1,22$	$2,01 \pm 0,10$

2.táblázat. A **2** komplex kinetikai adatai ($[\text{Fe}]_0$ a kiindulási komplexkoncentráció).

Kísérlet	T (°C)	$[\text{Fe}]_0$ (10^{-3} M)	$[\text{O}_2]$ (10^{-3} M)	$-(d[\text{Fe}]_0/dt)$ (10^{-7} Ms $^{-1}$)	k_{obs} (10^{-1} M $^{-1}$ s $^{-1}$)
1	60	2,00	1,24	$5,22 \pm 0,47$	$2,11 \pm 0,19$
2	60	1,50	1,24	$4,46 \pm 0,31$	$2,40 \pm 0,17$
3	60	1,00	1,24	$2,94 \pm 0,13$	$2,37 \pm 0,11$
4	60	0,75	1,24	$2,20 \pm 0,03$	$2,37 \pm 0,04$
5	60	0,50	1,24	$1,59 \pm 0,14$	$2,56 \pm 0,23$
					$2,37 \pm 0,03$
6	55	2,00	1,19	$3,50 \pm 0,15$	$1,47 \pm 0,06$
7	60	2,00	1,24	$5,22 \pm 0,47$	$2,11 \pm 0,19$
8	65	2,00	1,28	$6,54 \pm 0,24$	$2,57 \pm 0,09$
9	70	2,00	1,31	$10,91 \pm 0,46$	$4,16 \pm 0,17$

3.táblázat. A **3** komplex kinetikai adatai ($[\text{Fe}]_0$ a kiindulási komplexkoncentráció).

Kísérlet	T (°C)	$[\text{Fe}]_0$ (10^{-3} M)	$[\text{O}_2]$ (10^{-3} M)	$-(d[\text{Fe}]_0/dt)$ (10^{-8} Ms $^{-1}$)	k_{obs} (10^{-2} M $^{-1}$ s $^{-1}$)
1	60	2,00	1,24	$13,5 \pm 0,63$	$5,45 \pm 0,25$
2	60	1,50	1,24	$9,46 \pm 0,15$	$5,08 \pm 0,08$
3	60	1,00	1,24	$6,66 \pm 0,77$	$5,37 \pm 0,62$
4	60	0,75	1,24	$4,11 \pm 0,50$	$4,42 \pm 0,54$
5	60	0,50	1,24	$2,97 \pm 0,29$	$4,79 \pm 0,47$
					$5,10 \pm 0,01$

6	55	2,00	1,19	$8,97 \pm 0,05$	$3,77 \pm 0,02$
7	60	2,00	1,24	$13,5 \pm 0,63$	$5,45 \pm 0,25$
8	65	2,00	1,28	$18,3 \pm 0,60$	$7,17 \pm 0,23$
9	70	2,00	1,31	$23,1 \pm 1,55$	$8,81 \pm 0,59$

4.táblázat. A 4 komplex kinetikai adatai ($[\text{Fe}]_0$ a kiindulási komplexkoncentráció).

Kísérlet	T (°C)	$[\text{Fe}]_0$ (10^{-3} M)	$[\text{O}_2]$ (10^{-3} M)	$-(d[\text{Fe}]_0/dt)$ (10^{-8} Ms $^{-1}$)	k_{obs} (10^{-2} M $^{-1}$ s $^{-1}$)
1	60	2,00	1,24	$6,77 \pm 0,14$	$2,73 \pm 0,06$
2	60	1,50	1,24	$5,10 \pm 0,15$	$2,74 \pm 0,08$
3	60	1,00	1,24	$3,69 \pm 0,90$	$2,98 \pm 0,73$
4	60	0,75	1,24	$2,75 \pm 0,27$	$2,96 \pm 0,29$
5	60	0,50	1,24	$1,90 \pm 0,29$	$3,07 \pm 0,47$
					$2,74 \pm 0,03$
6	55	2,00	1,19	$4,48 \pm 0,14$	$1,88 \pm 0,06$
7	60	2,00	1,24	$6,77 \pm 0,14$	$2,73 \pm 0,06$
8	65	2,00	1,28	$9,88 \pm 0,25$	$3,87 \pm 0,10$
9	70	2,00	1,31	$14,4 \pm 0,02$	$5,51 \pm 0,01$

5.táblázat. Az 5 komplex kinetikai adatai ($[\text{Fe}]_0$ a kiindulási komplexkoncentráció).

Kísérlet	T (°C)	$[\text{Fe}]_0$ (10^{-3} M)	$[\text{O}_2]$ (10^{-3} M)	$-(d[\text{Fe}]_0/dt)$ (10^{-8} Ms $^{-1}$)	k_{obs} (10^{-2} M $^{-1}$ s $^{-1}$)
1	60	2,00	1,24	$7,87 \pm 0,25$	$3,17 \pm 0,10$
2	60	1,50	1,24	$6,35 \pm 0,64$	$3,41 \pm 0,34$
3	60	1,00	1,24	$3,56 \pm 0,33$	$2,87 \pm 0,27$
4	60	0,75	1,24	$2,97 \pm 0,08$	$3,20 \pm 0,09$
5	60	0,50	1,24	$2,03 \pm 0,24$	$3,28 \pm 0,39$
					$3,18 \pm 0,04$
6	55	2,00	1,19	$5,55 \pm 0,38$	$2,33 \pm 0,16$
7	60	2,00	1,24	$7,87 \pm 0,25$	$3,17 \pm 0,10$
8	65	2,00	1,28	$11,8 \pm 1,00$	$4,63 \pm 0,39$
9	70	2,00	1,31	$18,2 \pm 0,36$	$6,93 \pm 0,14$

6.táblázat. A 6 komplex kinetikai adatai ($[\text{Fe}]_0$ a kiindulási komplexkoncentráció).

Kísérlet	T (°C)	$[\text{Fe}]_0$ (10^{-3} M)	$[\text{O}_2]$ (10^{-3} M)	$-(d[\text{Fe}]_0/dt)$ (10^{-7} Ms $^{-1}$)	k_{obs} (10^{-2} M $^{-1}$ s $^{-1}$)
1	60	2,00	1,24	$2,07 \pm 0,19$	$8,36 \pm 0,77$