



**Pannon Egyetem
Mérnöki Kar
Országos Tudományos Diákköri
Konferencia
2013**



**Flavonol- és kinolin-származékok vaskatalizált dioxigénezési
reakciója**

Készítette: Matuz Andrea, Kémia (Bsc), II. évfolyam,
Mérnöki Kar, Szerves Kémia Intézeti Tanszék, Pannon Egyetem
Témavezető: Kaizer József, egyetemi tanár,
Speier Gábor, egyetemi tanár
Szerves Kémia Intézeti Tanszék
Készítés éve: 2012

Tartalomjegyzék

I. Bevezetés	1
II. Dioxigenáz enzimek és modelljeik.....	1
II.1. Réztartalmú flavonol 2,4-dioxigenáz enzim	2
II.2. Fe-tartalmú flavonol 2,4-dioxigenáz enzim.....	3
II.3. Kinolin 2,4-dioxigenáz enzimek	4
II.4. Modellek	5
III.Célkitűzések	5
IV.Eredmények és értékelésük	7
IV.1 .A flavonol és 3-hidroxi-kinolin származékok katalitikus dioxigénezése $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O}-\text{bs})(\text{salen})$ katalizátorral	9
V. Kísérleti rész.....	17
VI. Irodalomjegyzék.....	18

I. Bevezetés

Az enzimek az élővilágban mindenhol megtalálhatóak, működésükről viszont csak az elmúlt pár évtizedben kaphattunk pontosabb képet. A műszertechnika rohamos fejlődése (röntgendiffrakció, NMR) nagyban hozzájárult az ismereteink bővüléséhez.

A szerkezeti és működési modellek vizsgálatával, így az aktív centrum, vagyis a fémion koordinációs környezetében lejátszódó folyamatokkal a bioszervetlen kémia (biokoordinációs kémia) foglalkozik. A modellreakciók vizsgálata nagyban hozzájárulhat az ún. biotranszformációs reakciók kidolgozásához, amelyek a homogén katalízis elvének megértését segíthetik elő.

A dolgozatom a flavonol 2,4-dioxigenáz enzim modellezésére irányul, amely a flavonol- és kinolin származékok homogénkatalitikus dioxigénezési reakcióján alapul.

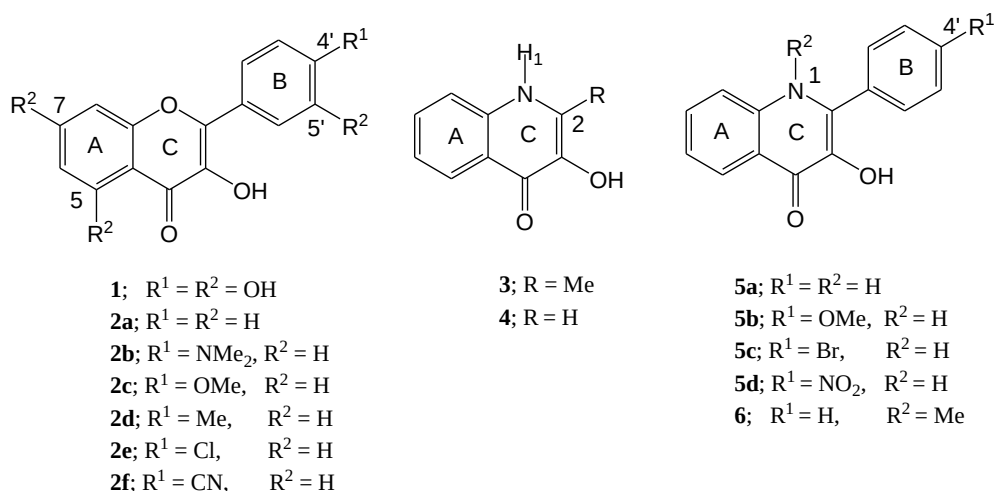
II. Dioxigenáz enzimek és modelljeik

A dioxigenázok olyan metalloenzimek, amelyek aktív centrumukban általában vasat, mangánt vagy rezet tartalmaznak és a dioxigén két oxigénatomjának beépülését katalizálják a megfelelő szerves szubsztrátumba. Megkülönböztethetünk két további alcsoportot: az *intra-* és az *intermolekuláris* dioxigenázokat. Az első esetben a dioxigén mindkét oxigénatomja ugyanabba (1), míg az *intermolekuláris* dioxigenázoknál a beépülés két különböző szubsztrátumba történik (2).



Az aromás vegyületek mikrobiológiai lebontásának meghatározó lépése a gyűrű oxidatív felhasadása. A flavonoidok (1,2) megtalálhatóak számos magasabb rendű növényben és gombában (1. ábra) [1-2]. A flavonoidok jelenlegi érdekessége a különböző biológiai aktivitásukban rejlik, mint például antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásuk [3-7]. Egyes klinikai kutatások eredményei azt mutatták, hogy a szívkoszorúér betegség kezelésének sikeressége arányos a flavonoidok mennyiségének bevitelével [8]. A 2-metilkinolint az *Arthrobacter nitroguajacolicus* talajbaktérium használja fel 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-kinolin (3) [9] létrehozásához, amely hidroxileződési reakciókon keresztül megy végbe. A *Pseudomonas putida* 33/1 a 3-hidroxi-4(1*H*)-kinolint (4) szén-, nitrogén- és energiaforrásként

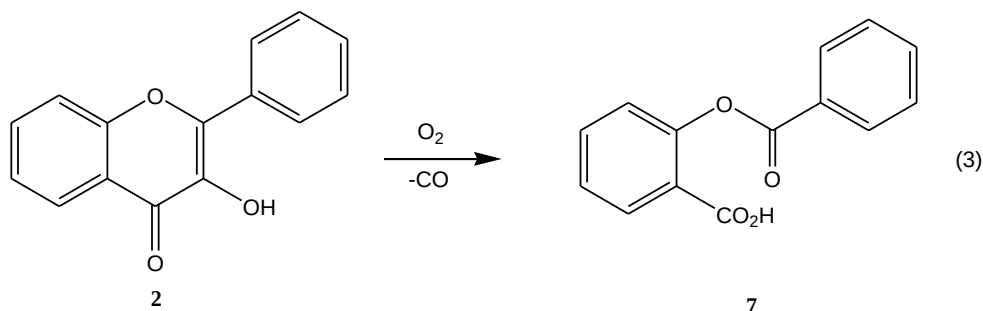
használja fel [10]. Ezek a 2-fenil-származékokkal (5,6) rendelkező szubsztrátok szerkezetileg izoelektronosak a flavonolokkal. A 2-alkil-4(1H)-kinolinok másodlagos metabolitokként ismertek a *Fluoreszcens pseudomonas* baktériumokban, amely az antimikrobiális aktivitást jelzi a Gram-pozitív baktériumban [11]. Későbbi kutatásokban megfigyelték, hogy a 2-heptil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin egy jelző molekula, amely a *Pseudomonas aeruginosa* határozott távérzékelő rendszerében található, így innen kapta a *Pseudomonas* kinolin jelző (PQS) [12] nevet. A PQS számos vírusos fertőzés faktorának a bioszintézisében részt vesz. Főként a biofilmek kialakításában játszik szerepet, illetve vasmegkötő funkciója is van. [13-14].



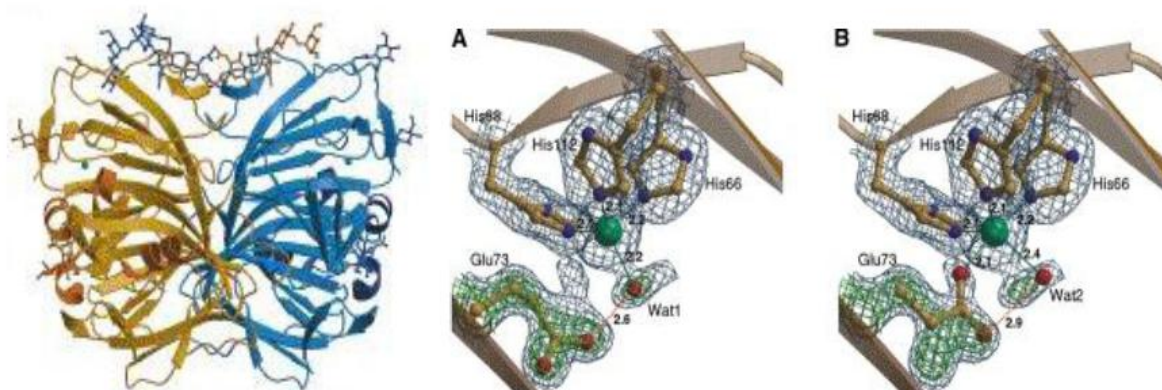
1. ábra. 3-Hidroxi-flavonol- és 3-hidroxi-kinolin származékok szerkezete

II.1. Réztartalmú flavonol 2,4-dioxigenáz enzim

A flavonolok oxidatív lebontását depsziddé (szerves karbonsavészter), valamint szén-monoxiddá réz- és vas-tartalmú flavonol 2,4-dioxigenázok (FDO, kvercetinázok) végzik, melyeket különféle gombákból; *Aspergillus flavus* [15], *Aspergillus niger* [16], *Aspergillus japonicus* [17], illetve mikroorganizmusokból (YxaG, *Bacillus subtilis*) izoláltak [18-20] (3).



A legnagyobb áttörést az *Aspergillus japonicus*-ból előállított FDO röntgendiffrakciós módszerrel meghatározott szerkezete jelentette (2. ábra). A röntgenkép alapján jól látható, hogy az aktív centrum két homodimerből épül fel és mindkettőben található egy-egy réz. Az aktív centrumokat tekintve két különböző geometriát figyelhetünk meg [21].

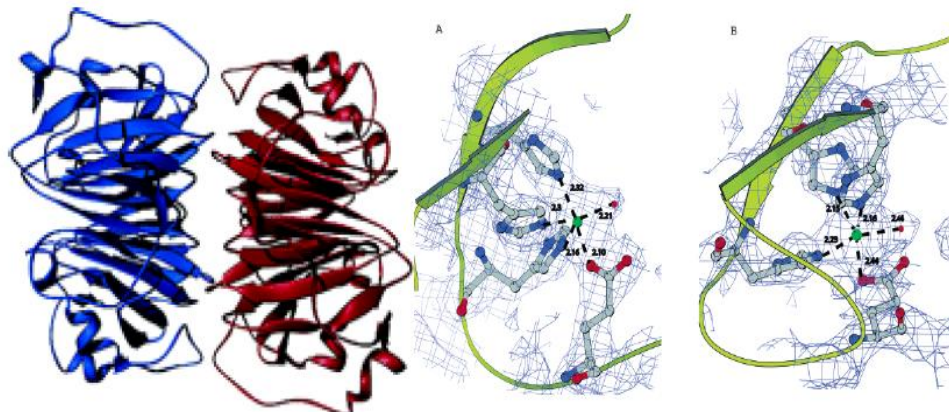


2. ábra Az *Aspergillus japonicus*-ból előállított réztartalmú flavonol 2,4-dioxigenáz enzim szerkezete és a réz(II)ion koordinációs környezete:

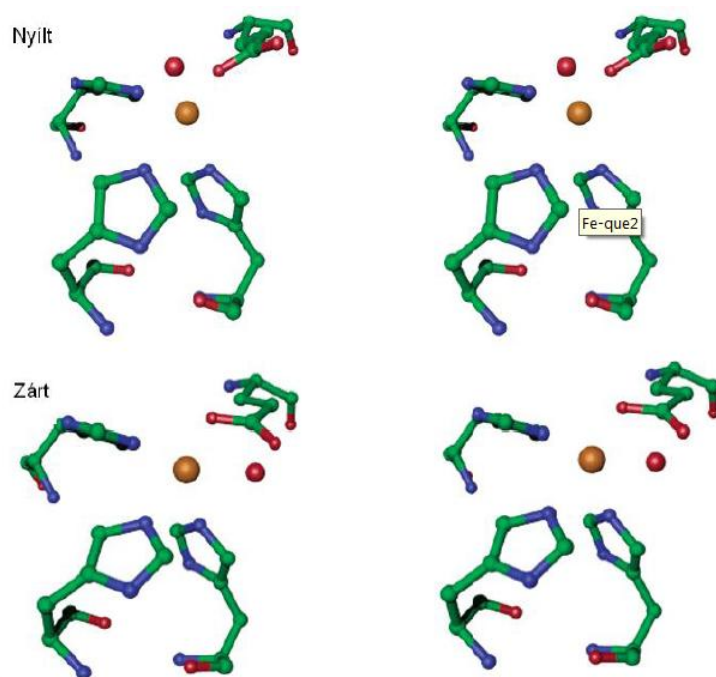
A. Torzult tetraéderes alak, **B.** Torzult trigonális bipiramis alak

II.2. Fe-tartalmú flavonol 2,4-dioxigenáz enzim

A 3. ábrán a *Bacillus subtilis*-ből izolált vastartalmú FDO enzim látható. A röntgenszerkezet alapján megfigyelhető, hogy az aktív centrum nagyon hasonlít a már korábban bemutatott réztartalmú FDO enziméhez, vagyis az enzim itt is két vasat tartalmazó homodimer alegységből áll. A központi fémion mindkét esetben pentakoordinált formában van jelen. A két szerkezet közötti különbséget a fémot megkötő glutamát nyílt és zárt geometriai formája adja, mely a 4. ábrán látható [22].



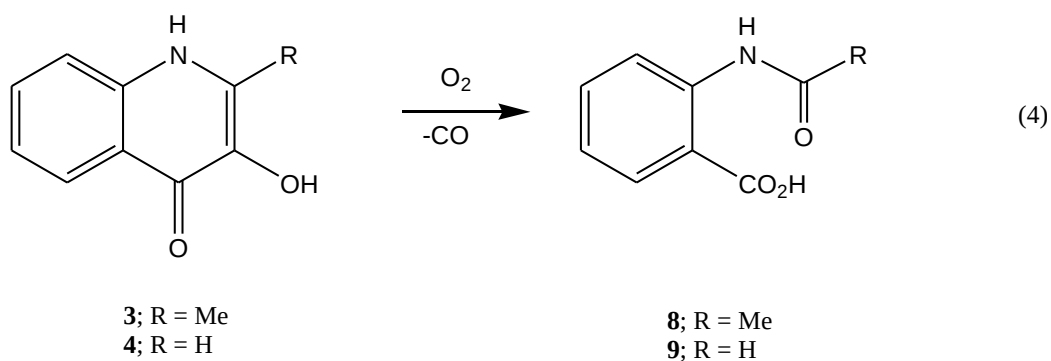
3. ábra A *Bacillus-subtilis*-ből előállított FDO enzim



4. ábra Az FDO két koordinálódott formája a glutamát által

II.3. Kinolin 2,4-dioxigenáz enzimek

Az 1*H*-3-hidroxi-4-oxokinolin 2,4-dioxigenáz (QDO) és az 1*H*-3-hidroxi-4-oxokinaldin 2,4-dioxigenáz (HDO) katalizálja a 2-metil-3-hidroxi-4(1*H*)-kinolin (**3**) és a 3-hidroxi-4(1*H*)-kinolin (**4**) gyűrűnyitási reakcióját *N*-acetyl-antranil- (**8**) és *N*-formil-antranilsavvá (**9**). Továbbá CO keletkezésével is számolni kell (**4**) [11,23-27].



II.4. Modellek

Az FDO szintetikus modelljeiként számos redox- (Cu(I), Cu(II)) és nem redoxaktív fémtartalmú (K, Zn(II)) komplexeket (sókat) állítottak elő, majd szerkezetük meghatározása után vizsgálták dioxigénnel való reakciójukat. A fenti reakciók az enzimgolyó elemi lépését kívánták modellezni. A fentiek alapján megállapítást nyert, hogy a fém minőségétől függetlenül, magasabb hőmérsékleten az esetek többségében az enzimátikus útnak megfelelő termékek keletkeztek [28-33]. Különbség a reakciók mechanizmusában volt megfigyelhető. Réz esetében a fém redoxi jellege (változó oxidációfoka) dominált, a dioxigén és a szubsztrátum aktiválása a szubsztrátum és a központi fémion között fellépő intramolekulás elektronátmenettel értelmezhető. K és Zn esetében a fém bázikus karaktere dominál, a fém oxidációfoka a reakció során nem változik, a szubsztrátum és a dioxigén aktiválása a deprotonált szubsztrátum és a dioxigén közötti intermolekulás átmenettel írható le. Megállapítást nyert továbbá, hogy a komplexek inertsége a stabilis kelátgyűrű kialakulásával magyarázható.

A vastartalmú FDO enzimre az irodalomban ez idáig egy publikáció jelent meg. Az enzim hatásmechanizmusának kiderítése céljából szintetikus modellvegyületként $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{fla})(\text{salen})$ komplexet állítottak elő, majd vizsgálták dioxigénnel való reakcióját nagy térkitöltésű karboxilát-ligandumok jelenlétében és hiányában. Láthatóvá vált, hogy a nagyterkitöltésű ligandumok nagymértékben növelik a reakció sebességét, amely eltérő reakció mechanizmusra utalt. Igazolták, hogy az eltérő mechanizmus és sebesség a szubsztrát eltérő koordinációjával magyarázható. A flavonolát egyfogú koordinációja (koligandum jelenlétében) esetében az alkáli fémekre jellemző ún. báziskatalizált, míg kelátkötés esetében (koligandum nélkül) a rézre jellemző redoxaktív mechanizmus írható fel [34].

A flavonollal izoelektronos 1*H*-3-hidroxi-4-kinolin származékok báziskatalizált dioxigénezése során a termékképződés kétféle intermediéren keresztül (endoperoxid vagy 1,2-dioxetán) származtathatóak [35].

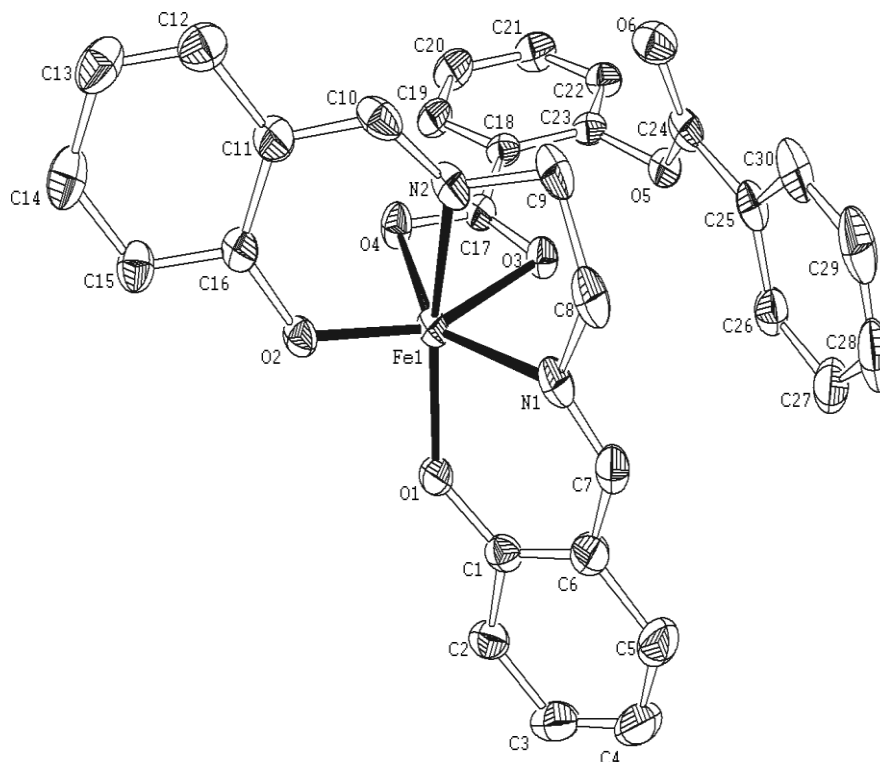
III.Célkitűzések

A dolgozat célja vastartalmú 2,4-dioxigenáz modellek előállításának és vizsgálata. Mivel a $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{fla})(\text{salen})$ komplex dioxigénnel való reakciója az enzim elemi lépésének tekinthető,

magáról a katalitikus ciklusról nem rendelkezünk információval. A teljes enzimfolyamat hatásmechanizmusának feltérképezése homogénkatalitikus rendszerek kidolgozását, vizsgálatát igényli. Katalizátorként az elemi lépésben keletkező $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ komplexet választottuk, ami egyben az első szintetikus vastartalmú enzim-depszid modellnek is tekinthető. A katalizátor szerkezetének leírása után vizsgáltuk a flavonol és 3-hidroxi-4(1*H*)-kinolin származékok vas-katalizált dioxigénezési reakcióját.

IV.Eredmények és értékelésük [36]

Az előállított komplexünk összetételét elemanalízissel, szerkezetét pedig IR, UV-VIS spektroszkópiai módszerrel igazoltuk és a diklór-metánból kivált kristályokról egykristály-röntgendiffrakciós felvételt is sikerült készítenünk, amelyet az alábbi 5. ábra szemléltet. A hozzá tartozó röntgendiffrakciós adatokat az 1. és 2. táblázatokban láthatjuk.



5. ábra A $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ komplex röntgenszerkezete

1. táblázat A $\text{Fe}(\text{III})(\text{O-bs})(\text{salen})$ komplex geometriai jellemzői

Kötés	Kötéshossz (Å)	Kötés	Kötéshossz (Å)
N(1)-Fe(1)	2,131(3)	N(2)-Fe(1)	2,086(3)
O(1)-Fe(1)	1,897(2)	O(2)-Fe(1)	1,912(2)
O(3)-Fe(1)	2,156(2)	O(4)-Fe(1)	2,106(2)
O(4)-C(17)	1,266(4)	O(3)-C(17)	1,256(4)
O(2)-C(16)	1,317(4)	O(1)-C(1)	1,324(4)
C(23)-O(5)	1,401(4)	O(5)-C(24)	1,363(4)
C(24)-O(6)	1,203(4)	C(24)-C(25)	1,481(6)
O(1)-Fe(1)-(N2)	161,33(12)	O(4)-Fe(1)-N(1)	142,59(10)
O(4)-Fe(1)-O(3)	61,06(9)	O(2)-Fe(1)-O(3)	152,81(10)
Fe(1)-O(4)-C(17)	91,29(19)	Fe(1)-N(2)-C(9)	113,1(2)

2. Táblázat A $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ komplex krisztallográfiai adatai

Molekulatömeg	1198,85
Kristályrendszer	Monoklin
Tér csoport	P2/n
Elemi cella méretei	
$A [\text{\AA}]$	22,5007 (3)
$B [\text{\AA}]$	10,1645 (1)
$C [\text{\AA}]$	25,5072 (4)
$\alpha (^{\circ})$	90,00
$\beta (^{\circ})$	107,537
$\gamma (^{\circ})$	90,00
Elemi cella térfogata [$\text{\AA}^3$]	5562,57 (13)
Z	4
Sűrűség (számított) (g cm^{-3})	1,432
Kristály mérete (mm^3)	0,4x0,25x0,25
Index ranges	$0 \leq h \leq 30$ $0 \leq k \leq 13$ $-34 \leq l \leq 32$
Hőmérséklet (K)	203 (2)
Besugárzási hullámhossz	MoK_{α} ($\lambda=0,71073$)
Abszorpciós koefficiens (mm^{-1})	0,592
$F(0\ 0\ 0)$	2496
Gyűjtött reflexiók száma	13979
Független reflexiók száma	8858
$[I > 2\sigma(I)]$	
Goodness-of-fit	1,028
Végső R indexek	$R_1 = 0,0711^a$; $wR_2 = 0,1463^b$
R indexek	$R_1 = 0,1258$; $wR_2 = 0,1766^b$

Az $(\text{O-benzoilszalicilát})(\text{salen})\text{vas(III)}$ komplexet,-mint szintetikus enzim-depside modellt- ekvimoláris mennyiségű $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}$ és $\text{O-benzoilszalicilsav}$ reakciójával állítottuk elő trietilamin, mint bázis jelenlétében metanolban. A komplex levegőn stabilis, barna szilárd

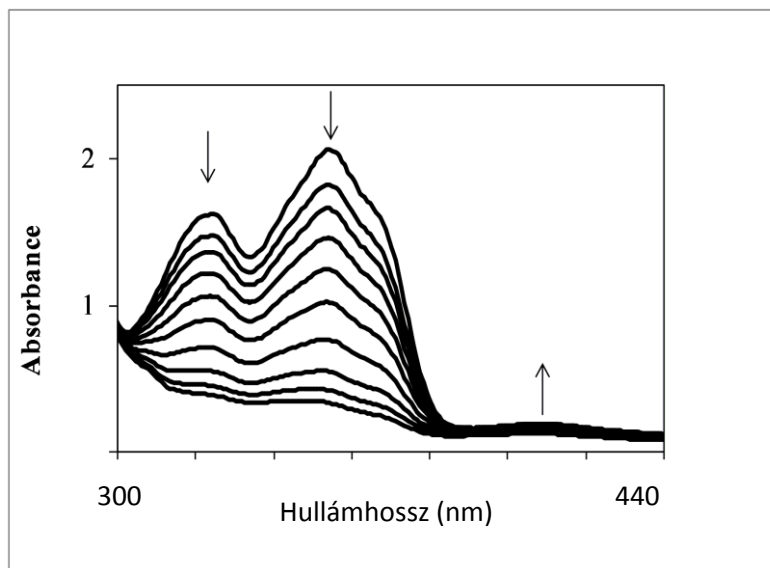
anyagként vált ki. Összetételét elemanalízissel igazoltuk. A komplex infravörös (IR) spektruma jól mutatja a megfelelően koordinálódott *O*-benzoilszalicilát ligandumot: 1731 $\nu(\text{CO})$, és 1544, 1385 $\nu(\text{CO}_2)$ cm^{-1} hullámszám értékeknél. A karboxilát csoport asszimmetrikus és szimmetrikus frekvenciáinak különbségét [$\Delta\nu = \nu_{\text{as}}(\text{CO}_2) - \nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$] 159 cm^{-1} -nek mértük [37-38]. A röntgendiffrakciós mérésre alkalmas kristályokat diklórmétán oldószerből kaptuk átkristályosítással. A röntgenszerkezet alapján elmondható, hogy a vas(III)ion körüli geometria torzult oktaéderes, hatos koordinációjú szerkezettel jellemezhető. Az *O*-benzoilszalicilát anion kétfogú, míg a salen ligandum erősen torzult struktúrával rendelkezik. A koordinálódott forma az 5. ábrán látható. A Fe(1)-O(3) kötés 0,040 Å-mel hosszabb, mint a Fe(1)-O(4) kötés. A következő fejezetekben a fenti szerkezettel rendelkező komplexünkkel elért eredményeinket ismertetném.

IV.1 .A flavonol és 3-hidroxi-kinolin származékok katalitikus dioxigénezése $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ katalizátorral

A flavonol (flaH) és 2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin (PhquinH₂) dioxigénezési reakcióját 100°C-on, DMF oldószerben katalitikus mennyiségű $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ katalizátorral végeztük, a vas komplex és a megfelelő szubsztrátumok (**2a**, **5a**) kezdeti koncentrációjának 1:25 aránya mellett. Az eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a dioxigénezési folyamat a flavonol és a 3-hidroxi-kinolin esetében is a heterociklikus gyűrű hasadásával járt, amelyet mindkét esetben szén-monoxid képződése is kísért. A reakciókról elmondható, hogy szelektíven játszódtak le, egyéb terméket nem kaptunk.

A flavonol és 2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin DMF-ben való dioxigénezésének részletes kinetikai méréseit 353-383 K hőmérséklettartományban végeztük. A folyamatainkat a katalizátor és a szubsztrátumok kezdeti koncentrációinak 1:20-40 arányainál és különböző dioxigén-koncentrációknál végeztük el. A kísérletek körülményeit összefoglalva a 3. illetve 4. táblázat tartalmazza. A katalitikus reakciók időbeli lefutásának nyomon követésére optikai módszert, az UV-VIS spektroszkópiát választottuk. Az adott szubsztrátum (**2a** és **5a**) aktuális koncentrációjának kiszámolását a *Lambert-Beer*-törvény alapján végeztük. A mérési hullámhossz 343, illetve 372 nm-en volt, amely a szabad flavonol, illetve 2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin elnyeléséhez rendelhető. A flavonol dioxigénezése közben nyert abszorpciós spektrumot 333 K-en a 6. ábra mutatja (2,5 órás idő intervallum). A reakcióelegyen

jelenlévő szuperoxid gyökanion keletkezését NBT (nitroblue tetrazolium) tesztel (NBT hatására a reakcióelegy szuperoxid gyökanion jelenlétében sárga színből intenzív zöld színbe csap át) igazoltuk, amely indirekt bizonyíték arra nézve, hogy a flavonol dioxigénezése báziskatalizált mechanizmus szerint játszódik le.



6. ábra A flavonol $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ -katalizált dioxigénezési reakciója

A 3. és 4. táblázat tartalmazza a **2a** és **5a** vegyületekre vonatkozó kísérleti körülményeket. A méréseink során azt tapasztaltuk, hogy a flavonol közel 3-szor reaktívabb szubsztátum, mint a kinolin ($V_0 = 1,33 \times 10^{-8} \text{ Ms}^{-1}$ (**2a**) és $V_0 = 0,39 \times 10^{-8} \text{ Ms}^{-1}$ (**5a**)). A reakciókban szereplő reaktánsok részrendjének meghatározása céljából a méréseket különböző szubsztátum, katalizátor és dioxigén koncentrációk mellett is elvégeztük (3. és 4. táblázat). A mérések kiértékeléshez a kezdeti sebesség módszerét alkalmaztuk, amely eredményeként a következő sebességi egyenlethez jutottunk: $-\text{d}[\text{2a vagy 5a}]/\text{dt} = k[\text{2a vagy 5a}][\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})][\text{O}_2]$, tehát elmondható, hogy egyes részrendhez jutottunk mind a szubsztátumra (7.ábra), mind a katalizátorra (8.ábra) mind a dioxigénre (9.ábra).

A fentiek alapján kiszámítottuk a reakció sebességi állandókat 333,16 K-en (k_{flaH} of $(4,82 \pm 0,15) \times 10^4 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$ és k_{PhquinH_2} of $(1,36 \pm 0,04) \times 10^4 \text{ M}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Az 1-és 2-szubsztituált 3-hidroxi-4-kinolin származékok (1-Me-PhquinH (**6**), 2-Me-quinH₂ (**3**)) katalitikus reakcióinak sebességét meghatározva a következő reaktivitási sorrendet: flaH (**2a**) > 1Me-PhquinH (**6**) > 2Me-quinH₂ (**3**) > PhquinH₂ (**5a**) állíthatjuk fel.

3. Táblázat Flavonol-származékok Fe^{III}(O-bs)(salen)-katalizált dioxigénezése

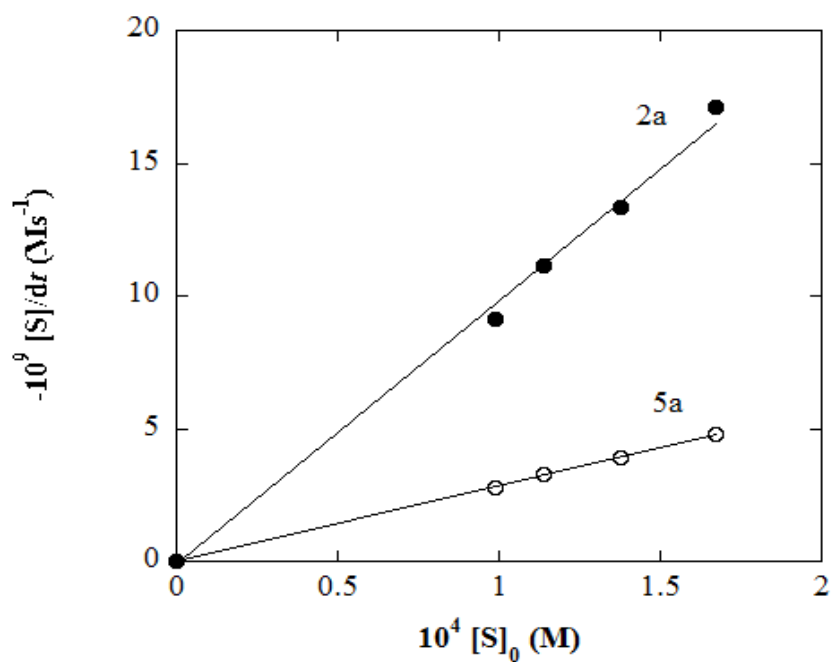
	T	10 ³ [O ₂] (M) ^a	10 ⁶ [Fe] (M) ^a	10 ⁴ [flaH] (M) ^a	10 ⁸ V _{in} (M) ^a	10 ⁻⁴ k (M s ⁻¹)	(M ⁻² s ⁻¹)
1	80	1,37		1,38	1,38	0,30	1,15 ± 0,05
2	90	1,50		1,38	1,38	0,55	1,93 ± 0,09
3	100	1,54		1,38	1,38	0,86	2,93 ± 0,14
4	110	1,49		1,38	1,38	1,33	4,69 ± 0,19
5	110	1,49		1,38	1,67	1,71	4,62 ± 0,18
6	110	1,49		1,38	1,14	1,11	4,78 ± 0,28
7	110	1,49		1,38	0,99	0,91	4,67 ± 0,19
8	110	1,49		1,84	1,38	1,78	4,98 ± 0,29
9	110	1,49		2,27	1,38	2,07	4,84 ± 0,28
10	110	1,49		5,52	1,38	4,73	4,90 ± 0,19
11	110	2,69		1,38	1,38	2,45	4,77 ± 0,24
12	110	7,45		1,38	1,38	7,15	5,11 ± 0,36
13	110	1,49		1,38	1,38 ^b	2,31	8,15 ± 0,33
14	110	1,49		1,38	1,38 ^c	1,69	5,94 ± 0,23
15	110	1,49		1,38	1,38 ^d	1,42	4,94 ± 0,15
16	110	1,49		1,38	1,38 ^e	1,00	3,52 ± 0,14
17	110	1,49		1,38	1,38 ^f	0,65	2,28 ± 0,11

^a2a 50 cm³ DMF-ben, 110 °C. ^b2b. ^c2c. ^d2d. ^e2e. ^f2f.

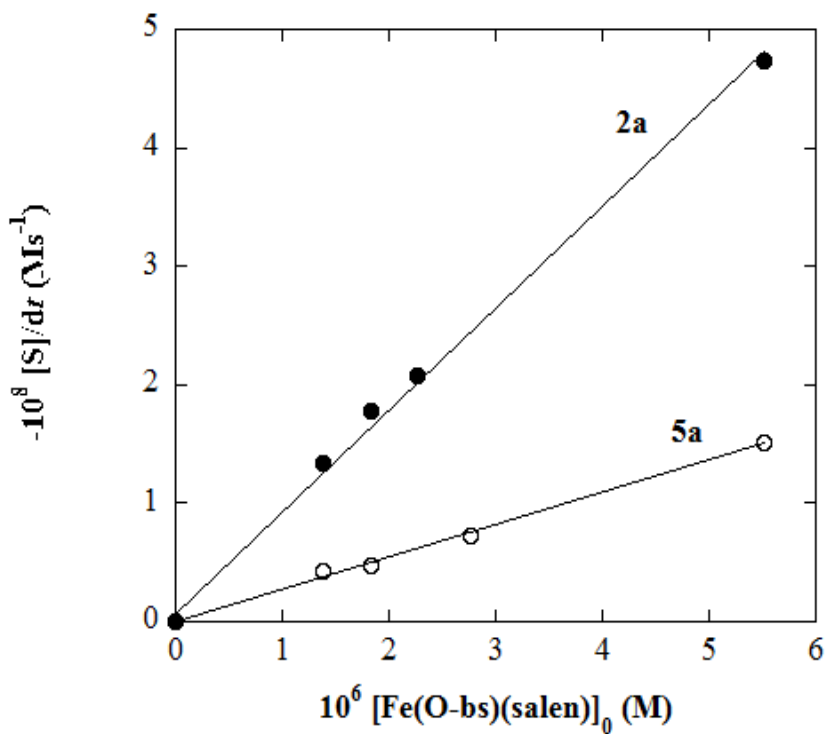
4. Táblázat Kinolin-származékok Fe^{III}(O-bs)(salen)-katalizált dioxigénezése

Exp. No.	T	10 ³ [O ₂] (M) ^a	10 ⁶ [Fe] (M) ^a	10 ⁴ [quinH ₂] (M) ^a	10 ⁹ V _{in} (M) ^a	10 ⁻⁴ k (M)	(M ⁻² s ⁻¹)
1	80	1,37		1,38	1,38	0,86	0,33 ± 0,01
2	90	1,50		1,38	1,38	1,54	0,54 ± 0,03
3	100	1,54		1,38	1,38	3,11	1,06 ± 0,06
4	110	1,49		1,38	1,38	4,21	1,38 ± 0,05
5	110	1,49		1,38	1,67	4,80	1,40 ± 0,04
6	110	1,49		1,38	1,14	3,26	1,39 ± 0,07
7	110	1,49		1,38	0,99	2,79	1,37 ± 0,08
5	110	1,49		1,84	1,38	4,73	1,34 ± 0,05
6	110	1,49		2,76	1,38	7,26	1,37 ± 0,06
7	110	1,49		5,52	1,38	15,15	1,31 ± 0,03
8	110	2,69		1,38	1,38	7,14	1,39 ± 0,04
9	110	7,45		1,38	1,38	18,30	1,29 ± 0,04
10	110	1,49		1,38	1,38 ^b	9,28	3,27 ± 0,13
11	110	1,49		1,38	1,38 ^c	2,95	1,04 ± 0,05
12	110	1,49		1,38	1,38 ^d	1,42	0,50 ± 0,01
13	80	1,37		1,38	1,38 ^e	1,49	0,57 ± 0,01
14	90	1,50		1,38	1,38 ^e	3,09	1,08 ± 0,04
15	100	1,54		1,38	1,38 ^e	5,45	1,86 ± 0,05
16	110	1,49		1,38	1,38 ^e	7,52	2,65 ± 0,09
20	110	1,49		1,38	1,38 ^f	4,63	1,63 ± 0,06

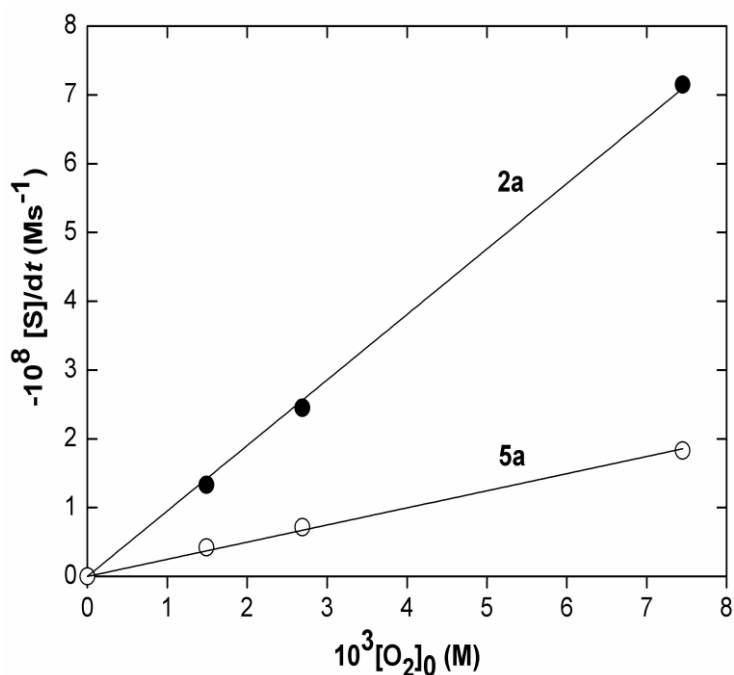
^a5a 50 cm³ DMF-ben 110 °C. ^b5b. ^c5c. ^d5d. ^e6. ^f3.



7. ábra A dioxigénezési reakciók kezdeti sebessége a szubsztrátumok függvényében:
[2a (3. Táblázat, 4-7) és 5a (4. Táblázat, 4-7)].



8. ábra A dioxigénezési reakciók kezdeti sebessége a katalizátor függvényében:
[2a (3. Táblázat, 4, 8-10) és 5a (4. Táblázat, 4, 8-10)].



9. ábra A dioxigénezési reakciók kezdeti sebessége a dioxigén függvényében:
[**2a** (3. Táblázat, 4, 11-12) és **5a** (4. Táblázat, 4, 11-12)].

A **2a**, **5a** és **6** vegyületek dioxigénezési reakcióit különböző hőmérsékleten elvégezve (10. ábra) az Arrhenius- és Eyring-összefüggés minden esetben lineárisnak adódott. Az aktiválási paramétereket az (5), (6), (7) egyenletek felhasználásával határoztuk meg.

$$E_A^\ddagger = 2,303 \times R \times \text{dl}gk / \text{d}(1/T) \quad (5)$$

$$\Delta H^\ddagger = 2,303 \times R \times \text{dl}g(k/T) / \text{d}(1/T) \quad (6)$$

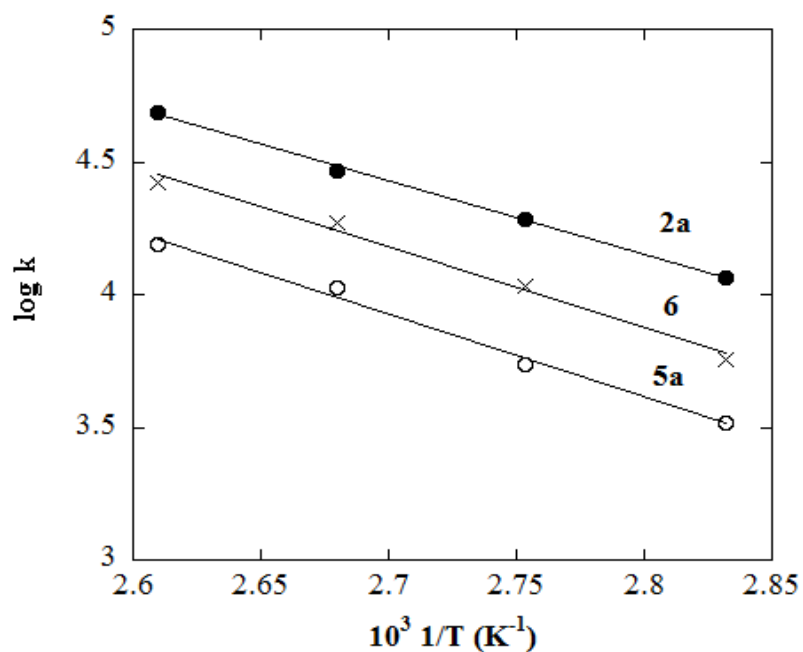
$$\Delta S^\ddagger = 4,573 \times \lg(k/T) - 49,17 + E_A^\ddagger / T \quad (7)$$

Az aktiválási paraméterek, amelyek az 5. táblázatban találhatóak a következők: (**2a**) $E_A^\ddagger = 53 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta H^\ddagger = 50 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^\ddagger = -27 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$; (**5a**) $E_A^\ddagger = 60 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta H^\ddagger = 57 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^\ddagger = -20 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$; (**6**) $E_A^\ddagger = 58 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta H^\ddagger = 55 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Delta S^\ddagger = -20 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$.

5. Táblázat. Flavonol- és kinolin-származékok $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ -katalizált dioxigénezésének reakciókinetikai adatai DMF-ben, 110 °C-on

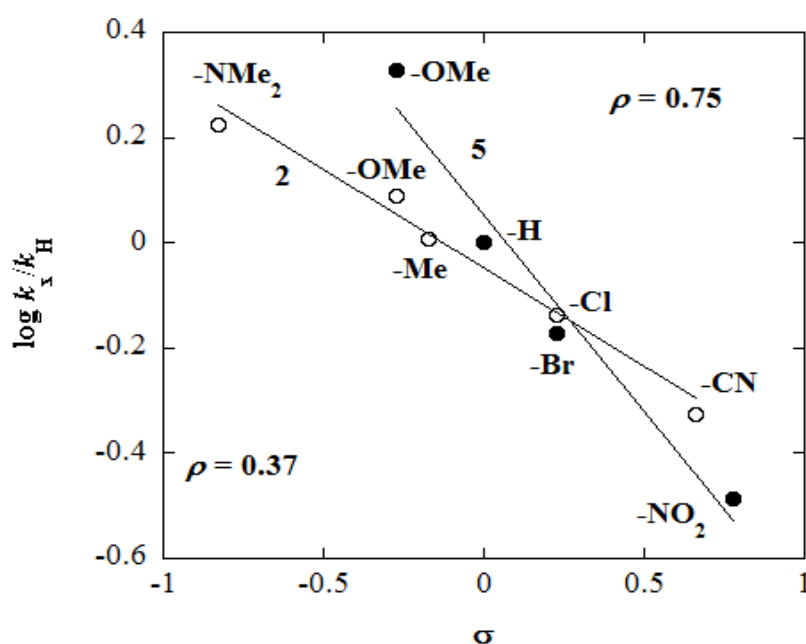
	$10^4 k^a$ $\text{M}^{-2}\text{s}^{-1}$	$E_A^\ddagger$ kJ mol^{-1}	$\Delta H^\ddagger$ kJ mol^{-1}	$\Delta S^\ddagger$ $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	σ
2a	$4,82 \pm 0,15$	53 ± 2	50 ± 2	-27 ± 1	0,37
3	$2,65 \pm 0,09$	-	-	-	-
5a	$1,36 \pm 0,04$	60 ± 4	57 ± 4	-20 ± 2	0,75
6	$1,63 \pm 0,06$	58 ± 4	55 ± 4	-20 ± 1	-

Ezek az értékek nagyon hasonlítanak egymáshoz, ezzel is alátámaszthatjuk a vizsgált szubsztrátok dioxigénezési reakcióinak mechanizmus szerinti hasonlóságát. Az aktiválási entrópiák negatív előjele, illetve nagysága asszociatív-típusú mechanizmusra utal.



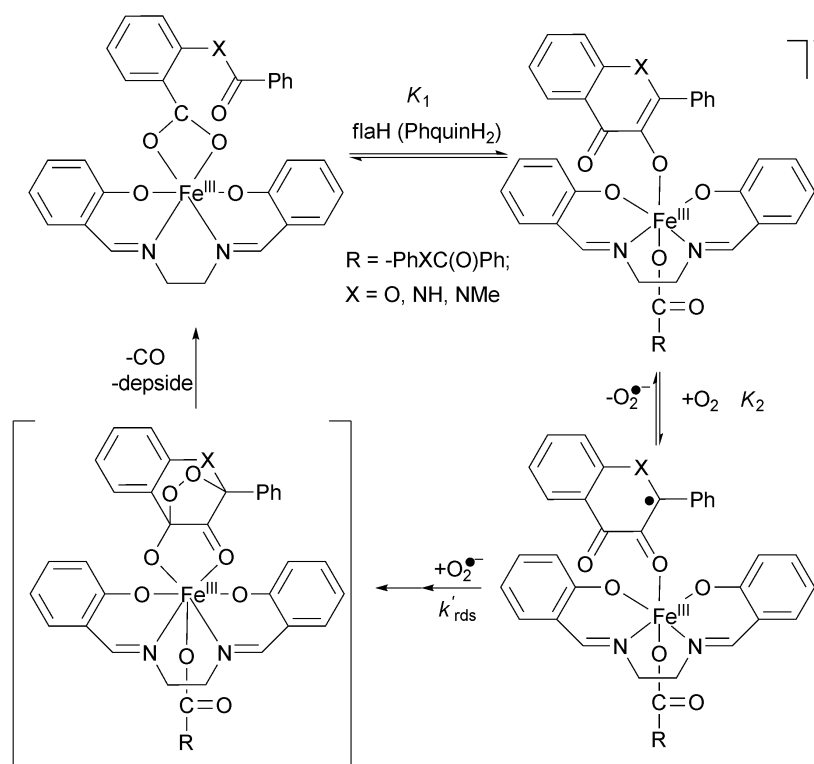
10. ábra A dioxigénezési reakciók Arrhenius diagrammja

A 4'R helyen lévő szubsztitúció reakciósebességre gyakorolt hatása a 11. ábrán látható. A $\log(k_x/k_H)$ ábrázolva a szubsztituenskonstansok (σ) függvényében egyeneseket kaptunk, amelyekből a Hammett-egyenletek reakcióállandóinak értékei: $\rho = -0,37$ és $-0,75$. A ρ konstansok negatív előjele arra utal, hogy elektrondonor szubsztituensek növelik a reakció sebességét.



11. ábra A dioxigénezési reakciók Hammett-összefüggése

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ komplex, amely az első szintetikus enzim-szubsztrát modell, szelektív és relatíve nagyhatékonyságú katalizátornak bizonyult a flavonol- és a 3-hidroxi-kinolin származékok dioxigénezése során, így a fenti reakciók a 2,4-dioxigenáz enzimek funkcionális modelljeinek is tekinthetők. A vizsgált szubsztrátok reaktivitási sorrendje a következő: $\text{flaH (2a)} > 1\text{Me-PhquinH (6)} > 2\text{Me-quinH}_2 \text{ (3)} > \text{PhquinH}_2 \text{ (5a)}$. A részletes reakciókinetikai mérések eredményei alapján a dioxigénezési reakciókra a 12. ábrán látható mechanizmus javasolható, amely összhangban van a $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{fla})(\text{salen})$ / karboxilát koligand / O_2 rendszer vizsgálata során kapott eredményekkel. A szuperoxid gyökkanion jelenlétét NBT-tesztel igazoltuk (520 nm).



12. ábra A dioxigénezési reakciók mechanizmusa

V. Kísérleti rész

Az összes kísérletet tiszta argon atmoszférában végeztük el és standard Schlenk-technikát használva inert gáz technikát alkalmaztunk. A reakciókban irodalmban leírt módszerek alapján tisztított oldószerekkel dolgoztunk, amelyeket argon alatt tartottunk. Flavonol [39], 4'-metil- [40], 4'-metoxi- [39], 4'-kloro- [40], 4'-ciano-flavonol [40], 1-metil-2-fenil-3-hidroxi-4-kinolin (**6**) [41], 2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin [41], 4'-bromo-, 4'-metoxi-, 4'-nitro-2-fenil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin [41], 2-metil-3-hidroxi-4(1H)-kinolin [41], O-benzoil-szalicilsav publikált eljárásokkal [42] készültek el. Diazometánt frissen készítettünk irodalom alapján éterben és azonnal felhasználtuk a metilezési reakciókban [43]. A $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}$ komplexet korábbi publikációi [44] alapján szintetizáltuk. Az összes többi vegyszer kereskedelmi termék volt, melyeket további tisztítás nélkül használtunk fel.

A műszeres vizsgálatokat az alábbi készülékeken végeztük el:

Infravörös spektrofotométer: Thermo Nicolet Avatar 330 FT-IR;

Spektrofotométer: Agilent 8453;

Gázkromatográf (GC): HP 5830A (lángionizációs detektor), CIP SIL 8CB kolonna;

Ciklikus voltammetria: VoltaLab 10 potenciosztát, VoltaMaster 4 szoftver;

Röntgendiffraktométer: Bruker-Nonius Kappa CCD;

Elemi analizátor: SHELX-97 [45].

A krisztallográfiás adatok és részletek az 1. táblázatban láthatóak. A kötéshosszúságok és kötésszögek a 2. táblázatban megtalálhatóak. A CIF fájlok a CCDC adatbázisból elérhetőek.

$\text{Fe}^{\text{III}}(\text{O-bs})(\text{salen})$ előállítása: Bemértünk 0,57 g (1,6 mmol) $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ -ot, és 0,38 g (1,6 mmol) O-benzoil-szalicilsavat. 10 cm^3 tisztított MeOH-t adtunk hozzá, Ar-atmoszféra alatt fél órát kevertettük, majd ehhez az oldathoz hozzáadtunk $0,222\text{ cm}^3$ (1,6 mmol) NEt_3 -t. Az oldatot szárazra pároltuk, majd levegőn, kevés éterrel és metanollal mostuk, ezt követően vákuumban szárítottuk.

Hozam: 0,39 g (69 %). OP.: UV-VIS (λ_{max} , DMF): -. IR (KBr): 3188, 3010, 2925, 1731, 1629, 1597, 1512, 1445, 1385, 1327, 1294, 1200, 1034, 905 923, 759, 618, 425. Elemanalízis (%): számított ($\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6\text{Fe}$: C, 63,96; H, 4,12; N, 4,97; mért: C, 63,78; H, 4,17; N, 4,85.

VI. Irodalomjegyzék

- [1] E. Wollenweber, in: J.B. Harborne, T.J. Mabry (Eds.), *Flavonoids: Advances in Research*, Chapman & Hall, London, New York, 1982, p. 189.
- [2] J.B. Harborne, C.A. Williams, in: J.B. Harborne, T.J. Mabry (Eds.), *Flavonoids: Advances in Research*, Chapman & Hall, London, New York, 1982, p. 261.
- [3] W. Bors, W. Hellers, C. Michel, *Meth. Enzymol.* 186 (1990) 343.
- [4] Y. Hanakasi, S. Ogawa, S. Fukui, *J. Free Radic. Biol. Med.* 16 (1992) 605.
- [5] J.P. Hu, M. Calomme, A. Lasure, T. De Bryune, L. Pieters, A. Vlietnick, D.D.A. Van den Berghe, *Biol. Trace Elem. Res.* 47 (1995) 327.
- [6] C.A. Rice- Evans, N.J. Miller, G. Pananga, *J. Free Radic. Biol. Med.* 20 (1996) 933.
- [7] A. Gulsen, D.P. Makris, P. Kefalas, *Food Res. Int.* 40 (2007) 7.
- [8] M.G.L. Hertog, E.J.M. Fekens, P.C.H. Hollman, M.B. Katan, D. Kromhout, *Lancet* 342 (1993) 1007.
- [9] H.-K. Hund, A. de Beyer, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe Seyler* 371 (1990) 1005.
- [10] G. Bott, M. Schmidt, T.O. Rommel, F. Lingens, *Biol. Chem. Hoppe Seyler* 371 (1990) 999.
- [11] S. Fetzner, R.A. Steiner, *Appl. Microbiol, Biotechnol.* 86 (2010) 791.
- [12] E.C. Pesci, J.B.J. Milbank, J.P. Pearson, S. McKnight, A.S. Kende, E.P. Greenberg, B.H. Iglewski, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 96 (1999) 11234.
- [13] S.P. Diggle, P. Cornelis, P. Williams, M. Camara, *Int. J. Med. Microbiol.* 296 (2006) 83.
- [14] J.F. Dubern, S.P. Diggle, *Mol. Biosyst.* 4 (2008) 882.
- [15] T. Oka, F.J. Simpson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43 (1971) 1.
- [16] H.-K. Hund, J. Breuer, F. Lingens, J. Hüttermann, R. Kappl, S. Fetzner, *Eur. J. Biochem.* 263 (1999) 871.
- [17] F. Fusetti, K.H. Schröter, R.A. Steiner, P.I. van Nort. T. Pijning, H.J. Rozeboom, K.H. Klak, M.R. Egmond, B.W. Dijkstra, *Structure* 10 (2002) 259.
- [18] B. Gopal, L.L. Madan, S.F. Betz, A.A. Kossiakoff, *Biochemistry* 44 (2005) 193.
- [19] B.M. Barney. M.R. Schaab, R. LoBrutto, W.A. Francisco, *Protein Expr. Purif.* 35 (2004) 131.

- [20] L. Bowater, S.A. Fairhust, V.J. Just, S. Bornemann, FEBS Lett. 557 (2004) 45.
- [21] F. Fusetti, K.H. Schroter, R.A. Steiner, P.I. van Noort, T. Pijning, H.J. Rozeboom, K.H. Kalk, M.R. Egmond, B.W. Dijkstra, Structure 10 (2002) 259.
- [22] B. Gopal, L.L. Madan, S.F. Betz, A.A. Kossiakoff, Biochemistry 44 (2005) 193.
- [23] R.Qi, S. Fetzner, A.J. Oakley, Acta Crystallogr, Sect. F. 63 (2007) 378.
- [24] R.A. Steiner, U. Frerichs- Deeken, S. Fetzner, Acta Crystallogr, Sect. F. 63 (2007) 382.
- [25] S. Fetzner, Appl. Microbiol, Biotechnol. 60 (2002) 243.
- [26] F. Fischer, S. Fetzner, FEMS Microbiol. Lett. 190 (2000) 21.
- [27] U. Frerichs-Deeken, K. Rangelova, R. Kappl, J. Hüttermann, S. Fetzner, Biochemistry 43 (2004) 14485.
- [28] É. Balogh- Hergovich, J. Kaizer, G. Speier, G. Argay, L. Párkányi, J. Chem. Soc. Dalton Trans. (1999) 3847.
- [29] É. Balogh- Hergovich, J. Kaizer, G. Speier, G. Huttner, A. Jacobi, Inorg. Chem. 39 (2000) 4224.
- [30] J. Kaizer, É. Balogh- Hergovich, M. Czaun, T. Csay, G. Speier, Coord. Chem. Rev.250 (2006) 2222.
- [31] J. Kaizer, G. Baráth, J. Pap, G. Speier, M. Giorgi, M. Réglér, Chem. Commun. (2007) 5235.
- [32] J.S. Pap, J. Kaizer, G.Speier, Coord, Chem. Rev. 254 (2010) 781.
- [33] L. Barhács, J. Kaizer, G. Speier, J. Org. Chem. 65 (2000) 3449.
- [34] G. Baráth, J. Kaizer, G.Speier, L.Párkányi, E. Kuzmann, A. Vértes, Chem. Commun. (2009) 3630.
- [35] M. Czaun, G. Speier, Tetrahedron Lett. 43 (2002) 5961.
- [36] J. S. Pap, A. Matuz, G. Baráth, B. Kripli, M. Giorgi, G. Speier, J. Kaizer, J. Inorg. Biochem. 108 (2012) 15-21.
- [37] J. Kaizer, S. Góger, G. Speier, M. Réglér, M. Giorgi, Inorg. Chem. 9 (2006) 251.
- [38] J. Kaizer, T. Csay, M. Czaun, G. Speier, M. Réglér, M. Giorgi, Inorg. Chem. 8 (2005) 813.
- [39] A. Nishigana, T. Tojo, H. Tomita, T.J. Matsuura, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 (1979) 2511.
- [40] M.A. Smith, R.M. Newman, R.A. Webb, J. Heterocycl. Chem. 5 (1968) 425.
- [41] P. Hradil, J. Jirman, Collect. Czech. Chem. Commun. 60 (1995) 1357.

- [42] F. Arndt, Organic Syntheses, in: A.H. Blatt (Ed.), John Wiley & Sons, New York, 1943, p. 165.
- [43] The Manipulation of Air-Sensitive Compounds, in: D.F. Shriver, M.A. Drezdson (Eds.), John Wiley & Sons, New York, 1986.
- [44] E.G. Samsel, K. Srinivasan, J.K. Kochi, J. Am. Chem. Soc. 107 (1985) 7606.
- [45] G.M. Sheldrick, SHELXL97, Program for the Refinement of Crystal Structures, Univ. of Göttingen, German, 1997.