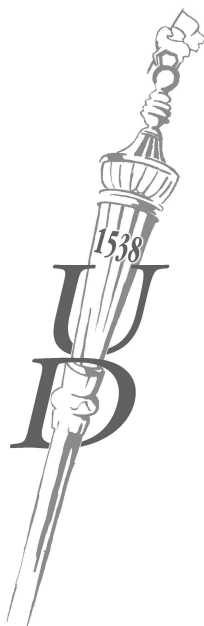


Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**Enzimutánzó Mn(III)-porfirinek szerepe
biológiailag aktív kis molekulatömegű szervetlen
vegyületek redoxireakcióiban**

Kalmár József

Témavezető: *Dr. Lente Gábor*



Debreceni Egyetem
Kémiai Tudományok Doktori Iskola
Debrecen, 2013.

I.) BEVEZETÉS, CÉLOK

A széles körben elterjedt és gazdasági szempontból is jelentős katalizátorok nagy része átmenetifém–porfirin típusú komplex. A nagy stabilitású ligandum–fém kölcsönhatásnak köszönhetően ezek a komplexek nagyszámú katalitikus ciklus után is változatlanok maradnak. További előnyös tulajdonságuk, hogy a porfirinligandum oldalláncainak változtatásával kémiai tulajdonságaik tetszőlegesen finomhangolhatók. Ennek következtében számos poláros és apoláros oldószerben lejátszódó ipari szintézisút alapul átmenetifém–porfirin katalízisen, mi több, oxidatív szennyvízkezelési eljárásokat is fejlesztenek, melyekben ezeket a komplexeket alkalmazzák. A fém–porfirin típusú komplexeknek alapvető biológia jelentősége is van, mert számos természetes metalloenzim tartalmaz az aktivitásukban szerepet játszó fém–porfirin prosztetikus csoportot.

A mangánkomplexek biológiai rendszerekben lejátszódó redoxireakciói nagy változatosságot mutatnak, emellett ezek a komplexek nem rendelkeznek a Fenton-reakciónak tulajdonítható toxicitással. Az elmúlt néhány évben vízzeloldható szintetikus Mn(III)-porfirinek egy új családját fejlesztették ki, kifejezetten terápiás céllal oxidatív stressz okozta rendellenességek kezelésére. Ezen komplexek közül a Mn(III)-mezo-tetra-(N-alkilpiridyl)-, a mezo-tetra-(N-metoxi-alkil)- és a mezo-tetra-(N-tri(etilén-glicol))-porfirinek meglehetősen hatékonyan utánozzák *in vivo* körülmények között is a szuperoxid-dizmutáz enzimet (SOD). Néhány komplex szerkezete az 1. ábrán látható. Ezen felül az előbb felsorolt kationos és az anionos MnTSP³⁻ (1. ábra) vegyületek hatékonyan semlegesítik az *in vivo* képződő peroxinitritgyököt is. Jól ismert, hogy a porfirinek és komplexeik felhalmozódnak egyes rosszindulatú daganatokban, ezért nagy relaxitású Mn(III)-porfirin hatóanyagot tartalmazó kontrasztanyagokat is fejlesztenek rákos daganatok MRI képalkotó vizsgálatához.

Fontosnak találtuk néhány reprezentatív Mn(III)-porfirin vízcseréjének kinetikáját tanulmányozni, mivel a Mn(III)-porfirinek biológiai jelentőségű redoxireakciói a fémcentrum részvételével

zajlanak le. Valószínű, hogy az elektronátadáshoz a reagensek koordinációja szükséges a Mn(III)-centrumhoz, ami csak az oldószer kiszorítása után lehetséges. A vizsgálatokhoz négy vegyületet választottunk ki az 1. ábráról: a MnTEt-2-PyP⁵⁺, MnTnHex-2-PyP⁵⁺, MnTTEG-2-PyP⁵⁺ és MnTSP³⁻ komplexeket.

A Mn(III)-porfirinek meghatározó kémiai tulajdonságának tartják nagy reaktivitásukat kis molekulatömegű szerves vegyületekkel, és azt, hogy ligandumcsere-reakcióik még akkor is gyorsak, ha közben elektronátadás is történik. Ennek demonstrálására vizsgáltuk egy kiválasztott SOD-utánzó Mn(III)-porfirin (MnTTEG-2-PyP⁵⁺, l.: 1. ábra) reakcióját N-hidroxi-karbamiddal (HU, l.: 1. ábra) *in vitro* körülmények között. Az N-hidroxi-karbamid egy hidroxámsav, amelyet elterjedten használnak rosszindulatú daganatok kezelésére és újonnan sarlósejtes vérszegénység ellen is. A HU-ot kapó betegek vérében jelentősen megnő a nitrogén-monoxid (NO) metabolitok mennyisége, mivel a hidroxámsavak NO- vagy nitroxil- (HNO) donorként viselkedhetnek oxidatív körülmények között. A Mn(III)-porfirinek jellemző tulajdonsága, hogy NO- és HNO-donor vegyületekkel másként reagálnak, ami a HU jellemzése szempontjából is célszerűvé teszi a HU+ MnTTEG-2-PyP⁵⁺ reakció vizsgálatát.

Az öröklött immunitásban kiemelkedő fontosságú peroxidáz enzimek a laktoperoxidáz, a mieloperoxidáz és az eozinofil peroxidáz egységesen hem-típusú Fe(III)-porfirin prosztetikus csoportot tartalmaznak aktív centrumukban. Ezek az enzimek a tiocianát ion H₂O₂-dal történő oxidációját katalizálják, melynek terméke a hipotiocianit-ion (OSCN⁻, l.: 1. ábra). A hipotiocianit-ion hatékony antibakteriális szer, ami több testrészben is jelentős szerepet játszik az immunitásban (pl.: a szájüregben és a légutakban). A hipotiocianit-iont a SCN⁻ kételektronos oxidációjával csak a SCN⁻ feleslege mellett lehet előállítani, mert a jelen levő oxidálószer (pl.: H₂O₂, HOCl, HOBr) reagál a OSCN⁻-nal is. Azért, hogy leírjuk egy hasonló több lépéses oxidáció mechanizmusát kinetikai méréseket végeztünk a SCN⁻ és peroxomonoszulfát-iont (HSO₅⁻, Oxone®-ként formulálva) tartalmazó reakciórendszerben. Ennek a reakciónak a OSCN⁻ köztiterméke. Egy kiválasztott, a szakirodalomban részletesen

jellemzett Mn(III)-porfirin (MnTMe-4-PyP⁵⁺, l.: 1. ábra) peroxidáz-utánzó tulajdonságát is vizsgáltuk a SCN⁻ + HSO₅⁻ + katalizátor reakciórendszerben.

A hipotiocianit-ion *in vivo* kémiai reaktivitásának egyik meghatározója oldatbeli stabilitása és hidrolitikus bomlásának mechanizmusa. Ismert, hogy a OSCN⁻ viszonylag kevésbé bomlékony semleges és lúgos közegben, ugyanakkor korábbi közlemények utalnak arra, hogy a savas pH és a SCN⁻ jelenléte csökkenti stabilitását. Lúgos közegben a ditiocián ((SCN)₂) hipotiocianit-ionra hidrolizál, azonban semleges közegben nem a OSCN⁻ terméket kapjuk. Ez arra utalhat, hogy a (SCN)₂ köztitermék lehet a OSCN⁻ semleges közegben történő hidrolitikus bomlásának. Következésképpen tanulmányoztuk mindkét vegyület ((SCN)₂ és OSCN⁻) bomlásának mechanizmusát semleges és enyhén savas közegben, hogy megmutassuk, megfigyeléseink relevánsak a OSCN⁻ fiziológiás közegben leírt stabilitásának magyarázatára.

A vizsgált porfirin komplexek jelölésére használt rövidítések:

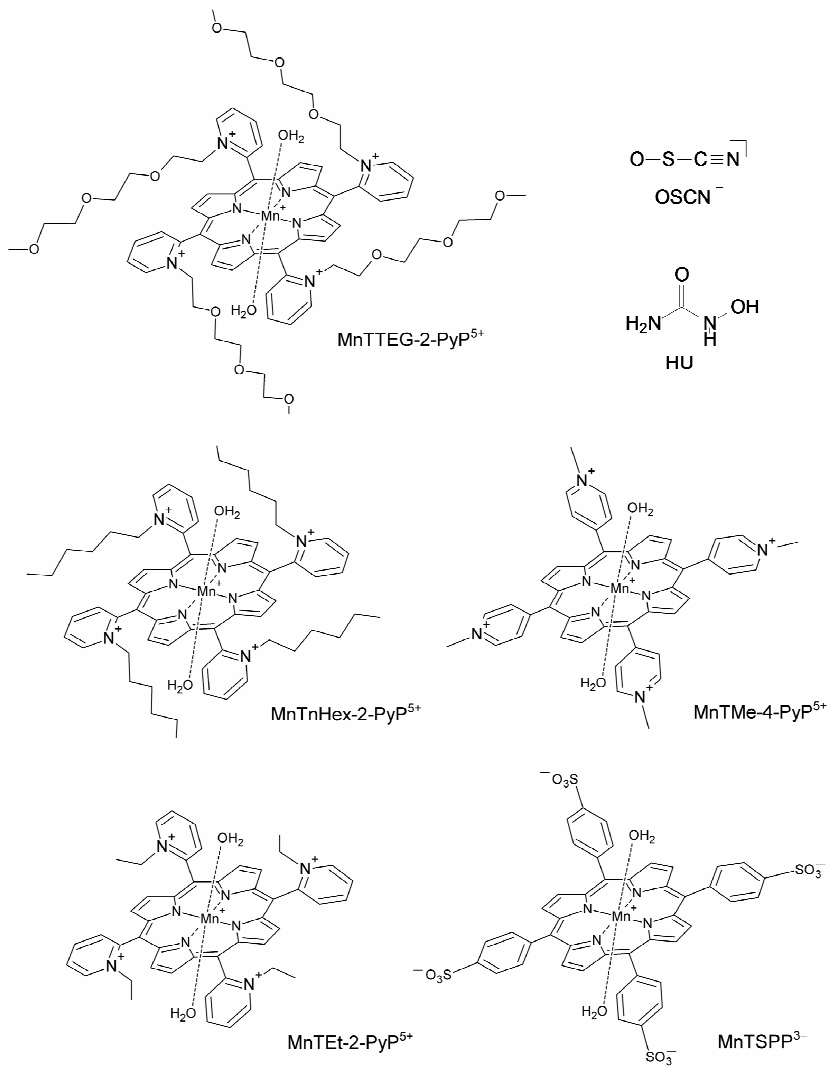
MnTSP³⁻: Mn(III)-mezo-tetra-(4-szulfonátofenil)-porfirin

MnTMe-4-Pyp⁵⁺: Mn(III)-mezo-tetra-4-(N-metilpiridil)-porfirin

MnTEt-2-Pyp⁵⁺: Mn(III)-mezo-tetra-2-(N-etilpiridil)-porfirin

MnTnHex-2-Pyp⁵⁺: Mn(III)-mezo-tetra-2-(N-hexilpiridil)-porfirin

MnTTEG-2-Pyp⁵⁺: Mn(III)-mezo-tetra-2-(N-tri(etilén)glikol)piridil)-porfirin



1. ábra. A tanulmányozott vegyületek szerkezete.

II.) KÍSÉRLETI MÓDSZEREK

A kiválasztott Mn(III)-porfirin komplexek vízcserese-sebességének és a reakció aktiválási paramétereinek becsléséhez szükséges **hőmérsékletfüggő ^{17}O -NMR méréseket** Bruker DRX-400 (9.4 T, 54.2 MHz) vagy DRX-360 (8.5 T, 48.8 MHz) spektrométereken végeztünk. A mért hőmérsékleti értékeket “metanolhőmérőhöz” viszonyítva korrigáltuk. A longitudinális relaxációs idő ($1/T_1$) mérését *inversion recovery* módszerrel végeztük, a transzverzális relaxációs időt ($1/T_2$) közvetlenül a jelszélességből becsültük. A mért adatokat Powel és Merbach leírását követve értékeltük ki (Powel, D. H.; Merbach, A. E. *Magn. Reson. Chem.*, 1994, 32, 739-745.).

Néhány Mn(III)-porfirin pK_a értékeit **UV-látható fotometriával kombinált potenciometriás titrálással** határoztuk meg. A spektrális változást egy 1,00 cm optikai úthosszúságú szondával mértük, ami egy Varian Cary 50 szkennelő fotométerhez csatlakozott. pH-mérésre egy Metrohm 721 NET Titrino egységhez csatlakozó Metrohm 6.0234.110 kombinált üvegelektódot használtunk. A különböző pH értékeken felvett spektrumok sorozatából SpecFit/32 programmal számoltuk ki a különböző protonáltsági fokú részecskék saját spektrumait és pK_a értékeit.

Kézi keveréssel indított kinetikai méréseket a $\text{HU} + \text{Mn(III)TTEG-2-PyP}^{5+}$ reakció tanulmányozására egy PerkinElmer Lambda 25 szkennelő UV-látható fotométeren végeztünk. A reaktánsok oldatait egy tandemküvetta különálló rekeszeibe pipettáztuk, majd a reakciót kézi keveréssel indítottuk, ami kb. 4 s adatvesztéssel (< 1%) eredményezett. A $\text{SCN}^- + \text{HSO}_5^-$ reakció kinetikáját **egyszeres keveréses stopped-flow kísérletekben** egy Applied Photophysics DX-17 MV készülékben tanulmányoztuk. Detektálásra vagy fotoelektron-sokszorozót (PMT) vagy fotodióda-sort (PDA) használtunk. A készülék holtidejét a 2,6-diklór-fenol-indofenol és aszkorbinsav közötti reakciót pszeudo-elsőrendű körülmények között követve $1,51 \pm 0,03$ ms-nak mértünk. Ezek szerint a műszerrel 500 s^{-1} felső határig lehetséges sebességi állandót nagy pontossággal meghatározni.

A hipotiocianit-ion és a ditiocián bomlásának kinetikáját **kettős keveréses stopped-flow technikával** vizsgáltuk. A bomlékony reagentseket az első keverőkörben erősen savas ((SCN)₂) vagy lúgos (OSCN⁻) körülmények között állítottuk elő, majd a második keverőkörben *in situ* kevertük egy pufferral, hogy elérjük a kívánt pH értéket. A *stopped-flow* készülékben a hőmérséklet állandó értéken ($\pm 0,1$ °C) tartásáról egy Julabo F-12 hűtő és fűtő cirkulátor gondoskodott.

A SCN⁻ és a HSO₅⁻ reakciójának, valamint a (SCN)₂ és a OSCN⁻ hidrolitikus bomlásának termékeit többek között **elektroszpré-ionizációs tömegspektrometriával (ESI-MS)** vizsgáltuk. A HU + Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ reakció kinetikáját közvetlenül tudtuk követni ezzel a technikával egy Bruker micrOTOFQ tömegspektrométerben. Ebben a készülékben egy kvadrupol-repülési idő tömeganalizátorral van. A gáztömör fecskendőben lévő reakcióelegyet közvetlenül az ionforrásba injektáltuk egy fecskendőpumpa segítségével, ami össze volt hangolva a spektrométer kezelőszoftverével. Ezáltal lehetőségünk nyílt a reakcióelegy pontos korának ismeretében időfelbontásos tömegspektrumok felvételére.

A fentebb említett reakciók termékeit **ionkromatográfiai módszerrel (IC)** is vizsgáltuk. Az anionok közül CN⁻-ot és SCN⁻-ot integrált amperometriás detektálással mértünk, OCN⁻-ot, SO₃²⁻-ot és SO₄²⁻-ot pedig konduktometriás detektálással. A méréseket Dionex ICS-3000 készüléken Ionpac AS16 analitikai oszloppal végeztük.

A primer kinetikai adatokat jellemzően vagy a kezdeti sebességek módszerével értékeltük ki, vagy egy megfelelő megfontolásból levezetett integrális sebességi egyenlettel illesztettük. A nem lineáris Levenberg–Marquard legkisebb négyzetes illesztéseket Micromath Scintist 2.0 program számolta. Amikor lehetőségünk volt rá megpróbálkoztunk az adott reakciórendszerre jellemző, de eltérő kezdeti körülmények között detektált kinetikai görbesorozatot közvetlenül a felállított kinetikai modellel **globálisan illeszteni**. Ehhez a ZiTa programcsomagot használtunk, mely a GEAR algoritmusra épül.

III.) TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1) A MnTEt-2-PyP⁵⁺, MnTnHex-2-PyP⁵⁺, MnTTEG-2-PyP⁵⁺ és MnTSPP³⁻ komplexek vízcseresebessége és mechanizmusa semleges közegben.

1.1) Hőmérsékletfüggő ¹⁷O-NMR mérési eredmények kiértékelésével megállapítottuk, hogy az axiális koordinációs helyen lévő vízmolekulák a kationos MnTEt-2-PyP⁵⁺, MnTnHex-2-PyP⁵⁺ és MnTTEG-2-PyP⁵⁺ komplexekben jóval kevésbé labilisak, mint az anionos MnTSPP³⁻ komplexben közel semleges pH-n. A kationos komplexek esetén kapott kicsi vízcseresebességi állandók (k_{ex}) a folyamat aktiválási entrópiájának (ΔS^\ddagger) nagymértékű csökkenésével magyarázhatók. A ΔS^\ddagger értéke +79 J/mol/K a Mn(III)TSPP³⁻ és 0 J/mol/K körüli a kationos komplexek esetében (v.ö.: 1. táblázat). A nagy pozitív ΔS^\ddagger limitáló disszociatív vízcserese-mechanizmusra utal a Mn(III)TSPP³⁻ komplexnél. Értelmezésünk szerint a nullához közeli ΔS^\ddagger átmeneti jellegű disszociatív vízcserese-mechanizmust (I_d) jelez a kationos komplexek esetén.

1.2) Megállapítottuk, hogy az analóg szerkezetű Fe(III)-porfirinekhez hasonlóan a vizsgált Mn(III)-porfirinek vízcseréjét is alapvetően a fémcentrum elektronsűrűsége és a komplex sztérikus zsúfoltsága befolyásolja. A disszociatív vízcserese gyorsabb a Mn(III)TSPP³⁻ esetében, ahol a porfirin gyűrűn elektronküldő 4-szulfonátofenil oldalláncok találhatóak. A vízcserese lassabb, amikor ezek az oldalláncok nagyok, ráhajlanak a komplexre és elzárják az axiális ligandumokat, mint a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ esetében.

1.3) Korábbi publikációk a vizsgált Mn(III)-porfirinek biológiai rendszerekben képződő szabad gyökökkel történő redoxireakcióit belső szférás elektrontranszfernek írják le. Megmutattuk, hogy ha a Fouss-egyenlet alkalmazásával a publikált sebességi állandókból megbecsüljük a redoxpartner belső szférás koordinációjának, azaz az axiális vízmolekula kiszorításának sebességi állandóját, azt kapjuk, hogy az jó közelítéssel megegyezik a Mn(III)-porfirin vízcseresebességi állandójával. Ez arra utal, hogy a végbemenő redoxireakciók sebes-

ségmeghatározó folyamata valóban a redoxpartner belső szférás koordinálódása a Mn(III)-centrumhoz. Különösen igaz ez akkor, ha figyelembe vesszük, hogy a ligandumcsere a vízcseréhez hasonlóan disszociatív jellegű lehet.

1. táblázat. Néhány Mn(III)-porfirin vízcserese-sebességi állandója és aktiválási paraméterei.

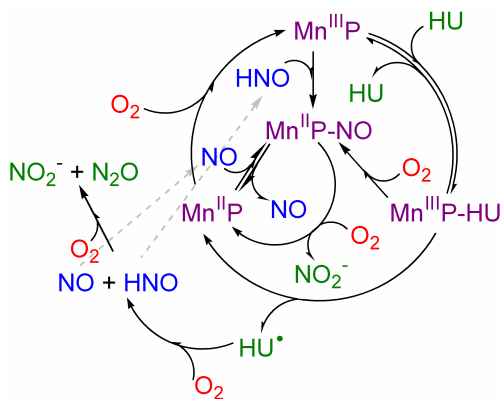
	$k_{\text{ex}}^{298\text{K}}$ (s^{-1})	ΔH^\ddagger (kJ/mol)	ΔS^\ddagger (J/mol/K)	Mechanizmus
MnTEt-2-PyP ⁵⁺	$4,12 \times 10^6$	36 ± 3	4 ± 10	I _d
MnTnHex-2-PyP ⁵⁺	$5,73 \times 10^6$	34 ± 7	-2 ± 23	I _d
MnTTEG-2-PyP ⁵⁺	$4,88 \times 10^6$	31 ± 5	-13 ± 20	I _d
MnTPPS ³⁻	$2,74 \times 10^7$	54 ± 5	79 ± 19	D

2) Az N-hidroxi-karbamid reakciója MnTTEG-2-PyP⁵⁺ komplex-szel lúgos közegben: kinetika és mechanizmus.

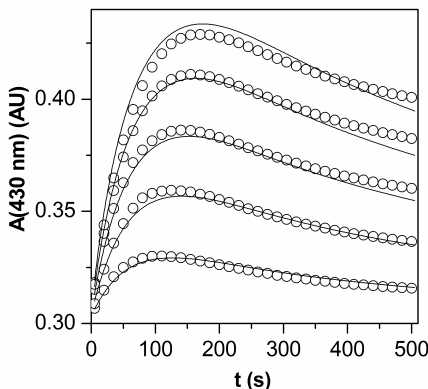
1.1) Megmutattuk, hogy a HU + Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ reakciórendszerben aerob körülmények között, lúgos pH-n gyakorlatilag a HU katalitikus autooxidációja zajlik le, melynek stabil végterméke a nitrition (NO₂⁻). A reakció Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺-, HU- és O₂-koncentrációfüggését részletesen tanulmányoztuk és kimutattuk, hogy a Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ a katalizátor szerepét tölti be és a folyamat végén változatlan formában található. A reakció mechanizmusának első lépése a HU koordinálódása a Mn(III)-centrumhoz, ami Mn(III)TTEG-HU adduktot eredményez. A további lépésekben az O₂ reakciópartnerként szerepelhet. A folyamatban felhalmozódó intermedier a Mn(II)TTEG-2-PyP⁴⁺ nitrogén-monoxiddal képzett komplexe (Mn(II)TTEG-NO) ami főként a Mn(III)TTEG-HU autooxidációja során képződik, de keletkezik a Mn(II)TTEG-2-PyP⁴⁺ közvetlen reakciójában is NO-dal. A Mn(III)TTEG-HU adduktumon belül a HU

elektront adhat át a fémcentrumnak így Mn(II)TTEG-2-PyP⁴⁺ és N-hidroxi-karbamid gyök (HU^{*}) keletkezik, ami tovább oxidálódik NO-dá. A Mn(II)TTEG-2-PyP⁴⁺ és Mn(II)TTEG-NO jelenlétét ESI-MS technikával kimutattuk a reakciórendszerben. Megállapítottuk, hogy a Mn(II)TTEG-NO komplex termodinamikailag rendkívül stabil, és lassan oxidálódik a jelen lévő oldott O₂ hatására. A Mn(II)TTEG-2-PyP⁴⁺ és a Mn(II)TTEG-NO autooxidációja során is a kiindulási Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ termelődik vissza. A HU^{*} autooxidációja NO és HNO intermediereket eredményez, melyek nem képesek feldúsulni a reakcióelegyben, végső soron NO₂⁻-ná oxidálódnak. A teljes kísérleti kinetikai adatsort globálisan illesztettük a 2. ábrán látható kinetikai modellhez. Amint az a 3. ábrán látható, az irodalomból ismert sebességi állandók beépítésével is elfogadható illeszkedést kaptunk.

2.2) Irodalmi előzmények (Martí, M. A.; Bari, S. E.; Estrin, D. A.; Doctorovich, F. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 4680.) figyelembevételével megállapítottuk, hogy a HU reakciója a kiválasztott kationos Mn(III)-porfirinnel hasonló mechanizmus szerint zajlik, mint néhány NO-donor vegyület reakciója hasonló Mn(III)-porfirinekkel. Az általunk tanulmányozott reakció jól példázza egy kis molekulatömegű hidroxámsav katalitikus autooxidációs viselkedését.



2. ábra. A Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ + HU reakció aerob körülményekre és lúgos pH-ra kidolgozott kinetikai modellje.



3. ábra. Néhány a $\text{Mn(III)TTEG-2-PyP}^{5+} + \text{HU}$ reakcióban mért reprezentatív kinetikai görbe (körök) és a 2. ábrán látható kinetikai modellel történő globális illesztés eredménye (vonal).

3) A tiocianátion oxidációja peroxomonoszulfát-ionnal semleges és lúgos közegben: kinetika és mechanizmus.

3.1) Megmutattuk, hogy a HSO_5^- a tiocianátiót OSCN^- -ná oxidálja semleges és lúgos közegben. A OSCN^- oxidációja HSO_5^- -nal szintén lejátszódik a $\text{HSO}_5^- + \text{SCN}^-$ reakciórendszerben. Az észlelt kinetikai jelenségek értelmezésére jól alkalmazható a 4. ábrán látható kinetikai modell. Megmutattuk, hogy a korábban Smith és Wilson által javasolt (Smith, R. H.; Wilson, I. R. *Aust. J. Chem.*, 1967, 20, 1353-1366.) termodinamikailag kedvezőtlen $\text{SCN}^- + \text{HSO}_5^-$ és $\text{OSCN}^- + \text{SO}_4^{2-}$ közötti egyensúly feltételezése nem szükséges az általunk észlelt jelenségek leírására. Megjegyezzük, hogy ennek ellenére a reakciórendszer kinetikai viselkedése egyensúlyra hasonlít.

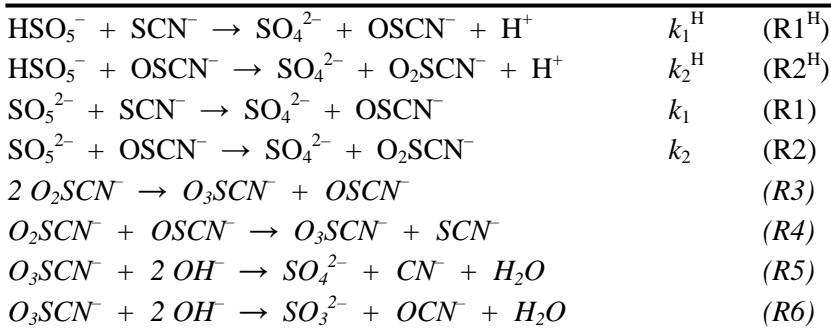
3.2) Megbecsültük a $\text{HSO}_5^-/\text{SO}_5^{2-} + \text{SCN}^-$ és a $\text{HSO}_5^-/\text{SO}_5^{2-} + \text{OSCN}^-$ elemi reakciók sebességi állandóit és aktiválási paramétereit. Ezeket összevetettük az irodalomban található, a HSO_5^- egy- és kételektronos redukciójával járó reakciók aktiválási paramétereivel. Megállapítottuk, hogy az általunk tanulmányozott reakciók valószínűleg oxigéntranszferrel egybekötött kételektron-átadásos sebességmeghatározó lépést

követően játszódna le. Mivel a OSCN⁻ oxidációja egy nagyságrenddel gyorsabb a SCN⁻ oxidációjánál, a OSCN⁻ csak a SCN⁻ legalább százszoros feleslege mellett keletkezik sztöchiometrikus mennyiségben az oxidálószerből.

3.3) Az általunk bevezetett kinetikai módszer segítségével sikeresen megmértük a OSCN⁻ egy peroxovegyülettel történő oxidációjának sebességét, amire még nincs irodalmi példa. Hogyha a OSCN⁻ és a SCN⁻ relatív reaktivitása hasonló minden peroxovegyülettel szemben, akkor feltételezhetjük, hogy a peroxidáz enzimek által katalizált *in vivo* SCN⁻ + H₂O₂ reakcióban a OSCN⁻ pontosan a H₂O₂-dal történő oxidációja miatt nem halmozódik fel nagy mennyiségben.

3.4) Megfigyeltük, hogy a Mn(III)TMe-4-Pyp⁵⁺ katalizálja a tiocianation oxidációját HSO₅⁻-nal. A Mn(III)TMe-4-Pyp⁵⁺ és peroxomonoszulfát-ion közötti reakció stabil terméke a OMn(IV)TMe-4-Pyp⁴⁺, ami meglehetősen kicsi reaktivitást mutat a SCN⁻-nal szemben, így nem lehet felelős a katalitikus hatásért. Irodalmi előzmények alapján azt feltételezzük, hogy a Mn(III)TMe-4-Pyp⁵⁺ + HSO₅⁻ reakció közvetlen terméke a OMn(V)TMe-4-Pyp⁵⁺, amit a jelen lévő SCN⁻ gyorsan redukál Mn(III)TMe-4-Pyp⁵⁺ komplexé, így katalitikus ciklus alakul ki a reakciórendszerben.

4. ábra. A SCN⁻ és a HSO₅⁻/SO₅²⁻ közötti reakció kinetikai modellje semleges és lúgos pH-n. A dőlt betűvel jelölt lépések gyorsak.



2. táblázat. A 4. ábrán látható $\text{SCN}^-/\text{OSCN}^- + \text{HSO}_5^-/\text{SO}_5^{2-}$ elemi reakciók sebességi állandói és aktiválási paraméterei.

Reakció	pH	$k^{298\text{K}}$ ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	ΔH^\ddagger (kJ/mol)	ΔS^\ddagger (J/mol/K)
R1	13,5	$(1,0 \pm 0,2) \times 10^1$	$35,2 \pm 0,5$	-108 ± 2
R2	13,5	$(1,6 \pm 0,1) \times 10^2$		
R1 ^H	6,9	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^2$	26 ± 1	-112 ± 3
R2 ^H	6,9	$(3,3 \pm 0,1) \times 10^3$	30 ± 2	-77 ± 5

4) A ditiocián ((SCN)₂) és a hipotiocianit-ion (OSCN⁻) hidrolitikus bomlásának mechanizmusa enyhén savas és semleges pH-n.

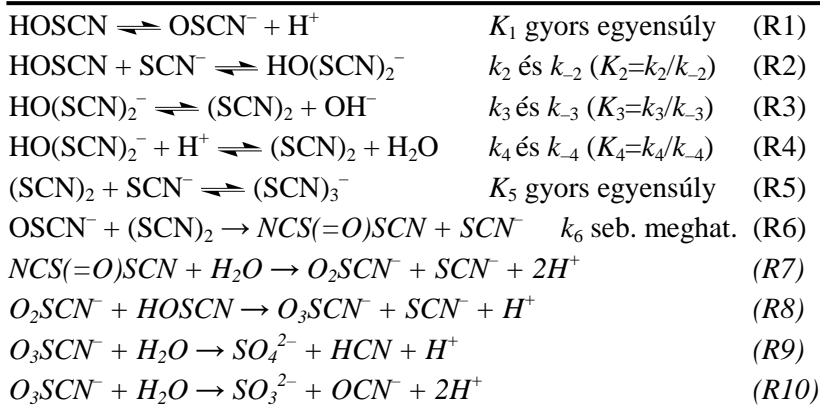
4.1) Kísérletileg megállapítottuk a OSCN⁻ semleges és enyhén savas közegben végmenő hidrolitikus bomlására érvényes sebességi egyenletet. A hipohalogenitionokra jellemző hidrolízismechanizmus-javaslatok alapján kidolgoztunk egy kinetikai modellt (5. ábra), mely magyarázza az észlelt jelenségeket és levezethető belőle a kísérleti sebességi egyenlet. A OSCN⁻ bomlásának stabil végtermékei egyszerű szerves anionok, úgymint OCN⁻, SCN⁻, SO₃²⁻ and SO₄²⁻.

4.2) Megmutattuk, hogy a (SCN)₂ a hipotiocianit-ionhoz hasonló mechanizmus szerint hidrolizál, és a két részecske bomlása szorosan összefügg egymással. A OSCN⁻ élettartama a pH csökkenésével és SCN⁻-koncentráció növekedésével csökken, mert a OSCN⁻ ilyen körülmények között gyorsan (SCN)₂-ná alakul. A (SCN)₂ jelenléte tovább csökkenti a OSCN⁻ mennyiségét, mivel ezek vegyületek gyorsan reagálnak egymással, amit független kísérletekben vizsgáltunk. Ebben a reakcióban egy NCS(=O)SCN szerkezetű intermedier keletkezését feltételezzük. Az intermedier sztöchiometriai összetételét reakciókinetikai mérésekre alapozzuk, aszimmetrikus voltára pedig korábban publikált izotóp nyomjelzős kísérletek utalnak.

4.3) Kísérleti bizonyítékot szolgáltatunk arra nézve, hogy semleges és enyhén savas pH-n a OSCN⁻ és a (SCN)₂ nem létezhetnek egymás

jelenlétében, valamint megmutattuk, hogy ez a két részecske nincs dinamikus egyensúlyban egymással az említett körülmények között. Nem lehet igaz az a korábbi feltételezés, miszerint a SCN^- laktoperoxidáz által katalizált *in vivo* oxidációjának közvetlen terméke a $(\text{SCN})_2$ és ennek gyors hidrolízise eredményezi a OSCN^- -ot, mert egyértelműen bizonyítottuk, hogy a $(\text{SCN})_2$ nem OSCN^- -ná hidrolizál semleges pH-n. Ezek miatt a megfontolások miatt a $(\text{SCN})_2$ biokémiai szerepe megkérdőjelezhető.

5. ábra. A hipotiocianit-ion enyhén savas és semleges pH-n történő hidrolitikus bomlásának kinetikai modellje és sebességi egyenlete.



$$v = \frac{\alpha(1-\alpha)k_2k_6(k_3+k_4[\text{H}^+])[\text{H}^+][\text{SCN}^-][\text{HOSCN}]_T^2}{k_{-2}(k_{-3}[\text{OH}^-]+k_{-4})+(1-\alpha)k_6(k_{-2}+k_3+k_4[\text{H}^+])[\text{HOSCN}]_T}$$

$$\alpha = \frac{[\text{H}^+]}{K_1+[\text{H}^+]}$$

$$[\text{HOSCN}]_T = [\text{HOSCN}] + [\text{OSCN}^-]$$

IV.) AZ EREDMÉNYEK LEHETSÉGES ALKALMAZÁSA

Mivel a Mn(III)-porfirinek biológiai jelentőségű redoxireakciói a fémcentrum részvételével játszódnak le, vízcseresebességük ismerete elősegítheti ezen komplexek gyógyászati mechanizmusának és hatékonyságának megértését, így terápiás valamint képalkotó diagnosztikában betöltött szerepük fejlődését.

Az N-hidroxi-karbamid, mint gyógyszer adagolása a kationos Mn(III)TTEG-2-Pyp⁵⁺ kísérletében, feltehetően növelné a HU-ból *in vivo* képződő nitrogén-monoxid és annak metabolitjainak mennyiségét, s ez fokozhatja a HU terápiás hatékonyságát.

A peroxomonoszulfát-ion tartalmú Oxone[®]-t előnyösen lehetne alkalmazni ipari szennyvizek oxidatív SCN⁻-mentesítésére, hiszen a közöttük lejátszódó reakció még semleges közegben is gyors. A technológia fejlesztése során azonban figyelni kell a toxikus CN⁻ mint reakciótermék keletkezésének elkerülésére. A hipotiocianit-ion HSO₅⁻-nal történő oxidációjának vizsgálata elősegítheti az antibakteriális OSCN⁻ biokémiai viselkedésének megértését.

A ditiocián és a OSCN⁻ hidrolitikus bomlásának leírására kidolgozott kinetikai modell korábban publikált empirikus kísérleti tapasztalatokra ad magyarázatot. Ezek között szerepel az megfigyelés, miszerint a SCN⁻ és az (SCN)₂ jelenléte csökkenti a OSCN⁻ stabilitását, és a radioizotópos kísérleteken alapuló megfigyelés arra nézve, hogy a hidrolizáló OSCN⁻ nincs egyensúlyban a (SCN)₂-nal és a SCN⁻-nal. Az általunk javasolt mechanizmus továbbá azt is magyarázza, hogy a (SCN)₂ semleges pH-hoz közeli hidrolízise miért nem szolgáltat OSCN⁻-t. A fenti jelenségek egységes modellbe foglalása hasznosnak bizonyulhat a OSCN⁻ *in vivo* reaktivitásának előrejelzéséhez.

V.) TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Az értekezés alapját képező közlemények:

- 4) Detailed kinetics and mechanism of the oxidation of thiocyanate ion (SCN^-) by peroxomonosulfate ion (HSO_5^-). Formation and subsequent oxidation of hypothiocyanite ion (OSCN^-)

J. Kalmár*, G. Lente, I. Fábíán

Inorganic Chemistry, **2013**, 52(4), 2150-2156.

IF(2011)=4,60

- 3) Detailed mechanism of the autoxidation of N-hydroxyurea catalyzed by a superoxide dismutase mimic Mn(III) porphyrin: formation of the nitrosylated Mn(II) porphyrin as an intermediate
J. Kalmár, B. Biri, G. Lente*, I. Bányai, A. Budimir, M. Biruš, I. Batinić-Haberle, I. Fábíán

Dalton Transactions, **2012**, 41 (38), 11875-11884.

IF(2011)=3,84

- 2) Mechanism of decomposition of the human defense factor hypothiocyanite near physiological pH

J. Kalmár, K. L. Woldegiorgis, B. Biri, M. T. Ashby*

Journal of the American Chemical Society, **2011**, 133 (49), 19911-19921.

IF(2011)=9,91

- 1) Water exchange rates of water-soluble manganese(III) porphyrins of therapeutical potential

A. Budimir, J. Kalmár*, I. Fábíán, G. Lente, I. Bányai, I. Batinić-Haberle, M. Biruš*

Dalton Transactions, **2010**, 39 (18), 4405-4410. *IF(2010)=3,65*

Summa IF=22,00

Egyéb közlemények:

- 5) Kinetics of formation of the host–guest complex of a viologen with cucurbit[7]uril
J. Kalmár, S. B. Ellis, M. T. Ashby, R. L. Halterman*
Organic Letters, **2012**, 14 (13), 3248-3251. *IF(2011)=5,86*
- 4) Collision induced dissociation study of the major components of silymarin
Á. Kuki, B. Biri, L. Nagy, Gy. Deák, J. Kalmár, M. Nagy, M. Zsuga, S. Kéki*
International Journal of Mass Spectrometry, **2012**, 315, 46-54.
IF(2011)=2,55
- 3) Energy-dependent collision-induced dissociation study of buprenorphine and its synthetic precursors
B. Biri, J. Kalmár, L. Nagy, A. Sipos, M. Zsuga, S. Kéki*
Rapid Communications in Mass Spectrometry, **2011**, 25 (1), 41-49.
IF(2011)=2,79
- 2) Hydrochemical study of the source region of Ier (Ér) stream in Satu Mare (Szatmár) County, Romania
J. Kalmár*, M. Braun, I. Fábíán
Studia Universitatis Vasile Goldis, Life Sciences Series, **2010**, 20 (4), 57-65.
IF(2010)=Ø
- 1) One-versus two-electron oxidation with peroxomonosulfate ion: Reactions with iron(II), vanadium(IV), halide ions, and photoreaction with cerium(III)
G. Lente*, J. Kalmár, Zs. Baranyai, A. Kun, I. Kék, D. Bajusz, M. Takács, L. Veres, I. Fábíán
Inorganic Chemistry, **2009**, 48 (4), 1763-1773. *IF(2009)=4,66*

Summa IF=15,86

Részvétel nemzetközi konferenciákon:

- 5) Mechanism of decomposition of hypothiocyanite near physiological pH – A new reactive sulfur species (P)
J. Kalmár, M. T. Ashby
Gordon Research Conference, Inorganic Reaction Mechanisms,
march 11-16 / 2011 Galveston, Texas, USA.
- 4) Hydrochemical study of the region Érmellék (P)
J. Kalmár, M. Braun, I. Fábíán
International Conference „Natural and artificial ecosystems in the Somes- Cris- Mures- Tisa river basin”, may 7-8 / 2010, Macea, Romania.
- 3) Water exchange of the water soluble porphyrin Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ and its reaction with N-hydroxyurea (P)
J. Kalmár, G. Lente, I. Fábíán, I. Bányai, E. Farkas, A. Budimir, M. Biruš, I. Batinić-Haberle
Inorganic/Bioinorganic Reaction Mechanism Meeting, jan. 7-10 / 2010, Kloster Banz, Germany.
- 2) The reaction of Mn(III)TTEG-2-PyP⁵⁺ with N-hydroxyurea (P)
J. Kalmár, G. Lente, I. Fábíán, E. Farkas, A. Budimir, M. Biruš, I. Batinić-Haberle
10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry,
sept. 25-28 / 2009, Debrecen, Hungary.
- 1) Reactions of the peroxomonosulfate ion with simple inorganic reducing agents (E+P)
G. Lente, G. Bellér, J. Kalmár, Zs. Baranyai, A. Kun, I. Kék, I. Fábíán
Gordon Research Conference, Inorganic Reaction Mechanisms,
febr. 18-23 / 2007, Ventura, California, USA.

Részvétel hazai konferenciákon:

- 10) A peroxomonoszulfát-ion (HSO_5^-) és a tiocianátion (SCN^-) közti reakció kinetikája (E)

Kalmár J., Molnár O., Lente G., Fábián I.

MTA Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság ülése, 2012. ápr. 26-27., Siófok.

- 9) A hipotiocianós-sav (HOSCN) vizes oldatbeli bomlásának mechanizmusa fiziológiához közeli pH-n (E)

Kalmár J., Biri B., K. L. Woldegiorgis, M. T. Ashby

XVII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2011. nov. 3-6., Kolozsvár.

- 8) A hipotiocianós-sav (HOSCN) vizes oldatbeli bomlásának mechanizmusa fiziológiához közeli pH-n (E)

Kalmár J., Biri B., K. L. Woldegiorgis, M. T. Ashby

MTA Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság ülése, 2011. okt. 27-28., Gyöngyöstarján.

- 7) Vízoldható Mn(III)-porfirinek vízcseresebessége és reakciója N-hidroxi-karbamiddal (E)

Kalmár J., Lente G., Fábián I., Bányai I., A. Budimir, M. Biruš, I. Batinić-Haberle

XV. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2009. nov. 12-15., Marosvásárhely.

- 6) Vízoldható Mn(III)-porfirinek vízcseresebessége és reakciója N-hidroxi-karbamiddal (E)

Kalmár J., Lente G., Fábián I., Bányai I., A. Budimir, M. Biruš, I. Batinić-Haberle

MTA Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság ülése, 2009. okt. 29-30., Gyöngyöstarján.

- 5) Egy vízoldható Mn(III)-porfirin reakciója N-hidroxi-karbammiddal (E)

Kalmár J., Lente G., Fábián .

44. *Komplekkémiai Kollokvium*, 2009. máj. 27-29., Siófok.

- 4) Az Ér forrásvidékének hidrokémiai vizsgálata (E)

Kalmár J.

XXIX. *Országos Tudományos Diákköri Konferencia*, 2009. ápr. 6-8., Debrecen.

- 3) Halogenidionok vizes oldatbeli fotolízise (E)

Kalmár J.

XXVIII. *Országos Tudományos Diákköri Konferencia*, 2007. ápr. 2-4., Szeged.

- 2) A peroxo-monoszulfátion reakciói egyszerű szervesen redukálószerrel (E)

Lente G., Bellér G., Kalmár J., Baranyai Zs., Kun A., Kék I., Fábián I.

MTA *Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság ülése*, 2006. nov. 2-3., Gyöngyöstarján.

- 1) Halogenidionok vizes oldatbeli fotolízise (E)

Kalmár J., Lente G., Fábián I.

MTA *Reakciókinetikai és Fotokémiai Munkabizottság ülése*, 2005. okt. 20-21., Gyöngyöstarján.

(E: Előadás, P: Poszter)